



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 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 kommerziellen PCR Testsysteme) auch unter folgender Internetadresse: "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 534: EHEC / STEC

Wie auch bereits bei den vorhergegangenen Runden dieses Ringversuchs mehrfach diskutiert, besteht die eigentliche Herausforderung bei dem Nukleinsäure-gestützten Nachweis von EHEC/STEC prinzipiell nicht so sehr in dem 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 entsprechenden Zielorganismen. Aus diesem Grund werden von uns bei der Probenkonfektionierung meist nicht nur klassische "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.

Da wir uns innerhalb des gesamten Ringversuchsprogramms jedoch nur gelegentlich und nicht regelmäßig 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), enthielt das aktuelle Set an Ringversuchsproben der **Gruppe A** zwei positive Proben (# 72401: *E. coli* O91:H, *stx*₁- und *hlyA*-positiv, sowie # 72403: *E. coli* O154:H31, *stx*₁-positiv und *hlyA*-positiv). Proben # 72402 und # 72404 wurden diesmal mit relativ großen Mengen an *E. coli* K12 versetzt.

Innerhalb des aktuellen Sets an Ringversuchsproben der **Gruppe B** befanden sich neben den negativen Proben # 72407 und # 72408 zwei positive Proben, die jeweils mit $\sim 1 \times 10^4$ CFU/ml an unterschiedlichen EHEC-Isolaten versetzt worden waren (# 72405: *E. coli* O76:H19, *stx*₁-positiv, *stx*₂-positiv und *hlyA*-positiv; sowie # 72406: *E. coli* O146:H21, nur *stx*₁-positiv).

Wie bereits in einigen der vorhergegangenen Ringversuche beobachtet, stellte der gezielte Nachweis von Shiga-Toxin Genen in den mit mindestens 1×10^4 CFU/ml eines EHEC-Isolats versetzten Proben offensichtlich keine große Herausforderung an die analytische Sensitivität der individuellen NAT-gestützten Testsysteme dar. Von 57 der insgesamt 60 Teilnehmer beider Gruppen wurden für die positiven Proben auch richtig-positive Ergebnisse mitgeteilt. Da in den meisten der teilnehmenden Laboratorien ein NAT-gestützter Nachweis von Shiga-Toxin Genen im Umfeld der EHEC-Diagnostik primär als Kulturbestätigungstest eingesetzt wird, werden bei zukünftigen Ringversuchen auch einige der positiven Proben wieder relativ hohe Mengen an Zielorganismen enthalten, und der Schwerpunkt bleibt auf der Abprüfung der analytischen Spezifität der eingesetzten Testsysteme und weniger auf der dabei erzielten unteren Nachweisgrenze. Das falsch-positive Ergebnis bei Probe # 72402 ist wohl am ehesten mit laborinternen Kontaminationsereignissen vereinbar.

Die Mehrzahl der insgesamt 60 Teilnehmer verwendete hier selbstentwickelte oder "andere" Testsysteme mit Inhibitions- und/oder Positivkontrollen zum NAT-gestützten Nachweis von EHEC, und bei keiner der ausgesandten Proben wurden signifikante Inhibitionsereignisse beobachtet. Entsprechende Zertifikate wurden 59 Teilnehmern erteilt.

Lediglich 16 Teilnehmer gaben hier die Verwendung von kommerziellen NAT-Testsystemen für die Nukleinsäure-gestützte EHEC-Diagnostik an - leider wurden hier, außer der Angabe des GenoType EHEC Kits von HAIN Lifescience (n = 8), die Hersteller der entsprechenden Testkits nicht durchgehend spezifiziert.

Zudem wurden von 52 Teilnehmern 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 der Mehrzahl der Teilnehmer, zumindest in dem mitgeteilten Umfang, korrekt.

**PCR-/NAT EHEC / STEC
 (RV 534) September 2007, Group**



Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.

Sample composition and expected results.

