



Regensburg, den 28. April 2005

**An die Teilnehmer  
der INSTAND-Ringversuche  
Bakteriengenomnachweis PCR / NAT  
(INSTAND-Ringversuchsnummern 430 bis 438)**

**Dear Participant, dear Colleague,**  
*Please find a cover letter in English on page 11 of this document.*

**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 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.

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**

### **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. Daher wird das derzeitige Panel an erregerspezifischen Ringversuchen um "*Chlamydia pneumoniae*" und "MRSA bzw. cMRSA" (sog. community-associated Methicillin-resistente *S. aureus*) erweitert.

Die Konzeption und Auswertung der *Chlamydia pneumoniae*-spezifischen Ringversuche erfolgt dabei in enger Zusammenarbeit mit Herrn Professor Maaß, Universität Lübeck, der hier auch als Ringversuchsleiter fungieren wird. Mit der Einbeziehung der beiden letztgenannten Erreger bzw. Erregergruppen wollen wir vor allem den zahlreichen Anfragen seitens humandiagnostisch orientierter mikrobiologischer Laboratorien und aktuellen infektiologischen Notwendigkeiten nachkommen.

**Die Konfektionierung entsprechenden Probenmaterials ist bereits abgeschlossen und alle an unserer Ringversuchsreihe teilnehmenden Laboratorien werden demnächst von INSTAND e.V. ein Anmeldeformular für die Teilnahme an einem probeweisen Ringversuch bekommen.**

Einen erfolgreichen Ablauf dieser Prototyp-Ringversuche vorausgesetzt, werden sie dann ab 2006 als fester Bestandteil in das PCR/NAT-Ringversuchsprogramm von INSTAND e.V. aufgenommen.

**Organisatorische Anmerkung:** ab 2006 werden die Ringversuche zum "Bakteriengenom-Nachweis mittels PCR oder anderer Nukleinsäureamplifikationstechniken" (jetzt RV 430 bis RV 438) aus organisatorischen Gründen der 500er-Nummerngruppe zugeordnet. Die entsprechenden Ringversuchsnummern ändern sich dann wie folgt: RV 430 > RV 530; RV 431 > RV 531; u.s.w. Die beiden zusätzlichen Ringversuche werden dann unter der Nummer RV 539 für "MRSA bzw. cMRSA" und der Nummer RV 540 für "*Chlamydia pneumoniae*" aufgeführt.

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

### **MÄRZ 2005:**

Nachdem in der vorhergegangenen Runde dieser Ringversuchs-Serie (September 2004) vorwiegend Proben mit relativ hoher Keimzahl versandt wurden, wurde bei der Konzeption des aktuellen Ringversuchs zum Bakteriengenomnachweis mittels PCR oder anderer Nukleinsäureamplifikationstechniken (NAT) bei einigen Zielorganismen wieder der Versand von Proben mit relativ niedrigen bzw. als grenzwertig zu betrachtenden Erregerzahlen angestrebt.

Es sei an dieser Stelle auch nochmal darauf hingewiesen, daß zahlreiche Rückstell-Probensätze der letzten Ringversuche verfügbar sind und bei Bedarf über den Ringversuchsleiter nachbestellt werden können. Die jeweiligen Sets an Rückstellproben enthalten unter anderem als "**grenzwertig positiv**" zu bezeichnende Proben für *B. pertussis* (Probe # 32202), *H. pylori* (Probe # 32302), *B. burgdorferi* (Probe # 32503), *L. pneumophila* (Probe # 32601) und für *Salmonella enteritidis* (Probe # 32702).

Auch in den aktuellen Ringversuchssets befinden sich wieder einige Proben mit relativ geringer Menge folgender Zielorganismen: *Chlamydia trachomatis* (Probe # 51101), EHEC (Probe # 51402), *L. pneumophila* (Probe # 51604), *Salmonella typhimurium* (Probe # 51702), sowie *L. monocytogenes* (Probe # 51801). Im Rahmen der Testentwicklung bzw. Testoptimierung können diese Probensätze beispielsweise als Qualitätskontrollen oder als standardisierte

Sensitivitätsmarker für die Austestung der unteren Nachweisgrenze von eigenentwickelten Nukleinsäure-gestützten Testsystemen dienen.

