



IN STAND e.V.

**Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung
in medizinischen Laboratorien e. V.**



in Zusammenarbeit mit der
Deutschen Gesellschaft für
Hygiene und Mikrobiologie (DGHM)



INSTITUT FÜR MEDIZINISCHE
MIKROBIOLOGIE UND HYGIENE
Direktor: Prof. Dr. Dr. André Gessner

Regensburg, den 12. Dezember 2022

RINGVERSUCHSAUSWERTUNG - November 2022

An die Teilnehmer

der IN STAND e.V. Ringversuche Bakterien- und Pilzgenomnachweis PCR / NAT
(INSTAND-Ringversuchsnummern 530 bis 547 sowie 560)

Dear Participant, dear Colleague,

Please find a cover letter in English on page 9 of this document. As always, result tables and brief comments on the current results are kept in a bilingual style.

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 in gewohnter Weise der beigelegten Teilnahmebescheinigung entnehmen.

Falls Sie an einer etwas umfangreicheren Diskussion unserer Ringversuchsaktivitäten im Bereich "Bakterien- und Pilzgenom-Nachweis" und näheren Informationen zur Konzeption der Ringversuchspuren interessiert sein sollten, sei hier auf die regelmäßigen Veröffentlichungen der Zeitschrift "Der Mikrobiologe" (Herausgeber: BÄMI, Berufsverband der Ärzte für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie e.V.) verwiesen.

Im Zusammenhang mit einer Erweiterung unseres Ringversuchsprogramms und der Gestaltung zukünftiger erregerspezifischer Ringversuche sind wir für alle kritischen Kommentare und Anregungen überaus dankbar. Projekte wie diese wachsen mit dem konstruktiven *feedback* der einzelnen Teilnehmer. Im Voraus vielen Dank für Ihren Kommentar!

Mit freundlichen und kollegialen Grüßen,

Prof. Dr. Udo Reischl

Ringversuchsleiter Bakteriengenomnachweis
Mitglied der Qualitätssicherungskommission der DGHM

**Dr. A. Hiergeist, Dr. M. Baier, Prof. Dr. M. Maaß, Dr. R. Dumke, Dr. V. Fingerle,
Prof. Dr. A. Sing, Dr. U. Busch, PD Dr. D. Frangoulidis, Dr. H. von Buttlar, PD Dr. G. Grass,
PD. Dr. H. Scholz, Dr. R. Ehmann, Dr. I. Reiter-Owona, Dr. A. Anders**

Gesamtübersicht und Auswertung der Ringversuchsergebnisse aller Teilnehmer

Neben der Aussendung von lyophilisierten Probenmaterialien zur systematischen Abprüfung von NAT-gestützten Testsystemen für derzeit 19 unterschiedliche bakterielle und fungale Zielorganismen bzw. Pathogenitätsfaktoren gab es im Rahmen dieser Ringversuchsrunde auch wieder gewisse „Highlights“.

So wurden beispielsweise im aktuellen **RV 532 *Bordetella pertussis*** eine der vier Proben mit ***B. holmesii*** Zielorganismen versetzt. Zudem befand sich in einer Probe ein Patientenisolat von ***B. parapertussis***. Erfreulicherweise wurden diesmal auch bei dieser methodisch etwas anspruchsvolleren Konstellation nur eine relativ geringe Anzahl von falsch-positiven bzw. falsch-negativen Ergebnissen berichtet (jeweils ca. 6 % der Teilnehmer). Die relativ heterogene Ergebniskonstellation bei dem *B. holmesii* Isolat ist hinten in der erregerspezifischen Sektion noch etwas näher diskutiert.

In einer der 4 Einzelproben des aktuellen Ringversuchs **RV 560: *Pneumocystis jirovecii*** befanden sich in der aktuellen Aussendung mit 5×10^3 Org./mL nur relativ geringe Mengen an Zielorganismen. Offenbar bereitete der zuverlässige PCR-gestützte Nachweis dieser geringen Konzentrationen einigen Teilnehmern (bzw. den von ihnen eingesetzten Testsystemen) gewisse Probleme.

Mit der Auswahl eines etwas breiteren Spektrums von relevanten Carbapenemase Genen bestätigte sich ja im Rahmen der vorhergehenden Ringversuche **RV 544 Carbapenemase Gene** die Vermutung, dass viele der derzeit verwendeten kommerziellen sowie *in-house* Testsysteme zur molekularen Carbapenemase Detektion noch gewisse Lücken hinsichtlich der Abdeckung von unterschiedlichen Carbapenemase Genen aufweisen. Der aktuelle Ringversuch enthielt nun eine bunte Kollektion von Isolaten mit verschiedenen Carbapenemase-Genen - und diese wurden erfreulicherweise von nahezu allen Teilnehmern korrekt nachgewiesen und befundet. Im Umfeld der molekularen Testung von Carbapenemase Genen unterstützt uns Frau Dr. Agnes Anders vom NRZ für gramnegative Krankenhauserreger weiterhin bei der Auswahl von relevanten "interessanten" klinischen Isolaten.

Alle Teilnehmer sind natürlich weiterhin dazu aufgerufen, attraktive Parameter für eine zukünftige Erweiterung des Spektrums an Zielorganismen vorzuschlagen und deren mögliche Umsetzung mit dem Ringversuchsleiter zu diskutieren.

Für die externe Qualitätssicherung zukünftig kommerziell verfügbarer (und damit wohl auch vermehrt eingesetzter) **PCR/NAT Multiplex-Nachweisverfahren für Urogenital-Infektionen** haben wir seit Mai 2019 den neuen Ringversuch **RV 547 "Urogenital-Panel"** routinemäßig etabliert, der vom Konzept her jeweils einige der nachfolgenden Erreger in unterschiedlichen Kombinationen und Mengen innerhalb des 4-er Panels enthält:

Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis und ggf. ***Treponema pallidum***.

Nach 19 Teilnehmern beim Pilotringversuch 2018 und 68 Teilnehmern im November 2019 haben sich diesmal bereits 121 Teilnehmer registriert. Wir werden uns weiterhin nach Kräften bemühen, der deutlich steigenden Nachfrage auch bei den zukünftigen Ringversuchsrunden mit ausreichenden Mengen an geeignetem Probenmaterial nachkommen zu können.

► **Aktueller Hinweis:** Nachdem in der Ringversuchsrunde November 2019 die Übermittlung der Ringversuchsergebnisse erstmals von den gewohnten Papierformularen auf unsere **neue online Eingabeplattform** umgestellt wurde und während der aktuellen Befundeingabephase innerhalb des Teilnehmerkreises offenbar nur einige wenige (und dann zumeist auch schnell lösbare) Probleme aufgetreten sind, konnte auch die statistische Dokumentation der einzelnen Ergebnisse und Befundkonstellationen deutlich erweitert werden. Sie haben das sicherlich bereits an den zahlreichen zusätzlichen Grafiken bemerkt, die Sie zusammen mit dem Zertifikat zugesandt bekommen. Auch wenn dem Ringversuchsleiter und seinem hochmotivierten Team der "Abschied" von der traditionell umfangreichen Dokumentation und Diskussion der einzelnen

Erreger- und Pathogenitätsfaktor-spezifischen Ringversuchsteile nicht leicht gefallen ist werden wir uns im Folgenden zukünftig nur noch auf einige wesentliche Auffälligkeiten beschränken. Da sich das offizielle Layout der schönen orangefarbenen Zertifikate und Statistiken etwas von der bisher gewohnten Form unterscheidet, werden wir **für die Traditionalisten unter Ihnen** jedoch auch **weiterhin die übersichtlichen Tabellen 1 bis 3 in gewohnter Form anfertigen** und online zur Verfügung stellen. Tabelle 1 zeigt dabei die Probenzusammensetzung und das erwartete Ergebnis (Sollwert) mit den entsprechenden Codenummern der Ergebnisbögen.

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.

Viele der seriösen Diagnostika-Hersteller geben sich größte Mühe bei der Testentwicklung und klinischen Evaluierung - und sind dann (zurecht) stolz auf die Leistungsdaten ihrer modernen PCR/NAT Assays. Auffällig bei vielen der aktuellen aber auch bei einigen der früheren Ringversuche ist das unterschiedlich gute Abschneiden von Teilnehmern mit ein und demselben kommerziellen, vorkonfektionierten und teilweise auch automatisierten und/oder kartuschenartig geschlossenen Testsystemen. Die meisten dieser Assays sind zudem auch noch IVD zertifiziert - mit allen aufwändigen herstellerseitigen Vorkehrungen zur "zuverlässigen" Durchführung und standardisierten Ergebnisinterpretation. Die auffällige "Streuung der Performance" (bzw. das Auftreten einzelner Ausreißer) unterstreicht aus Sicht des Ringversuchsleiters umso mehr die Bedeutung der Qualitätsstandards, wie beispielsweise das regelmäßige Mitführen von geeigneten Extraktions-, Positiv- und Negativ-Kontrollen sowie Schulungen und kontrollierte Maßnahmen zur Vermeidung von exogenen Kontaminationsmöglichkeiten in PCR/NAT-Arbeitsbereichen, die u.a. im Rahmen der aktuellen RiLiBÄK, der Akkreditierung und der praxisorientiert verfassten MIQ-1 gefordert werden. Deren Sinnhaftigkeit und Stringenz mag aus Anwendersicht ja gelegentlich bezweifelt werden, wird aber in diesen Ringversuchsrunden (sozusagen von neutraler Warte aus) dennoch immer wieder aufs Neue bestätigt.

Vielleicht lohnt es sich unter diesen Gesichtspunkten doch wieder mal ein Blick in die MIQ-1 oder die RiLiBÄK um hier und dort noch ungenutztes Potential auszuschöpfen... Maximale diagnostische Sicherheit sollte doch unser aller Prämisse sein und das unnötige bzw. fahrlässige Generieren von falsch-negativen oder falsch-positiven Befunden (und vor allem deren Folgen für die betroffenen Patienten) sind unserer Einschätzung nach durch keine methodischen oder ökonomischen Ausflüchte zu entschuldigen!

