



Regensburg, den 11. Dezember 2009

**An die Teilnehmer
der INSTAND-Ringversuche Bakteriengenomnachweis PCR / NAT
(INSTAND-Ringversuchsnummern 530 bis 541)**

Dear Participant, dear Colleague,

Please find a cover letter and a brief discussion (NEW !) of the current results in English on the following pages of this document. As always, result tables are depicted in a bilingual style.

Sehr geehrte Kolleginnen und Kollegen,

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

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

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

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

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

Sowohl im Zusammenhang mit einer Erweiterung unseres Ringversuchsprogramms als auch bei der Gestaltung zukünftiger erregerspezifischer Ringversuche sind wir für alle kritischen Kommentare und Anregungen überaus dankbar. Projekte wie diese wachsen erst mit dem konstruktiven *feedback* der einzelnen Teilnehmer. Bis auf wenige Ausnahmen waren die bisherigen Kommentare jedoch durchwegs positiv - vielen Dank !!

Mit freundlichen und kollegialen Grüßen,

PD Dr. Udo Reischl

Ringversuchsleiter Bakteriengenomnachweis
Mitglied der Qualitätssicherungskommission der DGHM

Prof. Dr. H. Wolf, Dr. V. Fingerle, Prof. Dr. E. Straube, Prof. Dr. M. Maaß, Prof. Dr. E. Jacobs

December 11, 2009

To the participants of the
INSTAND external quality assessment scheme (EQAS)
for NAATs in Diagnostic Bacteriology
Bacterial Genome Detection (PCR / NAT)
(INSTAND Proficiency Test Numbers 530 to 541)

Dear Participant, dear Colleague,

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

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

This highly desired sheme 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.instandev.de", this new segment of their huge proficiency testing program is now open for diagnostic laboratories worldwide. We are aiming at two validation rounds per year (spring and autumn), a reasonable price of less than €150 per set, and a permanently expanding coverage of relevant bacterial pathogens. Any general or specific comments on sample composition or suggestions on additional bacterial, fungal, or parasitic organisms which should be covered, are highly appreciated.

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

Further information as well as the documented and analyzed results of the past rounds of our 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. **New in 2009:** due to the growing number of international participants, we will further include a brief discussion of the results in English (see the following pages).

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@klinik.uni-regensburg.de"

With best personal regards,



PD Dr. Udo Reischl

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

Prof. Dr. H. Wolf, Dr. V. Fingerle, Prof. Dr. E. Straube, Prof. Dr. M. Maaß, Prof. Dr. E. Jacobs

Gesamtübersicht und Auswertung der Ringversuchsergebnisse aller Teilnehmer

Eine kurze Anmerkung vorab: Aufgrund zahlreicher Anfragen aus dem Teilnehmerkreis ist für den Herbst 2010 eine Erweiterung des Spektrums an Zielorganismen geplant. Wir werden im Laufe des Jahres je einen sog. **Proberingversuch** für den Nachweis von *Coxiella burnetti* und *Francisella tularensis* anbieten. Als Sollwertlabor wird hier das Institut für Mikrobiologie der Bundeswehr in München (Konsiliarlabor für Tularämie) in enger Absprache mit dem Konsiliarlabor für Q-Fieber in Stuttgart fungieren. Bei erfolgreichem Verlauf werden diese erregerspezifischen Ringversuche dann in das reguläre Ringversuchsprogramm "Bakteriengenomnachweis PCR/NAT" von INSTAND e.V. aufgenommen. Sollten Sie Interesse an der Teilnahme an diesem "Proberingversuch" mit limitierter Anzahl von entsprechenden Probensets haben, so bitten wir Sie um kurze Mitteilung an den Ringversuchsleiter (udo.reischl@klinik.uni-regensburg.de).

NOVEMBER 2009:

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: *Chlamydia trachomatis* (Proben # 92001, 92004, sowie die drei schwach positiven Proben des RV 531), *Neisseria gonorrhoeae* (Probe # 92003), *Borrelia burgdorferi* (Proben # 92504), *Salmonella enterica* (Probe # 92701), sowie cMRSA (Probe # 92903). Im Rahmen der Testentwicklung bzw. Testoptimierung können diese Probensätze u.a. als Qualitätskontrollen oder als standardisierte Sensitivitätsmarker für die Austestung der unteren Nachweisgrenze von eigenentwickelten Nukleinsäure-gestützten Testsystemen dienen.