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 diesen 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). 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.

Eine weitergehende systematische Aufschlüsselung nach den einzelnen Kategorien der DNA-Extraktion, Amplifikation, Detektion sowie den jeweils verwendeten Zielsequenzen ist bei diesem Ringversuch aufgrund der relativ hohen Richtigkeitsquote unter den eindeutig positiven Proben wenig sinnvoll. Die individuellen Angaben der einzelnen Teilnehmer zur Testdurchführung werden jedoch EDV-technisch erfasst und bleiben somit für retrospektive Analysen verfügbar.

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)" als *pdf*-Files zum freien Download bereit.

### **RV 434: EHEC / STEC**

Wie bei den zuvor diskutierten erregerspezifischen Ringversuchen, so führte auch beim NAT-gestützten EHEC-Nachweis die relativ hohe Menge an Zielorganismen in zwei der drei positiven Proben zusammen mit der Verfügbarkeit von gut evaluierten Analysesystemen zu hohen Richtigkeitsquoten bei 3 der 4 ausgesandten Proben. Die eigentliche Herausforderung bei diesem diagnostischen Ringversuch besteht prinzipiell nicht so sehr in dem gezielten Nachweis sehr geringer Mengen an Zielorganismen sondern vielmehr in der differenzierten Analyse und der Typisierung unterschiedlicher Shiga-Toxin Gene und anderer putativer Pathogenitätsfaktoren (wie das für Intimin codierende *eae*-Gen oder das für Enterohämolysin codierende *hlyA*-Gen) von EHEC / STEC Isolaten. Aus diesem Grund werden bei der Probenkonfektionierung von uns meist nicht nur die klassischen "Prototyp" EHEC-Stämme (wie z.B. O157:H7) sondern relativ willkürlich auch Routineisolate aus einer inzwischen sehr umfangreichen Sammlung von *stx*-positiven *E. coli* ausgewählt. Die vielfältigen Kombination verschiedener *E. coli* Serotypen, Shiga-Toxin Subtypen sowie die Unterschiede in der Intimin- und Enterohämolysin-Produktion von EHEC-Isolaten garantiert auch für die kommenden Ringversuche Herausforderungen an die Testsysteme und eine spannende Auswertung und Diskussion der Ergebnisse.

Diesmal wurden zwei O157:H7 Stämme - jedoch mit unterschiedlicher Ausstattung an Toxingenen - versandt. Im Rahmen des aktuellen Ringversuchs wurde dabei die erste von drei positiven Proben (# 51401; *E. coli* O157:H7, *stx*<sub>2</sub>-positiv, *eae*- und *hlyA*-positiv) von nahezu allen Teilnehmern und die zweite der drei positiven Proben (# 51403; *E. coli* O157:H7, *stx*<sub>1</sub>- und *stx*<sub>2</sub>-positiv, *eae*- und *hlyA*-positiv) immerhin noch von 38 der insgesamt 41 Teilnehmer zuverlässig als EHEC identifiziert.

