

INSTAND-RINGVERSUCHE

BEGLEITHEFT



Informationen zur Testdurchführung

Bakteriengenom-Nachweis

September 2005

**Institut für Standardisierung und Dokumentation im Medizinischen
Laboratorium e. V. (INSTAND)**

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

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

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

Information zur Testdurchführung und Code-Nummern (2 Seiten)



Vorsichtsmaßnahmen

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

Probenvorbereitung

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

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

Testdurchführung und Ergebnisinterpretation

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

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

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

Rücksendung des Protokollbogens

Das ausgefüllte Protokoll bitte zurücksenden an:

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

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

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

Instructions for testing and Code numbers (2 pages)



Precautions

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

Specimen preparation

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

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

Testing and reporting of results

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

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

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

Completing of Report Form

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

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

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

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

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

Angaben unter [VI] sind verpflichtend.

Gruppe [I] (DNA Extraktion)

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

Gruppe [II] (Amplifikation)

21: GenProbe AMPLIFIED 22: Roche Amplicor
23: COBAS Amplicor 24: BD ProbeTec
25: RealArt CT 26: AmpliWell CT
27: Anderes kommerzielles Testsystem / Kit **
28: *In house* PCR Protokoll 29: Andere **

Gruppe [III] (Detektion / Identifizierung)

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

Gruppe [IV] (Positiv u/o Inhibitionskontrollen)

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

Gruppe [V] (Zielsequenz)

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

Gruppe [VI] (Ergebnisse*)

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

* Ct: *C. trachomatis*; GO: *N. gonorrhoeae*
** (bitte unter **Bemerkungen** kurz erläutern)

BACTERIAL GENOME DETECTION

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

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

Completing of group [VI] is mandatory.

Group [I] (Sample preparation)

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

Group [II] (Amplification)

21: GenProbe AMPLIFIED 22: Roche Amplicor
23: COBAS Amplicor 24: BD ProbeTec
25: RealArt CT 26: AmpliWell CT
27: Other commercial assay / kit **
28: *In house* PCR assay 29: Other **

Group [III] (Detection / identification)

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

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

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

Group [V] (Target gene)

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

Group [VI] (Results*)

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

* Ct: *C. trachomatis*; GO: *N. gonorrhoeae*
** (please specify in the **Comments** section)

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

PCR-/NAT *Chlamydia trachomatis* (RV 431)

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

Information zur Testdurchführung und Code-Nummern (2 Seiten)



Vorsichtsmaßnahmen

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

Probenvorbereitung

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

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

Testdurchführung und Ergebnisinterpretation

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

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

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

Rücksendung des Protokollbogens

Das ausgefüllte Protokoll bitte zurücksenden an:

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

PCR-/NAA *Chlamydia trachomatis* (RV 431)

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

Instructions for testing and Code numbers (2 pages)



Precautions

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

Specimen preparation

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

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

Testing and reporting of results

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

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

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

Completing of Report Form

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

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

CODE-Nummern

PCR-/NAT *Chlamydia trachomatis* (431)

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

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

Angaben unter [VI] sind verpflichtend.

Gruppe [I] (DNA Extraktion)

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

Gruppe [II] (Amplifikation)

21: GenProbe AMPLIFIED 22: Roche Amplicor
23: COBAS Amplicor 24: BD ProbeTec
25: RealArt CT 26: AmpliWell CT
27: Anderes kommerzielles Testsystem / Kit **
28: *In house* PCR Protokoll 29: Andere **

Gruppe [III] (Detektion / Identifizierung)

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

Gruppe [IV] (Positiv u/o Inhibitionskontrollen)

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

Gruppe [V] (Zielsequenz)

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

Gruppe [VI] (Ergebnisse)

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

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

CODE Numbers

PCR-/NAA *Chlamydia trachomatis* (431)

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

Completing of group [VI] is mandatory.

Group [I] (Sample preparation)

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

Group [II] (Amplification)

21: GenProbe AMPLIFIED 22: Roche Amplicor
23: COBAS Amplicor 24: BD ProbeTec
25: RealArt CT 26: AmpliWell CT
27: Other commercial assay / kit **
28: *In house* PCR assay 29: Other **

Group [III] (Detection / identification)

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

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

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

Group [V] (Target gene)

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

Group [VI] (Results)

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

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

PCR-/NAT *Bordetella pertussis* (RV 432)

***Bordetella pertussis* DNA-Nachweis mittels PCR oder anderen Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT)**

Information zur Testdurchführung und Code-Nummern (2 Seiten)



Vorsichtsmaßnahmen

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

Probenvorbereitung

Die Proben sind nach Erhalt bei 4°C zu lagern.

Als lyophilisiertes Untersuchungsmaterial sind die Proben unmittelbar vor der Testung kurz zu zentrifugieren und dann je in **300 µl** sterilem Wasser (PCR-grade) aufzunehmen.