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

Mit Ausnahme der zuvor erwähnten "grenzwertig positiven" Einzelproben wurden die Mengen der entsprechenden Zielorganismen in den Probensätzen der aktuellen Ringversuchsrunde wieder relativ deutlich über der Nachweisgrenze von "durchschnittlich sensitiven PCR/NAT-Testkonzepten" eingestellt. Diese definieren wir wie folgt: als Richtwert für die Bewertung von Ringversuchsergebnissen gilt das 10- bis 50-fache der unteren Nachweisgrenze durchschnittlich sensitiver PCR-Protokolle unter Standardbedingungen (50 µl Block-Cycler Reaktionsansätze, 35 PCR-Zyklen, ggf. entsprechende *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 und -abarbeitung und/oder auf mangelnde Spezifität der eingesetzten Testsysteme zu betrachten.

In bewährter Form werden im Folgenden die Ergebnisse der jeweiligen erregerspezifischen Ringversuche dargestellt. Tabelle 1 zeigt dabei die Probenzusammensetzung und das erwartete Ergebnis (Sollwert) mit den entsprechenden Codenummern der Ergebnisbögen. Die von den einzelnen Teilnehmern mitgeteilten Ergebnisse werden in Tabelle 2 nach der Häufigkeit der Mitteilung von positiven oder negativen Ergebnissen und in Tabelle 3 nach der absoluten Anzahl der richtig positiven und richtig negativen Ergebnisse sowie deren prozentualem Anteil (Befundhäufigkeit) je Amplifikationssystem bzw. Testkonzept aufgeschlüsselt. Für die objektive

Bewertung von kommerziellen Testsystemen sollten neben der rein statistischen Betrachtung der mitgeteilten Ringversuchsergebnisse auch die Anzahl und vor allem die methodische bzw. technische Qualifikation der individuellen Teilnehmer berücksichtigt werden. Da wir im Zuge unserer Ringversuche aber das gesamte Spektrum von spezialisierten Expertenlabors bis hin zum "Gelegenheitsanwender" abdecken, müssen die arithmetisch ermittelten Richtigkeitsquoten bei der Bewertung einzelner Testsysteme immer mit einem gewissen Toleranzbereich betrachtet werden. Auch im Rahmen des hier diskutierten Ringversuchs waren wieder einige Auffälligkeiten hinsichtlich der Spezifität und Sensitivität von bestimmten Testkonzepten und der für den Nachweis verwendeten Zielsequenzen zu beobachten. Diese Aspekte sind bei der Auswertung des jeweiligen Ringversuchs aufgeführt und dort auch kurz diskutiert. Zusätzlich stehen für die früheren, für diesen und für alle folgenden Ringversuche eine Reihe zusätzlicher Informationen (wie die graphisch dokumentierten Ergebnisse unserer quantitativen *real-time* PCR Testsysteme oder die Ergebnisse einiger kommerzieller PCR Testsysteme) auch unter folgender Internetadresse: "www.udo-reischl.de"; Unterpunkt "Auswertung der Ringversuche" und neuerdings auch über die Homepage von INSTAND e.V. (www.instandev.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 bedanken.

RV 535: *Borrelia burgdorferi*

Wie im Rahmen dieser Ringversuchsserie bereits mehrfach angesprochen, sind die starken Schwankungen vieler etablierter Testsysteme hinsichtlich ihrer Sensitivität und Spezifität bei der Erfassung von unterschiedlichen *Borrelia* Genotypen, die, zumindest außerhalb den Vereinigten Staaten von Amerika, mit relativ hoher Inzidenz gefunden werden, nach wie vor ein zentrales Problem der NAT-gestützten Borrelien-Diagnostik. Diese Situation spiegelte sich auch in gewissem Umfang bei der Auswertung der bisherigen Ringversuche zum Nachweis von Borrelien-DNA wider. Diesmal wurde jedoch, wie auch bereits bei einem der vorhergegangenen Probenpanels mit *B. afzelii* praktiziert, bei der Konzeption der 4 Einzelproben eine Art Verdünnungsreihe des "Prototyp"-Isolates von *B. burgdorferi* sensu stricto angefertigt und an die Teilnehmer versandt.

Diese *Borrelia*-Spezies unterscheidet sich auf Nukleinsäureebene, zumindest innerhalb einiger populärer PCR-Zielgene, in gewissem Umfang von anderen Spezies innerhalb der *B. burgdorferi* s.l. Gruppe. Neben *B. garinii*, *B. afzelii* und *B. bavariensis* ist *B. burgdorferi* sensu stricto in unseren Breiten die wohl am weitesten verbreitete Spezies mit bekanntermaßen humanpathogener Relevanz.