Also "nix für ungut" liebe Kolleginnen und Kollegen, wie der Bayer so schön sagt ;-)

NOVEMBER 2022:

Entsprechend des Grundgedankens unserer Ringversuchsaktivitäten wurde auch bei der Konzeption des aktuellen Ringversuchs zum "Bakteriengenomnachweis mittels PCR oder anderer Nukleinsäureamplifikationstechniken (NAT)" bei einigen Zielorganismen der Versand von Proben mit relativ niedrigen Erregerzahlen angestrebt. In den aktuellen Ringversuchssets befanden sich daher erneut einige Proben mit relativ geringer Menge folgender Zielorganismen: *Neisseria gonorrhoeae* (Probe # 2225301), *Borrelia spp.* (Probe # 2225352), *Salmonella enterica* (Probe # 2225374), *Listeria spp.* (Probe # 2225381), *Mycoplasma pneumoniae* (Probe # 2225414), *Francisella tularensis* (Probe # 2225434), Urogenital Panel - *Ureaplasma urealyticum* (Probe # 2225471) sowie *Pneumocystis jirovecii* (Probe # 2225601).

Im Rahmen der Testentwicklung bzw. Testoptimierung können diese Probensätze, u. a. als Qualitätskontrollen oder als standardisierte Sensitivitätsmarker, für die Austestung der unteren Nachweisgrenze von eigenentwickelten Nukleinsäure-gestützten Testsystemen dienen. An dieser Stelle möchten wir auch darauf hinweisen, dass zahlreiche Rückstell-Probensätze der früheren

Ringversuche noch verfügbar sind, und bei Bedarf über den Ringversuchsleiter formlos nachbestellt werden können.

Mit Ausnahme der zuvor erwähnten "grenzwertig positiven" Einzelproben wurden die Mengen der entsprechenden Zielorganismen in den Probensätzen der aktuellen Ringversuchsrunde wieder relativ deutlich über der Nachweisgrenze von "durchschnittlich sensitiven PCR/NAT-Testkonzepten" eingestellt. Diese definieren wir wie folgt: als Richtwert für die Bewertung von Ringversuchsergebnissen gilt das 10- bis 50-fache der unteren Nachweisgrenze durchschnittlich sensitiver PCR-Protokolle unter Standardbedingungen (etablierte *real-time* PCR Protokolle; gut evaluierte Primersequenzen).

Bei den meisten Probenmaterialien der aktuellen Ringversuchsrunde stellen falsch-negative Ergebnisse damit einen deutlichen Hinweis auf ernstzunehmende Mängel innerhalb der eingesetzten Verfahren zur Nukleinsäure-Extraktion, Amplifikation und Detektion dar.

Falsch-positive Ergebnisse sind dagegen in der Regel als Hinweis auf eine Kreuzkontamination während der Probenextraktion bzw. -abarbeitung und/oder auf mangelnde Spezifität der eingesetzten Testsysteme zu betrachten. Für die objektive Bewertung von kommerziellen Testsystemen sollten neben der rein statistischen Betrachtung der mitgeteilten Ringversuchsergebnisse auch die Anzahl und vor allem die methodische bzw. technische Qualifikation der individuellen Teilnehmer berücksichtigt werden. Da wir im Zuge unserer Ringversuche aber das gesamte Spektrum von spezialisierten Expertenlabors bis hin zum "Gelegenheitsanwender" abdecken, müssen die arithmetisch ermittelten Richtigkeitsquoten bei der Bewertung einzelner Testsysteme immer mit einem gewissen Toleranzbereich betrachtet werden. Zusätzlich stehen für die früheren, für diesen und für alle folgenden Ringversuche eine Reihe zusätzlicher Informationen unter folgender Internetadresse: "www.udo-reischl.de"; Unterpunkt "Auswertung der Ringversuche" und natürlich auch über die Homepage von INSTAND e.V. (www.instand-ev.de) als *pdf*-Files zum freien Download bereit.

An dieser Stelle möchte ich mich noch einmal ausdrücklich bei den geschätzten Kolleginnen und Kollegen für ihre zahlreichen und überaus konstruktiven Kommentare und Anregungen zu den Ausführungen in dieser Ringversuchsdiskussion sowie deren tatkräftige Unterstützung bei der Konzeption und dem Aufbau neuer Ringversuche bedanken.

Erfreulicherweise waren im Rahmen der hier diskutierten Ringversuchsreihe relativ wenig **Auffälligkeiten hinsichtlich der Spezifität und Sensitivität von bestimmten Testkonzepten, und der für den Nachweis verwendeten Zielsequenzen**, zu beobachten. Diese Aspekte wollen wir aktuell und auch zukünftig stichpunktartig aufführen und gegebenenfalls kurz diskutieren:

RV 530: *Chlamydia trachomatis* & *Neisseria gonorrhoeae*

Die Ergebnislage des aktuellen Ringversuchs deckt sich weitgehend mit den Beobachtungen aus vorangegangenen Ringversuchen zum kombinierten NAT-gestützten *C. trachomatis* und Gonokokken-Nachweis. Nicht zuletzt aufgrund der etwas höheren Mengen an Zielorganismen in der aktuellen Aussendung zeigten sich diesmal **bei allen** Teilnehmern mit dem RNA-gestützten Testkonzept der Fa. Hologic ausreichend hohe analytische Sensitivitätsraten für *C. trachomatis* und Gonokokken RNA. Dennoch hier kurz ein technischer Hinweis: werden von Teilnehmern bestimmte NAT-Testsysteme eingesetzt, die erregerspezifische RNA-Zielsequenzen nachweisen oder auf einem RNA-basierten Amplifikationsprozess (TMA; Transcription-Mediated Amplification, o. ä.) beruhen, so kann mit dem hier versandten Probenmaterial offiziell keine regelgerechte Abprüfung der entsprechenden Sensitivitäten unter Routinebedingungen gewährleistet werden. Aber selbst wenn das Herstellungsverfahren unserer Ringversuchsproben primär nicht auf die Stabilisierung von RNA-Molekülen hin optimiert und getestet wurde, so konnten sowohl bei der aktuellen, wie auch bei den vorhergegangenen Ringversuchsrunden, von vielen Teilnehmern mit RNA-gestützten Testsystemen hohe Richtigkeitsquoten erzielt werden.

RV 531: *Chlamydia trachomatis*

Mit Ausnahme eines Probenverwechslers (Probe 1 und 2) keine besonderen Auffälligkeiten, Richtigkeitsquote: 100 %!

With the exception of one participant, who obviously switched samples 1 and 2, 100 % correct results were observed in the current distribution.

RV 532: *Bordetella pertussis*:

Die Probe # 2225321 enthielt diesmal ca. 5×10^4 CFU/mL an *Bordetella pertussis* und wurde auch von 152 der insgesamt 158 Teilnehmern als positiv für *Bordetella pertussis* befundet.

Unter den Ergebnissen für Probe # 2225323 mit ca. 5×10^4 CFU/mL an *Bordetella parapertussis* fanden sich diesmal 6 falsch-positiv PCR/NAT Befunde. Hierbei könnte es sich um mangelnde analytische Spezifität der eingesetzten *B. pertussis*-spezifischen PCR/NAT Testsysteme und/oder eventuell auch um laborinterne Kontaminationsereignisse oder Kreuzkontaminationen während der Probenextraktion und -abarbeitung handeln. Auffällig war jedoch, dass 4 dieser 6 Teilnehmer **im Kommentarfeld** der Eingabemaske den Nachweis von *B. parapertussis* erwähnt haben. Für die Erteilung der Zertifikate haben wir das mitgeteilte (korrekte) Ergebnis gütlicherweise berücksichtigt. Daher nochmals der **explizite Hinweis**: die formelle Bezeichnung unserer Ringversuche definiert präzise den jeweiligen **Zielorganismus**, der in den positiv/negativ Befunden bewertet wird. Das heißt in diesem speziellen Fall: *B. parapertussis* PCR-positive Proben müssen korrekterweise "negativ" für *B. pertussis* DNA befundet werden!

Im Kommentarfeld können Sie natürlich gerne auch weiterhin jede zusätzliche Information vermerken.

Mit der Probe # 2225324 befand sich diesmal wieder ein IS481-positives *Bordetella holmesii*-Isolat im RV 532, das bekanntermaßen (Methoden- bzw. Zielsequenz-bedingt) mit vielen der *B. pertussis*-spezifischen NAT-Testsysteme kreuzreagiert. Diese Problematik spiegelt sich beispielsweise in einer Veröffentlichung aus Frankreich wider: Njamkepo et al., Significant finding of *Bordetella holmesii* DNA in nasopharyngeal samples from French patients with suspected pertussis. *Clin Microbiol.*, Dezember 2011, p. 4347-4348). Insgesamt betrachtet scheint aber der Vorteil einer hochsensitiven Detektion von *B. pertussis* und *B. holmesii* über die Verwendung der repetitiven IS481-Zielsequenz die Nachteile einer (eher aus akademischer Sicht wünschenswerten) Differenzierungsmöglichkeit zwischen den beiden Spezies in der PCR-Routinediagnostik mehr als aufzuwiegen. Zudem scheint in unseren Breiten *B. holmesii* eher selten aufzutreten (siehe Antila et al., 2006, *J. Med. Microbiol.* 55:1043-1051) und Infektionen mit beiden Spezies scheinen eine gleichermaßen "behandlungsbedürftige" Symptomatik hervorzurufen. Eine Abgrenzung zu den übrigen (IS481-negativen) *Bordetella*-Spezies muß jedoch aus diagnostischer Sicht stets gewährleistet sein. Angesichts der sehr hohen Richtigkeitsquote für die beiden *B. pertussis*-positiven Proben und der technisch bzw. methodisch bei der Verwendung der IS481-Zielsequenz zu erwartenden Kreuzreaktion mit dem aktuellen *B. holmesii* Isolat in Probe # 2225324 haben wir uns (wie auch bei vergleichbaren Konstellationen in vorhergegangenen Ringversuchsrunden) dazu entschlossen, bei der Erteilung der Zertifikate die falsch-positiven Ergebnisse bei *B. holmesii* nicht als falsch zu bewerten. Diese ist u.a. an der grauen Schraffierung aller 3 Felder in Tabelle 2 zu erkennen.

The majority of the 158 participants correctly tested sample # 2225321, which contained $\sim 5 \times 10^4$ CFU/mL of *Bordetella pertussis*, positive. The 6 false-positive results with sample # 2225323 ($\sim 5 \times 10^4$ CFU/mL of *B. parapertussis*) are probably due to contamination events in the course of sample preparation or low analytical specificity of the used PCR/NAT test systems. Upon closer inspection of the "comment section" in the report forms, we noted that four of these 6 participants stated the detection of *B. parapertussis* DNA in the comments section. **Please note that the**

headline of our different PCR/NAT schemes precisely defines the respective target organism, which is considered during the production of the valued certificates. When *B. parapertussis* DNA is detected in a sample of the *B. pertussis* EQAS scheme, the correct result is „negative" (for *B. pertussis* DNA). Of course, you are free to report any additional or supplemental information in the comments section of the online report forms, but the reported positive or negative PCR/NAT result should always reflect the formally and clearly designated target organism!