Die Proben sollten für 20 min. bei Raumtemperatur in einem Thermoschüttler resuspendiert und/oder mehrfach gut gevortext werden. Anschließend sind 100 µl-Aliquots der Proben wie natives klinisches Probenmaterial mit der in Ihrem Labor angewandten Prozedur für die DNA-Extraktion und dem *B. pertussis*-PCR/NAT Nachweis zu untersuchen.

Testdurchführung und Ergebnisinterpretation

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

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

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

Rücksendung des Protokollbogens

Das ausgefüllte Protokoll bitte zurücksenden an:

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

PCR-/NAA *Bordetella pertussis* (RV 432)

Detection of *Bordetella pertussis* DNA by PCR or other procedures for nucleic acid amplification & detection (NAA)

Instructions for testing and Code numbers (2 pages)



Precautions

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

Specimen preparation

Samples should be stored at 4°C upon receipt.

The closed tubes should be briefly centrifuged to pellet the lyophilized material. Immediately before testing, renature the samples by adding **300 µl** of sterile water (PCR-grade) and incubate at room temperature for 20 min. on an orbital shaker and/or occasional vortexing.

When the pellets are completely dissolved, the resulting suspensions should be considered as native clinical specimens and 100 µl aliquots processed as such using typical protocols for DNA extraction and *B. pertussis*-PCR/NAA established in your routine diagnostic setting.

Testing and reporting of results

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

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

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

Completing of Report Form

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

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

CODE-Nummern PCR-/NAT *Bordetella pertussis* (432)

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

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

Angaben unter [VI] sind verpflichtend.

Gruppe [I] (DNA Extraktion)

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

Gruppe [II] (Amplifikation)

20: LightCycler *B. pertussis* Kit (Roche)
21: AmpliWell *B. pertussis* (Mikrogen)
22: *B. pertussis* PCR Kit (ViroMed)
27: Anderes kommerzielles Testsystem / Kit **
28: *In house* PCR Protokoll 29: Andere **

Gruppe [III] (Detektion / Identifizierung)

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

Gruppe [IV] (Positiv u/o Inhibitionskontrollen)

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

Gruppe [V] (Zielsequenz)

51: Kommerzielles Testsystem (Codes 21-27)
52: Ribosomales Gen (16S rDNA, 28S rDNA, ITS)
53: Insertionssequenz *IS* 481
54: Pertussis Toxin Gen 59: Andere **

Gruppe [VI] (Ergebnisse)

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

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

CODE Numbers PCR-/NAA *Bordetella pertussis* (432)

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

Completing of group [VI] is mandatory.

Group [I] (Sample preparation)

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

Group [II] (Amplification)

20: LightCycler *B. pertussis* kit (Roche)
21: AmpliWell *B. pertussis* (Mikrogen)
22: *B. pertussis* PCR kit (ViroMed)
27: Other commercial assay / kit **
28: *In house* PCR assay 29: Other **

Group [III] (Detection / identification)

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

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

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

Group [V] (Target gene)

51: Commercial assay system (codes 21-27)
52: Ribosomal gene (16S rDNA, 28S rDNA, ITS)
53: Insertion sequence *IS* 481
54: Pertussis toxin gene 59: Other **

Group [VI] (Results)

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

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

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

***Helicobacter pylori* DNA-Nachweis mittels PCR oder anderen Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT)**

Information zur Testdurchführung und Code-Nummern (2 Seiten)



Vorsichtsmaßnahmen

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

Probenvorbereitung

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

Testdurchführung und Ergebnisinterpretation

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

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

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

Rücksendung des Protokollbogens

Das ausgefüllte Protokoll bitte zurücksenden an:

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

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

Detection of *Helicobacter pylori* DNA by PCR or other procedures for nucleic acid amplification & detection (NAA)

Instructions for testing and Code numbers (2 pages)



Precautions

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

Specimen preparation

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

Testing and reporting of results

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

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

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

Completing of Report Form

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

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

CODE-Nummern

PCR-/NAT *Helicobacter pylori* (433)

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

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

Angaben unter [VI] sind verpflichtend.

Gruppe [I] (DNA Extraktion)

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

Gruppe [II] (Amplifikation)

26: Ingenetix ClariRes Assay
27: Kommerzielles Testsystem / Kit **
28: *In house* PCR Protokoll 29: Andere **

Gruppe [III] (Detektion / Identifizierung)

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

Gruppe [IV] (Positiv u/o Inhibitionskontrollen)

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

Gruppe [V] (Zielsequenz)

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

Gruppe [VI] (Ergebnisse)

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

Gruppe [VII] (Molekulare Resistenztestung)

71: Vermeyndlich Clarithromycin-resistent
72: Vermeyndlich Clarithromycin-sensibel

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

CODE Numbers

PCR-/NAA *Helicobacter pylori* (433)

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

Completing of group [VI] is mandatory.

