



IN STAND e.V.

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



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



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

Regensburg, den 5. Juli 2023

RINGVERSUCHSAUSWERTUNG - Mai 2023

An die Teilnehmer

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

Dear Participant, dear Colleague,

Please find a cover letter in English on page 8 of this document. As always, result tables and brief comments on the current results are kept in a bilingual style.

Sehr geehrte Kolleginnen und Kollegen,

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

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

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

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

Mit freundlichen und kollegialen Grüßen,

Prof. Dr. Udo Reischl

Ringversuchsleiter Bakteriengenomnachweis
Mitglied der Qualitätssicherungskommission der DGHM

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

Gesamtübersicht und Auswertung der Ringversuchsergebnisse aller Teilnehmer

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

So wurden beispielsweise im aktuellen **RV 532 *Bordetella pertussis*** zwei der vier Proben mit einer relativ geringen Menge an *B. pertussis* Zielorganismen versetzt. Erfreulicherweise wurden diesmal auch bei der methodisch etwas anspruchsvolleren Konstellation nur eine relativ geringe Anzahl von falsch-negativen Ergebnissen bei einer der schwächer positiven Proben berichtet (weniger als 20 % der Teilnehmer bei Probe 1) und die DNA von *B. pertussis* konnte mit den meisten der kommerziellen und *in-house* PCR-Testsysteme dennoch zuverlässig nachgewiesen werden.

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

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

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

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

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

Nach 19 Teilnehmern beim Pilotringversuch 2018 und 68 Teilnehmern im November 2019 haben sich diesmal bereits 148 Teilnehmer registriert. Wir werden uns weiterhin nach Kräften bemühen, der deutlich steigenden Nachfrage auch bei den zukünftigen Ringversuchsrunden mit ausreichenden Mengen an geeignetem Probenmaterial nachkommen zu können.

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

noch auf einige wesentliche Auffälligkeiten beschränken. Da sich das offizielle Layout der schönen orange-farbenen Zertifikate und Statistiken etwas von der bisher gewohnten Form unterscheidet, werden wir **für die Traditionalisten unter Ihnen** jedoch auch **weiterhin die übersichtlichen Tabellen 1 bis 3 in gewohnter Form anfertigen** und online zur Verfügung stellen. Tabelle 1 zeigt dabei die Probenzusammensetzung und das erwartete Ergebnis (Sollwert) mit den entsprechenden Codenummern der Ergebnisbögen. Die von den einzelnen Teilnehmern mitgeteilten Ergebnisse werden in Tabelle 2 nach der Häufigkeit der Mitteilung von positiven oder negativen Ergebnissen, und in Tabelle 3 nach der absoluten Anzahl der richtig positiven und richtig negativen Ergebnisse, sowie deren prozentualen Anteil (Befundhäufigkeit) je Amplifikationssystem bzw. Testkonzept aufgeschlüsselt.

Viele der seriösen Diagnostika-Hersteller geben sich größte Mühe bei der Testentwicklung und klinischen Evaluierung - und sind dann (zurecht) stolz auf die Leistungsdaten ihrer modernen PCR/NAT Assays. Auffällig bei vielen der aktuellen aber auch bei einigen der früheren Ringversuche ist das unterschiedlich gute Abschneiden von Teilnehmern mit ein und demselben kommerziellen, vorkonfektionierten und teilweise auch automatisierten und/oder kartuschenartig geschlossenen Testsystemen. Die meisten dieser Assays sind zudem auch noch IVD zertifiziert - mit allen aufwändigen herstellereitigen Vorkehrungen zur "zuverlässigen" Durchführung und standardisierten Ergebnisinterpretation. Die auffällige "Streuung der Performance" (bzw. das Auftreten einzelner Ausreißer) unterstreicht aus Sicht des Ringversuchsleiters umso mehr die Bedeutung der Qualitätsstandards, wie beispielsweise das regelmäßige Mitführen von geeigneten Extraktions-, Positiv- und Negativ-Kontrollen sowie Schulungen und kontrollierte Maßnahmen zur Vermeidung von exogenen Kontaminationsmöglichkeiten in PCR/NAT-Arbeitsbereichen, die u.a. im Rahmen der aktuellen RiLiBÄK, der Akkreditierung und der praxisorientiert verfassten MIQ-1 gefordert werden. Deren Sinnhaftigkeit und Stringenz mag aus Anwendersicht ja gelegentlich bezweifelt werden, wird aber in diesen Ringversuchsrunden (sozusagen von neutraler Warte aus) dennoch immer wieder aufs Neue bestätigt. Vielleicht lohnt es sich unter diesen Gesichtspunkten doch wieder mal ein Blick in die MIQ-1 oder die RiLiBÄK um hier und dort noch ungenutztes Potential auszuschöpfen... Maximale diagnostische Sicherheit sollte doch unser aller Prämisse sein und das unnötige bzw. fahrlässige Generieren von falsch-negativen oder falsch-positiven Befunden (und vor allem deren Folgen für die betroffenen Patienten) sind unserer Einschätzung nach durch keine methodischen oder ökonomischen Ausflüchte zu entschuldigen!
Also "nix für ungut" liebe Kolleginnen und Kollegen, wie der Bayer so schön sagt ;-)

MAI 2023:

Entsprechend des Grundgedankens unserer Ringversuchsaktivitäten wurde auch bei der Konzeption des aktuellen Ringversuchs zum "Bakteriengenomnachweis mittels PCR oder anderer Nukleinsäureamplifikationstechniken (NAT)" bei einigen Zielorganismen der Versand von Proben mit relativ niedrigen Erregerzahlen angestrebt. In den aktuellen Ringversuchssets befanden sich daher erneut einige Proben mit relativ geringer Menge folgender Zielorganismen: *Bordetella pertussis* (Proben # 532 230523 01 und # 532 230523 03), *Legionella pneumophila* (Probe # 536 230523 04), *Listeria monocytogenes* (Probe # 538 230523 01), *Chlamydia pneumoniae* (Probe # 540 230523 04), *Mycoplasma pneumoniae* (Probe # 541 230523 02), *Mycoplasma hominis* (Probe # 547 230523 03) sowie *Pneumocystis jirovecii* (Probe # 560 230523 02).

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 direkt über INSTAND e.V. (ggf. nach Rücksprache mit dem Ringversuchsleiter) formlos nachbestellt werden können.

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

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

Falsch-positive Ergebnisse sind dagegen in der Regel als Hinweis auf eine Kreuzkontamination während der Probenextraktion bzw. -abarbeitung und/oder auf mangelnde Spezifität der eingesetzten Testsysteme zu betrachten.

Für die objektive Bewertung von kommerziellen Testsystemen sollten neben der rein statistischen Betrachtung der mitgeteilten Ringversuchsergebnisse auch die Anzahl und vor allem die methodische bzw. technische Qualifikation der individuellen Teilnehmer berücksichtigt werden. Da wir im Zuge unserer Ringversuche aber das gesamte Spektrum von spezialisierten Expertenlabors bis hin zum "Gelegenheitsanwender" abdecken, müssen die arithmetisch ermittelten Richtigkeitsquoten bei der Bewertung einzelner Testsysteme immer mit einem gewissen Toleranzbereich betrachtet werden.

Zusätzlich stehen für die früheren, für diesen und für alle folgenden Ringversuche eine Reihe zusätzlicher Informationen unter folgender Internetadresse: "www.udo-reischl.de"; Unterpunkt "Auswertung der Ringversuche" und natürlich auch über die Homepage von INSTAND e.V. (www.instand-ev.de) als *pdf*-Files zum freien Download bereit.

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

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

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

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

RV 531: *Chlamydia trachomatis*: keine besonderen Auffälligkeiten, Richtigkeitsquote: 100 %!

RV 532: *Bordetella pertussis*:

Die Probe # 532 230523 01 enthielt diesmal ca. 5×10^3 CFU/mL an *Bordetella pertussis* und wurde von 28 der insgesamt 168 Teilnehmer als (falsch-)negativ für *Bordetella pertussis* befundet. Bei der noch etwas schwächer positiven Probe # 532 230523 03 mit ca. 2×10^3 CFU/mL an *Bordetella pertussis* wurden lediglich noch von knapp der Hälfte aller Teilnehmer richtig positive Ergebnisse für *Bordetella pertussis* DNA beobachtet. Hierbei handelt es sich vermutlich um mangelnde analytische Sensitivität der DNA Extraktions- und Aufreinigungsverfahren sowie der eingesetzten *B. pertussis*-spezifischen PCR/NAT Testsysteme. Probe # 532 230523 03 wurde diesmal als edukativ klassifiziert und nicht in die Richtigkeitsbewertung der Zertifikate mit einbezogen. Dies ist u.a. an der grauen Schraffierung aller 3 Felder in Tabelle 2 zu erkennen.

Although the weak positive samples # 532 230523 01 and # 532 230523 03 (which contained $\sim 5 \times 10^3$ CFU/mL and $\sim 2 \times 10^3$ CFU/mL of *Bordetella pertussis*), were correctly tested positive by the majority of participants, a significant portion of false-negative results were observed this time. The affected participants may check their DNA extraction workflow as well as their individual *B. pertussis*-specific PCR assays concepts for potential improvements regarding analytical sensitivity. However, the results for sample # 532 230523 03 were not considered during the assessment for the respective certificates.