Das aktuelle Set an Ringversuchsproben enthielt somit eine Probe mit relativ hoher Menge an *B. burgdorferi* sensu stricto PKaII (# 92501, $\sim 1 \times 10^5$ Organismen/mL), eine Probe mit etwas geringerer Menge (# 92502; $\sim 1 \times 10^4$ Organismen/mL), eine Probe mit relativ geringer Menge (# 92504; $\sim 1 \times 10^3$ Organismen/mL) sowie eine Probe ohne Zielorganismen (# 92503), die ausschließlich *E. coli* und humanes Zellmaterial enthielt.

Die relativ stark positive Probe # 92501 wurde diesmal von 100 der insgesamt 101 Teilnehmer als positiv befundet. Probe # 92502 enthielt mit ca. 1×10^4 Organismen pro mL eine etwa zehnfach geringere Menge an *B. burgdorferi* sensu stricto, deren DNA immerhin noch von 93 Teilnehmern mit ihren jeweiligen Borrelien-spezifischen PCR-Testsystemen zuverlässig detektiert werden konnte. Zwei der 6 Teilnehmer mit falsch-negativem Ergebnis bei Probe # 92502 verwendeten dabei ein TaqMan *real-time* PCR Protokoll und das Flagellin (*fla*)-Gen als spezifische Zielsequenz, einmal wurde hier die Verwendung der ribosomalen ITS-Region als Zielsequenz im Rahmen einer Block-Cycler PCR aufgeführt, und zwei weitere Teilnehmer gaben die Verwendung eines *nested* Block-Cycler PCR-Protokolls zur Amplifikation von spezifischen Bereichen der 16S rDNA und anschließender DNA-Sequenzierung zur Charakterisierung der Amplifikationsprodukte an.

Mit ca. 1×10^3 *B. burgdorferi* sensu stricto Organismen pro mL Probenmaterial enthielt die Probe # 92504 diesmal eine relativ geringe Menge an Zielorganismen. Erfreulicherweise wurde diese Probe dennoch von 69 der insgesamt 101 Teilnehmer als (richtig-) positiv befundet. Die 70:30 Quote von richtig positiven Befunden bei dieser relativ gering konzentrierten Probe kann auch als Hinweis darauf angesehen werden, daß die untere Nachweisgrenze der gegenwärtig eingesetzten und z.T. auch bereits sehr gut evaluierten NAT-gestützten Analysesystemen für den Nachweis von *B. burgdorferi* sensu stricto DNA mit einer Menge von ca. $\sim 1 \times 10^3$ Organismen/mL Probenmaterial erreicht zu sein scheint. **Anmerkung des Ringversuchsleiters:** bei einer DNA-Aufreinigung aus 100 µl Probenmaterial, einer Elution in 100 µl (also ca. 100 Genomkopien in 100 µl) und der Verwendung von 5 µl template input entspricht diese Menge ca. 5 Genomkopien pro NAT-Reaktionsansatz. Abhängig von der verwendeten Zielsequenz des jeweiligen PCR-Testkonzepts muß dabei noch die Kopienzahl der entsprechenden Zielsequenz im Genom berücksichtigt werden (z.B. liegen ribosomale Gene wie die 16S rDNA typischerweise in 5 bis 10 Kopien pro Bakteriengenom vor).

Die "negative" Probe # 92503, die anstelle der Zielorganismen diesmal eine nennenswerte Menge an *E. coli* Zellen enthielt, wurde hier auch wieder von einem erfreulich hohen Anteil der Teilnehmer als negativ befundet. Lediglich bei 4 der insgesamt 101 Teilnehmer hatten hier offensichtlich Kontaminationsereignisse während der individuellen Probenaufarbeitung

stattgefunden oder es wurden Testsysteme mit mangelhafter Spezifität eingesetzt – wobei man speziell bei dieser Probe mögliche Kreuzreaktionen nicht durch die Anwesenheit einer "mit Borrelien verwandten Spezies" entschuldigen kann.

