



Regensburg, den 5. Januar 2004

An die Teilnehmer
des INSTAND-Ringversuchs
Bakteriengenomnachweis PCR / NAT
(INSTAND-Ringversuchsnummern 430 bis 438)

Dear Participant, dear Colleague,

Please find a cover letter in English on page 4 of this document.

Sehr geehrte Kolleginnen und Kollegen,

Sie erhalten hiermit die Auswertung des aktuellen INSTAND-Ringversuchs zum Bakteriengenom-Nachweis mittels PCR oder anderer Nukleinsäureamplifikationstechniken.

Ihre individuellen Resultate und deren Bewertung können Sie der beigegeführten Teilnahmebescheinigung entnehmen.

Falls Sie an einer etwas umfangreicheren Diskussion unserer Ringversuchsaktivitäten im Bereich Bakteriengenom-Nachweis und näheren Informationen zur Konzeption der Ringversuchsproben interessiert sein sollten, sei hier auf folgende Veröffentlichung aus der Zeitschrift "Der Mikrobiologe" verwiesen (Herausgeber: Berufsverband der Ärzte für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie e.V.):

Reischl, U., N. Lehn, H. Wolf und E. Straube (2003) "Bakteriengenom-Nachweis PCR / NAT": Eine neue Ringversuchsreihe von INSTAND e.V. zur externen Qualitätskontrolle molekularbiologischer Nachweisverfahren in der bakteriologischen Diagnostik. *Mikrobiologe* 13:149-156.

An dieser Stelle möchte ich mich, auch im Namen von INSTAND e.V., bei Ihnen noch einmal für die "Panne" bei der Aussendung der Ringversuchsproben entschuldigen. Bei den zukünftigen Ringversuchsrunden sollten Sie dann die Informationen zur Testdurchführung, die entsprechenden Listen mit den Code-Nummern und die Protokollbögen zur Auswertung in gewohnter Weise wieder zusammen mit dem Probenmaterial erhalten.

Bei der Gestaltung zukünftiger erregerspezifischer Ringversuche sind wir nach wie vor für alle kritischen Kommentare und Anregungen überaus dankbar. Auch wenn die Zahl der Anmeldungen im Vergleich zum vorherigen Ringversuch deutlich zugenommen hat, so "wachsen" Projekte wie diese erst mit dem konstruktiven *feedback* der einzelnen Teilnehmer.

Mit freundlichen und kollegialen Grüßen,

Dr. Udo Reischl

Ringversuchsleiter
Bakteriengenomnachweis

Prof. Dr. Hans Wolf

Prof. Dr. Norbert Lehn

Prof. Dr. Eberhard Straube

Gesamtübersicht und Auswertung der Ringversuchsergebnisse aller Teilnehmer

NOVEMBER 2003:

Nachdem die erste Runde dieser neuen Ringversuchs-Serie sehr erfolgreich verlaufen ist, wollten wir bei der Konzeption des zweiten Ringversuchs zum Bakteriengenomnachweis mittels PCR oder anderer Nukleinsäureamplifikationstechniken (NAT) auch ein paar Proben mit relativ niedriger Keimzahl einschließen. Diese zum Teil sogar als "grenzwertig positiv" zu bezeichnenden Proben sollen aber lediglich orientierenden Charakter haben und wurden bei der endgültigen Ringversuchsauswertung zur Erteilung der Zertifikate nicht als "falsch negativ" bewertet. Als Richtwert für die Bewertung von Ringversuchsergebnissen gilt nach wie vor das 50- bis 100-fache der unteren Nachweisgrenze durchschnittlich sensitiver PCR-Protokolle unter Standardbedingungen (50 µl Reaktionsansätze, 35 PCR-Zyklen, gut evaluierte Primersequenzen). Für *B. pertussis* (Probe #32202), *H. pylori* (Probe # 32302), *B. burgdorferi* (Probe # 32503), *L. pneumophila* (Probe #32601) und für *Salmonella enteritidis* (Probe # 32702) stehen aber jetzt standardisierte Probensets zur Verfügung, die zumindest im Rahmen der Testentwicklung bzw. Testoptimierung in gewisser Weise als wertvolle Sensitivitätsmarker dienen können. Bei Bedarf können Sie Rückstellproben dieser Probensets gerne über den Ringversuchsleiter nachbestellen (natürlich nur solange unser Vorrat reicht).