RV 533: *Helicobacter pylori*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 534: *EHEC* / *STEC*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 535: *Borrelia burgdorferi*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 536: *Legionella pneumophila*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 537: *Salmonella enterica*: Einer der 46 Teilnehmer hat hier alle 4 Proben negativ befundet, ansonsten keine besonderen Auffälligkeiten

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

RV 539: MRSA: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 540: *Chlamydia pneumoniae*: Die fünf falsch-negative Ergebnisse bei der Probe # 540 230523 04 (5×10^3 IFU/mL an *C. pneumoniae*) sind vermutlich mit mangelnder analytischer Sensitivität der eingesetzten Testsysteme zu erklären, ansonsten keine besonderen Auffälligkeiten.

The five false-negative results for the weak positive sample # 540 230523 04 (which contained 5×10^3 IFU/mL of *C. pneumoniae*) may indicate a slightly weaker analytical sensitivity of the PCR/NAT-assay workflow. Affected participants may check their assay concepts for potential improvements regarding analytical sensitivity.

RV 541: *Mycoplasma pneumoniae*:

Die Probe # 541 230523 02 enthielt diesmal ca. 5×10^3 Genomkopien/mL an *M. pneumoniae* und wurde von 19 der insgesamt 154 Teilnehmer als (falsch-)negativ befundet. Aufgrund der relativ geringen Menge an Zielorganismen wurde sie diesmal als edukativ klassifiziert und nicht in die Richtigkeitsbewertung der Zertifikate mit einbezogen. Dies ist u.a. an der grauen Schraffierung aller 3 Felder in Tabelle 2 zu erkennen.

The weak positive sample # 541 230523 02 (which contained $\sim 5 \times 10^3$ genome copies/mL of *M. pneumoniae*) was tested false-negative by 19 of the 154 participants. The results for this sample were not considered during the assessment for the respective certificates.

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

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

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

RV 545: *Clostridium difficile*: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 546: VRE: keine besonderen Auffälligkeiten

RV 547: Urogenital Panel

Im Großen und Ganzen haben die 151 aktuell registrierten Teilnehmer die Erreger in den 4 Einzelproben entsprechend den methodischen Möglichkeiten ihrer Testsysteme zufriedenstellend nachweisen können. Wie aus den statistischen Auswertungen zu entnehmen ist, wurden insgesamt nur sehr wenige (sporadische) falsch-positive oder falsch-negative Ergebnisse berichtet.

Dies bestätigt zum einen die Praktikabilität unseres innovativen Multiplex-Ringversuchskonzepts und spricht zum anderen für die relativ zuverlässige Erfassung der Zielorganismen innerhalb der jeweils testspezifisch abgedeckten Erregerspektren der eingesetzten kommerziellen oder eigenentwickelten PCR/NAT Verfahren.

Wie bereits in der vorhergehenden Ringversuchsdiskussion erwähnt, haben wir für im Rahmen der online-Ergebnisübermittlung des RV 547 eine Option in der Eingabemaske entwickelt, über die die einzelnen Teilnehmer das aktuell erfasste Erregerspektrum ihrer individuellen Testsysteme und Multiplex-Assays während der Ergebniseingabe mitteilen. Für die Erteilung von Zertifikaten macht es nachvollziehbarerweise nur Sinn, dass diejenigen Parameter bewertet und testiert werden, die von den individuellen Teilnehmern im Rahmen ihres diagnostischen Workflows prinzipiell auch als positiv bzw. negativ erfasst werden können.

The concept of this novel EQAS-panel for the detection of the most prominent urogenital pathogens was recently established to meet the demands of current and future multiplex PCR/NAT assay concepts. Regarding the statistical analysis, data presentation and results discussion, we are still in the learning phase to optimize the informative and intuitive depiction of the complex result

constellations as well as developing a rational scheme for issuing individual certificates for the participants. When looking at the results reported by the 151 participants, again a good overall correlation between the expected and the reported results was observed. Briefly, only sporadic false-negative or false-positive results were observed. In general, false-positive results for given species within the multiplex panel could probably be due to cross-contamination events in the course of sample preparation, amplification or amplicon detection steps.

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

RV 560: *Pneumocystis jirovecii*

Die Probe # 560 230523 02 enthielt diesmal ca. 5×10^3 Organismen/mL an *P. jirovecii* und wurde von 27 der insgesamt 142 Teilnehmer als (falsch-)negativ befundet. Aufgrund der relativ geringen Menge an Zielorganismen wurde sie diesmal als edukativ klassifiziert und nicht in die Richtigkeitsbewertung der Zertifikate mit einbezogen. Dies ist u.a. an der grauen Schraffierung aller 3 Felder in Tabelle 2 zu erkennen.

The weak positive sample # # 560 230523 02, which contained $\sim 5 \times 10^3$ organisms/mL of *P. jirovecii*, was tested false-negative by 27 of the 142 participants. The results for this sample were not considered during the assessment for the respective certificates.

May 2023

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

Dear Participant, dear Colleague,

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

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

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

This highly desired scheme for external quality assessment (EQAS) was activated in 2002 by the *German Society of Hygiene and Microbiology* (DGHM) and is now organized by INSTAND e.V., Düsseldorf, Germany. As you can learn from "www.instand-ev.de", this segment of their huge proficiency testing program is open for diagnostic laboratories worldwide.

We are aiming at two validation rounds per year (spring and autumn), a reasonable pricing, and a permanently expanding coverage of relevant bacterial pathogens. Any general or specific comments on sample composition or suggestions on additional bacterial, fungal, or parasitic organisms which should be covered are highly appreciated.

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

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

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

With best personal regards,



Prof. Dr. Udo Reischl

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

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

**PCR-/NAT *C. trachomatis* & GO
 (RV 530) Mai 2023**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

Proben Nr.	Erwartet / expected	Probenzusammensetzung / Sample composition
530 230523 01	++ / +	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 5x10 ⁴ IFU/mL) <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (~ 5x10 ³ CFU/mL)
530 230523 02	+ / +++	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 2x10 ⁴ IFU/mL) <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (~ 5x10 ⁵ CFU/mL)
530 230523 03	∅ / ∅	<i>Escherichia coli</i> K12
530 230523 04	++ / ++	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 1x10 ⁵ IFU/mL) <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)

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

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

<i>n</i> = 298	Proben Nr. (Sample no.)				Inhibition				
	01	02	03	04	01	02	03	04	
Befund <i>Result</i>									
Positiv	298	294	4	297	n.d.	4	4	4	4
Negativ	0	4	294	1	nein / no	294	294	294	294
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja / yes	0	0	0	0

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

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	01		02		04		03	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID RDB 2110 STD (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Abbott Alinity m STI Assay (n = 14)	14	100	14	100	14	100	14	100
Abbott RealTime CT (n = 17)	17	100	17	100	17	100	17	100
Amplex eazyplex STD complete (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
AmpliSens CT FRT PCR Kit (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
BD MAX CT (n = 24)	24	100	24	100	23	96	24	100

BD ProbeTec (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
BIORON RealLine CT (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Bruker-HAIN FluoroType CT (n = 12)	12	100	12	100	12	100	12	100
Cepheid Xpert CT (n = 30)	30	100	28	93	30	100	27	90
CerTest VIASURE STD (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
DNA-Technology CT Real Time (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
EUROIMMUN EUROArray STI (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
GeneProof C. trachomatis (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100
Hologic Aptima Combo 2 assay (n = 16)	16	100	16	100	16	100	16	100
ampliCube STD Panel 1 (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100
Qiagen NeuMoDx CT/NG (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
artus CT/NG QS-RGQ Kit (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Roche COBAS 4800 CT (n = 23)	23	100	23	100	23	100	23	100
COBAS 5800, 6800, 8800 CT (n = 51)	51	100	51	100	51	100	50	98
Sacace C. trachomatis Real TM (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Seegene Allplex CT/NG/MG/TV (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100
Seegene Allplex STI Essential (n = 23)	23	100	22	96	23	100	23	100
Seegene Anyplex II STI-7 (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
LightMix CT (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Aprimeo/BOSCH Vivalytic STI (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
In house PCR assay (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100
Other commercial tests (n = 18)	18	100	17	94	18	100	18	100

Comments:

- The following tests are listed under "Other commercial tests": Immundiagnostik MutaPLEX STI-1 (2x), AB Analytica RQ-STI CT (2x), AB Analytica REALQUALITY RQ-SevenSTI (1x), Bruker-Hain FluoroType STI (2x), Goffin Presto CT/NG Assay (2x), GeneProof CT/NG/MG Multiplex PCR Kit (1x), BeGenius STI Plus (1x), Anatolia Gene works Bosphore C. trach. Detection Kit V1 (1x), Astra Biotech C.trach. PCR Kit (1x), Roche COBAS CT/NG (1x), ELITech STI Mix (1x) and IFFMEDIC (1x).

