



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 433: *Helicobacter pylori*

Die Verfügbarkeit gut evaluierter NAT-gestützter Analysesysteme und die relativ große Menge an Zielorganismen in der positiven Probe #32304 führte beim Nachweis von *H. pylori* zu relativ hohen Richtigkeitsquoten für die Proben #32301 und #32304. Probe #32202 enthielt diesmal eine relativ geringe Menge an *H. pylori*, die aber zumindest mit den PCR-Testsystemen von 6 der insgesamt 11 Teilnehmer eindeutig nachzuweisen war. Die Richtigkeitsquote der negativen Befunde wurde durch 7 falsch-positive Ergebnisse für Probe #32303 sehr stark gedrückt. Diese Probe enthielt *Helicobacter mustelae* und 4 der 7 Teilnehmer mit falsch-positivem Ergebnis gaben hier die Verwendung eines ribosomalen Gens (16S rDNA, 28S rDNA oder ITS) als Zielsequenz für Ihre *H. pylori*-spezifischen PCR-Testsysteme an. Offensichtlich weisen diese Testkonzepte gewisse Mängel hinsichtlich ihrer Spezies-Spezifität auf. Interessanterweise wurden auch bei 3 der 5 Teilnehmer, die *H. pylori*-spezifische Teile des Urease-Gens als Zielsequenz gewählt haben, falsch-positive Ergebnisse für die Probe #32303 bzw. eine Kreuzreaktion mit *H. mustelae* DNA beobachtet. Eine eventuelle Kontamination des ausgesandten Probenmaterials mit *H. pylori* DNA kann in diesem Zusammenhang aufgrund unseres speziellen Produktionsprozesses jedoch weitgehend ausgeschlossen werden.

Alle Teilnehmer verwendeten zum NAT-gestützten Nachweis von *H. pylori* selbstentwickelte (*in house*) Testsysteme mit Inhibitions- und/oder Positivkontrollen und bei keiner der untersuchten Proben wurden signifikante Inhibitionsereignisse beobachtet.

Wie in der Beschreibung des Ringversuchs 433 vermerkt, konnten die Teilnehmer auf freiwilliger Basis auch die vermeindliche Clarithromycin-Resistenz der untersuchten *H. pylori* Isolate mitteilen. Diese Spezialuntersuchung zur molekularbiologischen Resistenztestung erfolgt in der Regel über die Amplifikation und Sequenzierung von charakteristischen Bereichen innerhalb der *H. pylori* 28S rDNA. Korrekte Ergebnisse wurden hier bei 3 von 3 Teilnehmern mitgeteilt.

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 *Helicobacter pylori*
 (RV 433) November 2003**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

Gruppe A	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
32301	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
32302	+	61 / 72	<i>Helicobacter pylori</i> (~ 1x10 ⁴ CFU/mL); Clarithromycin susceptible (wildtype 28S rDNA sequence)
32303	∅	62	<i>Helicobacter mustelae</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL);
32304	++	61 / 71	<i>Helicobacter pylori</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL) Clarithromycin resistant (GAG mutation in 28S rDNA)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

n = 11	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	32301	32302	32303	32304		32301	32302	32303	32304
Befund Result									
Positiv	0	6	7	10	n.d.	0	0	0	0
Negativ	10	4	3	0	nein no	11	11	11	11
Fraglich Questionable	1	1	1	1	ja yes	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 True positive results			NAT richtig negativ True negative results		
	Absolut Absolute	Relativ Relative	%	Absolut Absolute	Relativ Relative	%
In house PCR assay [28] (n = 11)	18	18 / 22	82	15	15 / 22	68 ¹⁾
Andere / other [29] (n = 0)	-	-	-	-	-	-

* 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⁾ Seven false-positive results were observed for sample #31303 (*H. mustelae*);
 These participants have either used a ribosomal gene or sections within the urease gene as target sequence for their "*H. pylori*-specific" PCR assays.