Da wir uns innerhalb dieses Ringversuchsprogramms gelegentlich auch mit einzelnen Proben an die derzeit technisch machbare untere Nachweisgrenze annähern wollen (Anmerkung: wir sind uns dabei sehr wohl bewusst, daß bei vielen Fragestellungen das "technisch machbare" nicht unmittelbar gleichbedeutend mit dem "diagnostisch sinnvollen" ist), stellte vor allem die dritte der positiven Proben (# 51402; *E. coli* O157:H7, *stx*<sub>2</sub>-positiv, *eae*- und *hlyA*-positiv) eine echte Herausforderung an die analytische Sensitivität der individuellen NAT-gestützten Testsysteme dar. Sie enthielt mit ca.  $1 \times 10^3$  CFU/ml eine wirklich sehr geringe Menge an Zielorganismen - und wurde lediglich von 13 Teilnehmern als positiv für EHEC befundet. Dies spiegelt sich bei der statistischen Auswertung natürlich unmittelbar in den entsprechend niedrigen Richtigkeitsquoten für die positiven Ergebnisse wider. Aufgrund der relativ geringen Menge an Zielorganismen in der Probe # 51402 und dem Umstand, daß derzeit noch keine verbindlichen Untergrenzen für die analytische Sensitivität von diagnostischen Nachweissystemen für EHEC definiert sind, wurde bei der Erstellung der Zertifikate ein negatives Ergebnis hier nicht als "falsch-negativ" bewertet. Zudem wird auch in den meisten der teilnehmenden Laboratorien ein NAT-gestützter Nachweis von Shiga-Toxin Genen im Umfeld der EHEC-Diagnostik primär als Kulturbestätigungstest eingesetzt. Daher ist die Spezifität ein viel entscheidenderes Qualitätskriterium für das eingesetzte Testsystem als die dabei erzielte untere Nachweisgrenze. Werden in bestimmten Laboratorien solche Nachweisverfahren in einigen Fällen jedoch auch zum gezielten Direktnachweis von EHEC in klinischem Untersuchungsmaterial oder in Lebensmittelproben eingesetzt, so sollten falsch-negative Ergebnisse bei Probe # 51402 Anlaß zur Überprüfung und Optimierung des jeweiligen Testsystems sein. Abgesehen von diesen 28 falsch-negativen Ergebnissen für die schwach-positive Probe # 51402 wurden bei den übrigen Proben erfreulicherweise hohe Richtigkeitsquoten erzielt. Die Mehrzahl der Teilnehmer verwendete dabei selbstentwickelte (*in house*) oder "andere" Testsysteme mit Inhibitions- und/oder Positivkontrollen zum NAT-gestützten Nachweis von EHEC, und bei keiner der ausgesandten Proben wurden signifikante Inhibitionsereignisse beobachtet. Lediglich 4 Teilnehmer gaben hier die Verwendung von kommerziellen NAT-Testsystemen für die Nukleinsäure-gestützte EHEC-Diagnostik an - leider wurden die Hersteller der entsprechenden Testkits nicht näher spezifiziert.

Zudem wurden von 24 der 41 Teilnehmer in gewissem Umfang die Ergebnisse der molekulargenetischen Shiga-Toxin Subtypisierung sowie des gezielten Nachweises von Intimin- (*eae*) und/oder Enterohämolysin (*hlyA*)-Genen mitgeteilt. Wenn auch die Typisierung nicht immer vollständig durchgeführt wurde, so waren diese Angaben bei 20 Teilnehmern, zumindest in dem mitgeteilten Umfang, korrekt.

To the participants of the  
INSTAND-Proficiency Test in  
Bacterial Genome Detection (PCR / NAT)  
(INSTAND Proficiency Test Numbers 430 to 438)

**Dear Participant, dear Colleague,**

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

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

This highly desired program for external validation was activated in 2002 by the *German Society of Hygiene and Microbiology* (DGHM) and is now organized by INSTAND e.V., Düsseldorf, Germany. As you can learn from "[www.instand-ev.de](http://www.instand-ev.de)", this new segment of their huge proficiency testing program is now open for diagnostic laboratories worldwide. We are aiming at two validation rounds per year (April / September), a reasonable price of less than €150 per set, and a permanently expanding coverage of relevant bacterial pathogens. Any general or specific comments on sample composition or suggestions on additional bacterial, fungal, or parasitic organisms which should be covered, are highly appreciated.

Please do not feel irritated by some strong-positive samples among the present set. To make participants and ourselves familiar with the concept and the suitability of the proprietary sample matrix, "passing" should be easy in the initial rounds of proficiency testing. But as the program continues, it is our challenge (and duty) to rise at least some of the hurdles with every round of external validation. Please note that our current panel of pathogen-specific QC sets will be expanded by "*Chlamydia pneumoniae*" and "MRSA / CA-MRSA" within the next few months.

Further information as well as the documented and analyzed results of the past rounds of our proficiency test program "Bacterial Genome Detection (PCR / NAT)" can be downloaded in form of pdf-files at "[www.udo-reischl.de](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.