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

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

n = 297	Proben Nr. (Sample no.)			
	01	02	03	04
Befund <i>Result</i>				
Positiv	295	295	13	297
Negativ	2	2	283	0

	Inhibition			
	01	02	03	04
n.d.	4	4	4	4
nein / no	293	293	293	293

Fraglich Questionable	0	0	1	0	ja / yes	0	0	0	0
---------------------------------	---	---	---	---	-------------	---	---	---	---

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

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv True positive results						NAT richtig negativ	
	01		02		04		03	
	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%
AID RDB 2110 STD (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
AID RDB 2335 STI (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Abbott Alinity m STI Assay (n = 13)	13	100	13	100	13	100	12	92
Abbott RealTime NG (n = 18)	18	100	18	100	18	100	15	83
Amplex eazyplex STD complete (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
AmpliSens NG FRT PCR Kit (n = 2)	2	100	2	100	2	100	1	50
BD MAX NG (n = 24)	23	96	24	100	24	100	24	100
BD ProbeTec (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
BIORON RealLine NG (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Bruker-HAIN FluoroType NG (n = 10)	10	100	10	100	10	100	10	100
Cepheid Xpert NG (n = 30)	30	100	28	93	30	100	28	93
CerTest VIASURE STD (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
DNA-Technology NG Real Time (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
EUROIMMUN EUROArray STI (n = 6)	5	83	6	100	6	100	6	100
GeneProof N. gonorrhoeae (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100
Hologic Aptima Combo 2 assay (n = 16)	16	100	16	100	16	100	16	100
ampliCube STD Panel 1 (n = 9)	9	100	9	100	9	100	8	89
Qiagen NeuMoDx CT/NG (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
artus CT/NG QS-RGQ Kit (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Roche COBAS 4800 CT (n = 23)	23	100	23	100	23	100	23	100
COBAS 5800, 6800, 8800 CT (n = 51)	51	100	51	100	51	100	49	96
Sacace N. gonorrhoeae Real TM (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
Seegene Allplex CT/NG/MG/TV (n = 9)	9	100	9	100	9	100	7	78
Seegene Allplex STI Essential (n = 23)	23	100	23	100	23	100	21	91
Seegene Anyplex II STI-7 (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
LightMix NG (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100

Aprimeo/BOSCH Vivalytic STI (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
In house PCR assay (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100
Other commercial tests (n = 18)	18	100	18	100	18	100	18	100

Comments:

1. The following tests are listed under "Other commercial tests": Immundiagnostik MutaPLEX STI-1 (2x), AB Analitica RQ-STI NG (1x), AB Analitica REALQUALITY RQ-SevenSTI (1x), Bruker-Hain FluoroType STI (2x), Goffin Presto CT/NG Assay (2x), GeneProof CT/NG/MG Multiplex PCR Kit (1x), Anatolia Gene works Bosphore N. gonorrh. Detection Kit V1 (1x), Astra Biotech N. gonorrh. PCR Kit (1x), Roche COBAS CT/NG (1x), ELITech STI Mix (1x) and IFFMEDIC (1x).

PCR-/NAT *Chlamydia trachomatis*
(RV 531) Mai 2023



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

Proben Nr.	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
531 230523 01	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
531 230523 02	+	61	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 2x10 ⁴ IFU/mL)
531 230523 03	+	61	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 1x10 ⁴ IFU/mL)
531 230523 04	++	61	<i>Chlamydia trachomatis</i> (~ 1x10 ⁵ IFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n</i> = 44	Proben Nr. (Sample no.)				Inhibition				
	01	02	03	04	01	02	03	04	
Befund <i>Result</i>									
Positiv	0	44	44	44	n.d.	1	1	1	1
Negativ	44	0	0	0	nein <i>no</i>	43	43	43	43
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwenden verschiedener Methoden.

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	02		03		04		01	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID RDB 2110 STD (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
AmpliSens CT FRT PCR Kit (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
BD MAX CT (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BD ProbeTec (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Bruker-HAIN FluoroType CT (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100
Cepheid Xpert CT (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
GeneProof C. trachomatis (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
Qiagen NeuMoDx CT/NG (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100

Roche COBAS 4800 NG (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
COBAS 5800, 6800, 8800 CT (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Sacace C. trachomatis Real TM (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Seegene Allplex CT/NG/MG/TV (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Seegene Allplex STI Essential (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
LightMix CT (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
In house PCR assay (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Other commercial tests (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100

Comments:

1. The following tests are listed under "Other commercial tests": Aprimeo / BOSCH Vivalytic STI (1x) and Clonit C. trachomatis (1x).

PCR-/NAT *Bordetella pertussis*
(RV 532) Mai 2023



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

Proben Nr.	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
532 230523 01	+	61	<i>Bordetella pertussis</i> (~ 5x10 ³ CFU/mL)
532 230523 02	++	61	<i>Bordetella pertussis</i> (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)
532 230523 03	(+)	61	<i>Bordetella pertussis</i> (~ 2x10 ³ CFU/mL)
532 230523 04	Ø	62	<i>Escherichia coli</i> K12

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n</i> = 168	Proben Nr. (Sample no.)				Inhibition				
	01	02	03	04	01	02	03	04	
Befund <i>Result</i>									
Positiv	139	167	81	0	n.d.	2	2	2	2
Negativ	28	1	85	168	nein <i>no</i>	166	166	166	166
Fraglich <i>Questionable</i>	1	0	2	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	01		02		03		04	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID CAP Bacteria (n = 6)	5	83	6	100	3	50	6	100
ARGENE Bordetella R-GENE (n = 2)	2	100	2	100	1	50	2	100
Altona diag. RealStar Bordetella (n = 5)	5	100	5	100	3	60	5	100
AmpliGnost B.pert. / B.parapert. (n = 2)	1	50	2	100	0	0	2	100
Bio-Evolution B. pert. / B. parapert. (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
BioGX Bordet. Speciation plus toxin (n = 6)	6	100	6	100	5	83	6	100
FILMARRAY Resp. Panel 2.1 plus (n = 3)	2	67	3	100	0	0	3	100
Bruker-HAIN FluoroType Bordetella (n = 6)	6	100	6	100	4	67	6	100

DiaSorin Simplexa Bordetella Direct (n = 5)	5	100	5	100	2	40	5	100
GeneProof B. pert. / B. parapert. (n = 10)	7	70	10	100	2	20	10	100
HOLOGIC Panther Bordetella (n= 5)	5	100	5	100	3	60	5	100
Ingenetix BactoReal B. pertussis (n = 1)	1	100	1	100	0	0	1	100
ampliCube Resp. panel 2 (n = 16)	16	100	16	100	12	75	16	100
Meridian Alethia Pertussis (n = 3)	3	100	3	100	2	67	3	100
Solana Bordetella complete assay (n = 2)	2	100	2	100	0	0	2	100
Seegene Allplex Pneumobacter (n = 5)	4	80	5	100	4	80	5	100
Seegene Allplex Resp. Panel 4 (n = 18)	6	33	18	100	3	17	18	100
LightMix B. pert. (n = 5)	4[§]	100	5	100	1[§]	25	5	100
RIDAGENE Bordetella (n = 17)	17	100	17	100	6[§]	38	17	100
In house PCR assay [28] (n = 31)	28	90	31	100	18	58	31	100
Other commercial tests (n = 17)	11	65	16	94	9	53	17	100

[§] Fraglich Due to reporting questionable results, the number of true results has been reduced.

Comments:

1. The following tests are listed under "Other commercial tests": QIAGEN QIAstat-Dx Respiratory Sars CoV-2 panel (3x), Genetic Signatures EasyScreen Respiratory pathogens kit (2x), Altona FlexStar Bordetella PCR Detection Mix (1x), AusDiagnostics Respiratory pathogens B (1x), PathoFinder RespiFinder 2Smart (1x), Luminex ARIES Bordetella Assay (1x), Hola Bordetella Lyo PCR Kit (1x), PerfeCTa qPCR ToughMix (1x), ELITechGroup Bordetella ELITE MGB Kit (1x) and Gerbion Diarella Bordetella (1x).

PCR-/NAT *Helicobacter pylori*
(RV 533) Mai 2023



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

Proben Nr.	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
533 230523 01	++	61/ 71	<i>Helicobacter pylori</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL) Clarithromycin resistant (GGA mut. in 23S rDNA)
533 230523 02	++	61/ 72	<i>Helicobacter pylori</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL) Clarithromycin susceptible (wildtype 23S rDNA sequence)
533 230523 03	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
533 230523 04	∅	62	<i>Helicobacter mustelae</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)

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

<i>n</i> = 57	Proben Nr. (Sample no.)				Inhibition				
	Befund Result	01	02	03	04	01	02	03	04
Positiv	56 ¹⁾	55 ¹⁾	1	4 ¹⁾	n.d.	0	0	0	0
Negativ	0	1	55	51	nein no	57	57	57	57
Fraglich Questionable	1	1	1	2	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			
	01		02		03		04	
	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%
Bruker-HAIN GenoType HelicoDR (n = 17)	17	100	16	94	17	100	16	94
CerTest VIASURE H .pylori + Clari. (n = 2)	1 [§]	100	1 [§]	100	1 [§]	100	1 [§]	50
Ingenetix H. pylori ClariRes (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
Amplidiag H. pylori + ClariR (n = 1)	1	100	1	100	1	100	0	0
Seegene Allplex H. pylori + ClariR (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100
LightMix Helicobacter 23S Kit (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
RIDAGENE H. pylori (n = 9)	9	100	9	100	8	89	9	100
In house PCR assay (n = 13)	13	100	13	100	13	100	11 [§]	92
Other commercial tests (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100

[§] Fraglich Due to reporting questionable results, the number of true results has been reduced.

Comments:

1. Forty-nine of the 57 participants reported results for molecular Clarithromycin-susceptibility testing. With the exception of two laboratories, all reported results were correct.