**PCR-/NAT *Helicobacter pylori*
 (RV 433) November 2003**



***Helicobacter pylori*-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):

- Professor Bogdan, Universität Freiburg
- Professor König, Universität Magdeburg
- Professor Megraud, Hôpitaux de Bordeaux, F

<i>Helicobacter pylori</i> (RV 433) Nov 2003	Erwartetes Ergebnis Expected Result	Labor 1	Labor 2	Labor 3		
Anmerkungen*		[28]	[28]	[28]		
32301	∅	-	-	-		
32302	+ a)	-	-	+ a)		
32303	++ c)	+ b)	+	-		
32304	++ b)	+ b)	+	+ b)		

Anmerkungen / comments*: Code number [amplification system]

- a) *H. pylori* (wt; presumably Clarithromycin-susceptible)
- b) *H. pylori* (mt; presumably Clarithromycin-resistant)
- c) *Helicobacter mustelae*

433 Bakteriengenom-Nachweis *Helicobacter pylori*

status 11.2003

Reischl / Lehn / Wolf

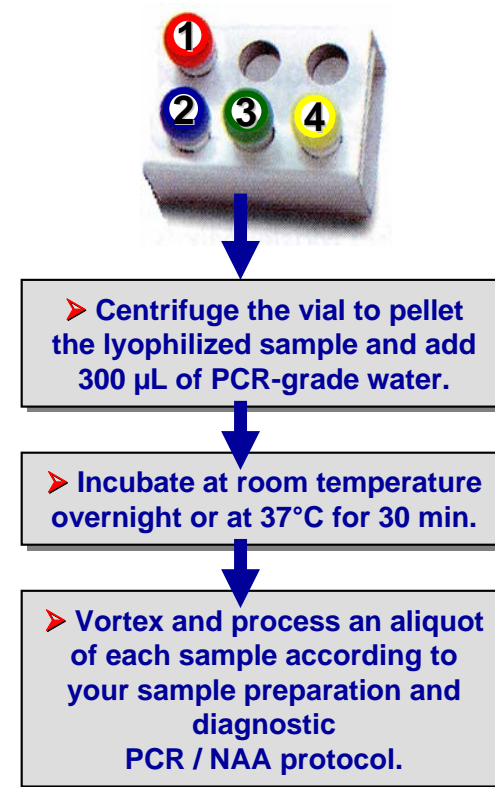
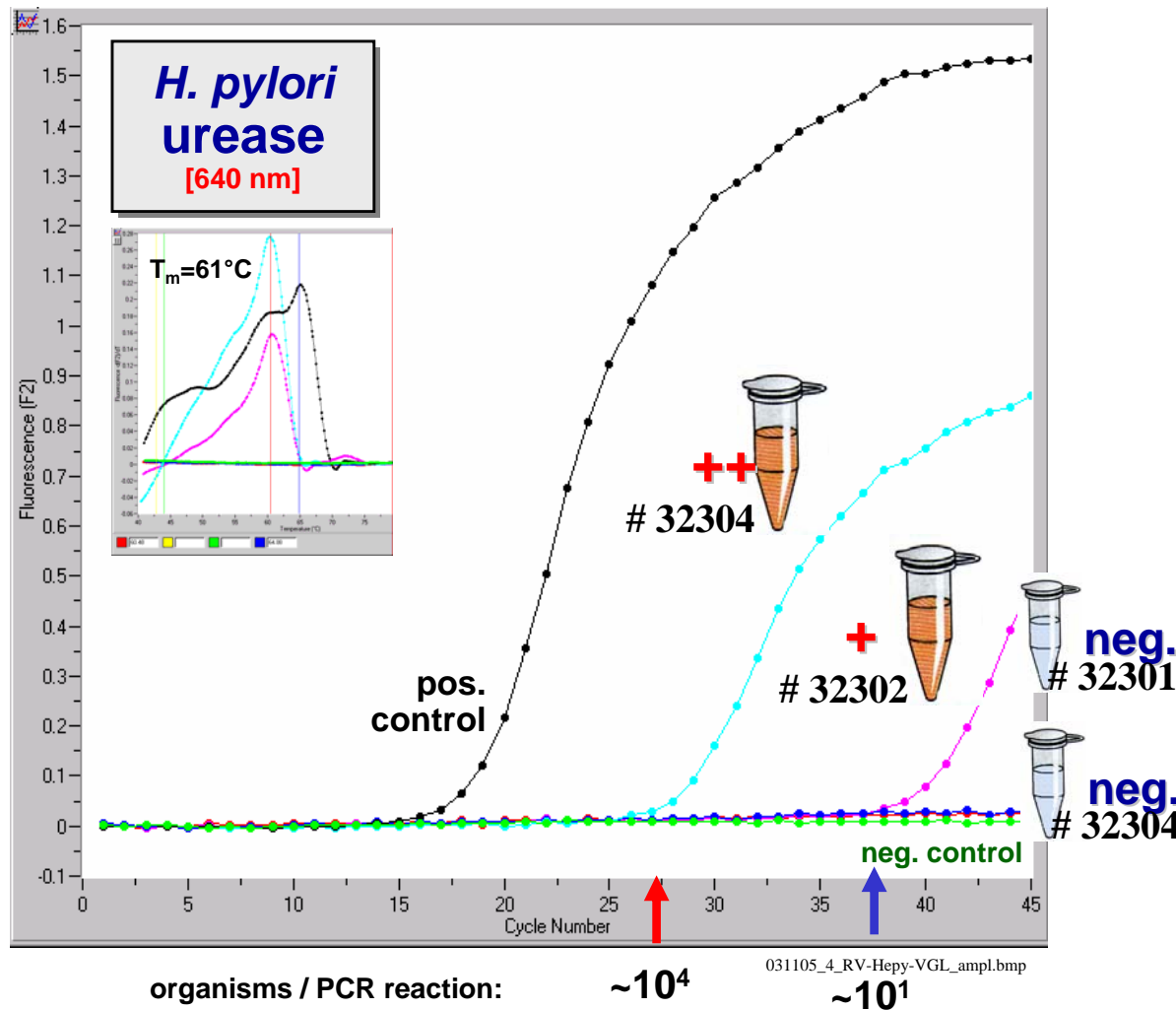
Evaluation (quantitative Real-Time PCR):

