



INSTITUT FÜR MEDIZINISCHE  
MIKROBIOLOGIE UND HYGIENE  
UNIVERSITÄT REGENSBURG  
DIREKTOR: PROF. DR. HANS WOLF

WHO Collaborating Centre  
for Research and Control of  
Virus-associated Cancers



WHO Collaborating Centre  
for Reference and Research  
on Viral Hepatitis



PD DR. UDO REISCHL, TEL: (0941) 944-6450 FAX: -6402

MOLEKULARE DIAGNOSTIK

Regensburg, den 19. Oktober 2007

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

**Dear Participant, dear Colleague,**

*Please find a cover letter in English on page 16 of this document and  
tables with the results in a bilingual style.*

**Sehr geehrte Kolleginnen und Kollegen,**

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

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

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

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

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

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

Mit freundlichen und kollegialen Grüßen,

**PD Dr. Udo Reischl**

Ringversuchsleiter Bakteriengenomnachweis  
Mitglied der Qualitätssicherungskommission der DGHM

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

### AKTUELLER HINWEIS:

Wie bereits erwähnt, sind wir bei der Gestaltung zukünftiger erregerspezifischer Ringversuche stets bemüht, den Anregungen und Wünschen von Seiten der Teilnehmer möglichst zeitnah und professionell Rechnung zu tragen. Um unser Spektrum an respiratorischen Pathogenen sinnvoll zu erweitern, werden wir ab April 2008 einen zusätzlichen Ringversuch **RV 541 "Mycoplasma pneumoniae"** anbieten. Interessierte Laboratorien konnten sich bereits im Vorfeld bei INSTAND e.V. für die Teilnahme an einem Probe-Ringversuch anmelden von dem diesmal nur eine limitierte Anzahl von Probensets verfügbar war. Eine kurze Diskussion dieses Probe-Ringversuchs findet sich in dieser Auswertung. Nach der erfolgreichen Evaluierung wird dieser neue Ringversuch zusammen mit den bereits etablierten Ringversuchen für *Chlamydia pneumoniae* und *Legionella pneumophila* als fester Bestandteil in das PCR/NAT-Ringversuchsprogramm von INSTAND e.V. aufgenommen. Damit ist der weltweit erste regelmäßige Ringversuch für den gezielten Nachweis von *Mycoplasma pneumoniae* DNA verfügbar und das sog. "CAP-Panel", zumindest bezüglich der bakteriellen Erreger, für die ein NAT-gestützter Nachweis in vielen Fällen sinnvoll sein kann, weitgehend abgedeckt.

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

Angesichts der wachsenden Zahl an einzelnen und damit auch individuell zu diskutierenden Ringversuchen werde ich mich zukünftig bemühen, den Umfang dieser turnusmäßigen Ringversuchsauswertung in überschaubaren Grenzen zu halten und dabei dennoch versuchen alle essentiellen Informationen für die einzelnen Teilnehmer darzustellen. Ich hoffe, daß dies in zufriedenstellender Weise gelingen wird und freue mich natürlich auf jede Art von Rückmeldung aus dem Kreis der geschätzten Ringversuchsteilnehmer.

Aufgrund der überraschend hohen Anzahl an Teilnehmern wurden bei diesem Ringversuch für einige der angebotenen Parameter zwei unterschiedliche Gruppen von Probensets ausgesandt. Diese beiden Gruppen sind in den entsprechenden Tabellen separat aufgeführt und statistisch ausgewertet. Im Rahmen dieser Diskussion werden die beiden Gruppen aber nur dann gesondert diskutiert, wenn irgendwelche Auffälligkeiten in der Testperformance zu beobachten waren.