**PCR-/NAT EHEC / STEC
 (RV 534) Mai 2023**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

Proben Nr.	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
534 230523 01	+	61 / 72	EHEC (~1x10 ⁴ CFU/mL) (<i>stx-2g</i> positive) ETEC ST1a positive (~1x10 ⁴ CFU/mL)
534 230523 02	∅	62	<i>Aeromonas hydrophila</i> (~1x10 ⁵ CFU/mL)
534 230523 03	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12 (negative for <i>eae</i> and <i>hlyA</i>)
534 230523 04	++	61 / 71,72,78	EHEC (~1x10 ⁵ CFU/mL) (<i>stx-1a</i> , <i>stx-2a</i> and <i>hlyA</i> positive)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

n = 141	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund <i>Result</i>									
Positiv	137	2	3	133	n.d.	0	0	0	0
Negativ	3	138	137	8	nein <i>no</i>	141	141	141	141
Fraglich <i>Questionable</i>	1	1	1	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	01		04		02		03	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Altona RealStar EHEC PCR Kit (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Amplex eazyplex EHEC classic (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Amplex eazyplex EHEC complete (n = 6)	6	100	5	83	6	100	6	100
BD MAX Enteric Bacterial Panel (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
BioMerieux BioFire GI Panel (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
Bruker-HAIN GenoType EHEC (n = 14)	14	100	13	93	14	100	14	100
ampliCube Gastroint. Bact. Panel 2 (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Seegene Allplex GI-EB Screening (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100

Seegene Allplex Gast. Bacteria II (n = 12)	12	100	10	83	12	100	12	100
LightMix Modular stx-1/stx-2/eah (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
RIDAGENE E.coli Stool Panel I (n = 12)	12	100	11	92	11	92	10	83
RIDAGENE EHEC/EPEC (n = 28)	28	100	26	93	28	100	28	100
In house PCR assay (n = 35)	31[§]	92	34	97	34[§]	100	34[§]	100
Other commercial tests (n = 9)	9	100	9	100	8	89	8	89

[§] Fraglich *Due to reporting questionable results, the number of true results has been reduced.*

Comments:

1. The following tests are listed under "Other commercial tests": Amplex Variplex EHEC (1x), MOBIDIAG Amplidiag Bacterial GE Kit (1x), AmpliGnost EHEC (Differenzierung) PCR Kit (1x), AusDiagnostics Faecal Pathogen M (16-well) (1x), Qiagen QiaStat-Dx Gastrointestinal Panel 2 (2x), Viasure E.Coli Genotyp (1x), Genetic Signatures EasyScreen kit (1x) and r-Biopharm RIDA UNITY EHEC/EPEC (1x).

**PCR-/NAT *Borrelia burgdorferi*
 (RV 535) Mai 2023**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

Proben Nr.	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
535 230523 01	+++	61	<i>Borrelia bissetiae</i> (~ 5x10 ⁵ organisms/mL)
535 230523 02	+++	61	<i>Borrelia burgdorferi</i> s.s. (~ 5x10 ⁵ organisms/mL)
535 230523 03	∅	62	<i>Leptospira interrogans</i> (~ 5x10 ⁵ organisms/mL)
535 230523 04	+++	61	<i>Borrelia lusitaniae</i> (~ 1x10 ⁶ organisms/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

n = 113	Proben Nr. (Sample no.)				Inhibition				
	01	02	03	04	01	02	03	04	
Befund <i>Result</i>									
Positiv	113	112	0	111	n.d.	1	1	1	1
Negativ	0	1	113	2	nein <i>no</i>	112	112	112	112
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	01		02		04		03	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID RDB 2225 Zecken-Screen. (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Attomol B burg. Realtime LT (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BIORON RealLine B.burgdorferi (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Bruker-HAIN FluoroType Borrelia (n=4)	4	100	4	100	4	100	4	100
EliGene Borrelia RT (n= 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
GeneProof B. burgdorferi (n= 26)	26	100	25	96	26	100	26	100
Gerbion diarella Borrelia (n= 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Immundiagnostik MutaPLEX (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Ingenetix BactoReal B.burg.(n= 4)	4	100	4	100	4	100	4	100

Mikrogen alphaCube Borrelia (n= 22)	22	100	22	100	22	100	22	100
Sacace TBEV, B.burg,... Real-TM (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
LightMix Borrelia (n= 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
In house PCR assay (n= 30)	30	100	30	100	29	97	30	100
Other commercial tests (n= 10)	10	100	10	100	9	90	10	100

Comments:

1. The following tests are listed under "Other commercial tests": Master diagnostica Tick-borne bacterial flow chip (1x), Sacace Biotechnologies Borrelia burgdorferi Real-TM (1x), Vektor Best RealBest DNA Borrelia burgdorferi s.l. (Set 1) (1x), Novaplex Tick-borne (EU) Assay (RUO) (1x), CerTest VIASURE Tick Borne Diseases Real Time PCR Detection Kit (2x), DNA-TECHNOLOGY B. burgdorferi Real Time PCR Kit (1x) and InterLabService AmpliSens® TBEV, B.burgdorferi sl, A.phagocytophilum, E.chaffeensis/ E.muris-FRT (1x).

**PCR-/NAT *Legionella pneumophila*
 (RV 536) Mai 2023**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

Proben Nr.	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
536 230523 01	+++	61	<i>Legionella pneumophila</i> SG1 (~ 5x10 ⁵ CFU/mL)
536 230523 02	++	61	<i>Legionella pneumophila</i> SG1 (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)
536 230523 03	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
536 230523 04	+	61	<i>Legionella pneumophila</i> SG1 (~ 5x10 ³ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

n = 138	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund <i>Result</i>									
Positiv	135	135	2	128	n.d.	4	4	4	4
Negativ	3	2	134	9	nein <i>no</i>	134	133	133	133
Fraglich <i>Questionable</i>	0	1	2	1	ja <i>yes</i>	0	1	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 <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	01		02		04		03	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID CAP Bacteria (n= 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
ARGENE L. pneumo/Cc R-GENE (n= 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Amplex eazyplex PneumoBug exp.(n= 5)	5	100	5	100	4	80	5	100
AmpliGnost L. pneumophila (n= 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
BioGx auf BD Max (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
BioFire FILMARRAY PN plus (n= 1)	1	100	1	100	0	0	1	100
ReadyMax Atypical Pneumonia 1 (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
ReadyMax b-CAP Assay (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100

Diagenode R-DiaLeg (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
GeneProof L. pneumophila (n= 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
Gerbion Diarella Legionella (n= 2)	2	100	2	100	1	50	2	100
Ingenetix BactoReal L.pn. (n= 2)	2	100	2	100	1	50	1	50
Luminex Resp. Pathogen Panel (n= 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
ampliCube Resp. panel 1.1/1.1LC (n= 7)	6	86	7	100	7	100	7	100
QIAstat-Dx Resp. Sars CoV-2 (n= 2)	2	100	1	50	0	0	2	100
Seegene Allplex Pneumobacter (n= 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
Seegene Allplex Resp. Panel 4 (n= 20)	20	100	20	100	19	95	20	100
Tib Molbiol LightMix Legionella (n= 8)	8	100	8	100	7	88	8	100
RIDAGENE CAP Bac (n= 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
RIDAGENE Legionella Kit (n= 9)	9	100	9	100	8	89	9	100
<i>In house</i> PCR assay (n= 30)	30	100	30	100	30	100	29 [§]	100
Other commercial tests (n= 12)	10	83	10*	91	11*	100	10*	91

[§] Fraglich *Due to reporting questionable results, the number of true results has been reduced.*

* Inhibition

Comments:

1. The following tests are listed under "Other commercial tests": MIKROGEN alphaCube Legionella (1x), MIKROGEN ampliCube Resp. panel 1.2 LC (1x), Vitassay qPCR Legionella pneumophila (1x), AnDiatec Quidel L. pneumophila (1x), Luminex Respiratory Pathogen Panel Multiplex (1x), EasyScreen Atypical Respiratory pathogens (1x), Progenie RealCycler LEGI-UX (1x), CerTest VIASURE C. pneumonia, M. pneumonia and L. pneumophila Real Time PCR Detection Kit (1x), AusDiagnostics Pneumonia 16-well (1x), AusDiagnostics HP-Pneumonia (1x) and PathoFinder RespiFinder 2Smart (1x).
2. Only Legionella spp. detection was performed by 2 laboratories. All reported results were correct.

**PCR-/NAT *Salmonella enterica*
 (RV 537) Mai 2023**



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

Proben Nr.	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
537 230523 01	++	61	<i>S. enterica</i> ser. typhimurium (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)
537 230523 02	++	61	<i>S. enterica</i> ser. enteritidis (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)
537 230523 03	++	61	<i>S. enterica</i> ser. grumpensis (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)
537 230523 04	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

<i>n</i> = 46	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund <i>Result</i>									
Positiv	44	43	42	0	n.d.	0	0	0	0
Negativ	1	3	4	46	nein <i>no</i>	45	46	46	46
Fraglich <i>Questionable</i>	1	0	0	0	ja <i>yes</i>	1	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	
	01		02		03		04	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Amplex eazyplex TyphiTyper (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
BD MAX Enteric Bacterial Panel (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Seegene Allplex GI-Bacteria (I) (n = 8)	7	88	7	88	6	75	8	100
Seegene Allplex GI-EB Screening (n = 8)	8	100	7	88	7	87	8	100
RIDAGENE Bacterial Stool Panel (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Other commercial tests (n = 12)	11*	100	11	92	11	92	12	100

* Inhibition Due to reporting questionable results, the number of true results has been reduced.