The *B. holmesii* organisms in sample # 2225324 were tested false-positive by 55 of the 158 participants. Since it is well known that *B. holmesii* strains may contain copies of the most popular *B. pertussis*-target gene IS 481, the high rate of false-positives is not surprising for the latter sample. Considering that the detection rate of the *B. pertussis* samples were very high (indicating a good performance of the *B. pertussis*-specific PCR/NAT assays), and IS481 is still one of the most practical and sensitive target genes for detection of *B. pertussis* DNA in clinical samples, we have not scored those (false) positive results for the *B. holmesii* samples in the course of issuing the corresponding QC certificates. For colleagues who are interested in the IS481 topic, there is an informative paper: Njamkepo et al., Significant finding of *Bordetella holmesii* DNA in nasopharyngeal samples from French patients with suspected pertussis. Clin Microbiol., Dezember 2011, p. 4347-4348.

RV 533: *Helicobacter pylori*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 534: EHEC / STEC:

Die Probe # 2225344 enthielt diesmal ca. 1×10^4 CFU/mL eines EPEC Isolats (*eae*-positiv) und wurde von 20 Teilnehmern als (falsch-)positiv für EHEC/STEC befundet. Bei der genaueren Durchsicht der Kommentarfelder wurde jedoch von 19 dieser Teilnehmer ein jeweils negatives Ergebnis für *stx1* und *stx2* mitgeteilt. Hier wäre EHEC-negativ das korrekte Ergebnis gewesen

Wie bereits zuvor beim RV 532 diskutiert, auch hier nochmals der **explizite Hinweis**: die formelle Bezeichnung unserer Ringversuche definiert präzise den jeweiligen **Zielorganismus**, der in den positiv/negativ Befunden bewertet wird. Das heißt in diesem speziellen Fall: EPEC oder EIEC PCR-positive Proben müssen korrekterweise "negativ" für EHEC/STEC DNA befundet werden! Im Kommentarfeld können Sie natürlich gerne auch weiterhin jede zusätzliche Information vermerken. Für die Erteilung der Zertifikate haben wir uns bemüht, das mitgeteilte (korrekte) Ergebnis gütlicherweise zu berücksichtigen.

Sample # 2225344, which contained $\sim 1 \times 10^4$ CFU/mL of an EPEC isolate (*eae*-positive), was correctly tested negative by 112 of the 132 participants but 20 participating laboratories observed (or better: reported) false-positive results for EHEC/STEC DNA. Upon closer inspection of the "comment section" in the report forms, we noted that 19 of these 20 participants stated negativity for *stx1* and *stx2* (this would correspond to the detection of EPEC DNA). **Please note that the headline of our different PCR/NAT schemes precisely defines the respective target organism**, which is considered during the production of the valued certificates. When, for example, EPEC, EIEC or ETEC DNA is detected in a sample of the EHEC/STEC EQAS scheme, the correct result would be "negative" (for EHEC/STEC DNA). Of course, you are free to report any additional or supplemental information in the comments section of the online report forms, but the reported positive or negative PCR/NAT result should always reflect the formally and clearly designated target organism!

RV 535: *Borrelia burgdorferi*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 536: *Legionella pneumophila*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 537: *Salmonella enterica*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 538: *Listeria spp.*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 539: MRSA: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 540: *Chlamydia pneumoniae*:

Zwei der 127 Teilnehmer hatten hier vermutlich die Proben 3 und 4 vertauscht, ansonsten keine besonderen Auffälligkeiten.

With the exception of two participants, who obviously switched samples 3 and 4, 100 % correct results were observed in the current distribution.

RV 541: *Mycoplasma pneumoniae*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 542: *Coxiella burnetii* & *B. anthracis*: keine besonderen Auffälligkeiten

Einer der 51 Teilnehmer hat hier alle 4 Proben als "fraglich" und ein weiterer Teilnehmer vermutlich Probe 1 und 2 vertauscht, ansonsten keine besonderen Auffälligkeiten

One of the 51 participants scored all *Mycoplasma pneumoniae* PCR/NAT results for all of the 4 samples within the current distribution as "questionable" and another participant has obviously switched samples 1 and 2.

RV 543: *Francisella tularensis* & *Brucella spp.*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 544: *Carbapenemase-Gene*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 545: *Clostridium difficile*:

Einer der 163 Teilnehmer hat hier alle 4 Proben als "positiv" für *C. difficile* DNA befundet, ansonsten keine besonderen Auffälligkeiten

One of the 163 participants reported 4 positive *C. difficile* PCR/NAT results for the 4 samples within the current distribution

RV 546: VRE: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 547: Urogenital Panel

Im Großen und Ganzen haben die 121 aktuell registrierten Teilnehmer die Erreger in den 4 Einzelproben entsprechend den methodischen Möglichkeiten ihrer Testsysteme zufriedenstellend nachweisen können. Wie aus den statistischen Auswertungen zu entnehmen ist, wurden insgesamt nur sehr wenige (sporadische) falsch-positive oder falsch-negative Ergebnisse berichtet.

Dies bestätigt zum einen die Praktikabilität unseres innovativen Multiplex-Ringversuchskonzepts und spricht zum anderen für die relativ zuverlässige Erfassung der Zielorganismen innerhalb der jeweils testspezifisch abgedeckten Erregerspektren der eingesetzten kommerziellen oder eigenentwickelten PCR/NAT Verfahren. Probe 1 wurde diesmal für *Urealplasma urealyticum* aufgrund der gerinen Erregermenge als "edukativ" gewertet.

Wie bereits in der vorhergehenden Ringversuchsdiskussion erwähnt, haben wir für im Rahmen der online-Ergebnisübermittlung des RV 547 eine Option in der Eingabemaske entwickelt, über die

die einzelnen Teilnehmer das aktuell erfasste Erregerspektrum ihrer individuellen Testsysteme und Multiplex-Assays während der Ergebniseingabe mitteilen. Für die Erteilung von Zertifikaten macht es nachvollziehbarerweise nur Sinn, dass diejenigen Parameter bewertet und testiert werden, die von den individuellen Teilnehmern im Rahmen ihres diagnostischen Workflows prinzipiell auch als positiv bzw. negativ erfasst werden können.

The concept of this novel EQAS-panel for the detection of the most prominent urogenital pathogens was recently established to meet the demands of current and future multiplex PCR/NAT assay concepts. Regarding the statistical analysis, data presentation and results discussion, we are still in the learning phase to optimize the informative and intuitive depiction of the complex result constellations as well as developing a rational scheme for issuing individual certificates for the participants. When looking at the results reported by the 121 participants, again a good overall correlation between the expected and the reported results was observed. Briefly, only sporadic false-negative or false-positive results were observed. In general, false-positive results for given species within the multiplex panel could probably be due to cross-contamination events in the course of sample preparation, amplification or amplicon detection steps.

The online results input mask of RV 547 distributions now contain extra fields where participants should specify the theoretical pathogen spectrum covered by their individual PCR/NAT assay concepts. This extra information will help to consider and fairly assess the broad spectrum of different commercial and *in-house* PCR/NAT assays regarding species coverage, differentiation and multiplex capabilities.

RV 560: *Pneumocystis jirovecii*

Die Probe # 2225601 enthielt diesmal eine relativ geringe Menge (ca. 5×10^3 Zielorganismen/mL) an *Pneumocystis jirovecii*, daher als edukativ klassifiziert und nicht in die Richtigkeitsbewertung der Zertifikate mit einbezogen. Diese ist u.a. an der grauen Schraffierung aller 3 Felder in Tabelle 2 zu erkennen.

Sample # 2225601 contained a relatively small amount of target organisms (ca. 5×10^3 *Pneumocystis jirovecii*/mL). Therefore, this sample was not considered during the assessment for the individual certificates.

November 2022

To the participants of the
INSTAND external quality assessment scheme (EQAS)
for NAATs in Diagnostic Bacteriology
Bacterial / Fungal Genome Detection (PCR / NAT)
(INSTAND Proficiency Test Numbers 530 to 547, and 560)

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 participating laboratories.

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

NEW: The certificates are now **supplemented by a number of statistical analyses and tables with expected and reported results.**

This highly desired scheme for external quality assessment (EQAS) was activated in 2002 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 segment of their huge proficiency-testing program is open for diagnostic laboratories worldwide.

We are aiming at two validation rounds per year (spring and autumn), a reasonable pricing, 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 that should be covered are highly appreciated.

Further information as well as the documented and analysed results of the past rounds of our quality control and proficiency test program "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.

I hope that you found this kind of external validation benefitting and you will continue to join the future rounds of our EQAS scheme in bacterial genome detection (NAT/ PCR).

If you should have any further questions, please do not hesitate to contact me by e-mail: "udo.reischl@ukr.de"

With best personal regards,



Prof. Dr. Udo Reischl

Organizer of the External Quality Assessment Scheme "Bacterial Genome Detection"
Member of the Quality Assurance Board (DGHM; German Society of Hygiene and Microbiology)

**Dr. A. Hiergeist, Dr. M. Baier, Prof. Dr. M. Maaß, Dr. R. Dumke, Dr. V. Fingerle,
Prof. Dr. A. Sing, Dr. U. Busch, PD Dr. D. Frangoulidis, Dr. H. von Buttlar, PD Dr. G. Grass,
PD. Dr. H. Scholz, Dr. R. Ehmman, Dr. I. Reiter-Owona, Dr. A. Anders**

**PCR-/NAT *C. trachomatis* & GO
(RV 530) November 2022**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>	<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225301	+ / (+)	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 1x10 ⁴ IFU/mL) <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (~ 1x10 ³ CFU/mL)
2225302	∅ / ++	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)
2225303	++ / +	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 1x10 ⁵ IFU/mL) <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)
2225304	++ / ∅	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 5x10 ⁵ IFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für ***Chlamydia trachomatis*** dargestellt.

*Absolute numbers of reported individual results. Note: only the **C. trachomatis-specific** results are depicted in this table.*

<i>n</i> = 285	Probennummer (Sample no.)				Inhibition				
	2225301	2225302	2225303	2225304	2225301	2225302	2225303	2225304	
Befund Result									
Positiv	285	3	283	284	n.d.	3	3	3	3
Negativ	0	282	2	1	nein / no	282	282	282	282
Fraglich Questionable	0	0	0	0	ja / yes	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für ***Chlamydia trachomatis*** dargestellt.

*Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods. Note: only the **C. trachomatis-specific** results are depicted.*

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	2225301		2225303		2225304		2225302	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID RDB 2110 STD (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Abbott Alinity m STI Assay (n = 10)	10	100	10	100	10	100	10	100
Abbott RealTime CT (n = 23)	23	100	23	100	23	100	23	100
Amplex eazyplex STD complete (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
AmpliSens CT FRT PCR Kit (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BD MAX CT (n = 22)	22	100	21	95	22	100	22	100

BD ProbeTec (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
BIORON RealLine CT (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
HAIN FluoroType CT (n = 15)	15	100	15	100	15	100	15	100
Cepheid Xpert CT (n = 34)	34	100	34	100	33	97	34	100
EUROIMMUN EUROArray STI (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
GeneProof C. trachomatis (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Hologic Aptima Combo 2 assay (n =14)	14	100	14	100	14	100	14	100
ampliCube STD Panel 1 (n=10)	10	100	10	100	10	100	10	100
artus CT/NG QS-RGQ Kit (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Roche COBAS 4800 CT (n = 28)	28	100	28	100	28	100	28	100
Roche COBAS 6800 CT (n = 32)	32	100	31	97	32	100	29	91
Sacace C. trachomatis Real TM (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100
Seegene Allplex CT/NG/MG/TV (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100
Seegene Allplex STI Essential (n = 23)	23	100	23	100	23	100	23	100
Seegene Anyplex II STI-7 (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
LightMix CT (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
Aprimeo Vivalytic STI (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
In house PCR assay (n = 10)	10	100	10	100	10	100	10	100
Other commercial tests (n = 17)	17	100	17	100	17	100	17	100

Comments:

- Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: Immundiagnostik MutaPLEX (2x), AB Analytica RQ-STI CT (1x), Goffin Presto CT/NG Assay (1x), GeneProof CT/NG/MG Multiplex PCR Kit (1x), Qiagen NeuMoDx CT/NG (1x), Roche COBAS 5800 CT (2x), Roche COBAS 8800 (1x), Gerbion diarellaSTI-1 (1x), CerTest VIASURE STD Real Time PCR Detection Kit (1x) und PANAGENE PANA RealTyper (1x).

Tabelle 4: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Neisseria gonorrhoeae* dargestellt.

Absolute numbers of reported individual results. Note: only the N. gonorrhoeae-specific results are depicted in this table

n = 284	Probennummer (Sample no.)			
Befund <i>Result</i>	2225301	2225302	2225303	2225304
Positiv	275	284	283	2
Negativ	9	0	1	282
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0

	Inhibition			
	2225301	2225302	2225303	2225304
n.d.	3	3	3	3
nein / <i>no</i>	281	281	281	281
ja / <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 5: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Neisseria gonorrhoeae* dargestellt.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods. Note: only the N. gonorrhoeae-specific results are depicted.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	2225301		2225302		2225303		2225304	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID RDB 2110 STD (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
AID RDB 2335 STI (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Abbott Alinity m STI Assay (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100
Abbott RealTime NG (n = 24)	24	100	24	100	24	100	23	96
AmpliSens NG FRT PCR Kit (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BD MAX NG (n = 22)	22	100	22	100	21	95	22	100
BD ProbeTec (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
BIORON RealLine NG (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
HAIN FluoroType NG (n = 14)	14	100	14	100	14	100	14	100
Cepheid Xpert NG (n = 33)	33	100	33	100	33	100	32	97
EUROIMMUN EUROArray STI (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
GeneProof N. gonorrhoeae (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Hologic Aptima Combo 2 assay (n = 14)	6	43	14	100	14	100	14	100
ampliCube STD Panel 1 (n = 10)	10	100	10	100	10	100	10	100
artus CT/NG QS-RGQ Kit (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Roche COBAS 4800 CT (n = 28)	28	100	28	100	28	100	28	100
Roche COBAS 6800 CT (n = 32)	32	100	32	100	32	100	32	100
Sacace N. gonorrhoeae Real TM (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
Seegene Allplex STI Essential (n = 24)	24	100	24	100	24	100	24	100
Seegene Anyplex II STI-7 (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
LightMix NG (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
Aprimeo Vivalytic STI (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
In house PCR assay (n = 10)	9	90	10	100	10	100	10	100
Other commercial tests (n = 26)	26	100	26	100	26	100	26	100

Comments:

1. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: Seegene Allplex CT/NG/MG/TV Assay (7x), Anatolia Gene works (1x), AB Analytica (1x), CerTest VIASURE STD Real Time PCR Detection Kit (2x), Gerbion diarellaSTI-1 (1x), Goffin Presto CT/NG Assay (1x), Amplex eazyplex STD complete (1x), Immundiagnostik MutaPLEX (2x), GeneProof CT/NG/MG Multiplex PCR Kit (1x), Qiagen NeuMoDx CT/NG (1x), Roche COBAS 5800 (2x), Roche COBAS 8800 (1x) und PANAGENE PANA RealTyper (1x).

PCR-/NAT *Chlamydia trachomatis*
(RV 531) November 2022



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225311	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2225312	++	61	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 5x10 ⁴ IFU/mL)
2225313	+	61	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 5x10 ³ IFU/mL)
2225314	++	61	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 5x10 ⁴ IFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 45</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>				<i>Inhibition</i>				
<i>Befund Result</i>	2225311	2225312	2225313	2225314	2225311	2225312	2225313	2225314	
Positiv	1	44	45	45	n.d.	0	0	0	0
Negativ	44	1	0	0	nein no	45	45	45	45
Fraglich Questionable	0	0	0	0	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 <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	2225312		2225313		2225314		2225311	
	<i>Absolut Absolute</i>	%	<i>Absolut Absolute</i>	%	<i>Absolut Absolute</i>	%	<i>Absolut Absolute</i>	%
AID RDB 2110 STD (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Abbott Alinity m STI Assay (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Abbott RealTime CT (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BD MAX CT (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
BD ProbeTec (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
HAIN FluoroType CT (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100
Cepheid Xpert CT (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
GeneProof <i>C. trachomatis</i> (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100

Aptima Combo 2 assay CT (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Roche COBAS 4800 NG (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Roche COBAS 6800 NG (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Sacace C. trachomatis Real TM (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Seegene Allplex CT/NG/MG/TV (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Seegene Allplex STI Essential (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
LightMix CT (n = 5)	4	80	5	100	5	100	4	80
In house PCR assay (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Other commercial tests (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100

Comments:

1. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: Gerbion diarellaSTI-1 (1x), Qiagen NeuMoDx CT/NG (1x) und Sansure Biotech (1x).

**PCR-/NAT *Bordetella pertussis*
 (RV 532) November 2022**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225321	++	61	<i>Bordetella pertussis</i> (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)
2225322	Ø	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2225323	Ø	62	<i>Bordetella parapertussis</i> (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)
2225324	Ø	62	<i>Bordetella holmesii</i> (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 158</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	<i>2225321</i>	<i>2225322</i>	<i>2225323</i>	<i>2225324</i>		<i>2225321</i>	<i>2225322</i>	<i>2225323</i>	<i>2225324</i>
Befund <i>Result</i>									
Positiv	152	0	6	98	n.d.	1	1	1	1
Negativ	6	158	152	55	nein <i>no</i>	157	157	157	157
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	5	ja <i>yes</i>	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		NAT richtig negativ <i>True negative results</i>					
	2225321		2225322		2225323		2225324	
	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	<i>%</i>	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	<i>%</i>	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	<i>%</i>	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	<i>%</i>
AID CAP Bacteria (n = 6)	6	100	6	100	6	100	0	0
ARGENE <i>Bordetella</i> R-GENE (n = 2)	2	100	2	100	2	100	0	0
Altona diag. RealStar <i>Bordetella</i> (n = 3)	3	100	3	100	3	100	0	0
AmpliGnost <i>B.pert.</i> / <i>B.parapert.</i> (n = 2)	2	100	2	100	2	100	0	0
FILMARRAY Resp. Panel 2.1 plus (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BioGX <i>Bordetella</i> speciation toxin (n = 3)	3	100	3	100	2	67	1	33
HAIN FluoroType <i>Bordetella</i> (n = 9)	9	100	9	100	9	100	0	0

DiaSorin Simplexa Bordetella Direct (n = 6)	6	100	6	100	5	83	0	0
Diagenode B. pert. / B. parapert. (n = 1)	1	100	1	100	0	0	0	0
FTD Bordetella (n = 1)	1	100	1	100	1	100	0	0
GeneProof B. pert. / B. parapert. (n = 10)	10	100	10	100	9	90	10	100
HOLOGIC Panther Bordetella (n = 4)	4	100	4	100	4	100	0	0
ampliCube Resp. panel 2 (n = 15)	15	100	15	100	15	100	4	27
Meridian Alethia Pertussis (n = 3)	3	100	3	100	3	100	0	0
Solana Bordetella complete assay (n = 4)	4	100	4	100	4	100	0	0
Seegene Allplex Resp. Panel 4 (n = 14)	11	79	14	100	12	86	11*	79
LightMix B. pert. (n = 6)	6	100	6	100	6	100	0	0
RIDAGENE Bordetella (n = 21)	21	100	21	100	21	100	15*	71
In house PCR assay [28] (n = 32)	32	100	32	100	32	100	7*	22
Other commercial tests (n = 15)	12	80	15	100	15	100	6	40

* Questionable

Comments:

1. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: Seegene Allplex Pneumobacter Assay (3x), PathoFinder RespiFinder 2Smart (1x), Luminex ARIES Bordetella Assay (2x), Roche ePlex Respiratory Pathogen Panel 2 (Vorher: GenMark Dx) (2x), Roche Diagnostics (1x), CerTest VIASURE Bordetella Real Time PCR Detection Kit (1x), QIAGEN QIAstat-Dx Respiratory Sars CoV-2 panel (1x), AusDiagnostics (1x) und Bioeksen Bio-Speedy (1x).