Group [I] (Sample preparation)

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

Group [II] (Amplification)

25: Ingenetix ClariRes Assay
27: Commercial assay system / kit **
28: *In house* PCR assay 29: Other **

Group [III] (Detection / identification)

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

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

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

Group [V] (Target gene)

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

Group [VI] (Results)

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

Gruppe [VII] (Molecular susceptibility testing)

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

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

PCR-/NAT EHEC / STEC (RV 434)

EHEC / STEC DNA-Nachweis mittels PCR oder anderen Nukleinsäure- Amplifikationstechniken (NAT)

Information zur Testdurchführung und Code-Nummern (2 Seiten)



Vorsichtsmaßnahmen

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

Probenvorbereitung

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

Testdurchführung und Ergebnisinterpretation

Das Konzept dieses Ringversuchs ist auf die Bestimmung von EHEC/STEC DNA im Probenmaterial ausgelegt. Da das Probenmaterial auch Proteine, div. Bakterien und menschliche Zellen beinhaltet, ist die Durchführung und Interpretation von optionalen Inhibitionskontrollen, die auf dem Nachweis humaner Gensequenzen (wie z.B. β-Globin) im Untersuchungsgut beruhen, möglich.

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

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

Rücksendung des Protokollbogens

Das ausgefüllte Protokoll bitte zurücksenden an:

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

PCR-/NAA EHEC / STEC (RV 434)

Detection of EHEC / STEC DNA by PCR or other procedures for nucleic acid amplification & detection (NAA)

Instructions for testing and Code numbers (2 pages)



Precautions

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

Specimen preparation

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

Testing and reporting of results

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

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

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

Completing of Report Form

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

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

CODE-Nummern PCR-/NAT EHEC / STEC (434)

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

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

Angaben unter [VII] sind verpflichtend.

Gruppe [I] (DNA Extraktion)

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

Gruppe [II] (Amplifikation)

27: Kommerzielles Testsystem / Kit **
28: *In house* PCR Protokoll 29: Andere **

Gruppe [III] (Detektion / Identifizierung)

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

Gruppe [IV] (Positiv u/o Inhibitionskontrollen)

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

Gruppe [V] (Zielsequenz)

51: Kommerzielles Testsystem (Codes 21-27)
52: Shiga-Toxin Gene (*stx*₁, *stx*₂) 59: Andere **

Gruppe [VI] (Ergebnisse)

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

Gruppe [VII] (Molekulare Subtypisierung)

71: *stx*₁
72: *stx*₂ 73: *stx*_{2c} 74: *stx*_{2d} 75: *stx*_{2e} 76: *stx*_{2f}
77: *eae* 78: E-*hly* (*hlyA*) 79: Andere **

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

CODE Numbers PCR-/NAA EHEC / STEC (434)

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

Completion of group [VII] is mandatory.

Group [I] (Sample preparation)

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

Group [II] (Amplification)

27: Commercial assay system / kit **
28: *In house* PCR assay 29: Other **

Group [III] (Detection / identification)

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

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

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

Group [V] (Target gene)

51: Commercial assay system (codes 21-27)
52: Shiga toxin genes (*stx*₁, *stx*₂) 59: Other **

Group [VI] (Results)

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

Group [VII] (Molecular subtyping)

71: *stx*₁
72: *stx*₂ 73: *stx*_{2c} 74: *stx*_{2d} 75: *stx*_{2e} 76: *stx*_{2f}
77: *eae* 78: E-*hly* (*hlyA*) 79: Other **

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

PCR-/NAT *Borrelia burgdorferi* (RV 435)

***Borrelia burgdorferi* DNA-Nachweis mittels PCR oder anderen Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT)**

Information zur Testdurchführung und Code Nummern (2 Seiten)



Vorsichtsmaßnahmen

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

Probenvorbereitung

Die Proben sind nach Erhalt bei 4°C zu lagern.

Als lyophilisiertes Untersuchungsmaterial sind die Proben unmittelbar vor der Testung kurz zu zentrifugieren und dann je in **300 µl** sterilem Wasser (PCR-grade) aufzunehmen.

Die Proben sollten für 20 min. bei Raumtemperatur in einem Thermoschüttler resuspendiert und/oder mehrfach gut gevortext werden. Anschließend sind 100 µl-Aliquots der Proben wie natives klinisches Probenmaterial mit der in Ihrem Labor angewandten Prozedur für die DNA-Extraktion und dem *B. burgdorferi*-PCR/NAT Nachweis zu untersuchen.

Testdurchführung und Ergebnisinterpretation

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

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

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

Rücksendung des Protokollbogens

Das ausgefüllte Protokoll bitte zurücksenden an:

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

PCR-/NAA *Borrelia burgdorferi* (RV 435)

Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA by PCR or other procedures for nucleic acid amplification & detection (NAA)

Instructions for testing and Code numbers (2 pages)



Precautions

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

Specimen preparation

Samples should be stored at 4°C upon receipt.

The closed tubes should be briefly centrifuged to pellet the lyophilized material. Immediately before testing, renature the samples by adding **300 µl** of sterile water (PCR-grade) and incubate at room temperature for 20 min. on an orbital shaker and/or occasional vortexing.

When the pellets are completely dissolved, the resulting suspensions should be considered as native clinical specimens and 100 µl aliquots processed as such using typical protocols for DNA extraction and *B. burgdorferi*-PCR/NAA established in your routine diagnostic setting.