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

With best personal regards,



**Dr. Udo Reischl**

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

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

**PCR-/NAT EHEC / STEC  
 (RV 434) März 2005**



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

Gruppe A	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
51401	++	61 / 72,77,78 <sup>2)</sup>	EHEC (~1x10 <sup>5</sup> CFU/mL) (O157:H7; <i>stx-2, eae, hlyA</i> )
51402	(+) <sup>1)</sup>	61 / 72,77,78 <sup>2)</sup>	EHEC (~1x10 <sup>3</sup> CFU/mL) (O157:H7; <i>stx-2, eae, hlyA</i> )
51403	+	61 / 72,73,77,78 <sup>2)</sup>	EHEC (~10 <sup>4</sup> CFU/mL) (O157:H7; <i>stx-1, stx-2, eae, hlyA</i> )
51404	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12 (negative for <i>eae</i> and <i>hlyA</i> )

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

n = 41	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	51401	51402	51403	51404		51401	51402	51403	51404
Befund Result									
Positiv	40	13	37	1	n.d.	2	2	2	2
Negativ	1	28 <sup>1)</sup>	3	40	nein no	39	39	39	39
Fraglich Questionable	0	0	1	0	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 = 36)	80 <sup>1)</sup>	80 / 108	74 <sup>1)</sup>	35	35 / 36	97
Other commercial tests [27] (n = 4)	9	9 / 12	75 <sup>1)</sup>	4	4 / 4	100
Andere/ k.A. / other [29] (n = 1)	2	2 / 3	66 <sup>1)</sup>	1	1 / 1	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.

**Comments:**

- Twenty-eight false-negative results were reported for **sample # 51402** (*stx-2, eae, hlyA* pos.), which **contained a low number of target organisms**. The large portion of negative results is due to a lack of analytical sensitivity of the corresponding PCR assays.
- Partial or complete shiga-toxin subtyping, *eae*-, and *hlyA*-detection was performed by 24 laboratories. With the exception of four participants, the reported results were correct.

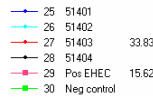


## 434 Bakteriengenom-Nachweis EHEC / STEC

status 04.2005

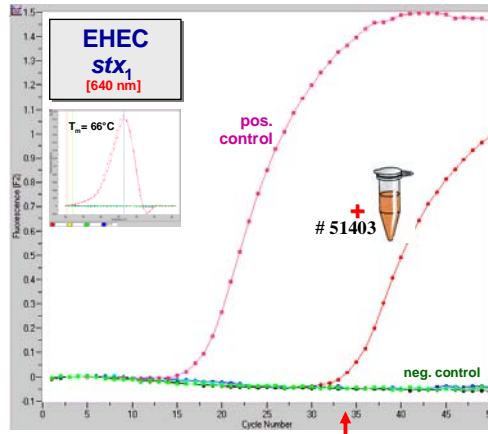
### Evaluation (quantitative Real-Time PCR):

Reischl / Lehn / Wolf



**LightCycler PCR protocol:**

Reischl, U., M.T. Youssef, J. Kilwinski, N. Lehn, W.L. Zhang, H.Karch, and N.A. Stroockline (2002). Real-time fluorescence PCR assays for the detection and characterization of Shiga toxin, intimin and enterohemolysin genes from Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. 40:2555-2565.



organisms / PCR reaction: ~10<sup>2</sup>

neg. # 51401  
 neg. # 51402  
 neg. # 51404



- ▶ 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/RMMH/04.2005



INSTAND-D03\_I/05

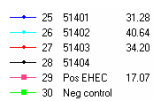


## 434 Bakteriengenom-Nachweis EHEC / STEC

status 04.2005

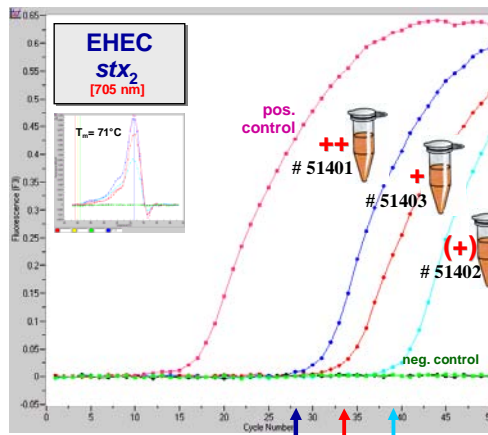
### Evaluation (quantitative Real-Time PCR):