In bewährter Form werden im Folgenden die Ergebnisse der jeweiligen erregerspezifischen Ringversuche dargestellt. Tabelle 1 zeigt dabei die Probenzusammensetzung und das erwartete Ergebnis. Die von den einzelnen Teilnehmern mitgeteilten Ergebnisse werden in Tabelle 2 nach der Häufigkeit der Mitteilung von positiven oder negativen Ergebnissen und in Tabelle 3 nach der absoluten Anzahl der richtig positiven und richtig negativen Ergebnisse sowie deren prozentualem Anteil (Befundhäufigkeit) je Amplifikationssystem bzw. Testkonzept aufgeschlüsselt.

Eine weitergehende Aufschlüsselung nach den einzelnen Kategorien der DNA-Extraktion, Amplifikation, Detektion sowie den jeweils verwendeten Zielsequenzen erschien bei diesem Ringversuch aufgrund der relativ hohen Richtigkeitsquote unter den positiven Proben wenig sinnvoll. Die individuellen Angaben der einzelnen Teilnehmer zur Testdurchführung werden jedoch systematisch erfasst und bleiben für retrospektive Analysen verfügbar.

Erwartungsgemäß waren auch im Rahmen des hier diskutierten Ringversuchs einige Auffälligkeiten hinsichtlich der Spezifität und Sensitivität von bestimmten Testkonzepten und der für den Nachweis verwendeten Zielsequenzen zu beobachten. Diese Aspekte sind bei der Auswertung des jeweiligen Ringversuchs aufgeführt und auch kurz diskutiert. Zusätzlich stehen für den letzten, für diesen und für alle folgenden Ringversuche eine Reihe zusätzlicher Informationen (wie die anonymisierten Ergebnisse der einzelnen Sollwertlaboratorien oder die Ergebnisse unserer quantitativen *real-time* PCR) auch unter folgender Internetadresse:

"www.udo-reischl.de"; Unterpunkt "INSTAND-Ringversuche (PCR / NAT)"
als *pdf*-Files zum download bereit.

RV 430: *Neisseria gonorrhoeae* & *Chlamydia trachomatis*

Auf vielfachen Wunsch haben wir unser Ringversuchs-Programm um ein *STD-Panel*, d.h. eine Kombination aus Gonokokken und *Chlamydia trachomatis* erweitert. Die relativ hohe Menge an Zielorganismen in den positiven Proben und die Verfügbarkeit gut evaluierter und z.T. automatisierter NAT-gestützter Analysesysteme für beide Zielorganismen führte hier zu hohen Richtigkeitsquoten sowohl für positive als auch für negative Befunde. Inhibitionseignisse wurden nur von einem Teilnehmer bei einer der 4 Proben beobachtet. Unter den von 47 Teilnehmern mitgeteilten 188 NAT-Ergebnissen fanden sich für *Chlamydia trachomatis* insgesamt 13 falsch-positive Ergebnisse (die vermutlich durch laborinterne Kontaminationsereignisse hervorgerufen wurden) und nur 1 falsch-negatives Ergebnis. Im Rahmen des NAT-gestützten Gonokokken-Nachweises wurden insgesamt 8 falsch-positive Ergebnisse und 11 falsch-negative Ergebnisse mitgeteilt. Aufgrund der relativ hohen Erregermenge von beiden Zielorganismen in den jeweiligen Ringversuchsproben sind falsch-negative Ergebnisse hier nicht mit "marginalen" Sensitivitätsproblemen der einzelnen Testsysteme zu begründen. Sie sind vielmehr als ernstzunehmender Hinweis auf signifikante Mängel innerhalb einzelner Komponenten des laborspezifischen diagnostischen Protokolls anzusehen.

Bei den ermittelten Richtigkeitsquoten für Teilnehmer mit dem COBAS Amplicor System muß berücksichtigt werden, daß die Probleme hier vor allem auf Seiten des Gonokokken-Nachweises lagen. Für den PCR-gestützten Nachweis von *C. trachomatis* allein wurden mit diesem kombinierten Testsystem Richtigkeitsquoten von 100 % für die positiven Ergebnisse und 82 % für die negativen Ergebnisse beobachtet. Die in Tabelle 3 aufgeführten 11 falsch-negativen Ergebnisse (die von Teilnehmern mit dem COBAS Amplicor System mitgeteilt wurden) lagen alle auf Seite des Gonokokken-Nachweises. Auffällig war auch das durchwegs gute Abschneiden von Teilnehmern mit eigenentwickelten NAT-Protokollen.

To the participants of the
INSTAND-Proficiency Test in
Bacterial Genome Detection (PCR / NAT)
(INSTAND Proficiency Test Numbers 430 to 438)

Dear Participant, dear Colleague,

Please find enclosed a brief analysis report of the recent proficiency test panel "Bacterial Genome Detection (PCR / NAT)". It summarizes some benchmarks and the overall assessment of results reported by all of the the participating laboratories.

