



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 beigegeführten 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. *Mikrobiologie* **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](http://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](http://www.udo-reischl.de)", subsection "INSTAND Ringversuche (PCR / NAT)". Although the preferred language of these documents is German, we are aiming to provide at least some key documents and the tables in a bilingual style. **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](mailto: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 prozentualen 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](http://www.udo-reischl.de)"; Unterpunkt "Auswertung der Ringversuche" und neuerdings auch über die Homepage von INSTAND e.V. ([www.instandev.de](http://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 536: *Legionella pneumophila***

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

Das aktuelle Set an Ringversuchsproben enthielt diesmal eine wirklich sehr stark positive Probe – nicht zuletzt, um auch einmal die Kontaminationssicherheit der in den PCR-Laboratorien der entsprechenden Teilnehmer etablierten Protokolle zur DNA Extraktion und Amplifikation abzuprüfen. Die entsprechende Probe # 92602 war mit einer Menge von ca.  $10^7$  CFU/mL an *Legionella pneumophila* Serogruppe 15 versetzt und wurde auch von allen der insgesamt 66 teilnehmenden Laboratorien als positiv befundet. Da bei dieser Probe auch kein falsch-negatives Ergebnis berichtet wurde, lag die Richtigkeitsquote bei 100 %. Als verantwortungsbewußter Ringversuchsleiter bleibt mir in diesem Zusammenhang nur zu hoffen, daß die Handhabung der entsprechenden hochpositiven PCR-Reaktionsansätze in einigen der teilnehmenden Laboratorien nicht zu hartnäckigen PCR-Produktkontaminationen bei zukünftigen PCR Untersuchungen geführt hat. Die „negative“ Probe # 92603, die im aktuellen Probenstet neben humanem Zellmaterial lediglich *E. coli* enthielt, wurde erfreulicherweise von nahezu allen Teilnehmern als negativ befundet. Wenn man davon ausgeht, daß die Teilnehmer die Ringversuchsproben wohl überwiegend in der Reihenfolge aufsteigender Probennummern prozessieren und analysieren, dann spricht das für ein erfreulich gutes Funktionieren von Test- bzw. laborspezifischen Maßnahmen zur Vermeidung von Kontaminationsereignissen und hinreichender Spezifität der verwendeten Testsysteme. Lediglich bei einem der insgesamt 66 Teilnehmer hatten hier vermutlich Kontaminationsereignisse während der individuellen Probenaufarbeitung stattgefunden oder die analytische Spezifität des eingesetzten Testsystems war schlichtweg unzureichend.

Die Probe # 92601 des aktuellen Sets enthielt eine etwa hundertfach geringere Menge an Zielorganismen ( $\sim 1 \times 10^5$  CFU/mL *L. pneumophila* Serogruppe 1), die erfreulicherweise von 64 der insgesamt 66 Teilnehmer mit ihren NAT-gestützten Testsystemen zuverlässig nachgewiesen werden konnten. Lediglich 2 Teilnehmer berichteten bei dieser noch relativ stark positiven Probe ein falsch-negatives NAT-Ergebnis. Vermutlich wurden hier Probenaufbereitungsverfahren und/oder Testsysteme mit unzureichender analytischer Sensitivität eingesetzt. Angesichts der hohen Menge an *L. pneumophila* in diesem Probenmaterial sollten die betroffenen Ringversuchsteilnehmer die verwendeten Zielsequenzen und ihre eingesetzten Testkonzepte überprüfen und umgehend nachbessern.

Um im Rahmen der Möglichkeiten dieses Ringversuchskonzepts auch die Spezifität der eingesetzten Testsysteme abzuprüfen, enthielt eine der 4 Proben (# 92604) diesmal eine nennenswerte Menge (ca.  $1 \times 10^5$  CFU/mL) an *Legionella bozemanii* (vormals: *L. bozemanii*), was bei der Mehrzahl der Teilnehmer erfreulicherweise zu keinen falsch-positiven NAT-Ergebnissen führte. Nur bei 8 der insgesamt 66 Teilnehmer zeigten sich offenkundige Spezifitätsprobleme bei den eingesetzten Testsystemen - unter der Rubrik "Zielsequenz" wurde hier viermal die Verwendung ribosomaler Zielsequenzen unter Einsatz eines eigenentwickelten real-time PCR Protokolls sowie von einem Teilnehmer die Verwendung eines kommerziellen Testsystems mit dem *mip* Gen als *L. pneumophila*-spezifische Zielsequenzen angegeben. Da sich *Legionella bozemanii* zumindest auf Ebene der 16S rDNA Sequenz jedoch in zahlreichen Nukleotidpositionen von *L. pneumophila* unterscheidet, sollten hier von den entsprechenden Teilnehmern mit falsch-positivem Ergebnis die Annealingbedingungen sowie die

Hybridisierungsregionen der verwendeten Primer und/oder Sonden überprüft und gegebenenfalls nachgebessert werden.