- 1 Hepy 32301/neu
- 2 Hepy 32302/neu >41.00
- 3 Hepy 32303/neu
- 4 Hepy 32304/neu 28.46
- 9 poKo Hepy/Urease 18.73
- 10 neg. MM H2O



LightCycler PCR protocol:

Reischl, U., B. Leppmeier, M. Heep, D. Beck, and N. Lehn (2001) Rapid and specific detection of *Helicobacter pylori* by LightCycler PCR. In: Rapid Cycle Real-Time PCR: Methods and Applications (Meurer, S., Wittwer, C., and Nakagawra, K.-I., eds.), ISBN 3-540-66736-9, Springer Press, Heidelberg, pp. 323-330.



U. Reischl/RIMMH/11.2003





433 Bakteriengenom-Nachweis *Helicobacter pylori*

status 11.2003

Reischl / Lehn / Wolf

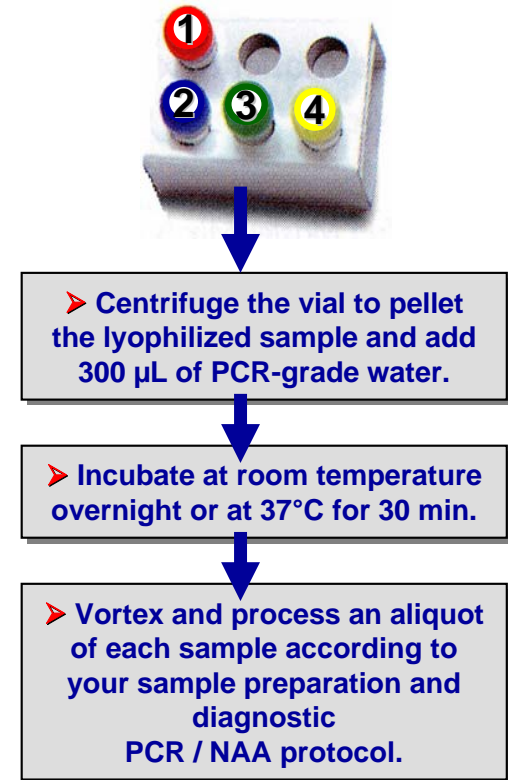
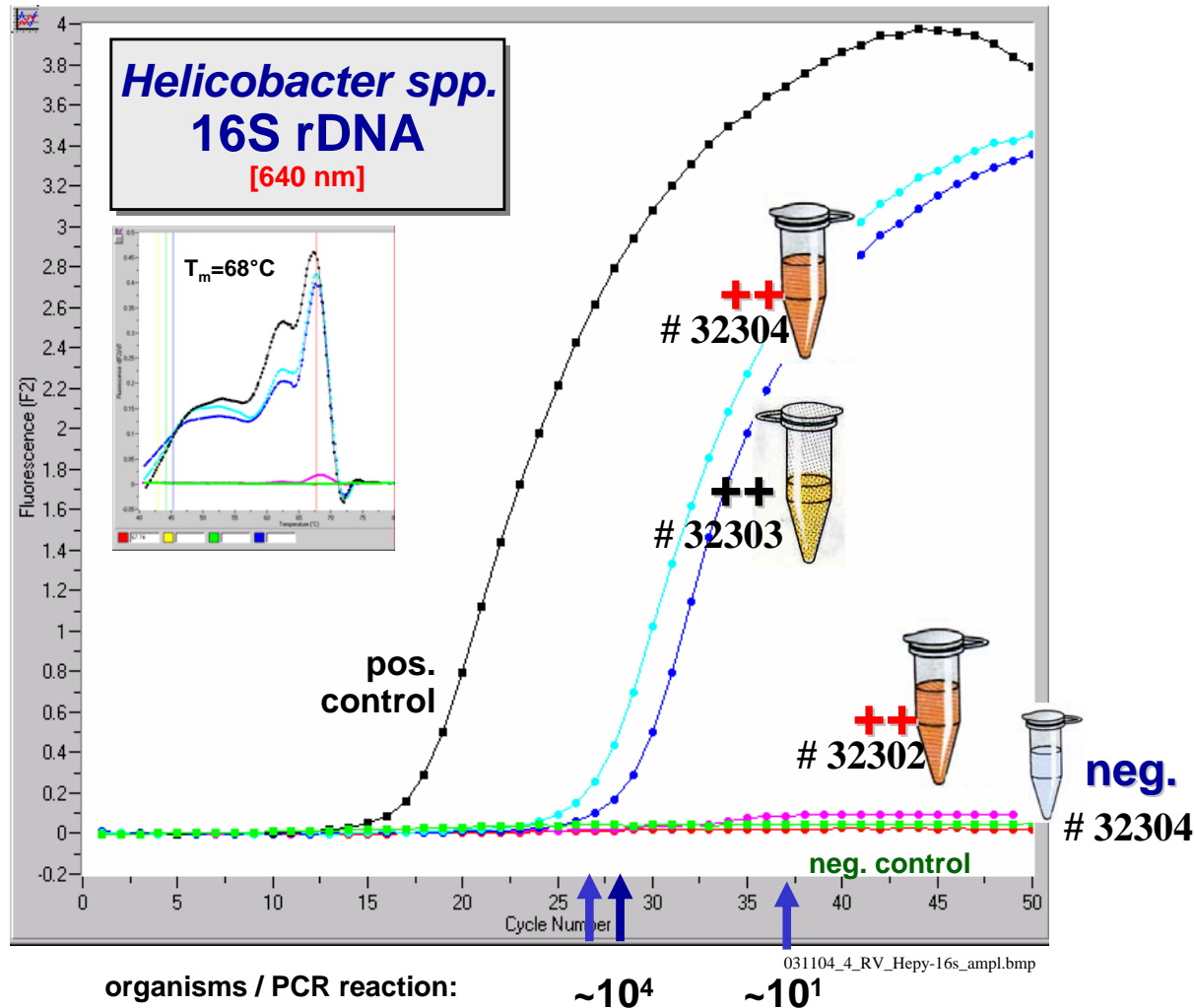
Evaluation (quantitative Real-Time PCR):

- 7 Hepy 32301
- 8 Hepy 32302 33.60
- 9 Hepy 32303 25.98
- 10 Hepy 32304 23.89
- 11 Pos Hepy 16S 15.28
- 12 Neg Ko



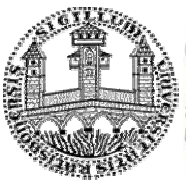
LightCycler PCR protocol:

Reischl, U., B. Leppmeier, M. Heep, D. Beck, and N. Lehn (2001) Rapid and specific detection of *Helicobacter pylori* by LightCycler PCR. In: Rapid Cycle Real-Time PCR: Methods and Applications (Meurer, S., Wittwer, C., and Nakagawra, K.-I., eds.), ISBN 3-540-66736-9, Springer Press, Heidelberg, pp. 323-330.