The accuracy of your individual results is indicated on your personal certificate issued by INSTAND e.V. (attached to this letter).

This highly desired program for external validation was activated by the *German Society of Hygiene and Microbiology* (DGHM) and is now organized by INSTAND e.V., Düsseldorf, Germany. As you can learn from "www.instand-ev.de", this new segment of their huge proficiency testing program is now open for diagnostic laboratories worldwide. We are aiming at two validation rounds per year (April / November), a reasonable price, and a permanently expanding coverage of relevant bacterial pathogens. Any general or specific comments on sample composition or suggestions on additional bacterial, fungal, or parasitic organisms which should be covered, are highly appreciated.

Please do not feel irritated by some strong-positive samples among the present set. To make participants and ourselves familiar with the concept and the suitability of the proprietary sample matrix, "passing" should be easy in the initial rounds of proficiency testing. But as the program continues, it is our challenge (and duty) to rise at least some of the hurdles with every round of external validation.

Further information on this proficiency test panel "Bacterial Genome Detection (PCR / NAT)" can be downloaded in form of pdf-files at "www.udo-reischl.de", subsection "INSTAND Ringversuche (PCR / NAT)". Although the preferred language of these documents is German, we are aiming to provide at least some key documents and the tables in a bilingual style.

Hopefully you found this kind of external validation benefitting and you will continue to join the future rounds of our QC program in bacterial genome detection (NAT/ PCR).

With best personal regards,

Udo Reischl

PCR-/NAT GO & *C. trachomatis* (RV 430) November 2003



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.
Sample composition and expected results.

Gruppe A	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
32001	+ / ++	62	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (~ 5x10 ⁴ IFU/mL) <i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 2x10 ⁶ IFU/mL)
32002	∅ / ∅	64	<i>Escherichia coli</i> K12
32003	++ / ∅	63	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)
32004	∅ / +	61	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 5x10 ⁵ IFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.
Absolute numbers of reported individual results.

n = 47	Probennummer (Sample no.)				Inhibition				
	32001	32002	32003	32004	32001	32002	32003	32004	
Befund <i>Result</i>									
Positiv CT	9	2	2	45	n.d.	3	3	3	3
Positiv CT & GO	38	6	3	1	nein / no	44	44	44	43
Positiv GO	0	0	35	1	ja / yes	0	0	0	1
Negativ	0	39	7	0					
Fraglich / Questionable	0	0	0	0					

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. *Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.*

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>			NAT richtig negativ <i>True negative results</i>		
	Absolut <i>Absolute</i>	Relativ <i>Relative</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	Relativ <i>Relative</i>	%
COBAS Amplicor Ct [23] (n = 20)	49	49 / 60 ¹⁾	81	48	48 / 60 ²⁾	80
In house PCR assay [28] (n = 8)	24	24 / 24	100	21	21 / 24	87
BD ProbeTec Ct [24] (n = 4)	12	12 / 12	100	12	12 / 12	100
Roche Amplicor Ct [22] (n = 5)	9	13 / 15	86	13	13 / 15	86
Other commercial tests [27] (n = 3)	8	8 / 9	88	7	7 / 9	77
Andere / other [29] (n = 5)	15	15 / 15	100	15	15 / 15	100

* Durch Mehrfachnennung oder fehlende Angabe kann die absolute Zahl der Ergebnisse (Tab. 2) von der Anzahl der Teilnehmer abweichen.
 Due to reporting results of multiple assay systems or missing specifications, the effective numbers are not correlating with the number of participants.

Comments: ¹⁾ All of the 20 participants reported correctly positive results for *C. trachomatis* (40 / 40).
²⁾ Most of the 20 participants reported correctly negative results for *C. trachomatis* (33 / 40).

PCR-/NAT
Neisseria gonorrhoeae &
Chlamydia trachomatis
(RV 430) November 2003



Neisseria gonorrhoeae & Chlamydia trachomatis-Nachweis mittels PCR oder anderen Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT)

Ergebnisse der Sollwertlaboratorien

Results reported by our Reference Laboratories

Probenversand / shipment of samples: 12. November 2003
 (results of the QC-program reference labs; listed but not depicted in alphabetical order):

- Dr. Ballard, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA
- Professor Brade, Universität Frankfurt
- Dr. Maclean, National Microbiology Laboratories, Winnipeg, CA

GO & CT (RV 430) Nov 2003	Erwartetes Ergebnis Expected Result	Labor 1	Labor 2	Labor 3			
Anmerkungen*	GO / CT		[22]				
32001	+ / ++	n.d.	+ / +	n.d.			
32002	∅ / ∅	n.d.	∅ / ∅	n.d.			
32003	++ / ∅	n.d.	+ / ∅	n.d.			
32004	∅ / +	n.d.	∅ / +	n.d.			