Im Rahmen des aktuellen Ringversuchs kamen bei 20 Teilnehmern kommerzielle NAT-Testsysteme für den Nachweis von *Legionella pneumophila* DNA im Untersuchungsmaterial zum Einsatz. Ein Teilnehmer gab hier die Verwendung des neuen BD ProbeTec Legionella Testsystems an (Code [26] auf dem Ergebnisformular) und erzielte damit eine Richtigkeitsquote von 100 %, sowohl für die positiven als auch für die negativen Proben. Leider wurden von den übrigen 19 Teilnehmern die Hersteller der entsprechenden Testkits im Auswertungsbogen nicht durchgehend spezifiziert. Im Kommentarfeld des Ergebnisformulars wurde hier unter Code [27] "Andere kommerzielle Testsysteme" u.a. die Verwendung folgender Kits aufgeführt: GeneProof LP PCR detection Kit (1x), Argene Chlamyge (1x), TibMolbiol LightMix *Legionella* (2x), LCD Array Kit (1x), Euroclone Duplica Real Time *L. pneumophila* Detection Kit (1x), Minerva Onar Lp *L. pneumophila* (3x), Gen ID CAP Bac Kit von Autoimmun Diagnostika (4x), LEGD-LC von PIIM (2x), BD ProbeTec Legionella (1x), und DYNEX Pneumoplex (1x).

Es wird auch weiterhin interessant sein zu verfolgen, inwieweit sich im Laufe der nächsten Ringversuchsrunden Unterschiede in der analytischen Sensitivität von selbstentwickelten und kommerziellen Testsystemen abzeichnen. Von den übrigen Teilnehmern wurden selbstentwickelte (*in house*) NAT Testsysteme mit Inhibitions- und/oder Positivkontrollen verwendet, und von keinem der 65 Teilnehmer wurde bei dem aktuell versandten Probenstet ein vermeintliches Inhibitionsereignis bei der Aufarbeitung und Analyse der Ringversuchsproben beobachtet.

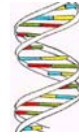
### **Brief discussion of the current EQAS results in English:**

#### **RV 536: *Legionella pneumophila***

The current set of QC samples contained two positive samples: an exceptionally high amount of *L. pneumophila* serogroup 15 ( $\sim 1 \times 10^7$  CFU/mL) was present in sample # 92602 and an approximately hundredfold lower amount of *L. pneumophila* serogroup 1 ( $\sim 1 \times 10^5$  CFU/mL) was present in sample # 92601. With the exception of two false-negative results for sample # 92601, both samples were tested positive by all of the 66 participating laboratories. Sample # 92602 with the high number of target organisms was intentionally placed before the "negative" sample # 92603 to monitor possible cross-contamination events in the course of sample processing, amplification and detection steps. As only one false-positive result was observed for the "negative" sample # 92603, it seems that the participating laboratories have implemented functional precautions to prevent such deleterious contamination events. The isolated false-positive result reported from one participant, however, may be caused by such a cross-contamination event.

Sample # 92604 of the current set contained  $\sim 1 \times 10^5$  *Legionella bozemanii* organisms per mL and false-positive results were reported only from 8 participating laboratories (presumably due to some cross-contamination events or a lack of analytical specificity in the corresponding PCR-based assays). Otherwise there were no noticeable problems with the current set of QC samples and a good overall correlation with the expected results was observed.

**PCR-/NAT *Legionella pneumophila*  
 (RV 536) November 2009**



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

Gruppe A	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
92601	+	61	<i>Legionella pneumophila</i> SG1 (~ 1x10 <sup>5</sup> CFU/mL)
92602	+++	61	<i>Legionella pneumophila</i> SG15 (~ 1x10 <sup>7</sup> CFU/mL)
92603	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
92604	∅	62	<i>Legionella bozemanii</i> (~ 1x10 <sup>5</sup> CFU/mL)

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

n = 66	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	92601	92602	92603	92604		92601	92602	92603	92604
Befund Result									
Positiv	64	66	1	8	n.d.	1	1	1	1
Negativ	2	0	65	57	nein no	65	65	65	65
Fraglich Questionable	0	0	0	1	ja yes	0	0	0	0

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

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

NAT-Methode [Code] (total number *)	NAT richtig positiv True positive results			NAT richtig negativ True negative results		
	Absolut Absolute	Relativ Relative	%	Absolut Absolute	Relativ Relative	%
BD ProbeTec Legionella [26] (n = 1)	2	2 / 2	100	2	2 / 2	100
Other commercial tests [27] (n = 19)	37	37 / 38	97	38	38 / 38	100
In house PCR assay [28] (n = 46)	92	92 / 92	100	82	82 / 91 <sup>§</sup>	90
Andere / k.A. / other [29] (n = 2)	3	3 / 4	75	4	4 / 4	100