U. Reischl/RIMMH/11.2003





433 Bakteriengenom-Nachweis *Helicobacter pylori*

status 11.2003

Evaluation (quantitative Real-Time PCR):

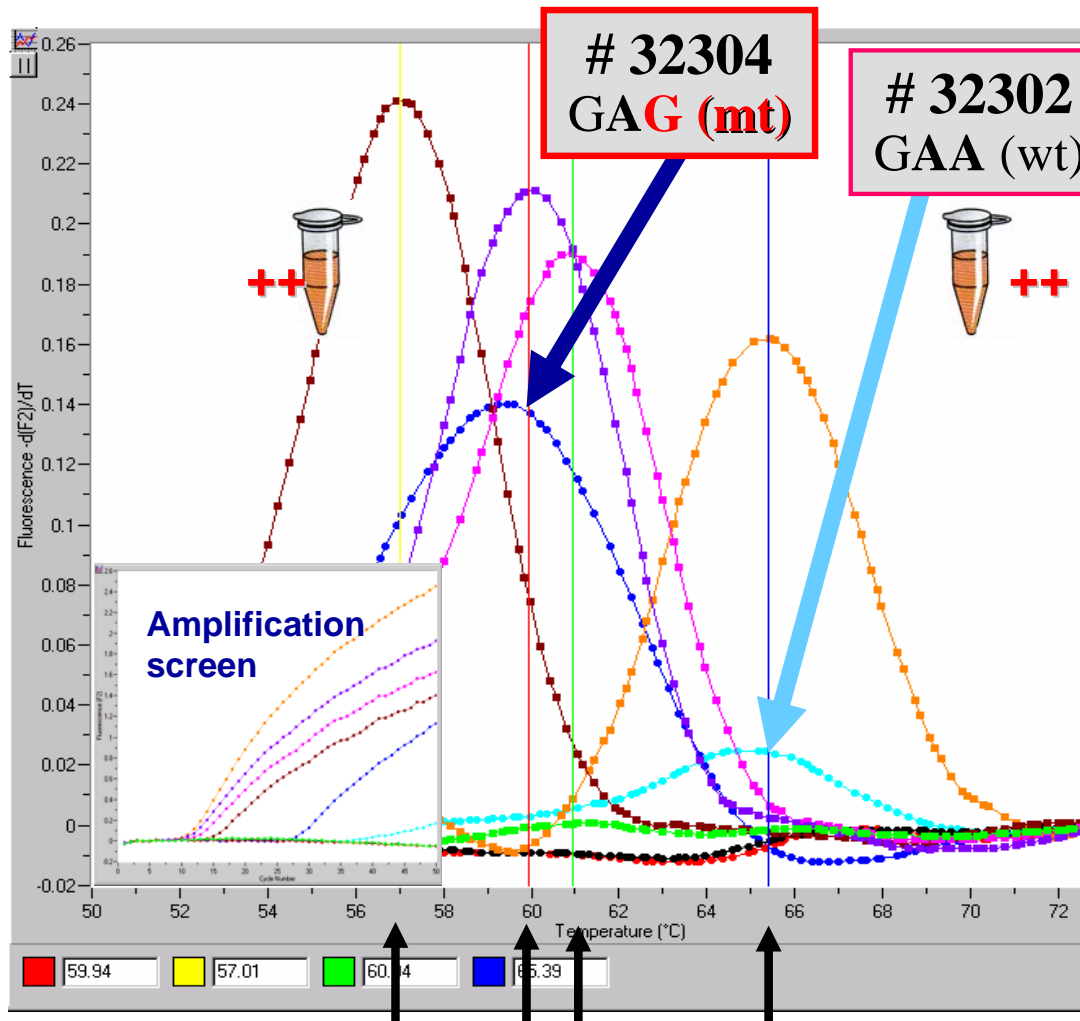
Reischl / Lehn / Wolf

H. pylori
 Clari-Resistance
 28S rDNA

- 1 Hepy 32301
- 2 Hepy 32302
- 3 Hepy 32303
- 4 Hepy 32304
- 5 Plasmid AA
- 6 Plasmid AG
- 7 Plasmid GA
- 8 Plasmid CA
- 9 neg. MM H2O



LightCycler PCR protocol:
 unpublished *in house* protocol.



