



Regensburg, den 31. Mai 2007

**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 the next page of this document and
tables with the results in a bilingual style.*

Sehr geehrte Kolleginnen und Kollegen,

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

Ihre individuellen Resultate und deren Bewertung können Sie in gewohnter Weise der 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 wie gehabt 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. Bis auf wenige Ausnahmen waren die bisherigen Kommentare jedoch durchwegs positiv - vielen Dank !!

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

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", 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", 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

Aktueller Hinweis:

Wie bereits erwähnt, sind wir bei der Gestaltung zukünftiger erregerspezifischer Ringversuche stets bemüht, den Anregungen und Wünschen von Seiten der Teilnehmer möglichst zeitnah und professionell Rechnung zu tragen. Um unser Spektrum an respiratorischen Pathogenen sinnvoll zu erweitern, werden wir im Laufe dieses Jahres (voraussichtlich im Zuge der kommenden Ringversuchsrunde im September 2007) einen sogenannten Probe-Ringversuch **RV 541 "Mycoplasma pneumoniae"** anbieten. Interessierte Laboratorien können sich bereits im Vorfeld bei INSTAND e.V. für eine Teilnahme anmelden - es wird in der ersten Runde nur eine limitierte Anzahl von Probensets verfügbar sein. Bei erfolgreichem Verlauf soll dieser neue Ringversuch zusammen mit den bereits etablierten Ringversuchen für *Chlamydia pneumoniae* und *Legionella pneumophila* als fester Bestandteil in das PCR/NAT-Ringversuchsprogramm von INSTAND e.V. aufgenommen werden. Damit wäre der weltweit erste regelmäßige Ringversuch für den gezielten Nachweis von *Mycoplasma pneumoniae* DNA verfügbar und das sog. "CAP-Panel", zumindest bezüglich der bakteriellen Erreger, für die ein NAT-gestützter Nachweis in vielen Fällen sinnvoll sein kann, weitgehend abgedeckt.

Die Konzeption und Auswertung des neuen *Mycoplasma pneumoniae*-spezifischen Ringversuchs erfolgt dabei in enger Zusammenarbeit mit **Herrn Professor Jacobs** vom Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene der Technischen Universität Dresden.

Gesamtübersicht und Auswertung der Ringversuchsergebnisse aller Teilnehmer

APRIL 2007:

Entsprechend des Grundgedankens unserer Ringversuchsaktivitäten wurde auch bei der Konzeption des aktuellen Ringversuchs zum "Bakteriengenomnachweis mittels PCR oder anderer Nukleinsäureamplifikationstechniken (NAT)" bei einigen Zielorganismen der Versand von Proben mit relativ niedrigen bzw. als grenzwertig positiv zu betrachtenden Erregerzahlen angestrebt.

In den aktuellen Ringversuchssets befinden sich daher erneut einige Proben mit relativ geringer Menge folgender Zielorganismen: *Chlamydia trachomatis* (Probe # 71102), *Bordetella pertussis* (Probe # 71207), *Helicobacter pylori* (Probe # 71304), EHEC (Probe # 71407), *Borrelia burgdorferi* (Probe # 71502), *Legionella pneumophila* (Probe # 71606), sowie *Chlamydia pneumoniae* (Probe # 71411). Im Rahmen der Testentwicklung bzw. Testoptimierung können diese Probensätze u.a. als Qualitätskontrollen oder als standardisierte Sensitivitätsmarker für die Austestung der unteren Nachweisgrenze von eigenentwickelten Nukleinsäure-gestützten Testsystemen dienen.

An dieser Stelle möchten wir auch darauf hinweisen, daß zahlreiche Rückstell-Probensätze der früheren Ringversuche noch verfügbar sind und bei Bedarf über den Ringversuchsleiter formlos nachbestellt werden können.