Testing and reporting of results

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

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

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

Completing of Report Form

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

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

CODE-Nummern PCR-/NAT *Borrelia burgdorferi* (435)

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

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

Angaben unter [VI] sind verpflichtend.

Gruppe [I] (DNA Extraktion)

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

Gruppe [II] (Amplifikation)

20: RealArt *Borrelia* kit (Artus)
27: Kommerzielles Testsystem / Kit **
28: *In house* PCR Protokoll 29: Andere **

Gruppe [III] (Detektion / Identifizierung)

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

Gruppe [IV] (Positiv u/o Inhibitionskontrollen)

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

Gruppe [V] (Zielsequenz)

51: Kommerzielles Testsystem (Codes 21-27)
52: Ribosomales Gen (16S rDNA, 28S rDNA)
53: *OspA* Gen
54: *Fla* Gen
55: Ribosomale ITS Region 59: Andere **

Gruppe [VI] (Ergebnisse)

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

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

CODE Numbers PCR-/NAA *Borrelia burgdorferi* (435)

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

Completing of group [VI] is mandatory.

Group [I] (Sample preparation)

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

Group [II] (Amplification)

20: RealArt *Borrelia* kit (Artus)
27: Commercial assay system / kit **
28: *In house* PCR assay 29: Other **

Group [III] (Detection / identification)

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

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

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

Group [V] (Target gene)

51: Commercial assay system (codes 21-27)
52: Ribosomal gene (16S rDNA, 28S rDNA)
53: *OspA* gene
54: *Fla* gene
55: Ribosomal ITS region 59: Other **

Group [VI] (Results)

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

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

PCR-/NAT *Legionella pneumophila* (RV 436)

***Legionella pneumophila* DNA-Nachweis
mittels PCR oder anderen Nukleinsäure-
Amplifikationstechniken (NAT)**

**Information zur Testdurchführung
und Code Nummern (2 Seiten)**



Vorsichtsmaßnahmen

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

Probenvorbereitung

Die Proben sind nach Erhalt bei 4°C zu lagern.

Als lyophilisiertes Untersuchungsmaterial sind die Proben unmittelbar vor der Testung kurz zu zentrifugieren und dann je in **300 µl** sterilem Wasser (PCR-grade) aufzunehmen.

Die Proben sollten für 20 min. bei Raumtemperatur in einem Thermoschüttler resuspendiert und/oder mehrfach gut gevortext werden. Anschließend sind 100 µl-Aliquots der Proben wie natives klinisches Probenmaterial mit der in Ihrem Labor angewandten Prozedur für die DNA-Extraktion und dem *L. pneumophila*-PCR/NAT Nachweis zu untersuchen.

Testdurchführung und Ergebnisinterpretation

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

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

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

Rücksendung des Protokollbogens

Das ausgefüllte Protokoll bitte zurücksenden an:

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

PCR-/NAA *Legionella pneumophila* (RV 436)

**Detection of *Legionella pneumophila* DNA
by PCR or other procedures for nucleic
acid amplification & detection (NAA)**

**Instructions for testing and
Code numbers (2 pages)**



Precautions

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

Specimen preparation

Samples should be stored at 4°C upon receipt.

The closed tubes should be briefly centrifuged to pellet the lyophilized material. Immediately before testing, renature the samples by adding **300 µl** of sterile water (PCR-grade) and incubate at room temperature for 20 min. on an orbital shaker and/or occasional vortexing.

When the pellets are completely dissolved, the resulting suspensions should be considered as native clinical specimens and 100 µl aliquots processed as such using typical protocols for DNA extraction and *L. pneumophila*-PCR/NAA established in your routine diagnostic setting.

Testing and reporting of results

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

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

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

Completing of Report Form

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

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

CODE-Nummern

PCR-/NAT *Legionella pneumophila* (436)

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

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

Angaben unter [VI] sind verpflichtend.

Gruppe [I] (DNA Extraktion)

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

Gruppe [II] (Amplifikation)

26: BD ProbeTec Legionella
27: Kommerzielles Testsystem / Kit **
28: *In house* PCR Protokoll 29: Andere **

Gruppe [III] (Detektion / Identifizierung)

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

Gruppe [IV] (Positiv u/o Inhibitionskontrollen)

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

Gruppe [V] (Zielsequenz)

51: Kommerzielles Testsystem (Codes 21-27)
52: Ribosomales Gen (16S rDNA, 28S rDNA)
53: *mip* Gen
54: *omp* Gen
55: Ribosomale ITS Region 59: Andere **

Gruppe [VI] (Ergebnisse)

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

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

CODE Numbers

PCR-/NAA *Legionella pneumophila* (436)

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

Completing of group [VI] is mandatory.