Über die Hälfte der Teilnehmer haben selbstentwickelte (*in house*) Testsysteme mit Inhibitions- und/oder Positivkontrollen zum NAT-gestützten Nachweis von Borrelien-DNA verwendet; eine signifikante Inhibition der PCR-Reaktion wurde im Rahmen dieser Ringversuchsrunde dabei von keinem Teilnehmer beobachtet. Im Großen und Ganzen waren im Rahmen dieses Ringversuchs auch keine auffälligen Unterschiede hinsichtlich Sensitivität und Spezifität zwischen den jeweils eingesetzten kommerziellen und der, zumindest aus methodischer Sicht, relativ heterogenen Gruppe von selbstentwickelten (*in house*) Testsystemen zu beobachten. Im Gegensatz zum "RealArt Borrelia" Testsystem, das mittlerweile mit dem Testcode [20] auf dem Ergebnisformular spezifiziert werden kann und das diesmal von 14 Teilnehmern höchst erfolgreich auch zum Nachweis der relativ geringen Menge an *B. burgdorferi* sensu stricto in Probe # 92504 eingesetzt wurde, zeigte das Demeditec GenFlow Testsystem (Code[21]) speziell bei der letztgenannten Probe eine etwas schlechtere Performance. Darüberhinaus wurde im Kommentarfeld des Ergebnisformulars unter Code [27] "Andere kommerzielle Testsysteme" u.a. die Verwendung folgender Kits aufgeführt: GeneProof *Borrelia burgdorferi* PCR Kit (3x), TIB Molbiol LightMix Borrelia (3x), Demeditec GenFlow Borrelia Plus (2x), Eligene Borrelia RT (2x), Attomol *Borrelia burgdorferi* DNS-LINA (2x), MutaGEL Borrelia PCR von Immundiagnostik (1x), artus Borrelia LC PCR Kit (1x), und DYNEX Real Time PCR Kit Borrelia burgdorferi (1x).

Kommentar zum aktuellen Borrelien-PCR Ringversuch von Dr. Volker Fingerle und PD Dr. Andreas Sing (Nationales Referenzzentrum für Borrelien und Konsiliarlabor für Ehrlichien am Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit; Sollwertlabor für INSTAND e.V. Ringversuch RV 535). Insgesamt ist das Ergebnis des aktuellen Ringversuchs zum molekulargenetischen Nachweis von *B. burgdorferi* s.l. doch sehr erfreulich und im Bereich früherer Ringversuche angesiedelt. Bemerkenswert ist allerdings ein deutlicher Verlust der analytischen Sensitivität bei niedriger Borrelienkonzentration im Untersuchungsmaterial: 32 der 101 Teilnehmer konnten die 10^3 Borrelien pro mL Untersuchungsprobe nicht detektieren. Bei einem früheren Ringversuch konnten dagegen knapp 90% der Teilnehmer die 10^2 Borrelien pro 100 µl prozessiertem Probenmaterial noch nachweisen. Wahrscheinlich ist die Hauptursache eine unterschiedliche Sensitivität für die eingesetzten *B. burgdorferi* s.l. Spezies – *B. burgdorferi* s.s. im aktuellen Ringversuch, dagegen *B. afzelii* im Ringversuch April 2008 - zu suchen. Nachdem davon auszugehen ist, dass zum einen die Konzentration von *B. burgdorferi* im infizierten Gewebe nur sehr gering ist und zum anderen meist nur wenig Material zur Verfügung gestellt wird, sollte der aktuelle Ringversuch Anlass dafür sein, eine weitere Verbesserung der Sensitivität der verschiedenen Methoden speziell auch bezogen auf die unterschiedlichen humanpathogenen Spezies anzustreben.

In diesem Zusammenhang ist geplant, für Validierungszwecke ein Panel, das die für Europa relevanten *B. burgdorferi* s.l. Spezies beinhaltet, in definierter Menge zur Verfügung zu stellen. Um den Bedarf abschätzen zu können, möchten wir Sie bitten, sich bei Interesse mit einer kurzen Nachricht an den Ringversuchsleiter zu wenden.

Brief discussion of the current EQAS results in English:

RV 535: *Borrelia burgdorferi*

Due to numerous requests in the past few months, here is a short note for our participants outside Europe: as this proficiency testing panel is designed for a specific and sensitive detection of *B. burgdorferi* sensu lato DNA, the positive samples **do not necessarily** contain suspensions of "prototype" isolates of *B. burgdorferi* sensu stricto and in many of the bi-annual rounds of our external quality assessment (EQAS) scheme also **other *B. burgdorferi* genotypes or genospecies will be present** in individual samples. The current set of QC samples, however, contained a kind of dilution series of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto organisms in the sample matrix.