Mit Ausnahme der zuvor erwähnten "grenzwertig positiven" Einzelproben wurden die Mengen der entsprechenden Zielorganismen in den Probensätzen der aktuellen Ringversuchsrunde wieder relativ deutlich über der Nachweisgrenze von "durchschnittlich sensitiven PCR/NAT-Testkonzepten" eingestellt. Diese definieren wir wie folgt: als Richtwert für die Bewertung von Ringversuchsergebnissen gilt das 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) mit den entsprechenden Codenummern der Ergebnisbögen. Die von den einzelnen Teilnehmern mitgeteilten Ergebnisse werden in Tabelle 2 nach der Häufigkeit der Mitteilung von positiven oder negativen Ergebnissen und in Tabelle 3 nach der absoluten Anzahl der richtig positiven und richtig negativen Ergebnisse sowie deren prozentualem Anteil (Befundhäufigkeit) je Amplifikationssystem bzw. Testkonzept aufgeschlüsselt. Für die objektive Bewertung von kommerziellen Testsystemen sollten neben der rein statistischen Betrachtung der mitgeteilten Ringversuchsergebnisse auch die Anzahl und vor allem die methodische bzw. technische Qualifikation der individuellen Teilnehmer berücksichtigt werden. Da wir im Zuge unserer Ringversuche aber das gesamte Spektrum von spezialisierten Expertenlabors bis hin zum "Gelegenheitsanwender" abdecken, müssen die arithmetisch ermittelten Richtigkeitsquoten bei der Bewertung einzelner Testsysteme immer mit einem gewissen Toleranzbereich betrachtet werden. 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"; Unterpunkt "INSTAND-Ringversuche (PCR / NAT)" und neuerdings auch über die Homepage von INSTAND e.V. als *pdf*-Files zum freien Download bereit.

RV 539: MRSA

Zuerst einmal, wie gehabt, eine wichtige Anmerkung vorab: dieser Ringversuch ist ausschließlich für den **Direktnachweis von MRSA** aus geeignetem klinischem Untersuchungsgut (wie beispielsweise Nasenabstrichen) konzipiert. Die positiven Proben innerhalb des ausgesandten 4-er Sets enthalten daher typischerweise relativ geringe Mengen an entsprechenden Zielorganismen. Für interessierte Teilnehmer soll an dieser Stelle noch einmal explizit darauf hingewiesen werden, daß sich mit Testsystemen, die üblicherweise für die Kulturbestätigung von *S. aureus* und/oder MRSA ausgelegt sind, diese geringen Mengen nicht immer zuverlässig nachweisen lassen werden. Eine Teilnahme an diesem Ringversuch ist daher nur für solche diagnostische Laboratorien erfolversprechend und sinnvoll, die hochsensitive und spezifische NAT/PCR-gestützte Verfahren zum Direktnachweis von MRSA etabliert haben bzw. im Zuge einer externen Qualitätskontrolle evaluieren wollen.

Der NAT-gestützte Direktnachweis von MRSA gewinnt im Umfeld der medizinischen Mikrobiologie zunehmend an Aktualität und Attraktivität, und es sind bereits von 3 namhaften Herstellern Testsysteme bzw. Testkits kommerziell verfügbar. Deren Verwendung wurde im Zuge dieses Ringversuchs systematisch abgefragt. Die Auswertung der aktuellen Ergebnisse zeigt erneut die spezifischen Limitationen der unterschiedlichen Testformate und -konzepte. Bedingt durch die diagnostische Fragestellung bestehen die spezifischen Anforderungen hier in einem möglichst sensitiven Nachweis von geringsten Mengen an Zielorganismen und gleichzeitig in der differenzierten Erfassung von *mecA*-positiven Koagulase-negativen Staphylokokkenspezies.