Reischl / Lehn / Wolf



**LightCycler PCR protocol:**

Reischl, U., M.T. Youssef, J. Kilwinski, N. Lehn, W.L. Zhang, H.Karch, and N.A. Stroockline (2002). Real-time fluorescence PCR assays for the detection and characterization of Shiga toxin, intimin and enterohemolysin genes from Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. 40:2555-2565.



organisms / PCR reaction: ~10<sup>3</sup> ~10<sup>2</sup> ~10<sup>1</sup>

neg. # 51404



- ▶ 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/RMMH/04.2005



INSTAND-D04\_I/05



## 434 Bakteriengenom-Nachweis EHEC / STEC

status 04.2005

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

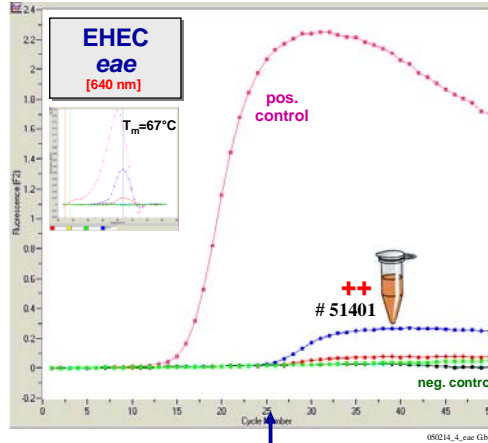
Reischl / Lehn / Wolf

1	51401	25.69
2	51402	
3	51403	25.90
4	51404	
5	Pos eae	16.18
6	Neg. control	

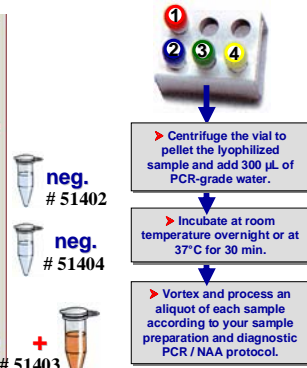


**LightCycler PCR protocol:**

Reischl, U., M.T. Youssef, J. Kilwinski, N. Lehn, W.L. Zhang, H.Karch, and N.A. Stroockhine (2002). Real-time fluorescence PCR assays for the detection and characterization of Shiga toxin, intimin and enterohemolysin genes from Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. 40:2555-2565.



organisms / PCR reaction:  $\sim 10^3$



U. Reischl/RMMH-004.2005



IN STAND-D05\_I/05



## 434 Bakteriengenom-Nachweis EHEC / STEC

status 04.2005

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

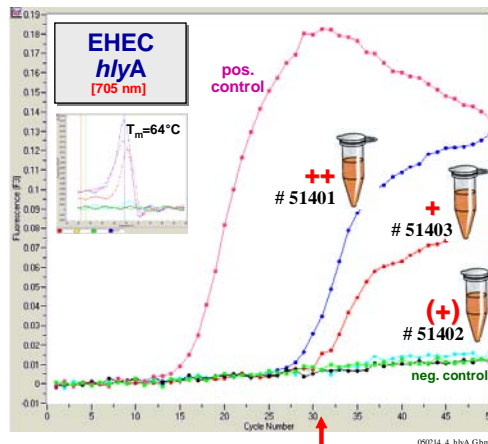
Reischl / Lehn / Wolf

7	51401	28.88
8	51402	
9	51403	30.76
10	51404	
11	Pos hlyA	16.18
12	Neg. control	

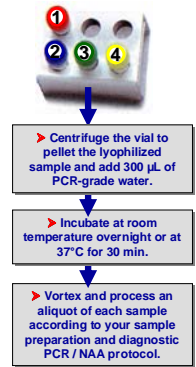


**LightCycler PCR protocol:**

Reischl, U., M.T. Youssef, J. Kilwinski, N. Lehn, W.L. Zhang, H.Karch, and N.A. Stroockhine (2002). Real-time fluorescence PCR assays for the detection and characterization of Shiga toxin, intimin and enterohemolysin genes from Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. 40:2555-2565.



organisms / PCR reaction:  $\sim 10^2$



U. Reischl/RMMH-004.2005



IN STAND-D06\_I/05