Comments:

- The following tests are listed under "Other commercial tests": FILMARRAY Gastrointestinal (GI) Panel (2x), Genetic Signatures EasyScreen Pan Enteric Pathogen Detection Kits (PE001) (2x),

CONGEN SureFast Salmonella PLUS (1x), AusDiagnostics Faecal Pathogen M 16-well (1x), BactoReal® Kit Salmonella enterica (1x), MIKROGEN ampliCube gastrointestinal Bacterial Panel 1 (1x), Qiagen QiaStat-Dx Gastrointestinal Panel 2 (1x), CerTest VIASURE Salmonella, Campylobacter & Y. enterocolitica Real Time PCR Detection Kit (1x), BioMerieux BioFire GI Panel (1x) and r-Biopharm RIDA UNITY Bacterial Stool Panel (1x).

PCR-/NAT *Listeria spp.*
(RV 538) Mai 2023



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

Proben Nr.	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
538 230523 01	+	61 /71	<i>Listeria monocytogenes</i> (~ 5x10 ³ CFU/mL)
538 230523 02	++	61 /71	<i>Listeria monocytogenes</i> (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)
538 230523 03	+++	61 /71	<i>Listeria monocytogenes</i> (~ 5x10 ⁵ CFU/mL)
538 230523 04	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12

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

<i>n</i> = 51	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund <i>Result</i>									
Positiv	50	51	51	0	n.d.	0	0	0	0
Negativ	1	0	0	51	nein <i>no</i>	51	51	51	51
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

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

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	01		02		03		04	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Amplex eazyplex CSF direct (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
AmpliGnost <i>L. monocytogenes</i> (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BioGX Bacterial Meningitis ELGBS (n=2)	2	100	2	100	2	100	2	100
BioFire FILMARRAY ME Panel (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Ingenetix BactoReal <i>L. monocyt.</i> (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Progenie RealCycler <i>L. monocyt.</i> (n = 5)	4	80	5	100	5	100	5	100
Sacace <i>L. monocyt.</i> Real-TM (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Seegene Allplex Meningitis-B (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100

LightMix L. monocytogenes (n = 4)	4	100	4	100	4	100	4	100
In house PCR assay (n = 17)	17	100	17	100	17	100	17	100
Other commercial tests (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100

Comments:

1. The following tests are listed under "Other commercial tests": Bioteccon Diagnostics Foodproof Listeria monocytogenes Detection Kit (1x), Qiagen QiaStat-Dx ME Panel (1x), CerTest VIASURE S. agalactiae, L. monocytogenes & E.coli Real Time PCR Detection Kit (1x) and AmpliSens L. monocytogenes PCR kit (1x).

**PCR-/NAT MRSA / cMRSA
(RV 539) Mai 2023**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

Proben Nr.	Erwartet / <i>expected</i>		Probenzusammensetzung / <i>Sample composition</i>
539 230523 01	+++	61 / 72	MRSA SSCmec Typ VI (<i>S. aureus</i> , oxa ^R , PVL-neg) (~ 5x10 ⁵ CFU/mL)
539 230523 02	+++	61 / 72	MRSA (<i>S. aureus</i> , oxa ^R , PVL-neg) (~ 5x10 ⁵ CFU/mL)
539 230523 03	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
539 230523 04	∅	62 / 72, 73	MSSA + CoNS (<i>S. aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> oxa ^R , PVL-neg) (~5x10 ⁴ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

<i>n</i> = 265	Proben Nr. (<i>Sample no.</i>)				Inhibition				
	01	02	03	04	01	02	03	04	
Befund <i>Result</i>									
Positiv	263	262	3	14	n.d.	6	6	6	6
Negativ	2	2	261	247	nein <i>no</i>	259	258	258	259
Fraglich <i>Questionable</i>	0	1	1	4	ja <i>yes</i>	0	1	1	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

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

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	01		02		03		04	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Amplex eazyplex MRSA (n = 1)	1	100	1	100	1	100	0	0
Amplex eazyplex MRSA plus (n = 4)	4	100	4	100	4	100	1§	33
BD MAX / BD GeneOhm MRSA (n = 37)	36	97	36	97	35	94	36	97
Bruker-HAIN FluoroType MRSA (n = 12)	12	100	12	100	12	100	12	100
Bruker-HAIN GenoType MRSA (n = 9)	9	100	9	100	9	100	8§	100
Cepheid Xpert MRSA (n = 139)	139	100	138*	100	138*	100	136§	99
HOLOGIC Panther Fusion MRSA (n = 5)	5	100	5	100	5	100	4	80

Immundiagnostik MutaPLEX MRSA (n= 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
MIKROGEN alphaCube PVL-MRSA (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Roche Cobas 4800 MRSA (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Roche Cobas 6800 MRSA (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
VELA Sentosa SA Direct MRSA (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
r-Biopharm RIDAGENE MRSA (n = 21)	21	100	21	100	21	100	20	95
In house PCR assay (n = 15)	15	100	15	100	15	100	11	73
Commercial assay kit (n = 11)	10	91	10	91	10	91	8[§]	80

[§] Fraglich *Due to reporting questionable results, the number of true results has been reduced.*

* Inhibition

Comments:

1. The following tests are listed under "Other commercial tests": MIKROGEN alphaCube MRSA (2x), BD Max MRSA XT (1x), BD Max StaphSR assay Kit (1x), Aprimeo / BOSCH MRSA/SA (1x), GeneProof MRSA (1x), GenomEra MRSA/SA Multi Swab (1x), FRIZ Biochem MRSA direct PCR (1x), DendrisKIT OA (1x) and PhoenixLyo MRSA POC PCR Kit (1x).
2. Bei Teilnehmern, die die Verwendung eines Testsystems aufgeführt haben, das auf einer getrennten Erfassung von *S. aureus*-spezifischen Markern und dem *mecA* Gen beruht, wurden die als "fraglich" klassifizierten Ergebnisse bei der Erteilung der Zertifikate als "richtig" bewertet.
For participants who indicated the use of assay concepts for the independent detection of the mecA gene and a S. aureus species marker gene, "questionable" results were accepted in the course of issuing the official QC certificates.

PCR-/NAT *Chlamydia pneumoniae*
(RV 540) Mai 2023



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

Proben Nr.	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
540 230523 01	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
540 230523 02	+++	61	<i>Chlamydia pneumoniae</i> (~ 5x10 ⁵ IFU/mL)
540 230523 03	∅	62	<i>Hämophilus influenzae</i> (~5x10 ⁴ CFU/mL)
540 230523 04	+	61	<i>Chlamydia pneumoniae</i> (~ 5x10 ³ IFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

n = 146	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund <i>Result</i>									
Positiv	1	146	1	141	n.d.	3	3	3	3
Negativ	145	0	145	5	nein <i>no</i>	143	143	143	143
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

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

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	02		04		01		03	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID CAP bacteria (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
ARGENE C.pn / M.pn r-gene (n = 6)	6	100	5	83	5	83	5	83
Amplex eazyplex PneumoBug exp. (n = 5)	5	100	4	80	5	100	5	100
AmpliGnost C. pneumoniae (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
AmpliSens M.pn./C.pn. FRT PCR (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
BioGx auf BD Max (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
FILMARRAY Resp. Panel 2.1 plus (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Biolegio ReadyMax b-CAP Assay (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
GeneProof C. pneumoniae (n = 11)	11	100	11	100	11	100	11	100

Ingenetix Bacto Real C. pn.(n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Luminex Resp. Pathogen Multiplex (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Mikrogen Diagenode M.pn / C. pn (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
ampliCube Resp. panel 1 (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
ampliCube Resp. panel 1.1 / 1.1LC (n =10)	10	100	9	90	10	100	10	100
Sacace M.pn. /C. pn. Real-TM (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Seegene Allplex Pneumobacter (n = 6)	6	100	5	83	6	100	6	100
Seegene Allplex Resp. Panel 4 (n = 17)	17	100	17	100	17	100	17	100
LightMix C. pneumoniae (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100
r-Biopharm RIDAGENE CAP Bac (n = 7)	7	100	6	86	7	100	7	100
In house PCR assay (n = 31)	31	100	31	100	31	100	31	100
Other commercial tests (n = 11)	11	100	11	100	11	100	11	100

Comments:

1. The following tests are listed under "Other commercial tests": PathoFinder RespiFinder 2Smart (1x), AusDiagnostics HP-Pneumonia (1x), AusDiagnostics Pneumonia 16-well (1x), Fast Track Diagnostics FTD Bacterial pneumonia CAP (1x), CerTest VIASURE C. pneumonia, M. pneumonia and L. pneumophila Real Time PCR Detection Kit -CML172- (1x), Genetic Signatures EasyScreen Atypical Respiratory Pathogens Kit (2x), Luminex NxTAG Respiratory Pathogen Panel + SARS-CoV-2 (1x), Anatolia Gene works Bosphore Chlamydia pneumoniae Detection Kit (1x) and ELITechGroup Respiratory Bacterial ELITe MGB Panel (1x).

