



**An die Teilnehmer  
der INSTAND-Ringversuche  
Bakteriengenomnachweis PCR / NAT  
(INSTAND-Ringversuchsnummern 530 bis 540)**

**Dear Participant, dear Colleague,**  
*Please find a cover letter in English on page 15 of this document.*

**Sehr geehrte Kolleginnen und Kollegen,**

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

Ihre individuellen Resultate und deren Bewertung können Sie in gewohnter Weise der beigefügten Teilnahmebescheinigung entnehmen.

Falls Sie an einer etwas umfangreicheren Diskussion unserer Ringversuchsaktivitäten im Bereich Bakteriengenom-Nachweis und näheren Informationen zur Konzeption der Ringversuchsproben interessiert sein sollten, sei hier auf folgende Veröffentlichungen in den Zeitschriften "Der Mikrobiologe" (Herausgeber: BÄMI, Berufsverband der Ärzte für Mikrobiologie und Infektionsepidemiologie e.V.) und "Hygiene und Mikrobiologie" (Herausgeber: DGHM, Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie e.V.) verwiesen:

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

> Reischl, U., N. Lehn, H. Wolf und E. Straube (2004) *Hyg. Mikrobiol.* **8**:19-21.

Sowohl im Zusammenhang mit einer Erweiterung unseres Ringversuchsprogramms als auch bei der Gestaltung zukünftiger erregerspezifischer Ringversuche sind wir für alle kritischen Kommentare und Anregungen überaus dankbar. Projekte wie diese wachsen erst mit dem konstruktiven *feedback* der einzelnen Teilnehmer.

Mit freundlichen und kollegialen Grüßen,

**PD Dr. Udo Reischl**  
Ringversuchsleiter Bakteriengenomnachweis  
Mitglied der Qualitätssicherungskommission der DGHM

**Prof. Dr. H. Wolf      Prof. Dr. N. Lehn      Prof. Dr. E. Straube      Prof. Dr. M. Maaß**

### AKTUELLE HINWEISE:

Nach dem sehr erfolgreichen Verlauf der initialen "Probe-Ringversuche" wurden RV 539 "MRSA bzw. cMRSA" (sog. *community-associated* Methicillin-resistente *S. aureus*) und RV 540 "*Chlamydia pneumoniae*" nun als fester Bestandteil in das PCR/NAT-Ringversuchsprogramm von INSTAND e.V. aufgenommen. Die Konzeption und Auswertung der *Chlamydia pneumoniae*-spezifischen Ringversuche erfolgt dabei in enger Zusammenarbeit mit Herrn Professor Maaß vom Universitätsklinikum Salzburg, der hier auch als Ringversuchsleiter fungiert.

Ab der aktuellen Ringversuchsreihe zum "Bakteriengenom-Nachweis mittels PCR oder anderer Nukleinsäureamplifikationstechniken" werden die einzelnen Ringversuche bei INSTAND e.V. aus organisatorischen Gründen jetzt der 500er-Nummerngruppe zugeordnet. Die entsprechenden Ringversuchsnummern (ehemals RV 430 bis RV 438) ändern sich dann wie folgt: RV 430 > RV 530; RV 431 > RV 531; u.s.w. Wir bitten dies bei der Anmeldung zu beachten.

## Gesamtübersicht und Auswertung der Ringversuchsergebnisse aller Teilnehmer

### APRIL 2006:

Nachdem in einigen der vorhergegangenen Runden dieser Ringversuchs-Serie vorwiegend Proben mit relativ hoher Keimzahl versandt wurden, wird bei der Konzeption des aktuellen und der zukünftigen Ringversuche zum Bakteriengenomnachweis mittels PCR oder anderer Nukleinsäureamplifikationstechniken (NAT) bei einigen Zielorganismen auch der Versand von Proben mit relativ niedrigen bzw. als grenzwertig zu betrachtenden Erregerzahlen angestrebt.

Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, daß zahlreiche Rückstell-Probensätze der früheren Ringversuche noch verfügbar sind und bei Bedarf über den Ringversuchsleiter nachbestellt werden können. Die jeweiligen Sets an Rückstellproben enthalten u.a. als "**grenzwertig positiv**" zu bezeichnende Proben für *B. pertussis* (Probe # 32202), *H. pylori* (Probe # 32302), *B. burgdorferi* (Probe # 32503), *L. pneumophila* (Probe # 32601) und für *Salmonella enteritidis* (Probe # 32702).