Viele der derzeit etablierten eigenentwickelten oder kommerziellen Testsysteme zum Direktnachweis von MRSA aus klinischem Untersuchungsmaterial basieren auf einer getrennten Erfassung von *S. aureus*-spezifischen Markern, Staphylokokkenspezies-spezifischen Markern und dem *mecA* Gen in der entsprechenden Nukleinsäurepräparation. Da sowohl bei *S. aureus* als auch bei Koagulase-negativen Staphylokokken das *mecA*-Gen für die phänotypische Ausprägung einer Methicillin-Resistenz verantwortlich ist, ist die Aussagekraft dieser PCR-gestützten Testsysteme für den Direktnachweis von MRSA aus nativem Patientenmaterial eingeschränkt, wenn beim Patienten eine gleichzeitige Besiedelung mit *S. aureus* und Koagulase-negativen Staphylokokken (die als klinische Isolate zumeist *mecA*-positiv sind) vorliegt. Einen attraktiven Ansatzpunkt zur Lösung dieses Problems bieten sog. SCC*mec*-basierte PCR Testkonzepte, die auf dem Nachweis des Methicillin-Resistenzgens innerhalb eines für *S. aureus* charakteristischen Genbereiches beruhen und die relativ gut konservierte Integrationsstelle der SCC*mec* Kasette im *S. aureus* Genom als Zielsequenz verwenden. Eine Diskussion dieser Problematik findet sich beispielsweise in: Kola et al., "Workshop zum MRSA-Screening am 25.05.05 in Hannover", Mikrobiologie, 2005, 175-181.

Daß aber auch die SCC*mec*-basierten Testkonzepte gewisse Limitationen haben, konnte im Rahmen des vorhergegangenen Ringversuchs April 2006 mit der Probe # 61904 eindrucksvoll aufgezeigt werden: dieses MSSA Isolat besaß zwar eine an den jeweiligen Enden typische SCC*mec* Sequenz, aber das üblicherweise innerhalb der SCC*mec* Kasette vorhandene *mecA*-Gen war hier deletiert.

Im Rahmen dieser Ringversuchsserie haben wir uns jedoch zum Ziel gesetzt, primär die analytische Sensitivität und Spezifität (und somit die Routinetauglichkeit) der jeweils eingesetzten Testsysteme abzuprüfen und die Teilnehmer nicht mit einer Reihe von sporadisch isolierten *S. aureus* Isolaten von zugegebenermaßen "exotischer" Genomkonstellation zu verunsichern. Daher befand sich im aktuellen Ringversuch (neben einer einer Mischung aus *S. aureus* und Koagulase-negativen Staphylokokken mit *mecA*-Gen) auch wieder ein "typisches" MRSA-Isolat mit intaktem *mecA* Gen. Wie in Tabelle 1 dargestellt, enthielt das aktuelle Set an Ringversuchsproben diesmal je eine Probe mit relativ hoher Menge an einem *mecA*-negativen aber PVL-positiven *S. aureus* Isolat (# 71902; cMSSA, PVL-positiv, $\sim 5 \times 10^4$ CFU/ml), eine Probe mit einem PVL-negativen MRSA Isolat (# 71901; MRSA, PVL-negativ, $\sim 1 \times 10^4$ CFU/ml), eine Probe mit einem *mecA*-

negativen *S. aureus* Isolat und der gleichzeitigen Anwesenheit eines *mecA*-positiven *S. haemolyticus* Stammes (# 71903; je $\sim 5 \times 10^3$ CFU/ml), sowie eine Probe ohne Staphylokokken (# 71904; *E. coli*).

Für die Probe # 71904 wurden von den insgesamt 121 Teilnehmern durchwegs richtig-negative Ergebnisse mitgeteilt. Dies spricht, zumindest im Rahmen des aktuellen Ringversuchs, für eine hohe Kontaminationssicherheit bei der DNA-Isolierung und den nachfolgenden Amplifikations- und Detektionsverfahren. Bei der "ausschließlich" MRSA-positiven Probe # 71901 wurden diesmal von 116 der insgesamt 121 Teilnehmer, unabhängig von dem jeweils eingesetzten NAT-gestützten Testsystem, bis auf 5 falsch-negative Befunde (Teilnehmer mit eigenentwickelten *in-house* Testsystemen) durchwegs korrekte Ergebnisse mitgeteilt.

Bei der Probe # 71902, die ein Methicillin- bzw. Oxacillin-sensibles aber PVL-positives *S. aureus* Isolat enthielt, wurden vom Großteil der 121 Teilnehmern ebenfalls durchwegs richtig-negative Ergebnisse mitgeteilt. Abgesehen von den 4 Teilnehmern mit falsch-positivem Ergebnis spricht diese Ergebnislage für eine hohe Zuverlässigkeit des NAT-gestützten Direktnachweises von MRSA aus klinischem Untersuchungsmaterial.