**PCR-/NAT *Mycoplasma pneumoniae*
 (RV 541) Mai 2023**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

Proben Nr.	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
541 230523 01	++	61	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (~ 5x10 ⁴ genome copies/mL)
541 230523 02	+	61	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (~ 5x10 ³ genome copies/mL)
541 230523 03	+++	61	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (~ 5x10 ⁵ genome copies/mL)
541 230523 04	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

n = 154	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund <i>Result</i>									
Positiv	151	132	153	4	n.d.	3	3	3	3
Negativ	3	19	1	150	nein <i>no</i>	151	151	151	151
Fraglich <i>Questionable</i>	0	3	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwenden verschiedener Methoden.

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

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	01		02		03		04	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID CAP bacteria (n = 7)	7	100	6	86	7	100	7	100
ARGENE C.pn / M.pn r-gene (n = 6)	5	83	6	100	5	83	5	83
Amplex eazyplex PneumoBug exp. (n=5)	5	100	3	60	5	100	5	100
AmpliGnost M. pneumoniae (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
AmpliSens M.pn./C.pn. FRT Kit (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BioGx auf BD Max (n = 7)	7	100	7	100	7	100	7	100
FILMARRAY Resp. Panel 2.1 plus (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Biolegio ReadyMax b-CAP Assay (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
FTD Atypical CAP (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100

FTD Respiratory Pathogens 21 (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
GeneProof M. pneumoniae (n = 12)	12	100	11	92	12	100	12	100
Luminex MagPix Resp. Pathogen (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Mikrogen Diagenode M.pn./C.pn. (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
ampliCube Resp. panel 1 (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
ampliCube Resp. panel 1.1 /1.1LC (n=11)	11	100	9	82	11	100	10	90
Alethia Mycoplasma direct (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Sacace M.pn./C.pn. Real-TM (n = 3)	3	100	2	67	3	100	3	100
Sartorius Microsart ATMP Myc. (n = 1)	1	100	1	100	1	100	0	0
Seegene Allplex Pneumobacter (n = 6)	5	83	5	83	6	100	6	100
Seegene Allplex Resp. Panel 4 (n = 15)	15	100	13[§]	93	15	100	15	100
LightMix M. pneumoniae (n = 11)	11	100	10	91	11	100	11	100
RIDAGENE CAP Bac (n = 5)	5	100	3[§]	75	5	100	5	100
In house PCR assay (n = 32)	32	100	26[§]	84	32	100	32	100
Other commercial tests (n = 15)	14	93	12	80	15	100	14	93

[§] Fraglich Due to reporting questionable results, the number of true results has been reduced.

Comments:

1. The following tests are listed under "Other commercial tests": PathoFinder RespiFinder 2Smart (1x), AusDiagnostics Pneumonia 16-well (1x), Ingenetix BactoReal M. pneumoniae (1x), Genetic Signatures EasyScreen Respiratory Pathogens Detection kit (1x), Hola Mycoplasma pneumoniae Lyo PCR Kit (1x), Applied Biosystems MycoSEQ Mycoplasma PCR Detection Kit (1x), Luminex NxTAG Respiratory Pathogen Panel + SARS-CoV-2 (2x), Qiagen QiaStat-Dx Respiratory Sars- Cov-2 Panel (2x), Qiagen QiaStat-Dx ME Panel (1x), Qiagen QuantiNova Multiplex PCR Kit (1x), CerTest VIASURE C. pneumonia, M. pneumonia and L. pneumophila Real Time PCR Detection Kit -CML172- (1x) and ELITechGroup Respiratory Bacterial ELITe MGB Panel (1x).

**PCR-/NAT *C. burnetii* & *B. anthracis*
 (RV 542) Mai 2023**



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

Proben Nr.	Erwartet / expected	Probenzusammensetzung / Sample composition
542 230523 01	+++ / ∅	<i>Coxiella burnetii</i> (~ 5x10 ⁵ genome copies/mL)
542 230523 02	∅ / +++	<i>B. anthracis</i> UR-1 Stamm (~ 5x10 ⁵ genome copies/mL)
542 230523 03	++ / ++	<i>Coxiella burnetii</i> (~ 5x10 ⁴ genome copies/mL) <i>B. anthracis</i> UR-1 Stamm (~ 5x10 ⁴ genome copies/mL)
542 230523 04	∅ / ∅	<i>Escherichia coli</i> K12

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

Absolute numbers of reported individual results.

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

<i>n</i> = 49	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund <i>Result</i>									
Positiv	49	0	48	0	n.d.	0	0	0	0
Negativ	0	49	1	49	nein <i>no</i>	49	49	49	49
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

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

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

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

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	01		03		02		04	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
VetMAX <i>C. burnetii</i> Abs. quant. Kit (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
FILMARRAY BioThreat Panel (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
MIKROGEN alphaCube Q-Feber (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Progenie RealCycler <i>C. burnetii</i> (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
LightMix <i>C. burnetii</i> (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100

In house PCR assay (n = 33)	33	100	32	97	33	100	33	100
Other commercial tests (n = 5)	5	100	5	100	5	100	5	100

Comments:

- The following tests are listed under "Other commercial tests": Sacace Biotechnologies C. burnetii Real-TM (1x), Gerbion diarella Q-Feber (1x), CerTest VIASURE Tick Borne Disaeses Real Time PCR Detection Kit (1x), Ingenetix BactoReal Coxiella burneti (1x) and VITRO Master diagnostica (1x).

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

Absolute numbers of reported individual results.

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

n = 24	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund <i>Result</i>									
Positiv	0	24	24	0	n.d.	0	0	0	0
Negativ	24	0	0	24	nein no	24	24	24	24
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja yes	0	0	0	0

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

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

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

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	02		03		01		04	
	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%	<i>Absolut</i> <i>Absolute</i>	%
Altona RealStar Anthrax (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
FILMARRAY BioThreat Panel (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
LightMix B. anthracis (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
In house PCR assay (n = 16)	16	100	16	100	16	100	16	100

**PCR-/NAT *F. tularensis* & *Brucella*
 (RV 543) Mai 2023**



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

Proben Nr.	Erwartet / expected	Probenzusammensetzung / Sample composition
543 230523 01	∅ / ∅	<i>Escherichia coli</i> K12
543 230523 02	+++ / ∅	<i>Franc. tularensis subsp. holarctica</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)
543 230523 03	++ / ++	<i>Franc. tularensis subsp. holarctica</i> (~ 1x10 ⁴ CFU/mL) <i>Brucella melitensis</i> (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)
543 230523 04	∅ / ++	<i>Brucella melitensis</i> (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)

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

n = 33	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund <i>Result</i>									
Positiv	0	33	28	0	n.d.	0	0	0	0
Negativ	33	0	4	33	nein <i>no</i>	33	33	33	33
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	1	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	02		03		01		04	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
FILMARRAY BioThreat Panel (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Master diagnostica Tick-borne chip (n = 1)	1	100	0	0	1	100	1	100
LightMix <i>F. tularensis</i> (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 25)	25	100	21 [§]	88	25	100	25	100

[§] Fraglich Due to reporting questionable results, the number of true results has been reduced.

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

Absolute numbers of reported individual results.

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

<i>n</i> = 35	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund <i>Result</i>									
Positiv	0	0	34	35	n.d.	1	1	1	1
Negativ	35	35	1	0	nein <i>no</i>	34	34	34	34
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

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

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

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	03		04		01		02	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Applied Biosystems Brucella (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
FILMARRAY BioThreat Panel (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Sacace Brucella Real-TM (n = 1)	0	0	1	100	1	100	1	100
LightMix Brucella Genus (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 28)	28	100	28	100	28	100	28	100
Commercial assay / kit (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100

Comments:

- The following tests are listed under "Other commercial tests": Ingenetix BactoReal Kit Brucella spp. (3x).

PCR-/NAT Carbapenemasen (RV 544) Mai 2023



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

Proben Nr.	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
544 230523 01	+++	61 / 73	<i>K. pneumoniae</i> OXA-181 (~ 1x10 ⁷ genome copies/mL)
544 230523 02	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
544 230523 03	+++	61 / 71	<i>C. freundii</i> KPC-18 (~ 1x10 ⁶ genome copies/mL)
544 230523 04	+++	61 / 75	<i>S. marcescens</i> NDM-1 (~ 1x10 ⁶ genome copies/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

n = 94	Proben Nr. (Sample no.)				Inhibition				
	01	02	03	04	01	02	03	04	
Befund <i>Result</i>									
Positiv	92	1	91	93	n.d.	0	0	0	0
Negativ	2	93	3	1	nein <i>no</i>	94	94	94	94
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	01		03		04		02	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID Carbapenemase (n= 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
eazyplex superbug complete A/B/C (n= 8)	7	88	6	75	8	100	8	100
eazyplex superbug expert (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
BD MAX Check-Points CPO assay (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Bruker Carbaplex IVD PCR (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Cepheid Xpert Carba-R (n= 44)	44	100	44	100	44	100	44	100
Check Direct CPE oder MDR (n= 1)	1	100	1	100	1	100	1	100

Seegene Allplex Entero-DR (n= 10)	10	100	10	100	10	100	10	100
LightMix Modular Carbapenemase (n= 5)	5	100	5	100	5	100	5	100
In house PCR assay (n= 13)	12	92	13	100	13	100	13	100
Other commercial tests (n= 6)	6	100	5	83	5	83	5	83

Comments:

1. Ninety- three from 94 participants reported dedicated carbapenemase identification (carbapenemase genes) With the exception of three laboratories, all reported results were correct.
2. The following tests are listed under "Other commercial tests": BD Max CPO (2x), Amplex eazyplex SuperBug basic (2x), BioFire FILMARRAY Pneumonia Panel plus (Pneumoplus) (1x) and Genetic Signatures EasyScreen kit (1x).