## **Gesamtübersicht und Auswertung der Ringversuchsergebnisse aller Teilnehmer**

### SEPTEMBER 2007:

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

In den aktuellen Ringversuchssets befinden sich daher erneut einige Proben mit relativ geringer Menge folgender Zielorganismen: *Chlamydia trachomatis* (Proben # 72002, # 72102, # 72103), *Neisseria gonorrhoeae* (Probe # 72001), *Bordetella pertussis* (Probe # 72201 und 72207), *Helicobacter pylori* (Probe # 72303), *Borrelia burgdorferi* (Proben # 72502 und # 72504), MRSA (Proben # 72901), *Chlamydia pneumoniae* (Probe # 72414) sowie *Mycoplasma pneumoniae* (Probe # 72422). Im Rahmen der Testentwicklung bzw. Testoptimierung können diese Probensätze u.a. als Qualitätskontrollen oder als standardisierte Sensitivitätsmarker für die Austestung der unteren Nachweisgrenze von eigenentwickelten Nukleinsäure-gestützten Testsystemen dienen.

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

Mit Ausnahme der zuvor erwähnten "grenzwertig positiven" Einzelproben wurden die Mengen der entsprechenden Zielorganismen in den Probensätzen der aktuellen Ringversuchsrunde wieder relativ deutlich über der Nachweisgrenze von "durchschnittlich sensitiven PCR/NAT-Testkonzepten" eingestellt. Diese definieren wir wie folgt: als Richtwert für die Bewertung von Ringversuchsergebnissen gilt das 50- bis 100-fache der unteren Nachweisgrenze durchschnittlich sensitiver PCR-Protokolle unter Standardbedingungen (50 µl Reaktionsansätze, 35 PCR-Zyklen, gut evaluierte Primersequenzen).

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

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

In bewährter Form werden im Folgenden die Ergebnisse der jeweiligen erregerspezifischen Ringversuche dargestellt. Tabelle 1 zeigt dabei die Probenzusammensetzung und das erwartete Ergebnis (Sollwert) mit den entsprechenden Codenummern der Ergebnisbögen. Die von den einzelnen Teilnehmern mitgeteilten Ergebnisse werden in Tabelle 2 nach der Häufigkeit der Mitteilung von positiven oder negativen Ergebnissen und in Tabelle 3 nach der absoluten Anzahl der richtig positiven und richtig negativen Ergebnisse sowie deren 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 kommerziellen PCR Testsysteme) auch unter folgender Internetadresse: "[www.udo-reischl.de](http://www.udo-reischl.de)"; Unterpunkt "INSTAND-Ringversuche (PCR / NAT)" und neuerdings auch über die Homepage von INSTAND e.V. als *pdf*-Files zum freien Download bereit.

## RV 539: MRSA

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

Da bereits in vielen Häusern ein NAT-gestützter Direktnachweis von MRSA zum Screening von Risikopatienten routinemäßig durchgeführt wird oder implementiert werden soll, sind bereits von einigen namhaften Herstellern standardisierte Testkits oder voll- bzw. teilautomatisierte Testsysteme kommerziell verfügbar. Deren Verwendung wurde im Zuge dieses Ringversuchs systematisch abgefragt. Die Auswertung der aktuellen Ergebnisse bestätigt einerseits die gute Performance und das gute Funktionieren einiger dieser Testkits, aber andererseits werden auch die spezifischen Limitationen der unterschiedlichen Testformate und -konzepte aufgezeigt. Bedingt durch die diagnostische Fragestellung bestehen die spezifischen Anforderungen hier in einem möglichst sensitiven Nachweis von geringsten Mengen an Zielorganismen und gleichzeitig in der differenzierten Erfassung von *mecA*-positiven Koagulase-negativen Staphylokokkenspezies.