Group [I] (Sample preparation)

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

Group [II] (Amplification)

26: BD ProbeTec Legionella
27: Commercial assay system / kit **
28: *In house* PCR assay 29: Other **

Group [III] (Detection / identification)

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

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

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

Group [V] (Target gene)

51: Commercial assay system (codes 21-27)
52: Ribosomal gene (16S rDNA, 28S rDNA)
53: *mip* gene
54: *omp* gene
55: Ribosomal ITS region 59: Other **

Group [VI] (Results)

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

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

PCR-/NAT *Salmonella enterica* (RV 437)

***Salmonella enterica* DNA-Nachweis mittels PCR oder anderen Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT)**

Information zur Testdurchführung und Code Nummern (2 Seiten)

Vorsichtsmaßnahmen

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

Probenvorbereitung

Die Proben sind nach Erhalt bei 4°C zu lagern.

Als lyophilisiertes Untersuchungsmaterial sind die Proben unmittelbar vor der Testung kurz zu zentrifugieren und dann je in **300 µl** sterilem Wasser (PCR-grade) aufzunehmen.

Die Proben sollten für 20 min. bei Raumtemperatur in einem Thermoschüttler resuspendiert und/oder mehrfach gut gevortext werden. Anschließend sind 100 µl-Aliquots der Proben wie eine Anreicherungskultur oder natives klinisches Probenmaterial mit der in Ihrem Labor angewandten Prozedur für die DNA-Extraktion und dem *Salmonella enterica*-PCR/NAT Nachweis zu untersuchen.

Testdurchführung und Ergebnisinterpretation

Das Konzept dieses Ringversuchs ist primär auf die Bestimmung von *Salmonella enterica* DNA im Probenmaterial ausgelegt. Auch der Einsatz von RNA-gestützten Nachweisverfahren sollte möglich sein. Da das Probenmaterial auch Proteine, div. Bakterien und menschliche Zellen beinhaltet, ist die Durchführung und Interpretation von optionalen Inhibitionskontrollen, die auf dem Nachweis humaner Gensequenzen (wie z.B. β-Globin) im Untersuchungsgut beruhen, möglich.

Benutzen Sie bitte die in Ihrem Labor routinemäßig angewendeten Methoden und geben Sie alle Informationen entsprechend der Code-Nummern an. Primär werden in diesem Ringversuch nur qualitative Angaben abgefragt. Die Ergebnisse bitte anhand der Code-Nummern als "positiv", "unterhalb der Nachweisgrenze", "inhibiert" oder "fraglich" angeben. Auch wenn nur die Richtigkeit der Ergebnisse für *S. enterica* bewertet werden, ist natürlich auch eine differenzierte Angabe von Serovaren möglich. Die zusätzliche Angabe von quantitativen oder semiquantitativen Ergebnissen (+, +++, etc.) im Bemerkungsfeld ist für die genaue Analyse der Ringversuche sehr hilfreich und daher, wie alle anderen Kommentare, stets willkommen.

Rücksendung des Protokollbogens

Das ausgefüllte Protokoll bitte zurücksenden an:
Institut für Standardisierung und Dokumentation
im Medizinischen Laboratorium e.V. (INSTAND)
Abt. Qualitätssicherung
Postfach 250211
40093 Düsseldorf.

BACTERIAL GENOME DETECTION

PCR-/NAA *Salmonella enterica* (RV 437)

Detection of *Salmonella enterica* DNA by PCR or other procedures for nucleic acid amplification & detection (NAA)

Instructions for testing and Code numbers (2 pages)

Precautions

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

Specimen preparation

Samples should be stored at 4°C upon receipt.

The closed tubes should be briefly centrifuged to pellet the lyophilized material. Immediately before testing, renature the samples by adding **300 µl** of sterile water (PCR-grade) and incubate at room temperature for 20 min. on an orbital shaker and/or occasional vortexing.

When the pellets are completely dissolved, the resulting suspensions should be considered as enrichment broths or native clinical specimens and 100 µl aliquots processed as such using typical protocols for DNA extraction and *Salmonella enterica*-PCR/NAA established in your routine diagnostic setting.

Testing and reporting of results

The concept of this proficiency panel is designed for determination of *Salmonella enterica* DNA in the sample material. RNA should be detectable as well. The sophisticated composition of the sample matrix comprises of proteins, bacteria, and human cells next to the target organisms, thereby allowing for the application of optional inhibition controls targeting human genes (like β-globin, etc.).

Please apply the same methods for DNA extraction and amplification like you are using for the workup of routine clinical samples. Protocol and workflow characteristics should be specified in the Report Form according to the provided code numbers. Although only reporting of qualitative results for the presence or absence of *S. enterica* is requested, you are free to report the corresponding serovars and/or to provide quantitative or semiquantitative data (e.g., +, +++) in the Comments column. The latter information is voluntary, but very helpful for the final evaluation of this proficiency testing program.

Completing of Report Form

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

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



BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

CODE-Nummern PCR-/NAT *Salmonella enterica* (437)

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

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

Angaben unter [VI] sind verpflichtend.