Auch in den aktuellen Ringversuchssets befinden sich wieder einige Proben mit relativ geringer Menge folgender Zielorganismen: *Chlamydia trachomatis* (Probe # 52101), *B. pertussis* (Probe # 52204), EHEC (Probe # 52401), *L. pneumophila* (Probe # 52603), *L. monocytogenes* (Probe # 52801), MRSA (Probe # 52903), sowie *Chlamydia pneumoniae* (Probe # 52411). 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.

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 50- bis 100-fache der unteren Nachweisgrenze durchschnittlich sensitiver PCR-Protokolle unter Standardbedingungen (50 µl Reaktionsansätze, 35 PCR-Zyklen, 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 und -abarbeitung und/oder auf mangelnde Spezifität der eingesetzten Testsysteme zu betrachten.

In bewährter Form werden im Folgenden die Ergebnisse der jeweiligen erregerspezifischen Ringversuche dargestellt. Tabelle 1 zeigt dabei die Probenzusammensetzung und das erwartete Ergebnis (Sollwert). 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. 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 auch immer mit einem gewissen Toleranzbereich betrachtet werden.

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

Auch im Rahmen des hier diskutierten Ringversuchs waren wieder einige Auffälligkeiten hinsichtlich der Spezifität und Sensitivität von bestimmten Testkonzepten und der für den Nachweis verwendeten Zielsequenzen zu beobachten. Diese Aspekte sind bei der Auswertung des jeweiligen Ringversuchs aufgeführt und dort auch kurz diskutiert. Zusätzlich stehen für die früheren, für diesen und für alle folgenden Ringversuche eine Reihe zusätzlicher Informationen (wie die graphisch dokumentierten Ergebnisse unserer quantitativen *real-time* PCR Testsysteme oder die Ergebnisse einiger kommerziellen PCR Testsysteme) auch unter folgender Internetadresse: "[www.udo-reischl.de](http://www.udo-reischl.de)"; Unterpunkt "INSTAND-Ringversuche (PCR / NAT)" als *pdf*-Files zum freien Download bereit.

## **RV 540: *Chlamydia pneumoniae***

**Eine wichtige Anmerkung vorab:** dieser Ringversuch ist ausschließlich für die Abprüfung von NAT-gestützten Methoden und Protokollen zum **Direktnachweis geringer Mengen an *Chlamydia pneumoniae* aus geeignetem klinischem Untersuchungsgut** (wie beispielsweise respiratorischem Probenmaterial) konzipiert. Die positiven Proben innerhalb des ausgesandten 4-er Sets enthalten daher typischerweise relativ geringe Mengen der entsprechenden Zielorganismen. Aus diesem Grund ist eine Teilnahme an diesem Ringversuch nur für solche diagnostische Laboratorien erfolgversprechend und sinnvoll, die hochsensitive und spezifische NAT/PCR-gestützte Verfahren zum Direktnachweis von *C. pneumoniae* etabliert haben oder solche im Zuge einer externen Qualitätskontrolle evaluieren wollen.

Da sich für diesen neu ins Programm aufgenommenen Ringversuch überraschenderweise an die 60 Teilnehmer angemeldet hatten, mussten wir auch Probensets versenden, die ursprünglich für den Herbst-Ringversuch vorgesehen waren. Daher erfolgt die Auswertung diesmal differenziert nach den beiden Gruppen A und B.

### **Auswertung Gruppe A (Probennummern # 61411 bis # 61414):**

Wie in Tabelle 1 dargestellt, enthielt das aktuelle Set an Ringversuchsproben diesmal je eine Probe mit etwas höherer Menge an Zielorganismen (# 61411; *C. pneumoniae*,  $\sim 1 \times 10^4$  IFU/ml), eine mit relativ geringer Menge (# 61413; *C. pneumoniae*,  $\sim 1 \times 10^2$  IFU/ml), sowie zwei Proben ohne Zielorganismen (# 61412 und # 61414; jeweils *E. coli*).

Wie bereits im vorhergegangenen "Probe-Ringversuch" beobachtet, so wird bei der Auswertung der Ergebnisse auch diesmal auf eindrucksvolle Weise die untere Nachweisgrenze der gegenwärtig eingesetzten und z.T. auch bereits sehr gut evaluierten NAT-gestützten Analysensystemen für den Nachweis von *C. pneumoniae* DNA aufgezeigt. Während nahezu alle Teilnehmer die Zielorganismen in der Probe # 61411 sicher nachweisen konnten, so gelang dies bei der Probe # 61413 nur noch 11 der insgesamt 31 Teilnehmer.