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

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



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

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



## 536 Bakteriengenom-Nachweis *Legionella pneumophila* status 11.2009

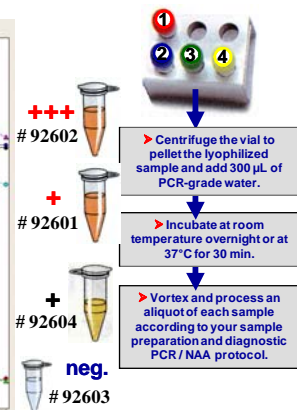
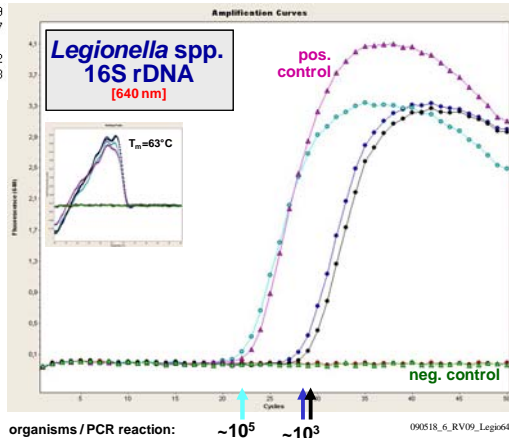
### ➤ Evaluation (quantitative Real-Time PCR):

Reischl / Linde / Wolf

- 13 92601 27,29
- 14 92602 21,37
- 15 92603 28,02
- 16 92604 22,13
- 17 Pos. Ko. Legio
- 18 NTC



**LightCycler PCR protocol:**  
 Reischl, U., H.-J. Linde, N. Lehn, O. Landt, K. Barrat, and N. Wellinghausen (2002). Direct detection and differentiation of *Legionella* spp. and *Legionella pneumophila* in clinical specimens by dual-color real-time PCR and melting curve analysis. *J. Clin. Microbiol.* 40:3814-3817



INSTAND-F03\_II/09



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

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



## 536 Bakteriengenom-Nachweis *Legionella pneumophila* status 11.2009

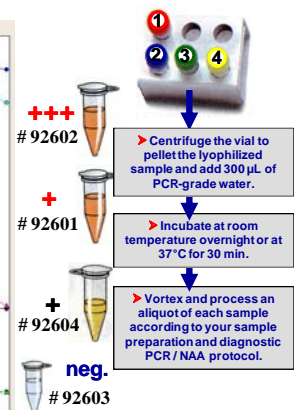
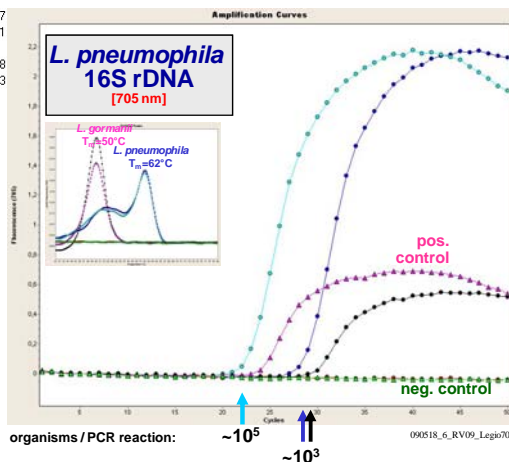
### ➤ Evaluation (quantitative Real-Time PCR):

Reischl / Linde / Wolf

- 13 92601 27,27
- 14 92602 21,31
- 15 92603 27,38
- 16 92604 22,33
- 17 Pos. Ko. Legio
- 18 NTC

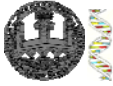


**LightCycler PCR protocol:**  
 Reischl, U., H.-J. Linde, N. Lehn, O. Landt, K. Barrat, and N. Wellinghausen (2002). Direct detection and differentiation of *Legionella* spp. and *Legionella pneumophila* in clinical specimens by dual-color real-time PCR and melting curve analysis. *J. Clin. Microbiol.* 40:3814-3817



INSTAND-F04\_II/09





**536 Bakteriengenom-Nachweis *Legionella pneumophila*** status 11.2009

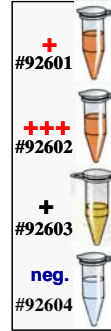
➤ **Evaluation (qualitative PCR):**

Reischl / Linde / Wolf / Jacobs

**Becton Dickinson  
 ProbeTec *Legionella pneumophila***

Probennummer	LP	LP QC
QC- (8031525)		OK
QC+ (8031525)		OK
92601	⊕+	
92602	⊕+	
92603	⊖	
92604	⊖	

BD\_Legb\_Nov09



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