**PCR-/NAT *Clostridium difficile*
 (RV 545) Mai 2023**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

Proben Nr.	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
545 230523 01	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
545 230523 02	+++	61/ 71,72,73,75	<i>Clostridium difficile</i> Ribotyp O27 (~ 5x10 ⁵ CFU/mL)
545 230523 03	∅	62	<i>Aeromonas hydrophila</i> (~1x10 ⁵ CFU/mL)
545 230523 04	++	61/ 71,72,73,75	<i>Clostridium difficile</i> Ribotyp O27 (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

n = 191	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund <i>Result</i>									
Positiv	2	188	3	190	n.d.	0	0	0	0
Negativ	189	3	188	1	nein <i>no</i>	191	191	191	191
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>				NAT richtig negativ <i>True negative results</i>			
	02		04		01		03	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Altona RealStar <i>C. difficile</i> (n = 6)	6	100	6	100	6	100	6	100
Amplex eazyplex <i>C. difficile</i> (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
AmpliGnost <i>C. difficile</i> Tox. A +B (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Aries Luminex <i>C. difficile</i> (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BD MAX <i>C. difficile</i> (n = 23)	23	100	23	100	23	100	23	100
Bruker-HAIN GenoType CDiff (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Cepheid Xpert <i>C. difficile</i> (n = 76)	75	99	75	99	76	100	73	96

Meridian Alethia C. difficile (n = 8)	8	100	8	100	8	100	8	100
Quidel Solana C. difficile (n = 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Roche COBAS Liat Cdiff (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Seegene Allplex GI Bacteria (n = 9)	8	89	9	100	8	89	9	100
Seegene Allplex GI-EB Screening (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100
LightMix Cdiff Toxin Gene tcdA/tcdB (n= 2)	2	100	2	100	2	100	2	100
RIDAGENE C. difficile (n = 21)	21	100	21	100	21	100	21	100
RIDAGENE Hospital stool panel (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
In house PCR assay (n = 9)	9	100	9	100	9	100	9	100
Other commercial tests (n = 15)	14	93	15	100	14	93	15	100

Comments:

1. The following tests are listed under "Other commercial tests": Vitassay qPCR Clostridium difficile und toxins A+B (1x), ELITechGroup C.difficile ELITe MGB Kit (2x), Genetic Signatures EasyScreen Pan Enteric Pathogen Detection Kits (2x), AusDiagnostics Faecal Pathogen M 16-well (1x), DiaSorin MDX C. difficile Direct (1x), BioFire FILMARRAY Gastrointestinal (GI) Panel (1x), Abacus Diagnostica GenomEra C. difficile (1x), Qiagen QiaStat-Dx Gastrointestinal Panel 2 (1x), Abacus Diagnostica GenomEra C. difficile (1x) and Biomerieux Biofire pneumo panel plus (1x).

**PCR-/NAT VRE
 (RV 546) Mai 2023**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

Proben Nr.	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
546 230523 01	++	61 / 71	<i>Enterococcus faecium</i> vanA (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)
546 230523 02	++	61 / 71	<i>Enterococcus avium</i> vanA (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)
546 230523 03	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
546 230523 04	++	61 / 72	<i>E. faecalis</i> + <i>E. faecium</i> vanB (~ 5x10 ⁴ CFU/mL)

Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.

Absolute numbers of reported individual results.

n = 77	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund <i>Result</i>									
Positiv	77	67	0	71	n.d.	0	0	0	0
Negativ	0	10	77	6	nein <i>no</i>	77	77	77	77
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

Tabelle 3: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden.

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

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	01		02		04		03	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Amplex eazyplex VRE (n = 3)	3	100	3	100	2	67	3	100
Amplex eazyplex VREbasic (n = 3)	3	100	3	100	1	33	3	100
AmpliGnost Vancomycin A/B (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100
BioGx Vancomycin resistance (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Bruker-HAIN GenoType Enteroc. (n = 10)	10	100	4	40	10	100	10	100
Cepheid Xpert vanA / vanB (n = 26)	26	100	26	100	26	100	26	100
Seegene Allplex Entero-DR (n = 10)	10	100	10	100	9	90	10	100

TIB Molbiol LightMix Kit (n = 1)	1	100	1	100	1	100	1	100
<i>In house</i> PCR assay (n = 17)	17	100	13	76	15	82	17	100
Other commercial tests (n = 3)	3	100	3	100	3	100	3	100

Comments:

1. Seventy-six participants reported dedicated vanA / vanB identification. All reported results were correct
2. The following tests are listed under "Other commercial tests": MIKROGEN ampliCube MDI (1x), GeneProof VRE PCR Kit (1x) and CerTest VIASURE Vancomycin resistance for BD MAX System (1x).

**PCR-/NAT Urogenital Panel
 (RV 547) Mai 2023**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

Proben Nr.	Erwartet / expected	Probenzusammensetzung / Sample composition
547 230523 01	+++	<i>Ureaplasma parvum</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL)
547 230523 02	+++ / ++	<i>Gardnerella vaginalis</i> (~ 1x10 ⁵ CFU/mL) <i>Mycoplasma genitalium</i> (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)
547 230523 03	+	<i>Mycoplasma hominis</i> (~ 5x10 ³ CFU/mL)
547 230523 04	++	<i>Trichomonas vaginalis</i> (~ 1x10 ⁴ CFU/mL)

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

Absolute numbers of reported individual results.

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

n = 148	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund <i>Result</i>									
Positiv	0	143	0	1	n.d.	1	1	1	1
Negativ	148	5	148	147	nein <i>no</i>	147	147	147	147
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

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

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

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv		NAT richtig negativ <i>True negative results</i>					
	02		01		03		04	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
AID RDB 2335 STI (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Abbott Alinity m STI assay (n=5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Amplex eazyplex STD complete (n=3)	1	33	3	100	3	100	3	100
AmpliGnost M. genitalium (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
AmpliGnost STI Urethritis (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100

BIORON RealLine M.hom./ gen. (n=2)	2	100	2	100	2	100	2	100
BioGX Mycoplasma / Ureaplasma (n=5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Bruker-Hain FluoroType STI (n=3)	3	100	3	100	3	100	3	100
CerTest VIASURE STD (n=3)	3	100	3	100	3	100	3	100
EUROIMMUN EUROArray STI-11 (n=6)	6	100	6	100	6	100	6	100
GeneProof M.gen./ hom. PCR Kit (n=3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Immundiagnostik MutaPLEX STI-1 (n=2)	2	100	2	100	2	100	2	100
ampliCube STD Panel 1 (n=12)	12	100	12	100	12	100	12	100
Roche COBAS TV/ MG (n=6)	6	100	6	100	6	100	6	100
Seegene Allplex STI Essential (n=51)	50	98	51	100	51	100	51	100
Seegene Anyplex II STI-5 (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Seegene Anyplex II STI-7 (n=2)	2	100	2	100	2	100	2	100
LightMix modular M. genitalium (n=6)	6	100	6	100	6	100	6	100
aprimo/ BOSCH Vivalytic STI (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
RIDAGENE STI Mycopl. Panel (n=7)	6	86	7	100	7	100	7	100
In house PCR assay (n=9)	9	100	9	100	9	100	9	100
Other commercial tests (n=18)	17	94	18	100	18	100	17	94

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

Absolute numbers of reported individual results.

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

<i>n</i> = 32	Proben Nr. (Sample no.)			
	01	02	03	04
Befund <i>Result</i>				
Positiv	1	31	0	0
Negativ	31	1	32	32
Fraglich <i>Questionable</i>	0	0	0	0

	Inhibition			
	01	02	03	04
n.d.	1	1	1	1
nein <i>no</i>	31	31	31	31
ja <i>yes</i>	0	0	0	0

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

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv		NAT richtig negativ True negative results					
	02		01		03		04	
	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%
AID GenID STI (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
AmpliGnost STI Urethritis (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BIORON RealLine G. vaginalis (n=1)	1	100	0	0	1	100	1	100
GeneProof G. vaginalis PCR Kit (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Allplex Bact. Vaginosis plus (n=11)	11	100	11	100	11	100	11	100
In house PCR assay [28] (n=7)	7	100	7	100	7	100	7	100
Other commercial tests (n=10)	9	90	10	100	10	100	10	100

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

Absolute numbers of reported individual results.