Erfreulicherweise wurden bei den restlichen zwei Proben nur 2 isolierte falsch-positive Ergebnisse berichtet, was bei der Mehrzahl der Teilnehmer für ein sehr gutes Funktionieren von Test- bzw. laborspezifischen Maßnahmen zur Vermeidung von Kontaminationsereignissen spricht. Die beiden falsch-positiven Ergebnisse sollten jedoch bei den entsprechenden Teilnehmern Anlaß geben, ihre PCR-gestützten Testsysteme auf gewisse Mängel hinsichtlich Spezifität und/oder Kontaminationsanfälligkeit innerhalb der eingesetzten Verfahren zur Nukleinsäure-Extraktion, Amplifikation und Detektion zu untersuchen.

Bis auf 5 Teilnehmer haben alle selbstentwickelte (*in house*) Testsysteme mit Inhibitions- und/oder Positivkontrollen zum NAT-gestützten Nachweis von *C. pneumoniae*-DNA verwendet; eine signifikante Inhibition der PCR-Reaktion wurde dabei lediglich bei zwei einzelnen Proben beobachtet. Aufgrund der leider immer noch relativ geringen Anzahl von kommerziellen Testsystemen im Teilnehmerfeld lassen sich im Rahmen dieses Ringversuchs derzeit noch keine seriösen Vergleiche zwischen bestimmten kommerziellen Kits und der, zumindest aus methodischer Sicht, relativ heterogenen Gruppe von selbstentwickelten (*in house*) Testsystemen hinsichtlich Sensitivität, Spezifität oder Kontaminationsanfälligkeit führen.

Für Kollegen die an einer aussagekräftigen Abprüfung der analytischen Sensitivität von neu- oder eigenentwickelten Testsystemen interessiert sind, stehen im Rahmen dieses Ringversuchs wiederum zahlreiche Sets an standardisierten Rückstellproben zur Verfügung, die über den Ringversuchsleiter bezogen werden können.

**PCR-/NAT *Chlamydia pneumoniae*  
 (RV 540) April 2006, Group A**



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

Gruppe A	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
61411	++	61	<i>Chlamydia pneumoniae</i> (~ 1x10 <sup>4</sup> IFU/mL)
61412	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
61413	+	61	<i>Chlamydia pneumoniae</i> (~ 1x10 <sup>2</sup> IFU/mL)
61414	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12

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

n = 31	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	61411	61412	61413	61414		61411	61412	61413	61414
Befund Result									
Positiv	28	1	11	1	n.d.	3	3	3	3
Negativ	3	30	17 <sup>1)</sup>	29	nein no	28	28	27	27
Fraglich Questionable	0	0	3 <sup>*)</sup>	1 <sup>*)</sup>	ja yes	0	0	1	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 True positive results			NAT richtig negativ True negative results		
	Absolut Absolute	Relativ Relative	%	Absolut Absolute	Relativ Relative	%
In house PCR assay [28] (n = 25)	33	33 / 48 <sup>*)</sup>	69	49	49 / 49 <sup>*)</sup>	100
Other commercial tests [27] (n = 5)	5	5 / 10	50	10	10 / 10	100
Andere / k.A. / other [29] (n = 1)	1	1 / 1 <sup>*)</sup>	100	0	0 / 2	0

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

**Comments:** <sup>1)</sup> 17 of the 31 participants reported negative results for **sample # 61413**. Due to the **low number of target organisms** we have not rated them as false-negative, but the participants should consider to improve the analytical sensitivity of their corresponding PCR/NAT assays.

**Auswertung Gruppe B (Probennummern # 62411 bis # 62414):**

Wie in Tabelle 1 dargestellt, enthielt das aktuelle Set an Ringversuchsproben diesmal je eine Probe mit etwas höherer Menge an Zielorganismen (# 61411; *C. pneumoniae*,  $\sim 1 \times 10^4$  IFU/ml), eine mit relativ geringer Menge (# 61413; *C. pneumoniae*,  $\sim 1 \times 10^2$  IFU/ml), sowie zwei Proben ohne Zielorganismen (# 61412 und # 61414; jeweils *E. coli*).

Wie bereits im vorhergegangenen "Probe-Ringversuch" beobachtet, so wird bei der Auswertung der Ergebnisse auch diesmal auf eindrucksvolle Weise die untere Nachweisgrenze der gegenwärtig eingesetzten und z.T. auch bereits sehr gut evaluierten NAT-gestützten Analysensystemen für den Nachweis von *C. pneumoniae* DNA aufgezeigt. Während nahezu alle Teilnehmer die Zielorganismen in der Probe # 61411 sicher nachweisen konnten, so gelang dies bei der Probe # 61413 nur noch 11 der insgesamt 31 Teilnehmer.