Mit dieser Probe soll aufgezeigt werden, daß in der mikrobiologischen Routine nicht nur MRSA Isolate sondern **auch MSSA-Isolate PVL-positiv** sein können. Solche Isolate besitzen, abgesehen vom Resistenzprofil, in der Regel vergleichbare Virulenzeigenschaften wie cMRSA-Isolate.

Bei der Probe # 71903 mit einer Mischung aus *S. aureus* und Methicillin-resistenten *S. haemolyticus* gestaltet sich die Diskussion der Ringversuchsergebnisse aufgrund der unterschiedlichen Testkonzepte der einzelnen Teilnehmer jedoch etwas komplexer. Diese Konstellation konnte zumindest von der Mehrzahl der Teilnehmer mit SCC*mec*-basierten Testkonzepten aufgelöst werden, und es wurden insgesamt 88 richtig-positive Ergebnisse mitgeteilt. Wie bereits zuvor erwähnt kann mit der Verwendung von Testsystemen, die auf einer getrennten Erfassung von speziesspezifischen Markern und dem *mecA* Gen basieren, die Anwesenheit des *mecA* Gens zwar meist nachgewiesen werden, aber dessen Herkunft nicht zweifelsfrei dem Genom der ebenfalls nachgewiesenen *S. aureus* und/oder der Koagulase-negativen Staphylokokkenspezies zugeordnet werden. In diesem Fall wäre "fraglich" das wissenschaftlich korrekte Ergebnis der NAT-gestützten Untersuchung. Unter den 8 als "fraglich" klassifizierten Ergebnissen für Probe # 71903 befinden sich daher auch 4 der insgesamt 6 Teilnehmer mit dem kommerziellen Hyplex StaphyloResist Testsystem sowie 4 Teilnehmer mit eigenentwickelten (*in house*) Testkonzepten zur getrennten Erfassung von speziesspezifischen Markern und dem *mecA* Gen. Keiner dieser 8 Teilnehmer mit "fraglichem" Ergebnis gibt hier die Verwendung von SCC*mec* basierten Testsystemen an. Überraschenderweise wurden bei dieser Probe auch 19 positive Ergebnisse berichtet. Ein Teilnehmer gab die Verwendung des Hyplex StaphyloResist Testsystems und 18 Teilnehmer ein eigenentwickeltes (*in house*) Testkonzept zur getrennten Erfassung von speziesspezifischen Markern und dem *mecA* Gen an. Da die Probenkonstellation bei # 71903 mit den angegebenen Testsystemen nur als "fraglich" befundet werden kann, müssten diese Ergebnisse bei der Erteilung entsprechender Zertifikate strenggenommen als "falsch" bewertet werden.

Bei der statistischen Auswertung in Tabelle 3 bestätigt sich der bereits beim vorhergegangenen Ringversuch zu beobachtende Trend: SCC*mec*-basierte Testkonzepte scheinen vor allem für den gezielten Nachweis von MRSA in komplexen Mischungen aus MRSA und Koagulase-negativen Streptokokken einen gewissen Vorteil gegenüber den Testsystemen mit getrennter Erfassung von speziesspezifischen Markern und dem *mecA* Gen zu bieten. Andere, für den Routineeinsatz oftmals aber auch entscheidende Kriterien, wie die untere Nachweisgrenze (analytische Sensitivität) oder die Spezifität, konnten jedoch im Rahmen des aktuellen Ringversuchs nicht systematisch abgeprüft werden. Für Kollegen, die an einer umfassenden Abprüfung der *Performance* ihrer neu- oder eigenentwickelten Testsystemen interessiert sind, stehen aber noch

vom vorhergegangenen Ringversuch einige fertig konfektionierte Sets an Rückstellproben zur Verfügung, die über den Ringversuchsleiter bezogen werden können.