Anmerkungen / comments*: Code number [amplification system]

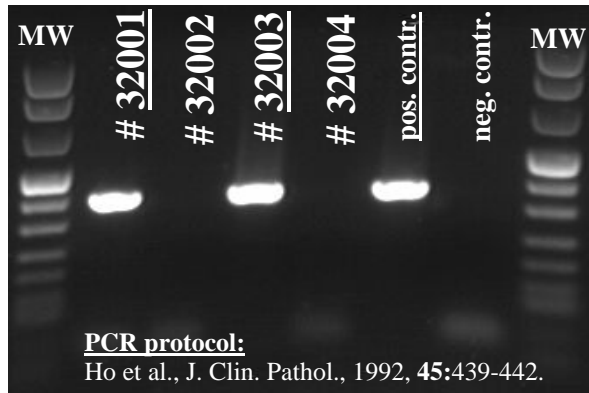


430 Bakteriengenom-Nachweis *C. trachomatis* & GO

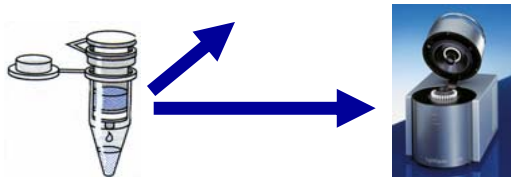
status 11.2003

Reischl / Straube

Evaluation (quantitative Real-Time PCR):

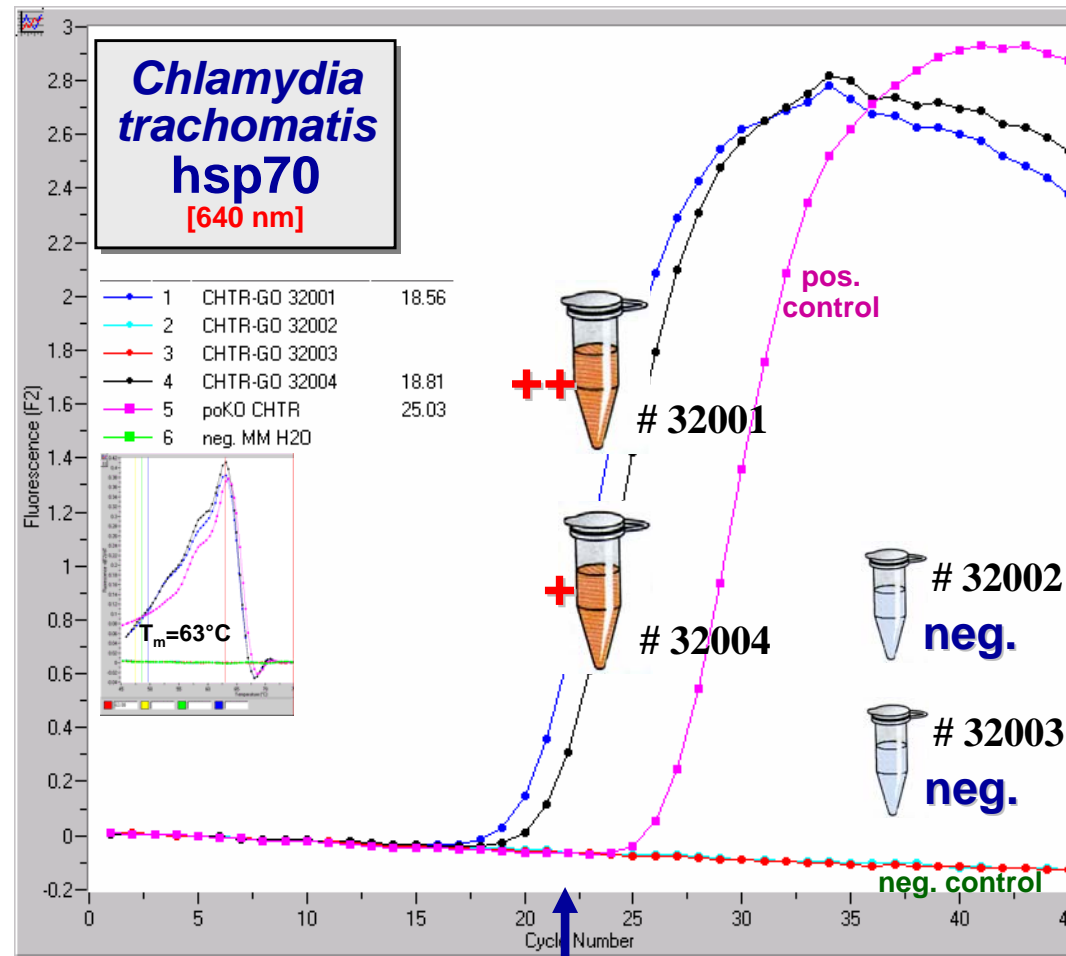


N. gonorrhoeae



LightCycler PCR protocol:

Wood, H., U. Reischl, and R. Peeling (2001) Rapid detection and quantification of *Chlamydia trachomatis* in clinical specimens by LightCycler PCR. In: Rapid Cycle Real-Time PCR: Methods and Applications (Reischl, U., Wittwer, C., and Cockerill, F., eds.), Springer Press, Heidelberg, pp. 115-132.



organisms / PCR reaction:

$\sim 10^3$

030922_3_RV-CHTR-GO-ampl.bmp



- Centrifuge the vial to pellet the lyophilized sample and add 300 μ L of PCR-grade water.
- Incubate at room temperature overnight or at 37°C for 30 min.
- Vortex and process an aliquot of each sample according to your sample preparation and diagnostic PCR / NAA protocol.

U. Reischl/RIMMH/11.2003





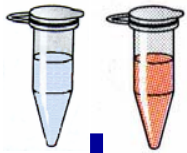
430 Bakteriengenom-Nachweis *C. trachomatis* & GO

status 11.2003

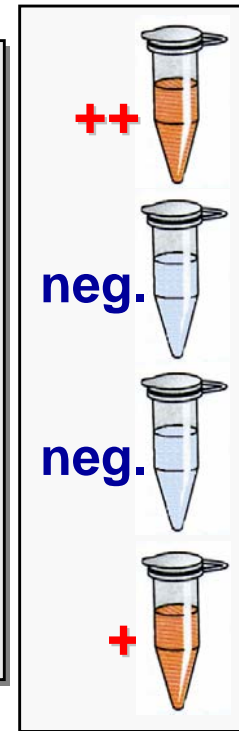
Reischl / Straube

Evaluation (qualitative PCR):

COBAS Amplicor *Chlamydia trachomatis*



S 430.32001	CT	2.802	<u>+</u>	POSITIVE	22.SEP 03
	CNC	0.012	—	NEGATIVE	22.SEP 03
S 430.32002	CT	0.000	<u>0</u>	NEGATIVE	22.SEP 03
	CNC	*.***	—	POSITIVE	22.SEP 03
S 430.32003	CT	0.000	<u>0</u>	NEGATIVE	22.SEP 03
	CNC	2.166	—	POSITIVE	22.SEP 03
S 430.32004	CT	3.020	<u>+</u>	POSITIVE	22.SEP 03
	CNC	0.010	—	NEGATIVE	22.SEP 03



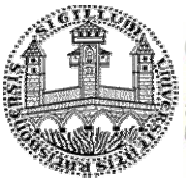
COBAS CT_Bild_1.jpg



- Centrifuge the vial to pellet the lyophilized sample and add 300 µL of PCR-grade water.
- Incubate at room temperature overnight or at 37°C for 30 min.
- Vortex and process an aliquot of each sample according to your sample preparation and diagnostic PCR / NAA protocol.