Gruppe [I] (DNA Extraktion)

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

Gruppe [II] (Amplifikation)

20: RealArt *Salmonella* Kit (Artus)
21: LightCycler foodproof *Salmonella* Kit (Roche)
27: Kommerzielles Testsystem / Kit **
28: *In house* PCR Protokoll 29: Andere **

Gruppe [III] (Detektion / Identifizierung)

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

Gruppe [IV] (Positiv u/o Inhibitionskontrollen)

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

Gruppe [V] (Zielsequenz)

51: Kommerzielles Testsystem (Codes 21-27)
52: Ribosomales Gen (16S rDNA, 28S rDNA)
53: *himA* Gen 54: *gyrB* Gen 55: *invA* Gen
56: Ribosomale ITS Region 59: Andere **

Gruppe [VI] (Ergebnisse)

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

optional: Mitteilung von Serovaren

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

CODE Numbers PCR-/NAA *Salmonella enterica* (437)

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

Completing of group [VI] is mandatory.

Group [I] (Sample preparation)

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

Group [II] (Amplification)

20: RealArt *Salmonella* kit (Artus)
21: LightCycler foodproof *Salmonella* kit (Roche)
27: Commercial assay system / kit **
28: *In house* PCR assay 29: Other **

Group [III] (Detection / identification)

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

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

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

Group [V] (Target gene)

51: Commercial assay system (codes 21-27)
52: Ribosomal gene (16S rDNA, 28S rDNA)
53: *himA* gene 54: *gyrB* gene 55: *invA* gene
56: Ribosomal ITS region 59: Other **

Group [VI] (Results)

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

optional: Specification of serovars

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

PCR-/NAT *Listeria spp.* (RV 438)

***Listeria spp.* DNA-Nachweis mittels PCR oder anderen Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT)**

Information zur Testdurchführung und Code Nummern (2 Seiten)



Vorsichtsmaßnahmen

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

Probenvorbereitung

Die Proben sind nach Erhalt bei 4°C zu lagern.

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

Testdurchführung und Ergebnisinterpretation

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

Benutzen Sie bitte die in Ihrem Labor routinemäßig angewendeten Methoden und geben Sie alle Informationen entsprechend der Code-Nummern an. Primär werden in diesem Ringversuch nur qualitative Angaben abgefragt. Die Ergebnisse bitte anhand der Code-Nummern als "positiv", "unterhalb der Nachweisgrenze", "inhibiert" oder "fraglich" angeben. Auch wenn nur die Richtigkeit der Ergebnisse für *Listeria spp.* bewertet werden, ist natürlich auch eine differenzierte Angabe von Speziesnamen möglich. Die zusätzliche Angabe von quantitativen oder semiquantitativen Ergebnissen (+, +++, etc.) im Bemerkungsfeld ist für die genaue Analyse der Ringversuche sehr hilfreich und daher, wie alle anderen Kommentare, stets willkommen.

Rücksendung des Protokollbogens

Das ausgefüllte Protokoll bitte zurücksenden an:

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

PCR-/NAA *Listeria spp.* (RV 438)

Detection of *Listeria spp.* DNA by PCR or other procedures for nucleic acid amplification & detection (NAA)

Instructions for testing and Code numbers (2 pages)



Precautions

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

Specimen preparation

Samples should be stored at 4°C upon receipt.

The closed tubes should be briefly centrifuged to pellet the lyophilized material. Immediately before testing, renature the samples by adding **300 µl** of sterile water (PCR-grade) and incubate at room temperature for 20 min. on an orbital shaker and/or occasional vortexing.

When the pellets are completely dissolved, the resulting suspensions should be considered as native clinical specimens and 100 µl aliquots processed as such using typical protocols for DNA extraction and *Listeria spp.* - PCR/NAA established in your routine diagnostic setting.

Testing and reporting of results

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

Please apply the same methods for DNA extraction and amplification like you are using for the workup of enrichment broths or routine clinical samples. Protocol and workflow characteristics should be specified in the Report Form according to the provided code numbers. Although only reporting of qualitative results for the presence or absence of *Listeria spp.* is requested, you are free to report the corresponding species names and/or to provide quantitative or semiquantitative data (e.g., +, +++) in the Comments column. The latter information is voluntary, but very helpful for the final evaluation of this proficiency testing program.

Completing of Report Form

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

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

CODE-Nummern PCR-/NAT *Listeria spp.* (438)

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

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

Angaben unter [VI] sind verpflichtend.

Gruppe [I] (DNA Extraktion)

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

Gruppe [II] (Amplifikation)

20: RealArt *L. monocytogenes* Kit (Artus)
21: LightCycler *L. monocytogenes* Kit (Roche)
22: LightCycler foodproof *Listeria* Kit (Roche)
27: Kommerzielles Testsystem / Kit **
28: *In house* PCR Protokoll 29: Andere **

Gruppe [III] (Detektion / Identifizierung)

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

Gruppe [IV] (Positiv u/o Inhibitionskontrollen)

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

Gruppe [V] (Zielsequenz)

51: Kommerzielles Testsystem (Codes 21-27)
52: Ribosomales Gen (16S rDNA, 28S rDNA)
53: *iap* Gen 54: *flaA* Gen
55: Ribosomale ITS Region 59: Andere **

Gruppe [VI] (Ergebnisse)

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

optional: 71: *L. monocytogenes* 72: *L. ivanovii*
73: *L. seeligeri* 74: *L. innocua*
75: *L. welshimeri* 76: *L. grayi*

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

CODE Numbers PCR-/NAA *Listeria spp.* (438)

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

Completing of group [VI] is mandatory.