Gruppe A	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
72401	+	61 / 71, 78	EHEC (~1x10 ⁴ CFU/mL) (O91:H; <i>stx-1</i> , <i>hlyA</i>)
72402	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12 (negative for <i>eae</i> and <i>hlyA</i>)
72403	++	61 / 71, 78	EHEC (~1x10 ⁵ CFU/mL) (O154 :H31; <i>stx-1</i> , <i>hlyA</i>)
72404	∅	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 = 58	Probennummer (Sample no.)				Inhibition
	72401	72402	72403	72404	
Befund Result					
Positiv	55 ¹⁾	1	57 ¹⁾	0	n.d.
Negativ	1	57	1	58	nein no
Fraglich Questionable	2	0	0	0	ja yes

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 = 40)	78	78 / 80	98	79	79 / 80	99
Other commercial tests [27] (n = 16)	30	30 / 30 [§]	100	32	32 / 32	100
Andere/ k.A. / other [29] (n = 2)	4	4 / 4	100	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.

Comments: ¹⁾ Partial or complete shiga-toxin subtyping, *eae*-, and *hlyA*-detection was performed by 52 laboratories. With the exception of 5 results, the reported results were correct.

**PCR-/NAT EHEC / STEC
 (RV 534) September 2007, Group**

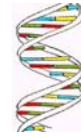


Tabelle 1: Probenzusammensetzung und erwartetes Ergebnis.
Sample composition and expected results.

Gruppe B	Erwartet / expected		Probenzusammensetzung / Sample composition
72405	+	61 /71, 72, 78	EHEC (~1x10 ⁴ CFU/mL) (O76:H19; <i>stx-1</i> , <i>stx-2</i> , <i>hlyA</i>)
72406	+	61 /71	EHEC (~1x10 ⁴ CFU/mL) (O146:H21; <i>stx-1</i>)
72407	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12 (negative for <i>eae</i> and <i>hlyA</i>)
72408	∅	62	<i>Escherichia coli</i> K12 (negative for <i>eae</i> and <i>hlyA</i>)

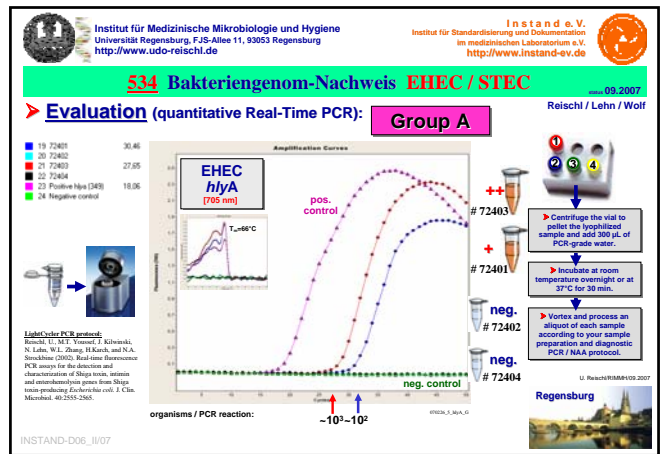
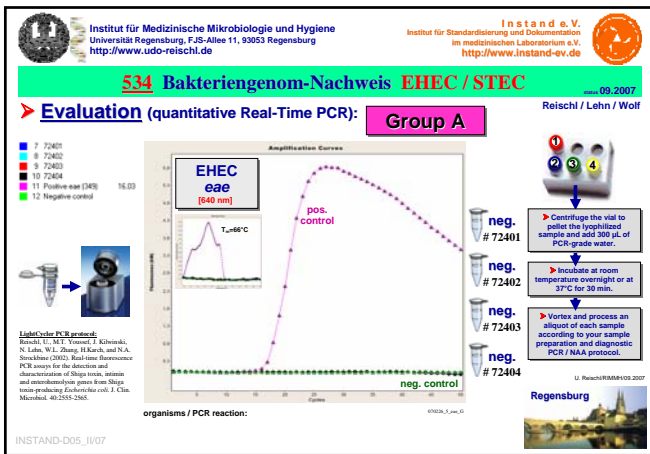
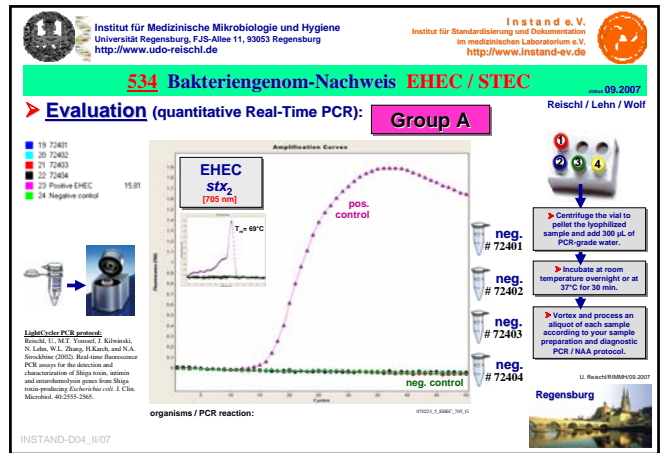
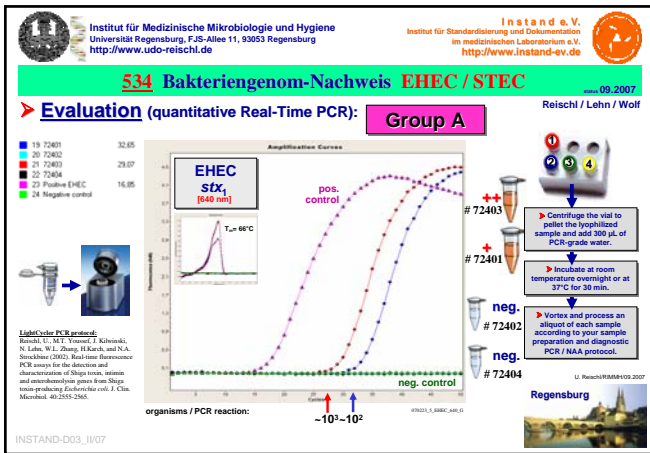
Tabelle 2: Häufigkeit der Mitteilung verschiedener Befunde.
Absolute numbers of reported individual results.