Viele der derzeit etablierten eigenentwickelten oder kommerziellen Testsysteme zum Direktnachweis von MRSA aus klinischem Untersuchungsmaterial basieren auf einer getrennten Erfassung von *S. aureus*-spezifischen Markern, Staphylokokkenspezies-spezifischen Markern und dem *mecA*-Gen in der entsprechenden Nukleinsäurepräparation. Da sowohl bei *S. aureus* als auch bei Koagulase-negativen Staphylokokken das *mecA*-Gen für die phänotypische Ausprägung einer Methicillin-Resistenz verantwortlich ist, ist die Aussagekraft dieser PCR-gestützten Testsysteme für den Direktnachweis von MRSA aus nativem Patientenmaterial eingeschränkt, wenn beim Patienten eine gleichzeitige Besiedelung mit *S. aureus* und Koagulase-negativen Staphylokokken (die als klinische Isolate zumeist *mecA*-positiv sind) vorliegt. Einen attraktiven Ansatzpunkt zur Lösung dieses Problems bieten sog. *SCCmec*-basierte PCR Testkonzepte, die auf dem Nachweis des Methicillin-Resistenzgens innerhalb eines für *S. aureus* charakteristischen Genbereiches (*orfX*) beruhen und die relativ gut konservierte Integrationsstelle der *SCCmec* Kasette im *S. aureus* Genom als Zielsequenz verwenden. Daß aber auch die *SCCmec*-basierten Testkonzepte gewisse Limitationen haben, konnte u.a. im Rahmen des Ringversuchs April 2006 mit der Probe # 61904 eindrucksvoll aufgezeigt werden: dieses MSSA Isolat besaß zwar eine an den jeweiligen Enden typische *SCCmec* Sequenz, aber das üblicherweise innerhalb der *SCCmec* Kasette vorhandene *mecA*-Gen war hier deletiert. Neben diesen Isolaten mit deletiertem oder nicht in funktioneller Form exprimiertem *mecA*-Gen kursieren (zumindest in der Literatur) auch einige MRSA-Isolate mit neuartiger Sequenzmotiven an der Integrationsstelle der *SCCmec* Kasette im *S. aureus* Genom. Abhängig von den individuell gewählten Primersequenzen kann dies, zumindest in Einzelfällen, ebenfalls zu falsch-negativen Ergebnissen beim NAT-gestützten Direktnachweis von MRSA führen. Der dynamische Wandel innerhalb der Genomkostellation von MRSA Stämmen reflektiert sich u.a. in den wechselnden PFGE und *spa*-Typisierungsmustern. Unabhängig von der eigentlichen Thematik dieses Ringversuchs ist und bleibt es zum Wohle des Patienten angesichts dieser Situation immer ratsam, daß zumindest in einigen überregionalen Laboratorien nicht auf die Durchführung traditioneller kultureller Nachweisverfahren parallel zum NAT-gestützten Direktnachweis verzichtet wird.

Im Rahmen dieser Ringversuchsserie haben wir uns jedoch zum Ziel gesetzt, primär die analytische Sensitivität und Spezifität (und somit die Routinetauglichkeit) der jeweils eingesetzten Testsysteme abzuprüfen und die Teilnehmer nicht mit einer Reihe von sporadisch isolierten *S. aureus* Isolaten von zugegebenermaßen "exotischer" Genomkonstellation zu verunsichern. Daher befand sich im aktuellen Ringversuch (neben einer einer Mischung aus *S. aureus* und Koagulase-negativen Staphylokokken mit *mecA*-Gen) auch wieder zwei "typische" MRSA-Isolate mit intaktem *mecA* Gen. Wie in Tabelle 1 dargestellt, enthielt das aktuelle Set an Ringversuchsproben diesmal je eine Probe mit moderater Menge an einem MRSA Isolat (# 72904; PVL-negativ,  $\sim 5 \times 10^4$  CFU/ml), eine Probe mit einem cMRSA Isolat (# 72901; MRSA, PVL-positiv,  $\sim 1 \times 10^4$  CFU/ml), eine Probe mit einem *mecA*-negativen *S. aureus* Isolat und der gleichzeitigen Anwesenheit eines *mecA*-positiven *S. haemolyticus* Stammes (# 72903; je  $\sim 1 \times 10^4$  CFU/ml), sowie eine Probe ohne Staphylokokken (# 72902; *E. coli*).

Für die Probe # 72902 wurden von den insgesamt 114 Teilnehmern bis auf ein als "fraglich" klassifiziertes Ergebnis durchwegs richtig-negative Ergebnisse mitgeteilt. Dies spricht, zumindest im Rahmen des aktuellen Ringversuchs, für eine hohe Kontaminationssicherheit bei der DNA-Isolierung und den nachfolgenden Amplifikations- und Detektionsverfahren.