Group [I] (Sample preparation)

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

Group [II] (Amplification)

20: RealArt *L. monocytogenes* kit (Artus)
21: LightCycler *L. monocytogenes* kit (Roche)
22: LightCycler foodproof *Listeria* kit (Roche)
27: Commercial assay system / kit **
28: *In house* PCR assay 29: Other **

Group [III] (Detection / identification)

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

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

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

Group [V] (Target gene)

51: Commercial assay system (codes 21-27)
52: Ribosomal gene (16S rDNA, 28S rDNA)
53: *iap* gene 54: *flaA* gene
55: Ribosomal ITS region 59: Other **

Group [VI] (Results)

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

optional: 71: *L. monocytogenes* 72: *L. ivanovii*
73: *L. seeligeri* 74: *L. innocua*
75: *L. welshimeri* 76: *L. grayi*

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

PCR-/NAT MRSA / cMRSA (RV 539)

MRSA bzw. cMRSA DNA-Nachweis mittels PCR oder anderen Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT)

Information zur Testdurchführung und Code Nummern (2 Seiten)



Vorsichtsmaßnahmen

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

Probenvorbereitung

Die Proben sind nach Erhalt bei 4°C zu lagern.

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

Anm: PVL-positive MRSA werden als **cMRSA** bezeichnet.

Testdurchführung und Ergebnisinterpretation

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

Benutzen Sie bitte die in Ihrem Labor routinemäßig angewendeten Methoden und geben Sie alle Informationen entsprechend der Code-Nummern an. Primär werden in diesem Ringversuch nur qualitative Angaben abgefragt. Die Ergebnisse bitte anhand der Code-Nummern als "positiv", "unterhalb der Nachweisgrenze", "inhibiert" oder "fraglich" angeben. Auch wenn nur die Richtigkeit der Ergebnisse für MRSA bewertet werden, ist natürlich auch eine differenzierte Angabe von Speziesnamen bzw. des Nachweises des **lukFS Gens** (cMRSA) [Code 71] möglich. Die zusätzliche Angabe von quantitativen oder semiquantitativen Ergebnissen (+, +++, etc.) ist für die genaue Analyse der Ringversuche sehr hilfreich und daher, wie alle anderen Kommentare, stets willkommen.

Rücksendung des Protokollbogens

Das ausgefüllte Protokoll bitte zurücksenden an:

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

PCR-/NAA MRSA / CA-MRSA (RV 539)

Detection of MRSA / CA-MRSA DNA by PCR or other procedures for nucleic acid amplification & detection (NAA)

Instructions for testing and Code numbers (2 pages)



Precautions

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

Specimen preparation

Samples should be stored at 4°C upon receipt.

The closed tubes should be briefly centrifuged to pellet the lyophilized material. Immediately before testing, renature the samples by adding **300 µl** of sterile water (PCR-grade) and incubate at room temperature for 20 min. on an orbital shaker and/or occasional vortexing.

When the pellets are completely dissolved, the resulting suspensions should be considered as native clinical specimens and 100 µl aliquots processed as such using typical protocols for DNA extraction and MRSA / CA-MRSA PCR/NAA assays established in your routine diagnostic setting. **Note:** PVL-(Panton-Valentine leukocidin) positive MRSA isolates are termed **CA-**(community acquired-) **MRSA**.

Testing and reporting of results

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

Please apply the same methods for DNA extraction and amplification like you are using for the workup of enrichment broths or routine clinical samples. Protocol and workflow characteristics should be specified in the Report Form according to the provided code numbers. Although only reporting of qualitative results for the presence or absence of MRSA is requested, you are free to report the corresponding species names and/or the presence of the *lukFS* gene (CA-MRSA) [Code 71] in the Comments column. The latter information is voluntary, but very helpful for the final evaluation of this proficiency testing program.

Completing of Report Form

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

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

CODE-Nummern PCR-/NAT MRSA / cMRSA (539)

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

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

Angaben unter [VI] sind verpflichtend.

Gruppe [I] (DNA Extraktion)

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

Gruppe [II] (Amplifikation)

20: IDI-MRSA (GeneOhm Science)
21: GenoType MRSA Direkt (HAIN Lifescience)
22: hyplex *StaphyloResist* (BAG) 23: LightCycler Kits
27: Kommerzielles Testsystem / Kit **
28: *In house* PCR Protokoll 29: Andere **

Gruppe [III] (Detektion / Identifizierung)

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

Gruppe [IV] (Positiv u/o Inhibitionskontrollen)

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

Gruppe [V] (Zielsequenz)

51: Kommerzielles Testsystem (Codes 21-27)
52: Ribosomales Gen (16S rDNA, 28S rDNA)
53: SCCmec Kassette 54: pSA 422
55: mecA Gen 59: Andere **

Gruppe [VI] (Ergebnisse)

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

optional: 71: PVL (*lukFS*) pos. 72: *S. aureus*
73: *S. epidermidis* 74: *S. haemolyticus*
75: *S. hominis* 76: CoNS

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

CODE Numbers PCR-/NAA MRSA / CA-MRSA (539)

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

Completing of group [VI] is mandatory.