A relatively high amount of *B. burgdorferi* sensu stricto ($\sim 1 \times 10^5$ organisms/mL) was present in sample # 92501, which consequently was tested positive by 100 of the 101 participating laboratories. Sample # 92502 contained approximately 1×10^4 *Borrelia burgdorferi* sensu stricto organisms per mL and was tested "positive" by 93 participants and "questionable" by 2 of the participating laboratories. The 6 participants (who missed this particular sample) should consider to improve the analytical sensitivity and/or check the species coverage of their individual assay concepts. Sample # 92504, which contained a small amount of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto target organisms ($\sim 1 \times 10^3$ organisms per mL), was only reported positive by 69 of the 101 participants and 3 participants scored their results as "questionable". Since the bacterial load was relatively low, we have not scored a (false) negative result for the latter sample in the course of issuing the corresponding QC certificates. Sample # 92503 of the current set contained no target organisms but only non-infected human cells and *E. coli* cells. Four of the 101 participants reported a false-positive result for the "negative" sample # 92503. The latter is presumably due to some intralaboratory cross-contamination events.

With the exception of the false-negative results observed with the weak-positive sample # 92504 of the current set of QC samples, the *B. burgdorferi*-specific assays of the participants worked well.

**PCR-/NAT *Borrelia burgdorferi*
 (RV 535) November 2009**



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

Gruppe A	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
92501	++	61	<i>Borrelia burgdorferi sensu stricto</i> , PK II (~ 1x10 ⁵ organisms/mL)
92502	+	61	<i>Borrelia burgdorferi sensu stricto</i> , PK II (~ 1x10 ⁴ organisms/mL)
92503	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
92504	(+)	61	<i>Borrelia burgdorferi sensu stricto</i> , PK II (~ 1x10 ³ organisms/mL)

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

n = 101	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	92501	92502	92503	92504		92501	92502	92503	92504
Befund <i>Result</i>									
Positiv	100	93	4	69	n.d.	3	3	3	3
Negativ	1	6	97	29 ¹⁾	nein <i>no</i>	98	98	98	98
Fraglich <i>Questionable</i>	0	2	0	3	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>		
	Absolut <i>Absolute</i>	Relativ <i>Relative</i>	%	Absolut <i>Absolute</i>	Relativ <i>Relative</i>	%
RealArt <i>Borrelia</i> [20] (n = 14)	42	42 / 42	100	13	13 / 14	93
Demeditec GenFlow [21] (n = 8)	19	19 / 24	79	7	7 / 8	88
Other/commercial tests [27] (n = 17)	44	44 / 51	86	16	16 / 17	94
<i>In house</i> PCR assay [28] (n = 61)	154	154 / 178 [§]	87	60	60 / 61	98
Andere / k.A. / other [29] (n = 1)	3	3 / 3	100	1	1 / 1	100

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

Comments: ¹⁾ Twenty-nine of the 101 participants reported negative results for sample # 92504. Due to the low number of target organisms we have not rated them as "false-negative", but the participants may consider to improve the analytical sensitivity of their corresponding PCR assays.



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

IN STAND e. V.
 Gesellschaft zur Förderung der Qualitätssicherung
 in medizinischen Laboratorien e.V.
<http://www.instand-ev.de>



535 Bakteriengenom-Nachweis *Borrelia burgdorferi* status 11.2009

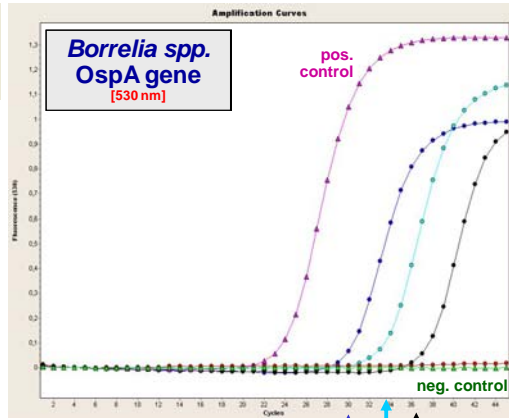
➤ **Evaluation** (quantitative Real-Time PCR):

Reischl / Linde / Wolf

1	92501	28,84
2	92502	32,46
3	92503	
4	92504	36,00
5	pos. Control Borrelia	22,91
6	NTC	



LightCycler Taqman PCR protocol:
 unpublished in house protocol.



organisms / PCR reaction:
 $\sim 10^3$ $\sim 10^2$ $\sim 10^1$
 090424_6_Borrelia TM