Bei der "ausschließlich" MRSA-positiven Probe # 72904 wurden diesmal von 108 der insgesamt 114 Teilnehmer, unabhängig von dem jeweils eingesetzten NAT-gestützten Testsystem, bis auf einen "fraglichen" und 5 falsch-negative Befunde (3 Teilnehmer mit eigenentwickelten *in-house* Testsystemen und 2 Teilnehmer mit dem kommerziellen Hyplex StaphyloResist Testsystem), durchwegs korrekte Ergebnisse mitgeteilt. Bei der Probe # 72901, die diesmal ca.  $1 \times 10^4$  CFU/ml eines PVL-positiven, aber ansonsten "typischen" MRSA Isolats enthielt, wurden vom Großteil der 114 Teilnehmer ebenfalls durchwegs richtig-positive Ergebnisse mitgeteilt. Unter den 14 Teilnehmern mit falsch-negativem Ergebnis fanden sich 8 mit eigenentwickelten (*in house*) Testkonzepten, 3 mit dem kommerziellen GenoType / GenoQuick MRSA Testsystem, einer mit dem kommerziellen Hyplex StaphyloResist Testsystem sowie 2 Teilnehmer mit einem nicht näher spezifizierten kommerziellen Testsystem. Abgesehen von den 14 falsch-negativen Ergebnissen bei Probe # 72901 und den 5 falsch-negativen Ergebnissen bei Probe # 72904 (deren Ursache vermutlich in mangelnder analytischer Sensitivität des jeweils angewandten Testkonzepts bzw. Effizienz des eingesetzten Protokolls zur DNA-Extraktion zu suchen ist) spricht diese Ergebnislage dennoch für eine erfreulich hohe Zuverlässigkeit des NAT-gestützten Direktnachweises von MRSA aus klinischem Untersuchungsmaterial.

Bei der Probe # 72903 mit einer Mischung aus *S. aureus* und Methicillin-resistenten *S. haemolyticus* gestaltet sich die Diskussion der Ringversuchsergebnisse aufgrund der unterschiedlichen Testkonzepte der einzelnen Teilnehmer jedoch etwas komplexer. Diese Konstellation konnte zumindest von der Mehrzahl der Teilnehmer mit SCC*mec*-basierten Testkonzepten aufgelöst werden, und es wurden insgesamt 93 richtig-negative Ergebnisse mitgeteilt. Wie bereits zuvor erwähnt kann mit der Verwendung von Testsystemen, die auf einer getrennten Erfassung von speziesspezifischen Markern und dem *mecA* Gen basieren, die Anwesenheit des *mecA* Gens zwar meist nachgewiesen werden, aber dessen Herkunft nicht zweifelsfrei dem Genom der ebenfalls nachgewiesenen *S. aureus* und/oder der Koagulase-negativen Staphylokokkenspezies zugeordnet werden. In diesem Fall wäre "fraglich" das wissenschaftlich korrekte Ergebnis der NAT-gestützten Untersuchung. Unter den 7 als "fraglich" klassifizierten Ergebnissen für Probe # 72903 befanden sich daher auch 3 der insgesamt 6 Teilnehmer mit dem kommerziellen Hyplex StaphyloResist Testsystem, 3 Teilnehmer mit eigenentwickelten (*in house*) Testkonzepten zur getrennten Erfassung von speziesspezifischen Markern und dem *mecA* Gen sowie überraschenderweise auch ein Teilnehmer mit dem SCC*mec*-basierten kommerziellen IDI-MRSA Testsystem. Überraschenderweise wurden bei dieser Probe auch 14 positive Ergebnisse berichtet. Zehn der 14 Teilnehmer mit falsch-positivem Ergebnis für Probe # 72903 gaben die Verwendung von eigenentwickelten (*in house*) Testkonzepten zur

getrennten Erfassung von speziesspezifischen Markern und dem *mecA* Gen an. Da die Probenkonstellation bei # 72903 mit den angegebenen Testsystemen nur als "fraglich" befundet werden kann, müssten diese Ergebnisse bei der Erteilung entsprechender Zertifikate strenggenommen als "falsch" bewertet werden. Zwei der 14 Teilnehmer mit falsch-positivem Ergebnis für Probe # 72903 gaben die Verwendung eines kommerziellen SCC*mec* basierten Testsystems an. Hier kommt man jedoch nicht mehr umhin, das Ergebnis bei der Erteilung der Zertifikate als "falsch" zu bewerten.