PCR-/NAT *Helicobacter pylori*
(RV 533) November 2022



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225331	++	61/72	<i>Helicobacter pylori</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL) Clarithromycin susceptible (wildtype 23S rDNA sequence)
2225332	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2225333	++	61/71	<i>Helicobacter pylori</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL) Clarithromycin resistant (GGA mut. in 23S rDNA)
2225334	∅	62	<i>Helicobacter felis</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 49</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>				<i>Inhibition</i>				
<i>Befund Result</i>	2225331	2225332	2225333	2225334	2225331	2225332	2225333	2225334	
Positiv	49 ¹⁾	0	49 ¹⁾	6	n.d.	0	0	0	0
Negativ	0	49	0	43	nein <i>no</i>	49	49	49	49
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwenden 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>			
	2225331		2225333		2225332		2225334	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
HAIN GenoType HelicoDR (n = 15)	15	100	15	100	15	100	15	100
Ingenetix H. pylori ClariRes (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Amplidiag H. pylori + ClariR (n = 2)	2	100	2	100	2	100	0	0
Seegene Allplex H. pylori + ClariR (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
LightMix Helicobacter 23S Kit (n = 3)	3	100	3	100	3	100	0	0
RIDAGENE H. pylori (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 10)	10	100	10	100	10	100	9	90
Other commercial tests (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100

Comments:

1. Forty-six of the 49 participants reported results for molecular Clarithromycin-susceptibility testing. All reported results were correct.
2. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: VIASURE H.pylori + Clarithromycin resistance Real Time PCR Detection Kit von CerTest (2x).

**PCR-/NAT EHEC / STEC
 (RV 534) November 2022**



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

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225341	Ø	62	<i>Escherichia coli</i> K12 (negative for eae and hlyA)
2225342	++	61 / 72,77,78	EHEC (~1x10 ⁴ CFU/mL) (stx-2c, eae, hlyA and O26 positive)
2225343	+++	61 / 71,72,77,78	EHEC (~1x10 ⁵ CFU/mL) (stx-1, stx-2, eae, hlyA and O157 positive)
2225344	Ø	62	EPEC (~1x10 ⁴ CFU/mL) (eae positive)

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

<i>n = 132</i>	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	2225341	2225342	2225343	2225344		2225341	2225342	2225343	2225344
Befund <i>Result</i>									
Positiv	0	130	131	20	n.d.	1	1	1	1
Negativ	132	2	1	112	nein <i>no</i>	131	131	131	131
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwenden verschiedener Methoden.
Absolute numbers and relative frequency of true positive and true negative results.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2225342		2225343		2225341		2225344	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Altona RealStar EHEC PCR Kit (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Amplex eazyplex EHEC classic plus (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Amplex eazyplex EHEC complete (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
BD MAX Enteric Bacterial Panel (n = 5)	5	100	4	80	5	100	4	80
BioMerieux BioFire GI Panel (n = 3)	3	100	3	100	3	100	2	67
HAIN GenoType EHEC (n = 15)	15	100	15	100	15	100	12	80

Seegene Allplex Gast. Bacteria II (n = 10)	10	100	10	100	10	100	7	70
LightMix Modular stx-1/stx-2/eaec (n = 7)	7	100	7	100	7	100	5	71
RIDAGENE E.coli Stool Panel I (n = 13)	13	100	13	100	13	100	11	85
RIDAGENE EHEC/EPEC (n = 28)	27	96	28	100	28	100	23	82
In house PCR assay (n = 33)	32	97	33	100	33	100	31	94
Other commercial tests (n = 9)	9	100	9	100	9	100	8	89

Comments:

1. Partial or complete shiga toxin subtyping, *eaec*-, and *hlyA*-detection was performed by 116 laboratories. With the exception of 5 laboratories, all reported results were correct
2. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: AmpliGnost Verotoxin 1/2 (Differenzierung) PCR Kit (1x), Amplex Variplex (1x), MOBIDIAG Amplidiag Bacterial GE kit (1x), Seegene Allplex GI-EB-Screening (1x), r-Biopharm RIDA UNITY EHEC/EPEC (1x), AmpliSens Escherichioses FRT PCR kit (1x) und MIKROGEN ampliCube Gastrointestinal Bacterial Panel 2 (2x).

**PCR-/NAT *Borrelia burgdorferi*
 (RV 535) November 2022**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225351	+++	61	<i>Borrelia garinii</i> Ospa Typ5 (~ 5x10 ⁵ organisms/mL)
2225352	+	61	<i>Borrelia garinii</i> Ospa Typ5 (~ 5x10 ³ organisms/mL)
2225353	++	61	<i>Borrelia garinii</i> Ospa Typ5 (~ 5x10 ⁴ organisms/mL)
2225354	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 99</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	2225351	2225352	2225353	2225354		2225351	2225352	2225353	2225354
Befund <i>Result</i>									
Positiv	99	91	99	0	n.d.	1	1	1	1
Negativ	0	8	0	99	nein <i>no</i>	98	98	98	98
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	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	
	2225351		2225352		2225353		2225354	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID RDB 2225 Zecken-Screening (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Attomol B burgdorferi Realtime LT (n=2)	2	100	1	50	2	100	2	100
BIORON RealLine B.burgdorferi (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
HAIN FluoroType Borrelia (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
EliGene Borrelia RT (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
GeneProof B. burgdorferi (n = 23)	23	100	22	96	23	100	23	100

Gerbion diarella Borrelia (n = 2)	2	100	1	50	2	100	2	100
Immundiagnostik MutaPLEX (n = 2)	2	100	1	50	2	100	2	100
Ingenetix BactoReal B.burgdorferi (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Mikrogen alphaCube Borrelia (n = 17)	17	100	17	100	17	100	17	100
Sacace TBEV, B.burg,... Real-TM (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
LightMix Borrelia (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
In house PCR assay (n = 29)	29	100	26	90	29	100	29	100
Other commercial tests (n = 5)	5	100	4	80	5	100	5	100

Comments:

1. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: Master diagnostica Tick-borne bacterial flow chip (1x), Novaplex Tick-borne (EU) Assay (RUO) (1x), CerTest VIASURE (1x) und AMPLICON AmpliTest B. burgdorferi (Real Time PCR) (1x).

**PCR-/NAT *Legionella pneumophila*
 (RV 536) November 2022**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225361	Ø	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2225362	+++	61	<i>Legionella pneumophila</i> SG1 (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)
2225363	Ø	62	<i>Legionella londiniensis</i> (~ 5x10 ⁵ CFU/mL)
2225364	++	61	<i>Legionella pneumophila</i> SG3 (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n</i> = 127	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	2225361	2225362	2225363	2225364		2225361	2225362	2225363	2225364
Befund <i>Result</i>									
Positiv	1	125	2	126	n.d.	2	2	2	2
Negativ	125	2	124	1	nein <i>no</i>	125	125	124	125
Fraglich <i>Questionable</i>	1	0	1	0	ja <i>yes</i>	0	0	1	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>			
	2225362		2225364		2225361		2225363	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID CAP Bacteria (n= 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
ARGENE L. pneumo/Cc R-GENE (n= 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
Amplex eazyplex PneumoBug exp.(n= 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
AmpliGnost L. pneumophila (n= 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
FILMARRAY Pneumonia Panel (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BioGx auf BD Max (n= 5)	4	80	5	100	4	80	5	100
ReadyMax Atypical Pneumonia 1 (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100

ReadyMax b-CAP Assay (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Diagenode R-DiaLeg (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
FTD Atypical CAP (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
GeneProof L. pneumophila (n= 6)	6	100	6	100	6	100	5**	83
Gerbion Diarella Legionella (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Ingenetix BactoReal L.pneumophila (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Luminex Resp. Pathogen Panel (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
ampliCube Resp. Panel 1 (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Seegene Allplex Resp. Panel 4 (n= 19)	18	95	19	100	19	100	19	100
Tib Molbiol LightMix Legionella (n= 9)	9	100	9	100	9	100	9	100
RIDAGENE Legionella (n= 8)	8	100	8	100	7*	88	8	100
In house PCR assay (n= 34)	34	100	33	97	34	100	32	94
Other commercial tests (n= 16)	16	100	16	100	16	100	16	100

* Questionable ** Inhibition

Comments:

1. Only Legionella spp. detection was performed by four laboratories. All reported results were correct.
2. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: Seegene Allplex PneumoBacter Assay (2x), AnDiatec Quidel L. pneumophila (1x), MIKROGEN ampliCube Respiratory Bacterial Panel 1.1 (3x), MIKROGEN alphaCube Legionella (1x), r-Biopharm RIDAGENE CAP Bac (2x), QIAGEN QIAstat-Dx Respiratory Sars-CoV-2 Panel (2x), CerTest VIASURE C. pneumonia, M. pneumonia and L. pneumophila Real Time PCR Detection Kit (1x) und PathoFinder RespiFinder 2Smart (1x).

PCR-/NAT *Salmonella enterica*
(RV 537) November 2022



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

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225371	++	61	<i>S. enterica</i> ser. paratyphi (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)
2225372	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2225373	+++	61	<i>S. enterica</i> ser. paratyphi (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)
2225374	+	61	<i>S. enterica</i> ser. paratyphi (~ 2x10 ³ CFU/mL)

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

<i>n</i> = 32	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	2225371	2225372	2225373	2225374		2225371	2225372	2225373	2225374
Befund <i>Result</i>									
Positiv	30	1	31	27	n.d.	0	0	0	0
Negativ	2	31	1	5	nein <i>no</i>	32	32	32	32
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

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

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	2225371		2225373		2225374		2225372	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Amplex eazyplex TyphiTyper (n = 2)	2	100	2	100	1	50	2	100
BD MAX Enteric Bacterial Panel (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
Seegene Allplex GI-Bacteria (I) (n = 5)	5	100	4	80	4	80	5	100
Seegene Allplex GI-EB Screening (n = 6)	5	83	6	100	3	50	6	100
LightMix Salmonella (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
RIDAGENE Bacterial Stool Panel (n = 6)	5	83	6	100	6	100	5	83
<i>In house</i> PCR assay (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Other commercial tests (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100

Comments: Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: r-biopharm RIDA@UNITY Bacterial Stool Panel (1x), BioMerieux BioFire GI Panel (1x) und MIKROGEN ampliCube Gastrointestinal Bacterial Panel 1 (1x).