U. Reischl/RIMMH/11.2003





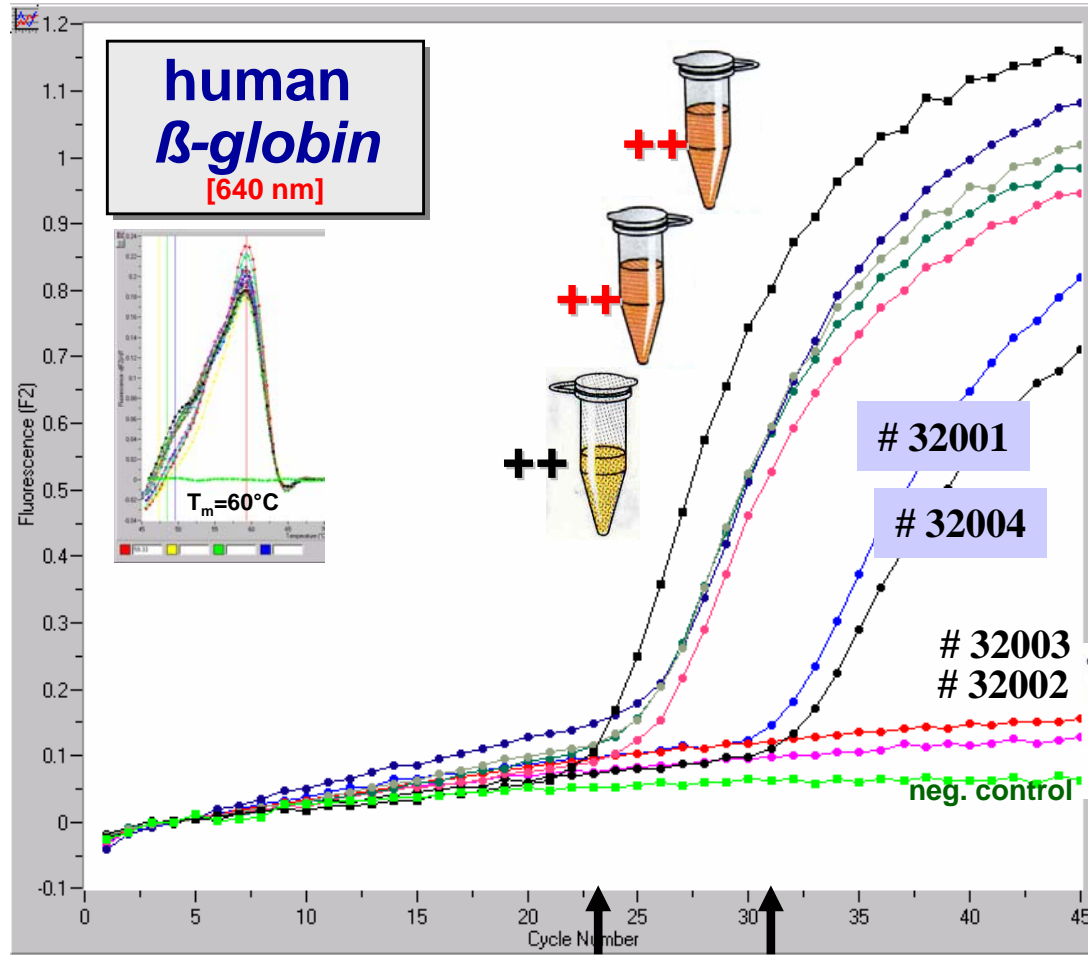
430- 431 Bakteriengenom-Nachweis *Chlamydia* (+/- GO)

status 11.2003

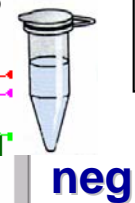
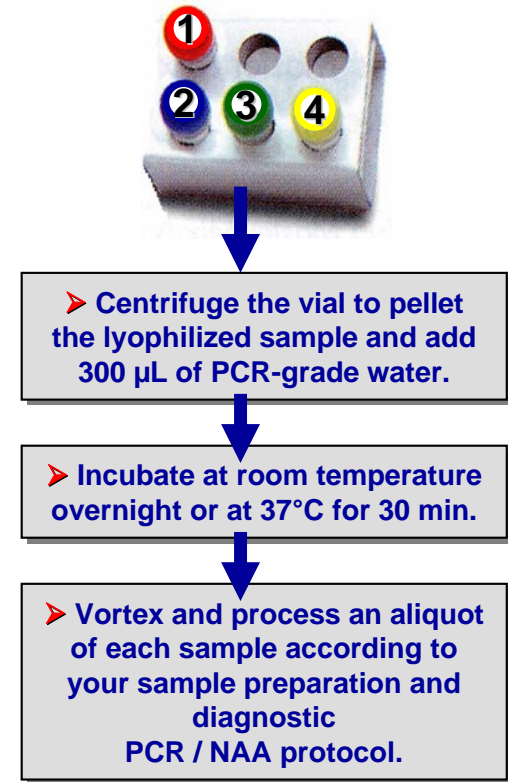
Evaluation (quantitative Real-Time PCR):

Reischl / Lehn / Wolf

1	Chtr/Go 32001	31.85
2	Chtr/Go 32002	
3	Chtr/Go 32003	
4	Chtr/Go 32004	33.01
5	Chtr 32101	26.25
6	Chtr 32102	25.50
7	Chtr 32103	24.87
8	Chtr 32104	25.43
9	PoKo β -Globin/Roche	24.00
10	Negativ H2O	



human cells / PCR reaction: $\sim 10^5$ $\sim 10^2$ 031031_3_RV- β -gl-CHTR+GO_ampl.bmp



LightCycler PCR protocol:
 LightCycler Control Kit DNA
 Roche Cat. No. 2 158 833



U. Reischl/RIMMH/11.2003



BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

BACTERIAL GENOME DETECTION

PCR-/NAT *Neisseria gonorrhoeae* & *Chlamydia trachomatis* (RV 430)

PCR-/NAA *Neisseria gonorrhoeae* & *Chlamydia trachomatis* (RV 430)

***Neisseria gonorrhoeae* & *Chlamydia trachomatis*-Nachweis mittels PCR oder anderen Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT)**



Information zur Testdurchführung und Code-Nummern (2 Seiten)

Vorsichtsmaßnahmen

Die Probenmaterialien wurden einer speziellen Inaktivierungsmaßnahme unterzogen und sind daher **nicht** mehr als potentiell infektiös zu betrachten.