Group [I] (Sample preparation)

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

Group [II] (Amplification)

0: IDI-MRSA (GeneOhm Science)
21: GenoType MRSA Direkt (HAIN Lifescience)
22: hyplex *StaphyloResist* (BAG) 23: LightCycler Kits
27: Commercial assay system / kit **

Group [III] (Detection / identification)

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

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

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

Group [V] (Target gene)

51: Commercial assay system (codes 21-27)
52: Ribosomal gene (16S rDNA, 28S rDNA)
53: SCCmec cassette 54: pSA 422
55: mecA gene 59: Other **

Group [VI] (Results)

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

optional: 71: PVL (*lukFS*) pos. 72: *S. aureus*
73: *S. epidermidis* 74: *S. haemolyticus*
75: *S. hominis* 76: CoNS

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

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

***C. pneumoniae* DNA-Nachweis mittels PCR oder anderen Nukleinsäure-Amplifikationstechniken (NAT)**

Information zur Testdurchführung und Code Nummern (2 Seiten)



Vorsichtsmaßnahmen

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

Probenvorbereitung

Die Proben sind nach Erhalt bei 4°C zu lagern.

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

Testdurchführung und Ergebnisinterpretation

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

Benutzen Sie bitte die in Ihrem Labor routinemäßig angewendeten Methoden und geben Sie alle Informationen entsprechend der Code-Nummern an. Primär werden in diesem Ringversuch nur qualitative Angaben abgefragt. Die Ergebnisse bitte anhand der Code-Nummern als "positiv", "unterhalb der Nachweisgrenze", "inhibiert" oder "fraglich" angeben. Auch wenn nur die Richtigkeit der Ergebnisse für *C. pneumoniae* bewertet werden, ist natürlich auch eine differenzierte Angabe von Speziesnamen möglich. Die zusätzliche Angabe von quantitativen oder semiquantitativen Ergebnissen (+, +++, etc.) im Bemerkungsfeld ist für die genaue Analyse der Ringversuche sehr hilfreich und daher, wie alle anderen Kommentare, stets willkommen.

Rücksendung des Protokollbogens

Das ausgefüllte Protokoll bitte zurücksenden an:

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

PCR-/NAA *Chlamydia pneumoniae* (RV 540)

Detection of *C. pneumoniae* DNA by PCR or other procedures for nucleic acid amplification & detection (NAA)

Instructions for testing and Code numbers (2 pages)



Precautions

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

Specimen preparation

Samples should be stored at 4°C upon receipt.

The closed tubes should be briefly centrifuged to pellet the lyophilized material. Immediately before testing, renature the samples by adding **300 µl** of sterile water (PCR-grade) and incubate at room temperature for 20 min. on an orbital shaker and/or occasional vortexing.

When the pellets are completely dissolved, the resulting suspensions should be considered as native clinical specimens and 100 µl aliquots processed as such using typical protocols for DNA extraction and *Chlamydia pneumoniae*-PCR/NAA established in your routine diagnostic setting.

Testing and reporting of results

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

Please apply the same methods for DNA extraction and amplification like you are using for the workup of enrichment broths or routine clinical samples. Protocol and workflow characteristics should be specified in the Report Form according to the provided code numbers. Although only reporting of qualitative results for the presence or absence of *C. pneumoniae* is requested, you are free to report the corresponding species names and/or to provide quantitative or semiquantitative data (e.g., +, +++) in the Comments column. The latter information is voluntary, but very helpful for the final evaluation of this proficiency testing program.

Completing of Report Form

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

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

BAKTERIENGENOM-NACHWEIS

CODE-Nummern PCR-/NAT *Chl. pneumoniae* (540)

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

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

Angaben unter [VI] sind verpflichtend.

Gruppe [I] (DNA Extraktion)

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

Gruppe [II] (Amplifikation)

27: Kommerzielles Testsystem / Kit **
28: *In house* PCR Protokoll 29: Andere **

Gruppe [III] (Detektion / Identifizierung)

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

Gruppe [IV] (Positiv u/o Inhibitionskontrollen)

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

Gruppe [V] (Zielsequenz)

51: Kommerzielles Testsystem (Codes 21-27)
52: Ribosomales Gen (16S rDNA, 28S rDNA)
53: *PstI* Fragment
55: Ribosomale ITS Region 59: Andere **

Gruppe [VI] (Ergebnisse)

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

BACTERIAL GENOME DETECTION

CODE Numbers PCR-/NAA *Chl. pneumoniae* (540)

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

Completing of group [VI] is mandatory.

Group [I] (Sample preparation)

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

Group [II] (Amplification)

27: Commercial assay system / kit **
28: *In house* PCR assay 29: Other **

Group [III] (Detection / identification)

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

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

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

Group [V] (Target gene)

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

Group [VI] (Results)

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

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

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