- 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



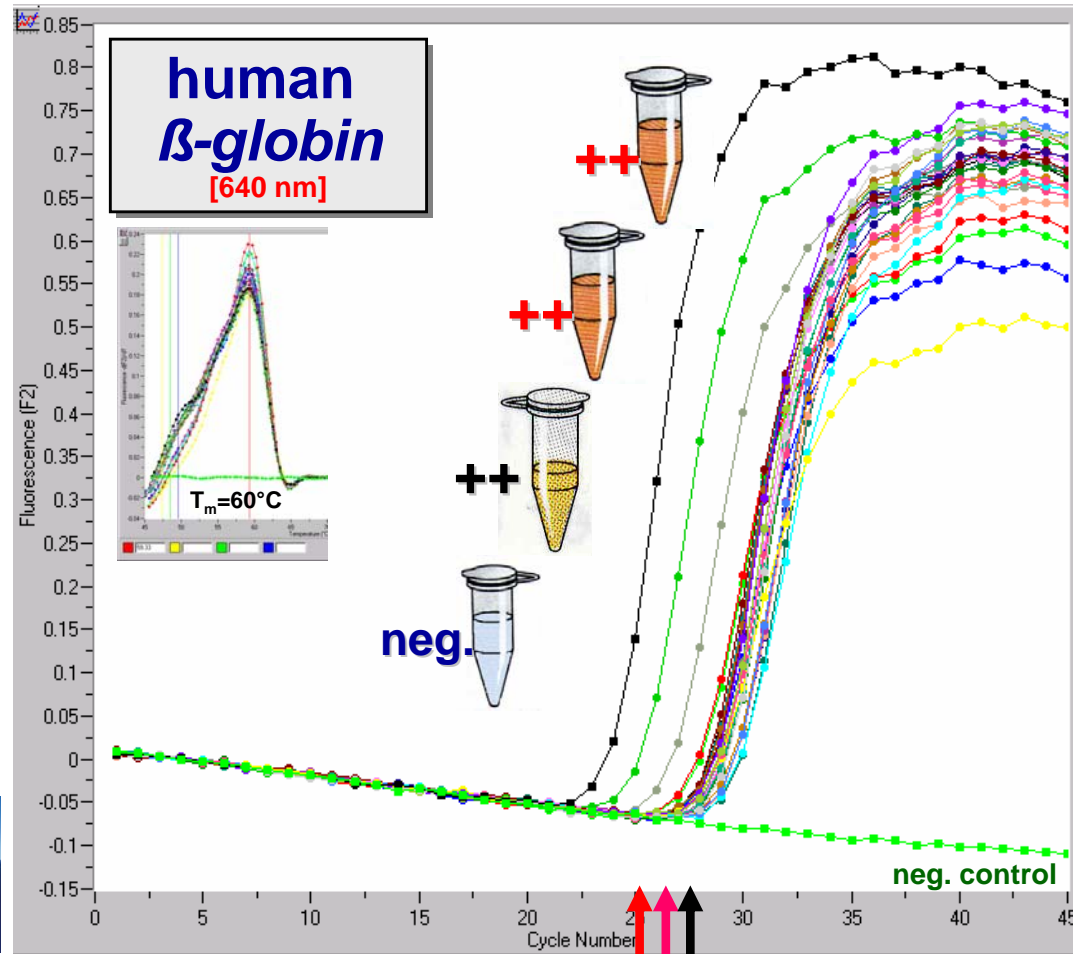
432- 438 Bakteriengenom-Nachweis *all sets*

status 11.2003

➤ Evaluation (quantitative Real-Time PCR):