Erfreulicherweise wurden bei den restlichen zwei Proben nur 2 isolierte falsch-positive Ergebnisse berichtet, was bei der Mehrzahl der Teilnehmer für ein sehr gutes Funktionieren von Test- bzw. laborspezifischen Maßnahmen zur Vermeidung von Kontaminationsereignissen spricht. Die beiden falsch-positiven Ergebnisse sollten jedoch bei den entsprechenden Teilnehmern Anlaß geben, ihre PCR-gestützten Testsysteme auf gewisse Mängel hinsichtlich Spezifität und/oder Kontaminationsanfälligkeit innerhalb der eingesetzten Verfahren zur Nukleinsäure-Extraktion, Amplifikation und Detektion zu untersuchen.

Bis auf 5 Teilnehmer haben alle selbstentwickelte (*in house*) Testsysteme mit Inhibitions- und/oder Positivkontrollen zum NAT-gestützten Nachweis von *C. pneumoniae*-DNA verwendet; eine signifikante Inhibition der PCR-Reaktion wurde dabei lediglich bei zwei einzelnen Proben beobachtet. Aufgrund der leider immer noch relativ geringen Anzahl von kommerziellen Testsystemen im Teilnehmerfeld lassen sich im Rahmen dieses Ringversuchs derzeit noch keine seriösen Vergleiche zwischen bestimmten kommerziellen Kits und der, zumindest aus methodischer Sicht, relativ heterogenen Gruppe von selbstentwickelten (*in house*) Testsystemen hinsichtlich Sensitivität, Spezifität oder Kontaminationsanfälligkeit führen.

Für Kollegen die an einer aussagekräftigen Abprüfung der analytischen Sensitivität von neu- oder eigenentwickelten Testsystemen interessiert sind, stehen im Rahmen dieses Ringversuchs wiederum zahlreiche Sets an standardisierten Rückstellproben zur Verfügung, die über den Ringversuchsleiter bezogen werden können.

**PCR-/NAT *Chlamydia pneumoniae*  
 (RV 540) April 2006, Group B**



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

Gruppe B	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
62411	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
62412	+	61	<i>Chlamydia pneumoniae</i> (~ 1x10 <sup>2</sup> IFU/mL)
62413	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
62414	++	61	<i>Chlamydia pneumoniae</i> (~ 1x10 <sup>4</sup> IFU/mL)

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

n = 28	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	62411	62412	62413	62414		62411	62412	62413	62414
Befund Result									
Positiv	0	11	0	27	n.d.	0	0	0	0
Negativ	28	17 <sup>1)</sup>	27	1	nein no	28	28	28	28
Fraglich Questionable	0	0	1 <sup>*)</sup>	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 True positive results			NAT richtig negativ True negative results		
	Absolut Absolute	Relativ Relative	%	Absolut Absolute	Relativ Relative	%
In house PCR assay [28] (n = 26)	36	36 / 52 <sup>*)</sup>	69	51	51 / 51	100
Other commercial tests [27] (n = 2)	2	2 / 4	50	4	4 / 4	100
Andere / k.A. / other [29] (n = 0)	-	- / -	--	-	- / -	--

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

**Comments:** <sup>1)</sup> 17 of the 28 participants reported negative results for sample # 62412. Due to the low number of target organisms we have not rated them as false-negative, but the participants should consider to improve the analytical sensitivity of their corresponding PCR/NAT assays.

To the participants of the  
INSTAND-Proficiency Test in  
Bacterial Genome Detection (PCR / NAT)  
(INSTAND Proficiency Test Numbers 530 to 540)

**Dear Participant, dear Colleague,**

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

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

This highly desired program for external validation was activated 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](http://www.instand-ev.de)", this new segment of their huge proficiency testing program is now open for diagnostic laboratories worldwide. We are aiming at two validation rounds per year (April / September), a reasonable price of less than €150 per set, and a permanently expanding coverage of relevant bacterial pathogens. Any general or specific comments on sample composition or suggestions on additional bacterial, fungal, or parasitic organisms which should be covered, are highly appreciated.