**PCR-/NAT *Listeria spp.*
 (RV 538) November 2022**



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

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225381	+	61 /71	<i>Listeria monocytogenes</i> (~ 5x10 ³ CFU/mL)
2225382	+++	61 /71	<i>Listeria monocytogenes</i> (~ 5x10 ⁵ CFU/mL)
2225383	++	61 /71	<i>Listeria monocytogenes</i> (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)
2225384	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12

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

<i>n = 45</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	2225381	2225382	2225383	2225384		2225381	2225382	2225383	2225384
Befund <i>Result</i>									
Positiv	44	45	45	0	n.d.	0	0	0	0
Negativ	1	0	0	45	nein <i>no</i>	45	45	45	45
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	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

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	2225381		2225382		2225383		2225384	
	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%
Amplex eazyplex CSF direct (n= 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
AmpliGnost <i>L. monocytogenes</i> (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
FILMARRAY Meningitis/Enzephal. (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
BioGX Bacterial Meningitis ELGBS (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Ingenetix BactoReal <i>L. monocyt.</i> (n= 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
Progenie RealCycler <i>L. monocyt.</i> (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Sacace <i>L. monocyt.</i> Real-TM (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100

Seegene Allplex Meningitis-B (n= 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
LightMix L. monocytogenes (n= 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
In house PCR assay (n= 17)	16	94	17	100	17	100	17	100
Other commercial tests (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100

Comments:

1. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" ist folgende Testsysteme aufgeführt: Bioteccon Diagnostics Foodproof Listeria monocytogenes Detection Kit (1x).

**PCR-/NAT MRSA / cMRSA
 (RV 539) November 2022**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225391	∅	62 / 72, 73	MSSA + CoNS (<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> oxa ^R , PVL-neg) (~1x10 ⁵ CFU/mL)
2225392	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2225393	++	61 / 72	MRSA (<i>S. aureus</i> , oxa ^R , PVL-neg) (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)
2225394	++	61 / 71,72	cMRSA (<i>S. aureus</i> , oxa ^R , PVL-pos) (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 271</i>	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	2225391	2225392	2225393	2225394		2225391	2225392	2225393	2225394
Befund Result									
Positiv	28	1	267	270	n.d.	3	3	3	3
Negativ	234	269	4	0	nein no	268	267	268	267
Fraglich Questionable	9	1	0	1	ja yes	0	1	0	1

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>			
	2225393		2225394		2225391		2225392	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Amplex eazyplex MRSA (n = 2)	2	100	1**	50	0*	0	2	100
Amplex eazyplex MRSA plus (n = 6)	5	83	6	100	0*	0	6	100
BD MAX / BD GeneOhm MRSA (n = 35)	35	100	35	100	35	100	35	100
HAIN FluoroType MRSA (n = 13)	13	100	13	100	13	100	13	100
HAIN GenoType MRSA (n = 9)	8	89	9	100	2*	22	9	100
Cepheid Xpert / GeneXpert (n = 136)	134	99	136	100	134	99	135**	99

HOLOGIC Panther Fusion MRSA (n = 4)	4	100	4	100	3	75	4	100
Immundiagnostik MutaPLEX MRSA (n= 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
VELA Sentosa SA Direct MRSA (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
r-Biopharm RIDAGENE MRSA (n = 23)	23	100	23	100	21*	91	23	100
In house PCR assay (n = 19)	19	100	19	100	8	42	19	100
Commercial assay kit (n = 16)	16	100	16	100	10	63	15	94

* Questionable ** Inhibition

Comments:

1. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: AID GenID MRSA Combi (1x), GeneProof MRSA (1x), r-Biopharm RIDAGENE PVL (1x), BD Max StaphSR assay Kit (1x), Immundiagnostik MutaREAL (1x), MIKROGEN alphaCube PVL-MRSA (2x), MIKROGEN alphaCube MRSA (1x), Gerbion diarellaMRSA 3.0 (1x), Gerbion diarellaMRSA seqc (1x), Gerbion diarellaPVL-MRSA (1x), FRIZ Biochem MRSA direct PCR (1x), Genesig PLEX kit MRSA: MecA and FemB (1x), Spindiag Rhonda MRSA Disk (2x) und GenomEra MRSA/SA Multi Swab (1x).
2. Bei Teilnehmern, die die Verwendung eines Testsystems aufgeführt haben, das auf einer getrennten Erfassung von *S. aureus*-spezifischen Markern und dem *mecA* Gen beruht, wurden die als "fraglich" klassifizierten Ergebnisse bei der Erteilung der Zertifikate als "richtig" bewertet.
For participants who indicated the use of assay concepts for the independent detection of the mecA gene and a S. aureus species marker gene, "questionable" results were accepted in the course of issuing the official QC certificates.

**PCR-/NAT *Chlamydia pneumoniae*
 (RV 540) November 2022**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225401	∅	62	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (~1x10 ⁴ CFU/mL)
2225402	++++	61	<i>Chlamydia pneumoniae</i> (~ 2x10 ⁶ IFU/mL)
2225403	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2225404	+++	61	<i>Chlamydia pneumoniae</i> (~ 2x10 ⁵ IFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 127</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	<i>2225401</i>	<i>2225402</i>	<i>2225403</i>	<i>2225404</i>		<i>2225401</i>	<i>2225402</i>	<i>2225403</i>	<i>2225404</i>
<i>Befund Result</i>									
Positiv	2	127	2	125	n.d.	0	0	0	0
Negativ	125	0	125	2	nein no	127	127	127	127
Fraglich Questionable	0	0	0	0	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 <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2225402		2225404		2225401		2225403	
	<i>Absolut Absolute</i>	<i>%</i>	<i>Absolut Absolute</i>	<i>%</i>	<i>Absolut Absolute</i>	<i>%</i>	<i>Absolut Absolute</i>	<i>%</i>
AID CAP bacteria (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
ARGENE Chla/Myco pneumo (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
Amplex eazyplex PneumoBug exp. (n = 2)	2	100	2	100	1	50	2	100
AmpliGnost C. pneumoniae (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
AmpliSens M.pn./C.pn. FRT PCR (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
FILMARRAY Resp. Panel 2.1 plus (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
BioGx auf BD Max (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100

Biologio ReadyMax b-CAP Assay (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
FTD Atypical CAP (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
GeneProof C. pneumoniae (n = 12)	12	100	12	100	12	100	12	100
Ingenetix Bacto Real C. pn. (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Mikrogen Diagenode M.pn / C. pn (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
ampliCube Resp. panel 1 (n =10)	10	100	10	100	10	100	10	100
Sacace M.pn. /C. pn. Real-TM (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Seegene Allplex Resp. Panel 4 (n = 14)	14	100	13	93	13	93	13	93
LightMix C. pneumoniae (n = 10)	10	100	9	90	10	100	9	90
r-Biopharm RIDAGENE CAP Bac (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
In house PCR assay (n = 29)	29	100	29	100	29	100	29	100
Other commercial tests (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100

Comments:

1. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: Seegene Allplex PneumoBacter assay (2x), PathoFinder RespiFinder 2Smart (1x), MIKROGEN ampliCube Respiratory Bacterial Panel 1.1 (1x), AusDiagnostics Respiratory Pathogens 24-well (1x), AusDiagnostics Atypical Pneumonia 8-well (1x), CerTest VIASURE (1x) und Anatolia Gene works (1x).

**PCR-/NAT *Mycoplasma pneumoniae*
 (RV 541) November 2022**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225411	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2225412	+++	61	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (~ 5x10 ⁵ genome copies/mL)
2225413	++	61	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (~ 5x10 ⁴ genome copies/mL)
2225414	+	61	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (~ 5x10 ³ genome copies/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 144</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	<i>2225411</i>	<i>2225412</i>	<i>2225413</i>	<i>2225414</i>		<i>2225411</i>	<i>2225412</i>	<i>2225413</i>	<i>2225414</i>
Befund <i>Result</i>									
Positiv	3	144	144	135	n.d.	0	0	0	0
Negativ	141	0	0	9	nein <i>no</i>	144	144	144	144
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwenden 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	
	2225412		2225413		2225414		2225411	
	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%
AID CAP bacteria (n= 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
ARGENE Chla/Myco pneumo (n= 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
Amplex eazyplex PneumoBug exp. (n= 2)	2	100	2	100	1	50	2	100
AmpliGnost M. pneumoniae (n= 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
AmpliSens M.pn./C.pn. FRT Kit (n= 1)	1	100	1	100	0	0	1	100
FILMARRAY Resp. Panel 2.1 plus (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100

BioGx auf BD Max (n= 9)	9	100	9	100	9	100	9	100
Biologio ReadyMax b-CAP Assay (n= 2)	2	100	2	100	1	50	2	100
FTD Atypical CAP (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
FTD Respiratory Pathogens 21 (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
GeneProof M. pneumoniae (n= 11)	11	100	11	100	10	91	11	100
Luminex MagPix Resp. Pathogen (n= 1)	1	100	1	100	0	0	1	100
Mikrogen Diagenode M.pn./C.pn. (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
ampliCube Resp. panel 1 (n= 9)	9	100	9	100	9	100	9	100
Alethia Mycoplasma direct (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Sacace M.pn./C.pn. Real-TM (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Sartorius Microsart ATMP Mycopl. (n= 2)	2	100	2	100	2	100	0	0
Seegene Allplex Resp. Panel 4 (n= 15)	15	100	15	100	14	93	15	100
LightMix M. pneumoniae (n= 12)	12	100	12	100	10	83	12	100
RIDAGENE M. pneumoniae (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
In house PCR assay (n= 35)	35	100	35	100	34	97	34	97
Other commercial tests (n= 13)	13	100	13	100	13	100	13	100

Comments:

1. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: r-Biopharm RIDAGENE CAP Bac (4x), Seegene Allplex PneumoBacter assay (2x), PathoFinder RespiFinder 2Smart (1x), AusDiagnostics Atypical Pneumonia 8-well (1x), AusDiagnostics Pneumonia 16-well (1x), Ingenetix BactoReal M. pneumoniae (1x), MIKROGEN ampliCube Respiratory Bacterial Panel 1.1 (1x), QIAGEN QIAstat-Dx Respiratory Sars CoV-2 panel (1x), TIB Molbiol LightMix modular Mycoplasma (1x) und CerTest VIASURE (1x).

**PCR-/NAT *C. burnetii* & *B. anthracis*
 (RV 542) November 2022**



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

	<i>Erwartet / expected</i>	<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225421	∅ / +++	<i>B. anthracis</i> UR-1 Stamm (~ 1x10 ⁵ genome copies/mL)
2225422	++ / ++	<i>Coxiella burnetii</i> (~ 5x10 ⁴ genome copies/mL) <i>B. anthracis</i> UR-1 Stamm (~ 5x10 ⁴ genome copies/mL)
2225423	∅ / ∅	<i>Escherichia coli</i> K12
2225424	+++ / ∅	<i>Coxiella burnetii</i> (~ 5x10 ⁵ genome copies/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Coxiella burnetii* dargestellt.