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

n = 115	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund Result									
Positiv	114	0	0	1	n.d.	1	1	1	1
Negativ	1	115	115	114	nein no	114	114	114	114
Fraglich Questionable	0	0	0	0	ja yes	0	0	0	0

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

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

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv		NAT richtig negativ True negative results					
	01		02		03		04	
	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%
AID RDB 2335 STI (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100

AmpliGnost U.ureal/ U.parv. (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BIORON Realline U. ureal. / U. parv. (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BioGX Mycoplasma / Ureaplasma (n=5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Bruker-Hain FluoroType STI (n=3)	3	100	3	100	3	100	3	100
CerTest VIASURE STD (n=3)	3	100	3	100	3	100	3	100
EUROIMMUN EUROArray STI-11 (n=6)	6	100	6	100	6	100	5	83
GeneProof Ureaplasma (UUP) PCR Kit (n=2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Immundiagnostik MutaPLEX U.ur./U.pa. (n=2)	2	100	2	100	2	100	2	100
ampliCube STD Panel 2.1/2.1 LC (n=14)	14	100	14	100	14	100	14	100
Seegene Allplex STI Essential (n=49)	49	100	49	100	49	100	49	100
Seegene Anyplex II STI-5 (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Seegene Anyplex II STI-7 (n=2)	2	100	2	100	2	100	2	100
LightMix modular U. ureal./U.parv. (n=3)	3	100	3	100	3	100	3	100
In house PCR assay (n=7)	7	100	7	100	7	100	7	100
Other commercial tests (n=15)	14	93	15	100	15	100	15	100

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

Absolute numbers of reported individual results.

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

n = 134	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund Result									
Positiv	0	0	1	129	n.d.	1	1	1	1
Negativ	134	134	133	5	nein no	133	133	133	133
Fraglich Questionable	0	0	0	0	ja yes	0	0	0	0

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

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

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv		NAT richtig negativ True negative results					
	04		01		02		03	
	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%
AID RDB 2335 STI (n=2)	1	50	2	100	2	100	2	100
Abbott Alinity m STI assay (n=5)	5	100	5	100	5	100	5	100

AmpliGnost STI Urethritis (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BD MAX CT/GC/TV (n=4)	4	100	4	100	4	100	4	100
BIORON RealLine T.vaginalis (n=2)	2	100	2	100	2	100	2	100
Bruker-Hain FluoroType STI (n=3)	3	100	3	100	3	100	3	100
CerTest VIASURE STD (n=3)	3	100	3	100	3	100	3	100
EUROIMMUN EUROArray STI-11 (n=6)	6	100	6	100	6	100	6	100
ampliCube STD Panel 2 (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
ampliCube STD Panel 2.1/2.1 LC (n=10)	10	100	10	100	10	100	10	100
Roche COBAS TV/ MG (n=6)	6	100	6	100	6	100	6	100
Seegene Allplex STI Essential (n=52)	49	94	52	100	52	100	51	98
Seegene Anyplex II STI-5 (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Seegene Anyplex II STI-7 (n=2)	2	100	2	100	2	100	2	100
LightMix modular T.vaginalis (n=5)	5	100	5	100	5	100	5	100
aprimo/ BOSCH Vivalytic STI (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
In house PCR assay (n=9)	9	100	9	100	9	100	9	100
Other commercial tests (n=21)	20	95	21	100	21	100	21	100

Tabelle 10: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Mycoplasma hominis* dargestellt.

Absolute numbers of reported individual results.

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

n = 135	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund Result									
Positiv	0	1	131	1	n.d.	1	1	1	1
Negativ	135	134	4	134	nein no	134	134	134	134
Fraglich Questionable	0	0	0	0	ja yes	0	0	0	0

Tabelle 11: Häufigkeit richtig positiver und richtig negativer NAT-Befunde bei Anwendern verschiedener Methoden. Anmerkung: in dieser Tabelle sind nur die Ergebnisse für *Mycoplasma hominis* dargestellt.

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

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv		NAT richtig negativ True negative results					
	03		01		02		04	
	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%	Absolut Absolute	%

AID RDB 2335 STI (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Amplex eazyplex STD complete (n=3)	2	67	3	100	3	100	3	100
AmpliGnost M. hominis (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
AmpliGnost STI Urethritis (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
BIORON RealLine M.hom./ gen. (n=2)	2	100	2	100	2	100	2	100
BioGX Mycoplasma / Ureaplasma (n=5)	5	100	5	100	5	100	5	100
Bruker-Hain FluoroType STI (n=4)	4	100	4	100	4	100	4	100
CerTest VIASURE STD (n=4)	4	100	4	100	4	100	4	100
EUROIMMUN EUROArray STI-11 (n=6)	6	100	6	100	6	100	6	100
GeneProof M.gen./ hom. PCR Kit (n=3)	3	100	3	100	3	100	3	100
Immundiagnostik MutaPLEX STI-2 (n=2)	2	100	2	100	2	100	2	100
ampliCube STD Panel 2 (n=2)	2	100	2	100	2	100	2	100
ampliCube STD Panel 2.1/2.1 LC (n=12)	12	100	12	100	12	100	12	100
Seegene Allplex STI Essential (n=50)	50	100	50	100	49	98	50	100
Seegene Anyplex II STI-5 (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Seegene Anyplex II STI-7 (n=3)	3	100	3	100	3	100	3	100
LightMix modular M.hominis (n=6)	6	100	6	100	6	100	6	100
aprimo/ BOSCH Vivalytic STI (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
RIDAGENE STI Mycopl. Panel (n=7)	6	86	7	100	7	100	7	100
In house PCR assay (n = 10)	10	100	10	100	10	100	9	90
Other commercial tests (n = 11)	9	82	11	100	11	100	11	100

Comments:

1. *Ureaplasma urealyticum*-detection was performed by 125 laboratories. With the exception of 8 laboratories, all reported results were correct.
2. *Treponema pallidum*-detection was performed by 72 laboratories. All reported results were correct.
3. Only *Ureaplasma* spp. detection was performed by 11 laboratories. All reported results were correct
4. The following tests are listed under "Other commercial tests": Amplex eazyplex UrogenCheck (1x), AmpliSens U. parvum/U. urealyticum FRT PCR kit (1x), AmpliGnost Trichomonas vaginalis (1x), AusDiagnostics Urinogenital and Resistance 12-well (1x), BD Max (1x), CerTest VIASURE STD Kit für Gardnerella und Treponema pallidum(2x), EUROIMMUN EUROArray STI-7 (1x), Immundiagnostik MutaPLEX STI-2 (1x), Immundiagnostik MutaPLEX BV-1 (1x), Genematrix NeoPlex™ STI-7 Detection kit (1x), GeneProof T. vaginalis (3x), GeneProof CT/NG/MG Multiplex PCR Kit (2x), GeneProof MH/UU/UP Multiplex PCR Kit (3x), KOGENE BIOTECH (1x), Master diagnostica STD direct flow Chip Kit vitro (1x), MIKROGEN ampliCube STD Panel 3(1x), Progenie RealCycler TPHD-U Kit (1x), Sacace Biotechnologies Treponema pallidum Real TM (1x), Seegene Allplex CT/NG/MG/TV Assay (4x), TIB Molbiol LightMix Gardnerella and Qiagen NeuMoDx (1x).

**PCR-/NAT *Pneumocystis jirovecii*
 (RV 560) Mai 2023**



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

Proben Nr.	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
560 230523 01	+++	61	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (~ 1x10 ⁵ organisms/mL)
560 230523 02	+	61	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (~ 5x10 ³ organisms/mL)
560 230523 03	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
560 230523 04	++	61	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (~ 1x10 ⁴ organisms/mL)

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

n = 142	Proben Nr. (Sample no.)					Inhibition			
	01	02	03	04		01	02	03	04
Befund <i>Result</i>									
Positiv	139	114	3	136	n.d.	0	0	0	0
Negativ	2	27	139	6	nein <i>no</i>	0	0	0	0
Fraglich <i>Questionable</i>	1	1	0	0	ja <i>yes</i>	0	0	0	0

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

NAT-Methode [Code] (total number)	NAT richtig positiv <i>True positive results</i>						NAT richtig negativ	
	01		02		04		03	
	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	%
Ademtech MycoGENIE p.jirovecii (n=1)	1	100	1	100	1	100	1	100
Altona RealStar P. jirovecii (n=20)	20	100	20	100	20	100	20	100
Amplex eazyplex P jirovecii (n=8)	7	88	4	50	8	100	8	100
AmpliGnost P. jirovecii (n=6)	6	100	6	100	6	100	6	100
AmpliSens P.jirovecii FRT (n=2)	2	100	2	100	2	100	2	100
BioGX P.jirovecii (n=11)	11	100	5	45	11	100	11	100
Biolegio Atypical Pneumonia-1 (n=2)	2	100	1	50	1	50	2	100
FTD P.jirovecii (n=2)	2	100	2	100	2	100	2	100
PathoNostics PneumoGenius (n=5)	5	100	5	100	5	100	5	100

Sacace P. jirovecii Real TM (n=2)	1	50	1	50	1	50	1	50
LightMix P. jirovecii (n=10)	10	100	9	90	9	90	9	90
VIASURE P.jirovecii Real Time PCR (n=6)	6	100	5	83	6	100	6	100
r-Biopharm RIDAGENE P. jirovecii (n=31)	30[§]	100	22	71	29	94	30	97
In house PCR assay (n = 25)	25	100	20[§]	83	24	96	25	100
Other commercial tests (n = 11)	11	100	11	100	11	100	11	100

[§] Fraglich *Due to reporting questionable results, the number of true results has been reduced*

Comments:

1. The following tests are listed under "Other commercial tests": ELITechGroup Pneumocystis ELITE MGB Kit (3x), Bruker Fungiplex Pneumocystis IVD PCR (3x), AusDiagnostics Pneumonia 16-well (1x), Bio-Evolution (1x), DiaSorin (1x), Genetic Signatures EasyScreen Extended Respiratory Pathogen Detection Panels (1x) and Progenie Molecular RealCycler PJIR (1x).