Optional wird im Rahmen dieser neuen Ringversuchsreihe auch der molekulargenetische Nachweis des putativen Pathogenesefaktors PVL (Panton-Valentine Leukozidin) bzw. dessen codierende Gene *lukF/S* abgefragt. Entsprechende Ergebnisse wurden von 40 der insgesamt 121 teilnehmenden Laboratorien mitgeteilt - und erfreulicherweise waren diesmal alle Ergebnisse korrekt. Nähere Informationen zu der nach wie vor hochaktuellen cMRSA bzw. CA-MRSA Problematik finden sich beispielsweise unter: Linde, H.J. und N. Lehn (2005) Dtsch. Med. Wochenschr. 130:2397-2401, oder Witte, W. et al. (2005) Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 24:1-5. Ein gut evaluiertes *real-time* PCR Protoikoll für den gezielten Nachweis von PVL-positiven *S. aureus* Isolaten findet sich beispielsweise in: Eur. J. Clin. Microbiol. Inf. Dis. (2007) **26**:131-135.

PCR-/NAT MRSA / cMRSA (RV 539) April 2007



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

Gruppe A	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
71901	++	61 /72	MRSA (<i>S. aureus</i> , <i>mecA</i> pos., <i>oxa^R</i>) (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)
71902	∅	62 /71, 72	cMSSA (<i>S. aureus</i> , <i>mecA</i> neg., PVL-pos.) (~5x10 ⁴ CFU/mL)
71903	∅	62 /72, 74,76	<i>S. aureus</i> + CoNS (<i>S. haemolyt.</i> , <i>oxa^R</i>)(~ 5x10 ³ CFU/mL)
71904	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12

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

n = 121	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	71901	71902	71903	71904		71901	71902	71903	71904
Befund <i>Result</i>									
Positiv	116	4	19	0	n.d.	5	5	5	5
Negativ	5	117 ¹⁾	94	121	nein <i>no</i>	116	116	116	116
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	8 ^{2,§}	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>			NAT richtig negativ <i>True negative results</i>		
	Absolut <i>Absolute</i>	Relativ <i>Relative</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	Relativ <i>Relative</i>	%
In house PCR assay [28] (n=36)	31	31 / 36	86	96	96 / 107 [§]	90
IDI-MRSA (BD-GeneOhm) [20]	31	31 / 31	100	92	92 / 93	99
GenoType MRSA Direct [21] (n=36)	36	36 / 36	100	106	106 / 108	98
Hyplex StaphyloResist [22] (n=7)	7	7 / 7	100	15	14 / 15 [§]	93
LightCycler Kits [23] (n=8)	8	8 / 8	100	19	19 / 24	79
Commercial assay kit [27] (n=4)	4	4 / 4	100	8	8 / 12	67
Andere / k.A. / other [29] (n=6)	6	6 / 6	100	15	15 / 17 [§]	88

* 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.

[§] Due to reporting questionable results, the number of true results (denominator in the "relative" column) have been reduced.

Comments: ¹⁾ cMRSA identification was performed by 40 of the 121 participating laboratories. All PVL (*lukFS*) PCR results for the MSSA sample # 71902 were correct.
²⁾ Depending on the assay concept used, "questionable" may be the correct result.



539 Bakteriengenom-Nachweis MRSA status 04.2007

➤ **Evaluation (commercial PCR assay):**

Reischl / Lehn / Wolf

**BD GeneOhm
 MRSA Assay**

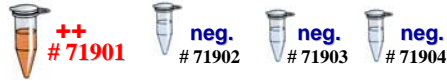


Run Name:
 INSTAND 20070412
 User: MRSA
 Started: Apr 12, 2007 11:08 PM
 Finished: Apr 13, 2007 12:08 AM

Site ID	Sample ID	Assay Result	IC Result	Warning/ Error Code	Sample Type
A1	71901-100	POS	NA		SPEC
A2	71901-200	POS	NA		SPEC
A3	71902-100	NEG	PASS		SPEC
A4	71902-200	NEG	PASS		SPEC
A5	71903-100	NEG	PASS		SPEC
A6	71903-200	NEG	PASS		SPEC
A7	71904-100	NEG	PASS		SPEC
A8	71904-200	NEG	PASS		SPEC
A9	Pos Cntrl 1	Valid	NA		PC 1
A10	Neg Cntrl 1	Valid	PASS		NC 1

BD Diagnostics -
 GeneOhm
 Tullastrasse 8-12
 69126 Heidelberg
www.bd.com/de

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



U. Reischl/RIMM/H/04.2007



INSTAND-I08_I/07