Bei der statistischen Auswertung in Tabelle 3 bestätigt sich der bereits beim vorhergegangenen Ringversuch zu beobachtende Trend: SCC*mec*-basierte Testkonzepte scheinen vor allem für den gezielten Nachweis von MRSA in komplexen Mischungen aus MRSA und Koagulase-negativen Streptokokken einen gewissen Vorteil gegenüber den Testsystemen mit getrennter Erfassung von speziesspezifischen Markern und dem *mecA* Gen zu bieten. Andere, für den Routineeinsatz oftmals aber auch entscheidende Kriterien, wie die untere Nachweisgrenze (analytische Sensitivität) oder die Spezifität, konnten jedoch im Rahmen des aktuellen Ringversuchs nicht systematisch abgeprüft werden. Entsprechende Zertifikate konnten diesmal an 108 der insgesamt 114 Teilnehmer erteilt werden.

Optional wird im Rahmen dieser neuen Ringversuchsreihe auch der molekulargenetische Nachweis des putativen Pathogenesefaktors PVL (Panton-Valentine Leukozidin) bzw. dessen codierende Gene *lukF/S* abgefragt. Entsprechende Ergebnisse wurden von 29 der insgesamt 114 teilnehmenden Laboratorien mitgeteilt - und bis auf eines waren diese durchwegs korrekt. Nähere Informationen zu der nach wie vor hochaktuellen cMRSA bzw. CA-MRSA Problematik finden sich beispielsweise unter: Linde, H.J. und N. Lehn (2005) Dtsch. Med. Wochenschr. 130:2397-2401, oder Witte, W. et al. (2005) Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 24:1-5. Ein gut evaluiertes *real-time* PCR Protokoll für den gezielten Nachweis von PVL-positiven *S. aureus* Isolaten findet sich beispielsweise in: Eur. J. Clin. Microbiol. Inf. Dis. (2007) **26**:131-135.

**PCR-/NAT MRSA / cMRSA  
 (RV 539) September 2007**



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

Gruppe A	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
72901	+	61 /71, 72	cMRSA ( <i>S. aureus</i> , <i>mecA</i> pos., <i>oxa</i> <sup>R</sup> , PVL-pos)(~ 1x10 <sup>4</sup> CFU/mL)
72902	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12
72903	∅	62 /72, 74,76	<i>S. aureus</i> + CoNS ( <i>S. haemolyt.</i> , <i>oxa</i> <sup>R</sup> )(~ 1x10 <sup>4</sup> CFU/mL)
72904	++	61 /72	MRSA ( <i>S. aureus</i> , <i>mecA</i> pos., <i>oxa</i> <sup>R</sup> )(~5x10 <sup>4</sup> CFU/mL)

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

n = 114	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	72901	72902	72903	72904		72901	72902	72903	72904
Befund Result									
Positiv	98 <sup>1)</sup>	0	14 <sup>4)</sup>	108	n.d.	2	2	2	2
Negativ	14 <sup>3)</sup>	113	93	5	nein no	112	112	112	112
Fraglich Questionable	2	1	7 <sup>2)</sup>	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	%
In house PCR assay [28] (n=32)	51	51/ 63 §	81	55	55 / 63 §	87
IDI-MRSA (BD-GeneOhm) [20]	55	55 / 56	98	55	55 / 55 §	100
GenoType MRSA Direct [21] (n=38)	73	73 / 76	96	72	72 / 74 §	97
Hyplex StaphyloResist [22] (n=6)	9	9 / 12	75	9	9 / 9 §	100
LightCycler Kits [23] (n=4)	8	8 / 8	100	5	5 / 8	63
Commercial assay kit [27] (n=11)	19	19 / 20 §	95	20	20 / 21 §	95
Andere / k.A. / other [29] (n=2)	4	4 / 4	100	3	3 / 3 §	100

\* Durch Mehrfachnennung oder fehlende Angabe kann die absolute Zahl der Ergebnisse (Tab. 2) von der Anzahl der Teilnehmer abweichen.