Absolute numbers of reported individual results.

*Note: only the **C. burnetii-specific results** are depicted in this table*

<i>n = 51</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	2225421	2225422	2225423	2225424		2225421	2225422	2225423	2225424
Befund <i>Result</i>									
Positiv	2	49	1	50	n.d.	1	1	1	1
Negativ	48	1	49	0	nein <i>no</i>	50	50	50	50
Fraglich <i>Questionable</i>	1	1	1	1	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Coxiella burnetii* dargestellt.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

*Note: only the **C. burnetii-specific results** are depicted in this table.*

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2225422		2225424		2225421		2225423	
	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%
FILMARRAY BioThreat Panel (n =2)	2	100	2	100	2	100	2	100
MIKROGEN alphaCube Q-Feber (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Progenie RealCycler <i>C. burnetii</i> (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100

LightMix C. burnetii (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
In house PCR assay (n = 34)	32*	91	33*	97	31*	91	32*	94
Other commercial tests (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100

* Questionable

Comments:

- Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: Sacace Biotechnologies C. burnetii Real-TM (1x), Master diagnostica Tick-borne bacterial flow chip (1x), Applied biosystems VetMAX C. burnetii Absolute quant. Kit (2x), Clonit Tick Borne Diseases (2x), CerTest VIASURE (1x), INDICAL Bioscience Bactotype C. burnetii PCR Kit (1x) und EurobioPlex Coxiella (1x).

Tabelle 4: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für Bacillus anthracis dargestellt.

Absolute numbers of reported individual results.

*Note: only the **B. anthracis-specific results** are depicted in this table*

n = 27	Probennummer (Sample no.)				Inhibition			
	2225421	2225422	2225423	2225424	2225421	2225422	2225423	2225424
Befund <i>Result</i>								
Positiv	27	26	1	0	n.d.	0	0	0
Negativ	0	1	26	27	nein no	22	22	22
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja yes	0	0	0

Tabelle 5: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für Bacillus anthracis dargestellt.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

*Note: only the **B. anthracis-specific results** are depicted in this table.*

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2225421		2225422		2225423		2225424	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Altona RealStar Anthrax (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
FILMARRAY BioThreat Panel (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
LightMix B. anthracis (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
In house PCR assay (n = 20)	20	100	19	95	19	95	20	100
Other commercial tests (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100

PCR-/NAT *F. tularensis* & *Brucella*
(RV 543) November 2022



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

	<i>Erwartet / expected</i>	<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225431	+++ / ∅	<i>Franc. tularensis subsp. holarctica</i> (~ 5x10 ⁵ CFU/mL)
2225432	∅ / ++	<i>Brucella melitensis</i> (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)
2225433	∅ / ∅	<i>Escherichia coli</i> K12
2225434	+ / ++	<i>Franc. tularensis subsp. holarctica</i> (~ 1x10 ⁴ CFU/mL) <i>Brucella melitensis</i> (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Francisella tularensis* dargestellt.
Absolute numbers of reported individual results.
Note: only the *F.tularensis*-specific results are depicted in this table

<i>n</i> = 30	Probennummer (Sample no.)				Inhibition				
	2225431	2225432	2225433	2225434	2225431	2225432	2225433	2225434	
Befund <i>Result</i>									
Positiv	29	0	0	28	n.d.	1	1	1	1
Negativ	0	29	29	1	nein <i>no</i>	29	29	29	29
Fraglich <i>Questionable</i>	1	1	1	1	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Francisella tularensis* dargestellt.
*Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods. Note: only the *F.tularensis*-specific results depicted.*

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2225431		2225434		2225432		2225433	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
FILMARRAY BioThreat Panel (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Master diagnostica Tick-borne chip (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
LightMix <i>F. tularensis</i> (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 21)	21	100	20*	95	21	100	21	100
Commercial assay / kit [27] (n = 1)	0*	0	0*	0	0*	0	0*	0

* Questionable

Comments:

1. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: Molzym UMD-SelectNA CE IVD (1x).

Tabelle 4: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für Brucella dargestellt.

Absolute numbers of reported individual results.

*Note: only the **Brucella-specific results** are depicted in this table*

n = 27	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	2225431	2225432	2225433	2225434		2225431	2225432	2225433	2225434
Befund <i>Result</i>									
Positiv	0	26	0	26	n.d.	1	1	1	1
Negativ	26	0	26	1	nein <i>no</i>	26	26	26	26
Fraglich <i>Questionable</i>	1	1	1	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 5: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für Brucella dargestellt.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

*Note: only the **Brucella-specific results** are depicted in this table.*

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	2225432		2225434		2225431		2225433	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Applied Biosystems Brucella (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
FILMARRAY BioThreat Panel (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Sacace Brucella Real-TM (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
LightMix Brucella Genus (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
In house PCR assay (n = 21)	21	100	21	100	21	100	21	100
Commercial assay / kit (n = 2)	1*	50	1	50	1*	50	1*	50

* Questionable

Comments:

1. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: Molzym UMD-SelectNA CE IVD (1x) und Ingenetix BactoReal Kit Brucella spp. (1x).

PCR-/NAT Carbapenemasen (RV 544) November 2022



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225441	+++	61 / 75	<i>E. coli</i> NDM-5 (~ 1x10 ⁷ genome copies/mL)
2225442	+++	61 / 72	<i>Ent. cloacae</i> complex VIM-1 (~ 1x10 ⁷ genome copies/mL)
2225443	+++	61 / 71	<i>K. pneumoniae</i> KPC-2 (~ 1x10 ⁷ genome copies/mL)
2225444	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 90</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	2225441	2225442	2225443	2225444		2225441	2225442	2225443	2225444
Befund <i>Result</i>									
Positiv	87	90	85	1	n.d.	1	1	1	1
Negativ	3	0	5	89	nein <i>no</i>	89	89	89	89
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwenden 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	
	2225441		2225442		2225443		2225444	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID Carbapenemase (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
eazyplex superbug complete A/B/C (n = 11)	11	100	11	100	6	55	11	100
eazyplex superbug expert (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Cepheid Xpert Carba-R (n = 44)	44	100	44	100	44	100	44	100
Check Direct CPE oder MDR (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100

Seegene Allplex Entero-DR (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
LightMix Modular Carbapenemase (n = 5)	4	80	5	100	5	100	5	100
In house PCR assay (n = 10)	8	80	10	100	10	100	9	90
Other commercial tests (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100

Comments:

1. All 90 participants reported dedicated carbapenemase identification (carbapenemase genes) All reported results were correct
2. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: BD Max (2x), Amplex eazyplex SuperBug basic (1x), Amplex eazyplex SuperBug CRE (1x), AmpliGnost Carbapenemase PCR Kit (1x), Bruker-Hain Carbaplex (2x), BioFire FILMARRAY Pneumonia Panel plus (1x) und AmpliCube MDR Kit 1, 4, 5 (1x).

PCR-/NAT *Clostridium difficile*
(RV 545) November 2022



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225451	++++	61 / 71,72,73,75	<i>Clostridium difficile</i> Ribotyp O27 (~ 1x10 ⁶ CFU/mL)
2225452	Ø	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2225453	++	61 / 71,72,73,75	<i>Clostridium difficile</i> Ribotyp O27 (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)
2225454	Ø	62	<i>Escherichia coli</i> K12

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 163</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>					<i>Inhibition</i>			
	2225451	2225452	2225453	2225454		2225451	2225452	2225453	2225454
Befund <i>Result</i>									
Positiv	163	2	163	1	n.d.	1	1	1	1
Negativ	0	161	0	162	nein <i>no</i>	162	162	162	162
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwenden 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>			
	2225451		2225453		2225452		2225454	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Altona RealStar <i>C. difficile</i> (n = 7)	7	100	7	100	6	86	6	86
Amplex eazyplex <i>C. difficile</i> (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
AmpliGnost <i>C. difficile</i> Tox. A +B (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
BD MAX <i>C. difficile</i> (n = 19)	19	100	19	100	18	95	19	100
Cepheid Xpert <i>C. difficile</i> (n = 62)	62	100	62	100	62	100	62	100
Meridian Alethia <i>C. difficile</i> (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100

Quidel Solana C. difficile (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Roche COBAS Liat Cdiff (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Seegene Allplex GI Bacteria (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100
Seegene Allplex GI-EB Screening (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
LightMix Cdiff Toxin Gene tcdA/tcdB (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
RIDAGENE C.diff. (n = 21)	21	100	21	100	21	100	21	100
RIDAGENE Hospital stool panel (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
In house PCR assay (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100
Other commercial tests (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100

Comments:

1. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: DiaSorin Simplexa C. difficile Direct Kit (1x), Abacus Diagnostica GenomEra C. difficile (1x), BioFire FILMARRAY Pneumonia Panel plus (2x) und MOBIDIAG Amplidiag C. difficile (1x).

**PCR-/NAT VRE
 (RV 546) November 2022**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225461	+++	61 / 72	<i>Enterococcus faecium vanB</i> (~ 5x10 ⁵ CFU/mL)
2225462	Ø	62	<i>Enterococcus faecalis</i> (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)
2225463	Ø	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2225464	+++	61 / 71	<i>Enterococcus faecium vanA</i> (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 70</i>	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	2225461	2225462	2225463	2225464		2225461	2225462	2225463	2225464
Befund <i>Result</i>									
Positiv	70 ¹⁾	2	0	70 ¹⁾	n.d.	1	1	1	1
Negativ	0	68	70	0	nein <i>no</i>	69	69	69	69
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	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>			
	2225461		2225464		2225462		2225463	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Amplex eazyplex VRE (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Amplex eazyplex VREbasic (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
AmpliGnost Vancomycin A/B (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
BioGx Vancomycin resistance (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
HAIN GenoType Enterococcus (n = 9)	9	100	9	100	8	89	9	100
Cepheid Xpert vanA / vanB (n = 24)	24	100	24	100	24	100	24	100
Seegene Allplex Entero-DR (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100

In house PCR assay (n = 17)	17	100	17	100	16	94	17	100
Other commercial tests (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100

Comments:

1. Sixty-nine participants reported dedicated vanA / vanB identification. With the exception of 2 laboratories, all reported results were correct.
2. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: GeneProof VRE (1x) und BD MAX DNA-2 Kit (1x).