Probenvorbereitung

Die Proben sind nach Erhalt bei 4°C zu lagern. Als lyophilisiertes Untersuchungsmaterial sind die Proben unmittelbar vor der Testung kurz zu zentrifugieren und dann je in **300 µl** sterilem Wasser (PCR-grade) aufzunehmen. Die Proben sollten für 20 min. bei Raumtemperatur in einem Thermoschüttler resuspendiert und/oder mehrfach gut gevortext werden. Anschließend sind 100 µl-Aliquots der Proben wie natives klinisches Probenmaterial mit der in Ihrem Labor angewandten Prozedur für die DNA-Extraktion und dem *N. gonorrhoeae* und *C. trachomatis*-PCR/NAT Nachweis zu untersuchen.

Anmerkung: bei kommerziellen Testsystemen können 100 µl-Aliquots der Ringversuchsproben wie das Pellet zentrifugierter Urinproben abgearbeitet werden.

Testdurchführung und Ergebnisinterpretation

Das Konzept dieses Ringversuchs ist auf die Bestimmung von *N. gonorrhoeae* und *C. trachomatis* DNA oder RNA im Probenmaterial ausgelegt. Da das Probenmaterial auch Proteine, Bakterien und menschliche Zellen beinhaltet, ist die Durchführung und Interpretation von optionalen Inhibitionskontrollen, die auf dem Nachweis humaner Gensequenzen (wie z.B. β -Globin) im Untersuchungsgut beruhen, möglich.

Benutzen Sie bitte die in Ihrem Labor routinemäßig angewendeten Methoden und geben Sie alle Informationen entsprechend der Code-Nummern an. Primär werden in diesem Ringversuch nur qualitative Angaben abgefragt. Die Ergebnisse bitte anhand der Code-Nummern als "positiv", "unterhalb der Nachweisgrenze", "inhibiert" oder "fraglich" angeben.

Die zusätzliche Angabe von quantitativen oder semiquantitativen Ergebnissen (+, +++, etc.) im Bemerkungsfeld ist für die genaue Analyse der Ringversuche sehr hilfreich und daher, wie alle anderen Kommentare, stets willkommen.

Rücksendung des Protokollbogens

Das ausgefüllte Protokoll bitte zurücksenden an:

Institut für Standardisierung und Dokumentation
im Medizinischen Laboratorium e.V. (INSTAND)
Abt. Qualitätssicherung
Postfach 250211
40093 Düsseldorf.

Detection of *Neisseria gonorrhoeae* & *Chlamydia trachomatis* by PCR or other procedures for nucleic acid amplification & detection (NAA)



Instructions for testing and Code numbers (2 pages)

Precautions

The samples in this panel were subjected to inactivation and they are **not** considered hazardous or capable of transmitting infection.

Specimen preparation

Samples should be stored at 4°C upon receipt. The closed tubes should be briefly centrifuged to pellet the lyophilized material. Immediately before testing, renature the samples by adding **300 µl** of sterile water (PCR-grade) and incubate at room temperature for 20 min. on an orbital shaker and/or occasional vortexing. When the pellets are completely dissolved, the resulting suspensions should be considered as native clinical specimens and 100 µl aliquots processed as such using typical protocols for DNA extraction and *N. gonorrhoeae* & *C. trachomatis*-PCR/NAA established in your routine diagnostic setting.

Note: when using commercial assay systems, 100 µl aliquots of the renatured samples can be processed like the sediment of centrifuged urine specimens.

Testing and reporting of results

The concept of this proficiency panel is designed for determination of *N. gonorrhoeae* and *C. trachomatis* DNA or RNA in the sample material. The sophisticated composition of the sample matrix comprises of proteins, bacteria, and human cells next to the target organisms, thereby allowing for the application of optional inhibition controls targeting human genes (like β -globin, etc.).

Please apply the same methods for DNA extraction and amplification like you are using for the workup of routine clinical samples. Protocol and workflow characteristics should be specified in the Report Form according to the provided code numbers.