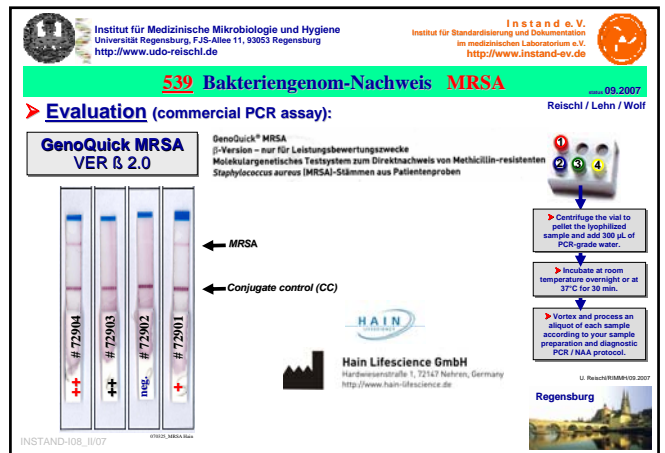
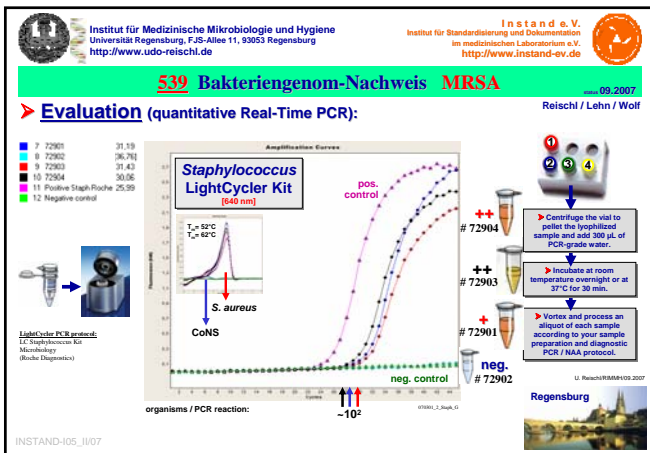
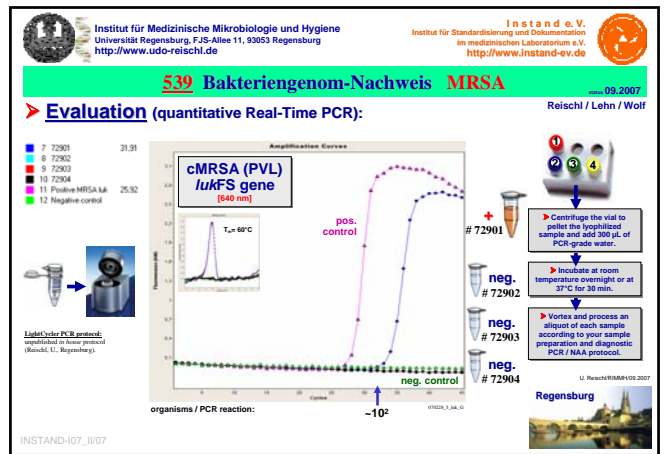
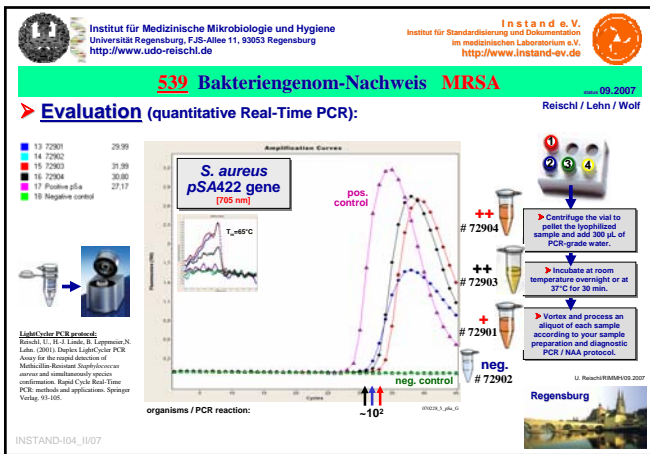
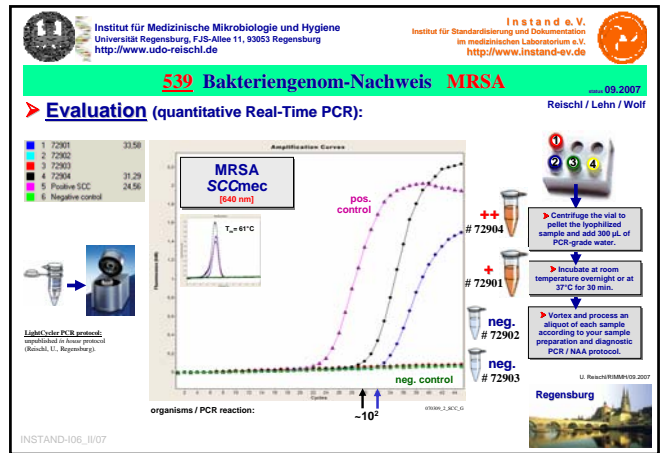
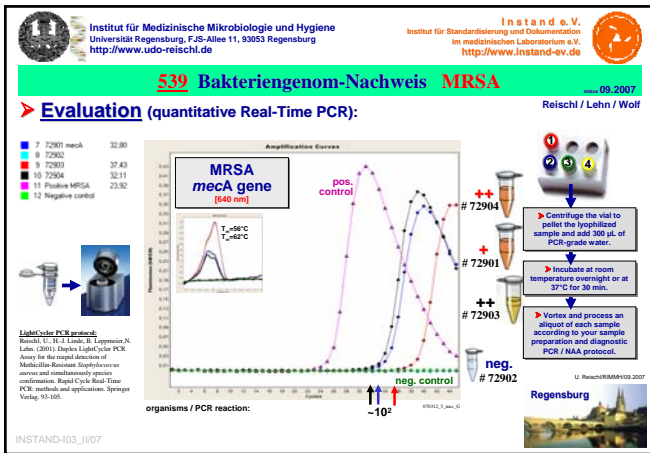
§ Due to reporting questionable results, the number of true results (denominator in the "relative" column) have been reduced.