**PCR-/NAT Urogenital Panel
 (RV 547) November 2022**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>	<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225471	+ / +++	<i>Ureaplasma urealyticum</i> (~ 5x10³ CFU/mL) <i>Mycoplasma hominis</i> (~ 5x10⁵ CFU/mL)
2225472	++	<i>Trichomonas vaginalis</i> (~ 1x10⁴ CFU/mL)
2225473	∅	<i>Escherichia coli</i> K12
2225474	+++	<i>Gardnerella vaginalis</i> (~ 1x10⁶ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Mycoplasma hominis* dargestellt.

Absolute numbers of reported individual results.

*Note: only the **M. hominis** -specific results are depicted in this table*

<i>n = 108</i>	<i>Probennummer (Sample no.)</i>				<i>Inhibition</i>				
	2225471	2225472	2225473	2225474	2225471	2225472	2225473	2225474	
Befund Result									
Positiv	108	1	2	1	n.d.	0	0	0	0
Negativ	0	107	106	107	nein no	108	108	108	108
Fraglich Questionable	0	0	0	0	ja yes	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Mycoplasma hominis* dargestellt.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

*Note: only the **M. hominis** -specific results are depicted in this table.*

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv		NAT richtig negativ <i>True negative results</i>					
	2225471		2225472		2225473		2225474	
	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%
AID GenID STI (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Amplex eazyplex STD complete (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
AmpliGnost M.hominis (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BIORON RealLine M.hom/M.gen (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100

BioGX Mycopl. / Ureapl. (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
HAIN FluoroType STI (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
EUROIMMUN EUROArray STI-11 (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
ampliCube STD Panel 2 (n = 7)	7	100	7	100	6	86	7	100
Seegene Allplex STI Essential (n = 39)	39	100	39	100	39	100	39	100
Seegene Anyplex II STI-7 (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
Seegene Anyplex STI-5 Detection (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
LightMix modular M.hominis (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Aprimeo Vivalytic STI (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
RIDAGENE STI Myc. Panel (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
In house PCR assay [28] (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
Other commercial tests (n = 18)	18	100	17	94	17	94	17	94

Tabelle 4: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Gardnerella vaginalis* dargestellt.
 Absolute numbers of reported individual results.
 Note: only the *G. vaginalis* -specific results are depicted in this table

n = 26	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	2225471	2225472	2225473	2225474		2225471	2225472	2225473	2225474
Befund <i>Result</i>									
Positiv	1	0	1	26	n.d.	0	0	0	0
Negativ	25	26	25	0	nein <i>no</i>	26	26	26	26
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 5: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Gardnerella vaginalis* dargestellt.
 Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.
 Note: only the *G. vaginalis* -specific results are depicted in this table.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv		NAT richtig negativ <i>True negative results</i>					
	2225474		2225471		2225472		2225473	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID GenID STI (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BIORON RealLine G.vaginalis (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
GeneProof G.vaginalis PCR Kit (n = 2)	2	100	2	100	2	100	1	50

Allplex Bact. Vaginosis plus (n = 11)	11	100	10	91	11	100	11	100
In house PCR assay [28] (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
Other commercial tests (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100

Tabelle 6: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Ureaplasma urealyticum* dargestellt.

Absolute numbers of reported individual results.

Note: only the *U. urealyticum*-specific results are depicted in this table

n = 96	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	2225471	2225472	2225473	2225474		2225471	2225472	2225473	2225474
Befund Result									
Positiv	84	0	1	0	n.d.	0	0	0	0
Negativ	12	96	95	96	nein no	96	96	96	96
Fraglich Questionable	0	0	0	0	ja yes	0	0	0	0

Tabelle 7: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Ureaplasma urealyticum* dargestellt.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

Note: only the *U. urealyticum*-specific results are depicted in this table.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv		NAT richtig negativ True negative results					
	2225471		2225472		2225473		2225474	
	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%
Amplex eazyplex STD complete (n = 1)	0	0	1	100	1	100	1	100
AmpliGnost U.ureal/ U.parv. (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BIORON RealLine U.ur./ U. pa. (n = 2)	2	100	2	100	1	100	1	100
BioGX Mycopl. / Ureapl. (n = 5)	4	80	5	100	5	100	5	100
HAIN FluoroType STI (n = 2)	1	50	2	100	1	100	1	100
EUROIMMUN EUROArray STI-11 (n = 5)	5	100	5	100	6	100	6	100
Seegene Allplex STI Essential (n = 40)	37	93	40	100	38	100	38	100
Seegene Anyplex II STI-7 (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
Seegene Anyplex STI-5 Detection (n = 2)	2	100	2	100	4	100	4	100
LightMix modular U. ur / U. pa. (n = 4)	3	75	4	100	5	100	5	100
Aprimeo Vivalytic STI (n = 1)	1	100	1	100	7	100	7	100

<i>In house</i> PCR assay [28] (n = 6)	5	83	6	100	7	100	7	100
Other commercial tests (n = 23)	19	83	23	100	22	96	14	100

Tabelle 8: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Trichomonas vaginalis* dargestellt.

Absolute numbers of reported individual results.

Note: only the T. vaginalis -specific results are depicted in this table

n = 100	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	2225471	2225472	2225473	2225474		2225471	2225472	2225473	2225474
Befund Result									
Positiv	0	97	0	1	n.d.	0	0	0	0
Negativ	100	3	100	99	nein no	100	100	100	100
Fraglich Questionable	0	0	0	0	ja yes	0	0	0	0

Tabelle 9: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Trichomonas vaginalis* dargestellt.

Absolute numbers and relative frequency of reported true positive and true negative results among various NAT methods.

Note: only the T. vaginalis -specific results are depicted in this table.

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv		NAT richtig negativ True negative results					
	2225472		2225471		2225473		2225474	
	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%
BIORON RealLine T. vaginalis (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
HAIN FluoroType STI (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
EUROIMMUN EUROArray STI-11 (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
ampliCube STD Panel 2 (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
Roche COBAS TV / MG (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
Seegene Allplex STI Essential (n = 40)	40	100	40	100	40	100	40	100
Seegene Anyplex STI-7 (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Seegene Anyplex STI-5 Detection (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
LightMix modular T. vaginalis (n = 3)	3	100	3	100	3	100	2	67
Aprimeo Vivalytic STI (n = 1)	0	0	1	100	1	100	1	100
<i>In house</i> PCR assay [28] (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100
Other commercial tests (n = 22)	20	91	22	100	22	100	22	100

Comments:

1. *Mycoplasma genitalium*-detection was performed by 113 laboratories. All reported results were correct.
2. *Ureaplasma parvum*-detection was performed by 90 laboratories. With the exception of 2 laboratories, all reported results were correct.
3. Only *Ureaplasma* spp. detection was performed by 13 laboratories. With the exception of 2 laboratories, all reported results were correct.
4. *Treponema pallidum*-detection was performed by 50 laboratories. All reported results were correct.
5. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: Abbott Alinity m STI Assay (3x), AID GenID STI (1x), AmpliSens Ureaplasma spp. FRT PCR kit (1x), AmpliGnost STI Urethritis (2x), AusDiagnostics Urinogenital and Resistance 12-well (1x), BD Max CT/GC/TV Panel (2x), BD Max (1x), CerTest VIASURE STD Real Time PCR Detection Kit (3x), Immundiagnostik MutaPLEX STI-2 (2x), Immundiagnostik MutaPLEX STI-1 (2x), Immundiagnostik MutaPLEX BV-1 (1x), Immundiagnostik MutaPLEX U. urealyticum / U. parvum (2x), Immundiagnostik MutaPLEX T. pallidum (2x), MIKROGEN ampliCube STD Panel 2.1 (7x), MIKROGEN ampliCube STD Panel 2.1 LC (2x), GeneProof M. genitalium/hominis PCR Kit (3x), GeneProof Ureaplasma (UUP) PCR Kit (4x), GeneProof T. vaginalis (1x), GeneProof T. pallidum PCR Kit (3x), Gerbion diarellaSTI-1 (1x), Gerbion diarellaSTI-2 (1x), Gerbion diarellaBV-1 (1x), Sacace Biotechnologies U. parvum / U. urealyticum Real TM (1x), Sacace Biotechnologies M. hominis Real TM (1x), Seegene Allplex CT/NG/MG/TV Assay (1x) und PANAGENE PANA RealTyper (1x).

**PCR-/NAT *Pneumocystis jirovecii*
 (RV 560) November 2022**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

	<i>Erwartet / expected</i>		<i>Probenzusammensetzung / Sample composition</i>
2225601	+	61	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (~ 5x10 ³ organisms/mL)
2225602	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
2225603	++	61	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (~ 5x10 ⁴ organisms/mL)
2225604	+++	61	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (~ 5x10 ⁵ organisms/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n = 122</i>	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	2225601	2225602	2225603	2225604		2225601	2225602	2225603	2225604
Befund <i>Result</i>									
Positiv	113	1	120	121	n.d.	0	0	0	0
Negativ	9	120	1	1	nein <i>no</i>	122	121	122	122
Fraglich <i>Questionable</i>	0	1	1	0	ja <i>yes</i>	0	1	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	
	2225601		2225603		2225604		2225602	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Altona RealStar P. jirovecii (n= 17)	17	100	17	100	17	100	17	100
Amplex eazyplex P. jirovecii (n= 10)	4	40	9	90	9	90	10	100
AmpliGnost P.jirovecii (n= 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
BioGX P. jirovecii (n= 11)	11	100	11	100	11	100	11	100
Biologio Atypical Pneumonia-1 (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
FTD P. jirovecii (n 1)	1	100	1	100	1	100	0**	0
PathoNostics PneumoGenius (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100

Sacace C. trachomatis Real TM (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
LightMix P.jirovecii (n= 10)	10	100	10	100	10	100	10	100
VIASURE P. jirovecii real time PCR (n= 3)	2	67	3	100	3	100	2	67
RIDAGENE P. jirovecii (n= 27)	26	96	26*	96	27	100	27	100
In house PCR assay (n= 25)	24	96	25	100	25	100	25	100
Other commercial tests (n= 6)	6	100	6	100	6	100	6	100

* Questionable ** Inhibition

Comments:

1. Unter "Andere kommerzielle Testsysteme" sind folgende Testsysteme aufgeführt: ELITechGroup Pneumocystis ELITE MGB Kit (1x), Bruker Fungiplex Pneumocystis IVD PCR (1x), r-Biopharm RIDAGENE CAPbac-Panel (1x), BioEvolution Eurolmmun (1x) und Progenie RealCycler PJIR (1x).