Reischl / Lehn / Wolf

1	RV-Bope 32201	27.68
2	RV-Bope 32202	27.04
3	RV-Bope 32203	26.95
4	RV-Bope 32204	27.71
5	RV-Hepy 32301	28.17
6	RV-Hepy 32302	29.03
7	RV-Hepy 32303	28.84
8	RV-Hepy 32304	25.88
9	RV-EHEC 32401	28.74
10	RV-EHEC 32402	28.85
11	RV-EHEC 32403	28.70
12	RV-EHEC 32404	27.72
13	RV-Bobu 32501	27.84
14	RV-Bobu 32502	28.04
15	RV-Bobu 32503	28.14
16	RV-Bobu 32504	28.43
17	RV-Lepn 32601	27.85
18	RV-Lepn 32602	27.58
19	RV-Lepn 32603	28.29
20	RV-Lepn 32604	27.79
21	RV-Salspp. 32701	28.98
22	RV-Salspp. 32702	28.82
23	RV-Salspp. 32703	27.88
24	RV-Salspp. 32704	28.08
25	RV-Lisp 32801	27.97
26	RV-Lisp 32802	24.56
27	RV-Lisp 32803	28.10
28	RV-Lisp 32804	28.50
29	poKo β-Globin 75ng	23.12
30	neg. MM H2O	37.42



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



human cells / PCR reaction: ~10³

030923_3_RV_β-Globin-ampl.bmp



- 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



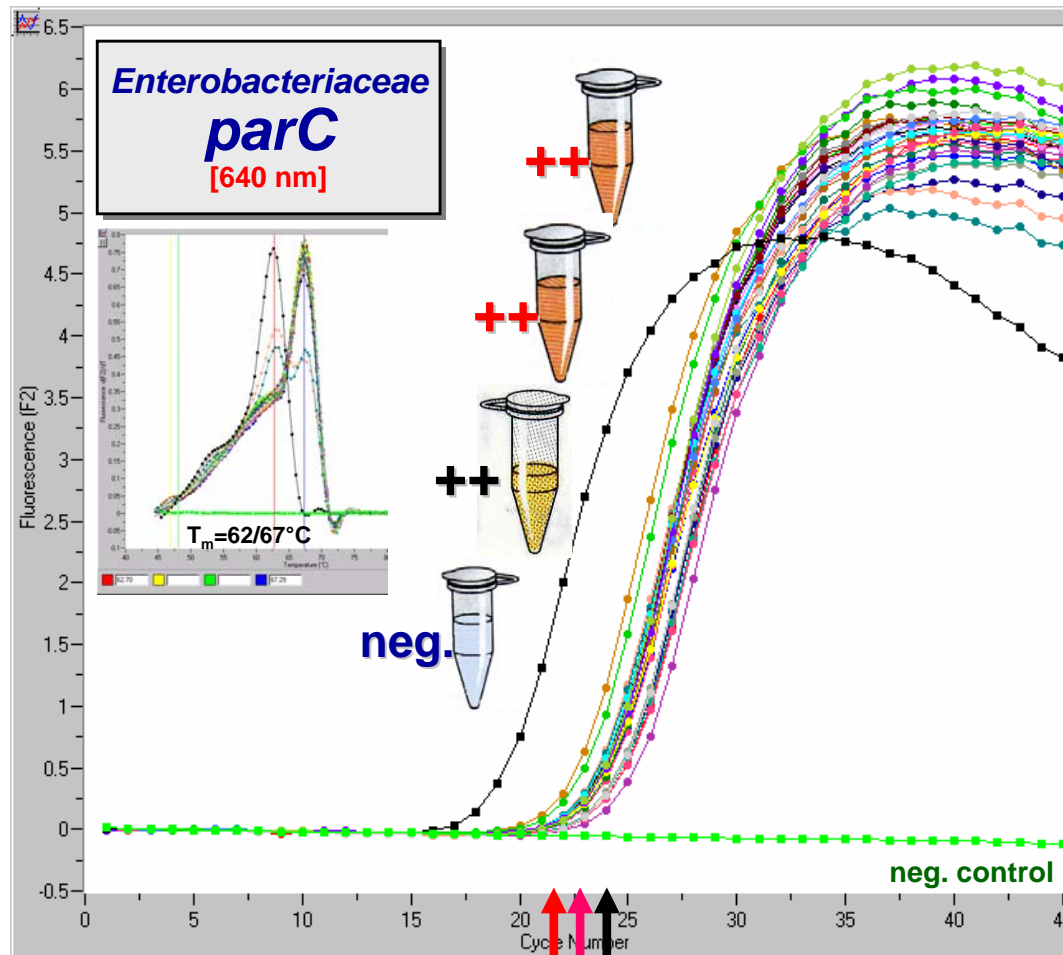
432- 438 Bakteriengenom-Nachweis *all sets*