<sup>1)</sup> cMRSA identification was performed by 29 of the 114 participating laboratories. With the exception of 1 result, the reported results were correct.

<sup>2)</sup> Depending on the assay concept used, "questionable" may be the correct result.

<sup>3)</sup> 14 of the 114 participants reported negative results for sample # 72901. 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.

<sup>4)</sup> Two of the 114 participants used SCCmec-based assays and reported positive results for sample # 72903. Those were rated as "false-negative".







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

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



**539 Bakteriengenom-Nachweis MRSA** status 09.2007

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

Reischl / Lehn / Wolf

**BD GeneOhm  
 MRSA Assay**



Run Name:	Site ID	Sample ID	Assay Result	IC Result	Warning/ Error Code	Sample Type
INSTAND	A1	72901-100	POS	NA		SPEC
User: GeneOhm	A2	72901-200	POS	NA		SPEC
Started: Sep 13, 2007 11:02 PM	A3	72902-100	NEG	PASS		SPEC
Finished: Sep 14, 2007 12:02 AM	A4	72902-200	NEG	PASS		SPEC
	A5	72903-100	NEG	PASS		SPEC
	A6	72903-200	NEG	PASS		SPEC
	A7	72904-100	POS	NA		SPEC
	A8	72904-200	POS	NA		SPEC
	A11	Pos Cntrl 1	Valid	NA		PC 1
	A12	Neg Cntrl 1	Valid	PASS		NC 1

BD Diagnostics -  
 GeneOhm  
 Tullastraße 8-12  
 69126 Heidelberg  
[www.bd.com/de](http://www.bd.com/de)

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



U. Reischl/RIMM/09.2007



INSTAND-I08\_I/07