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

Further information as well as the documented and analyzed results of the past rounds of our proficiency test program "Bacterial Genome Detection (PCR / NAT) can be downloaded in form of pdf-files at "[www.udo-reischl.de](http://www.udo-reischl.de)", subsection "INSTAND Ringversuche (PCR / NAT)". Although the preferred language of these documents is German, we are aiming to provide at least some key documents and the tables in a bilingual style.

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

With best personal regards,



**Dr. Udo Reischl**

Organizer of the proficiency testing program "Bacterial Genome Detection"  
Member of the Quality Assurance Board (DGHM; German Society of Hygiene and Microbiology)

**Prof. Dr. H. Wolf    Prof. Dr. N. Lehn    Prof. Dr. E. Straube    Prof. Dr. M. Maaß**





Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene  
Universität Regensburg, FJS-Allee 11, 93053 Regensburg  
<http://www.udo-reischl.de>

Instand e.V.  
Institut für Standardisierung und Dokumentation  
im medizinischen Laboratorium e.V.  
<http://www.instand-ev.de>



## 540 Bakteriengenom-Nachweis *Chlamydia pneumoniae*

status 04.2006

### Evaluation (quantitative Real-Time PCR):

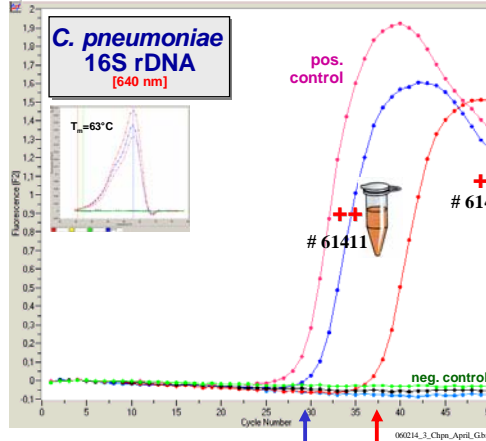
#### Group A

Reischl / Lehn / Wolf

- 1 RV 61411 29.23
- 2 RV 61412 36.46
- 3 RV 61413 36.46
- 4 RV 61414
- 5 Pos *C. pneumo* 26.68
- 6 Neg control



**LightCycler PCR protocol:**  
Reischl, U., N. Lehn, U. Sinnacher, R. Marre, and A. Essig (2003) Rapid and standardized detection of *Chlamydia pneumoniae* using LightCycler real-time fluorescence PCR. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 21:54-57.



approx. IFU / PCR reaction:  $\sim 5 \times 10^1$   $\sim 5 \times 10^{-1}$



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

neg.  
# 61412  
neg.  
# 61414

U. Reischl/RMMH#04.2006



INSTAND-J03\_I/06



Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene  
Universität Regensburg, FJS-Allee 11, 93053 Regensburg  
<http://www.udo-reischl.de>

Instand e.V.  
Institut für Standardisierung und Dokumentation  
im medizinischen Laboratorium e.V.  
<http://www.instand-ev.de>



## 540 Bakteriengenom-Nachweis *Chlamydia pneumoniae*

status 04.2006

### Evaluation (quantitative Real-Time PCR):

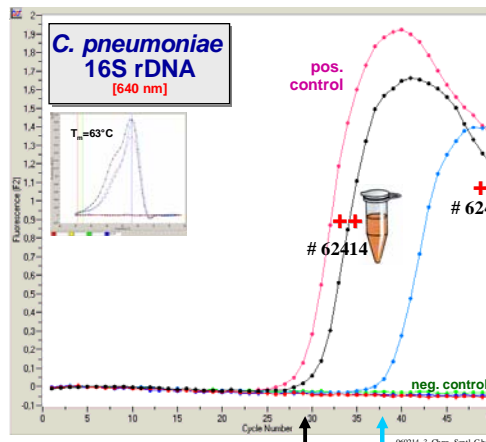
#### Group B

Reischl / Lehn / Wolf

- 5 Pos *C. pneumo* 28.85
- 6 Neg control
- 7 RV 62411 38.57
- 8 RV 62412 38.57
- 9 RV 62413 30.66
- 10 RV 62414



**LightCycler PCR protocol:**  
Reischl, U., N. Lehn, U. Sinnacher, R. Marre, and A. Essig (2003) Rapid and standardized detection of *Chlamydia pneumoniae* using LightCycler real-time fluorescence PCR. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 21:54-57.



approx. IFU / PCR reaction:  $\sim 5 \times 10^1$   $\sim 5 \times 10^{-1}$



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

neg.  
# 62411  
neg.  
# 62413

U. Reischl/RMMH#04.2006



INSTAND-J06\_I/06