n = 2	Probennummer (Sample no.)					Inhibition			
	72405	72406	72407	72408		72405	72406	72407	72408
Befund Result									
Positiv	2	1	0	0	n.d.	0	0	0	0
Negativ	0	1	2	2	nein no	2	2	2	2
Fraglich Questionable	0	0	0	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 = 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.



Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
 Universität Regensburg, F.JS-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>

534 Bakteriengenom-Nachweis EHEC / STEC

Reischl / Lehn / Wolf

Evaluation (quantitative Real-Time PCR): Group B

5 Positive EHEC 23.29
 6 Negative control 31.14
 7 72406 29.03
 8 72405 29.03
 9 72407
 10 72408

T_m=64°C
 T_m=67°C

pos. control
 # 72406
 # 72405
 neg. # 72407
 neg. # 72408

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/IMM/109.2007
 Regensburg

organisms / PCR reaction: ~10²

INSTAND-D09_II/07

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
 Universität Regensburg, F.JS-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>

534 Bakteriengenom-Nachweis EHEC / STEC

Reischl / Lehn / Wolf

Evaluation (quantitative Real-Time PCR): Group B

5 Positive EHEC 22.23
 6 Negative control 31.14
 7 72406 29.03
 8 72405 29.03
 9 72407
 10 72408

T_m=59°C
 T_m=72°C

pos. control
 # 72405
 neg. # 72406
 neg. # 72407
 neg. # 72408

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/IMM/109.2007
 Regensburg

organisms / PCR reaction: ~10²

INSTAND-D10_II/07

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
 Universität Regensburg, F.JS-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>

534 Bakteriengenom-Nachweis EHEC / STEC

Reischl / Lehn / Wolf

Evaluation (quantitative Real-Time PCR): Group B

15 Positive eae 22.33
 16 Negative control 31.14
 17 72406 28.45
 18 72405 28.45
 19 72407
 20 72408

T_m=63°C

pos. control
 neg. # 72405
 neg. # 72406
 neg. # 72407
 neg. # 72408

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/IMM/109.2007
 Regensburg

organisms / PCR reaction: ~10²

INSTAND-D11_II/07

Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
 Universität Regensburg, F.JS-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>

534 Bakteriengenom-Nachweis EHEC / STEC

Reischl / Lehn / Wolf

Evaluation (quantitative Real-Time PCR): Group B

25 Positive hlyA 23.90
 26 Negative control 31.14
 27 72406 28.45
 28 72405 28.45
 29 72407
 30 72408

T_m=66°C

pos. control
 # 72405
 neg. # 72406
 neg. # 72407
 neg. # 72408

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/IMM/109.2007
 Regensburg

organisms / PCR reaction: ~10²

INSTAND-D12_II/07