status 11.2003

➤ Evaluation (quantitative Real-Time PCR):

Reischl / Lehn / Wolf

1	RV-Bope 32201	23.73
2	RV-Bope 32202	23.57
3	RV-Bope 32203	24.50
4	RV-Bope 32204	23.50
5	RV-Hepy 32301	23.87
6	RV-Hepy 32302	24.30
7	RV-Hepy 32303	24.21
8	RV-Hepy 32304	24.10
9	RV-EHEC 32401	23.05
10	RV-EHEC 32402	24.88
11	RV-EHEC 32403	22.33
12	RV-EHEC 32404	23.07
13	RV-Bobu 32501	23.66
14	RV-Bobu 32502	23.50
15	RV-Bobu 32503	23.81
16	RV-Bobu 32504	23.90
17	RV Lepn 32601	23.56
18	RV Lepn 32602	23.45
19	RV Lepn 32603	24.24
20	RV Lepn 32604	23.65
21	RV Salspp. 32701	23.32
22	RV Salspp. 32702	23.60
23	RV Salspp. 32703	23.62
24	RV Salspp. 32704	24.47
25	RV Lisp 32801	23.75
26	RV Lisp 32802	22.72
27	RV Lisp 32803	23.68
28	RV Lisp 32804	24.32
29	poKo parC (E.coli)	18.76
30	neg. MM H2O	

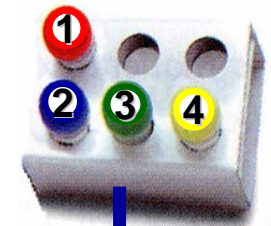


LightCycler PCR protocol:
 -unpublished-



Enterobact. / PCR reaction: ~10⁵

030924_3_RV_parC-ampl.bmp



- 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



PCR-/NAT *Helicobacter pylori* (RV 433)

PCR-/NAA *Helicobacter pylori* (RV 433)

***Helicobacter pylori* DNA-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 *H. pylori*-PCR/NAT Nachweis zu untersuchen.

Testdurchführung und Ergebnisinterpretation

Das Konzept dieses Ringversuchs ist auf die Bestimmung von *H. pylori* DNA im Probenmaterial ausgelegt. Da das Probenmaterial auch Proteine, div. 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 Nachweishgrenze", "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 *Helicobacter pylori* DNA 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 *H. pylori*-PCR/NAA established in your routine diagnostic setting.

Testing and reporting of results

The concept of this proficiency panel is designed for determination of *H. pylori* DNA 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 Report 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 *Helicobacter pylori* (433)

Die Code Nummern für die Verschlüsselung sind in 7 Gruppen aufgeteilt.

Angaben unter den technischen Kategorien [I] bis [V] sowie [VII] 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)

27: 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: Urease Gen 59: Andere **

Gruppe [VI] (Ergebnisse)

61: **Positiv** 63: **Fraglich**
62: **Negativ** 64: **Inhibition**

Gruppe [VII] (Molekulare Resistenztestung)

71: Vermeindlich Clarithromycin-resistent
72: Vermeindlich Clarithromycin-sensibel

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

CODE Numbers PCR-/NAA *Helicobacter pylori* (433)

Code numbers are subdivided into seven 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], and [VII], is voluntary.

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)

27: Commercial assay system / 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: Urease gene 59: Other **

Group [VI] (Results)

61: **Positive** 63: **Questionable**
62: **Negative** 64: **Inhibition**

Gruppe [VII] (Molecular susceptibility testing)

71: Presumably Clarithromycin-resistant
72: Presumably Clarithromycin-susceptible

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