Although only reporting of qualitative results is requested, you are free to provide quantitative or semiquantitative data (e.g., +, +++) in the Comments column. The latter information is voluntary, but very helpful for the final evaluation of this proficiency testing program.

Completing of Report Form

Please return the completed Results Form no later than the requested date (postmark date) to:

INSTAND e.V.
Abt. Qualitätssicherung
Postfach 250211
40093 Düsseldorf, GERMANY.

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

CODE-Nummern

PCR-/NAT *Neisseria gonorrhoeae*
& *Chlamydia trachomatis* (RV 430)

Die Code Nummern für die Verschlüsselung sind in 6 Gruppen aufgeteilt.

Angaben unter den technischen Kategorien [I] bis [V] erfolgen auf freiwilliger Basis. Sie werden vertraulich behandelt und dienen vor allem zu statistischen Zwecken.

Angaben unter [VI] sind verpflichtend.

Gruppe [I] (DNA Extraktion)

11: Proteinase K / Zentrifugensäulchen
12: Kommerzieller DNA Extraktionskit **
13: Phenol / Chloroform Extraktion 19: Andere **

Gruppe [II] (Amplifikation)

21: GenProbe AMPLIFIED
22: Roche Amplicor 23: COBAS Amplicor
24: BD ProbeTec 25: Abbott LCx
27: Anderes kommerzielles Testsystem / Kit **
28: *In house* PCR Protokoll 29: Andere **

Gruppe [III] (Detektion / Identifizierung)

31: Kommerzielles Testsystem (Codes 21-27)
32: Agarosegel Elektrophorese
33: Hybridisierung mit markierten Sonden
34: Nested PCR
35: Real-Time PCR (TaqMan-Format)
36: Real-Time PCR (LightCycler)
37: DNA Sequenzierung 39: Andere **

Gruppe [IV] (Positiv u/o Inhibitionskontrollen)

41: Kommerzielles Testsystem (Codes 21-27)
42: Interne Kontrolle (rekombinantes Plasmid o.ä.)
43: Externe Kontrollen (Plasmid, β -Globin Gen, etc.)
44: Genomische DNA d. entsprechenden Erregers
48: Andere ** 49: Keine Kontrollen durchgeführt

Gruppe [V] (Zielsequenz)

51: Kommerzielles Testsystem (Codes 21-27)
52: Ribosomales Gen (16S rDNA, 28S rDNA, ITS)
53: Bakteriell *rpoB* Gen 59: Andere **

Gruppe [VI] (Ergebnisse*)

61: Positiv Ct 64: Negativ
62: Positiv Ct & GO 65: Fraglich
63: Positiv GO 66: Inhibition

* Ct: *C. trachomatis*; GO: *N. gonorrhoeae*

** (bitte unter **Bemerkungen** kurz erläutern)

BACTERIAL GENOME DETECTION

CODE Numbers

PCR-/NAA *Neisseria gonorrhoeae*
& *Chlamydia trachomatis* (RV 430)

Code numbers are subdivided into six groups. Although providing technical specifications of the applied assays is highly desired for statistical purposes (individual data will be kept confidential), completing groups [I] to [V] is on a voluntary basis.

Completing of group [VI] is mandatory.

Group [I] (Sample preparation)

11: Proteinase K / spin column
12: Commercial DNA extraction kit **
13: Phenol / chloroform extraction 19: Other **

Group [II] (Amplification)

21: GenProbe AMPLIFIED
22: Roche Amplicor 23: COBAS Amplicor
24: BD ProbeTec 25: Abbott LCx
27: Other commercial assay / kit **
28: *In house* PCR assay 29: Other **

Group [III] (Detection / identification)

31: Commercial assay system (codes 21-27)
32: Agarose gel electrophoresis
33: Hybridization with labelled probe
34: Nested PCR
35: Real-Time PCR (TaqMan format)
36: Real-Time PCR (LightCycler)
37: DNA sequencing 39: Other **

Group [IV] (Positive and/or inhibition control)

41: Commercial assay system (codes 21-27)
42: Internal control (recombinant plasmid etc.)
43: External controls (plasmid, β -globin gene, etc.)
44: Genomic DNA of the corresponding pathogen
48: Other ** 49: No inhibition control applied

Group [V] (Target gene)

51: Commercial assay system (codes 21-27)
52: Ribosomal gene (16S rDNA, 28S rDNA, ITS)
53: Bacterial *rpoB* gene 59: Other **

Group [VI] (Results*)

61: Positive Ct 64: Negative
62: Positive Ct & GO 65: Questionable
63: Positive GO 66: Inhibition

* Ct: *C. trachomatis*; GO: *N. gonorrhoeae*

** (please specify in the **Comments** section)