



SeroMP™ IgG

Enzyme -Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for semi-kvantitativ påvisning av spesifikke IgG antistoffer mot *Mykoplasma pneumoniae* i humant serum

Instruksjonshåndbok

Testsett for 96 påvisninger

(Kat. Nr. A261-01M)

Testsett for 192 påvisninger

(Kat. Nr. B261-01M)

For *In Vitro* Diagnostisk bruk

Oppbevares ved 2-8°C. **Må ikke fryses**



Savyon Diagnostics Ltd.

3 Habosem St. Ashdod 77610

ISRAEL

Tel.: +972.8.8562920

Fax: +972.8.8523176

E-mail: support@savyondiagnosics.com

Tiltenkt bruk

SeroMP™ IgG sett er en semi-kvantitativ enzym-tilknyttet immunosorbent analyse (ELISA) for påvisning av IgG antistoffer spesifikt til *Mycoplasma pneumoniae* i humant serum.

Testen muliggjør tidlig diagnose av eksisterende infeksjon i en enkelt serum-prøve ved påvisning av IgM antistoffer.

For *In Vitro* diagnostisk bruk.

Introduksjon

M. pneumoniae er en vanlig årsak til luftsmittet lungebetennelse, ofte karakterisert av gradvis begynnende hodepine, feber, utilpasshet og, mest vanlig, tørrhoste. *M. pneumoniae* er vanlig i alle aldersgrupper, men den er mest vanlig i de to første tiårene av livet, og er sjelden hos barn under fire-årsalderen. Den har blitt rapportert som årsaken for opptil 30% av alle tilfeller av lungebetennelse (1).

M. pneumoniae har også blitt assosiert med ikke-luftveissykdommer som hjernehinnebetennelse, hjernebetennelse, pankreatitt, sensorineural hørselsnedsettelse og akutt hjernestamme-syndrom (2).

På grunn av dens vanlige forekomst, bør man vurdere *M. pneumoniae* i alle tilfeller av lungebetennelse, men ettersom andre faktorer har samme symptomer, er ytterligere diagnostikkverktøy, som serologiske tester, nødvendige (3).

ELISA-teknikken er sensitiv, spesifikk og muliggjør en differensial-påvisning av spesifikke IgG, IgA og IgM antistoffer (4).

M. pneumoniae spesikke IgM antistoffer stiger tidlig i begynnelsen av sykdommen, når spissverdinivåer etter en til fire uker, og synker deretter til diagnostisk ubetydelige nivåer innen få måneder (5). På grunn av deres tidlige opptreden og relativt korte levetid, muliggjør påvisning av IgM antistoffer diagnose av akutt infeksjon med en enkelt serumprøve. Unge pasienter har ofte høyere IgM-nivåer enn voksne (6). IgG-nivåer stiger saktere enn IgM, men forblir høye mye lenger, så en betydelig økning i to påfølgende prøver tatt med minst 2 ukers mellomrom kan indikere eksisterende infeksjon eller reinfeksjon selv ved fravær av IgM. IgA antistoffer ses på høyere nivåer i eldre pasienter (5) og kan være mer nyttig enn IgM for diagnose av eksisterende infeksjon i voksne (6).

Savyon Diagnostics Ltd. har utviklet semi-kvantitative IgG, IgA og IgM ELISA tester som gjør det mulig å følge endringen av antistoff-nivåer i humant serum. Antigenet brukt i SeroMP™ testen er et membran-preparat av *M.pneumoniae* som inneholder P1 membran-protein, som er et hoved-antigen (7, 8, 9, 10, 11). SeroMP™ testen muliggjør tidlig og nøyaktig påvisning av *M. pneumoniae* spesifikke IgG, IgA og IgM antistoffer.

Testens prinsipp

- SeroMP™ mikrotitererplater leveres dekket med en renset destillasjon av *M. pneumoniae* membran-proteiner.
- Serum som skal testes blir fortynnet og inkubert i SeroMP™ platen. I dette steget blir *M. pneumoniae* spesifikke antistoffer bundet til de immobiliserte antigenene.
- Ikke-spesifikke antistoffer fjernes ved vasking.
- Anti-humant IgG konjugert til HRP (horseradish peroxidase) blir tilsatt. På dette stadiet blir HRP-konjugatet bundet til den forhåndsbundne antigen-antistoff sammensetningen.
- Ubundet konjugat fjernes ved vasking.
- Ved tilsettelsen av TMB-substrat blir substratet hydrolysert av peroksidasen, noe som gir en blå oppløsning av det reduserte substratet.
- Ved tilsettelsen av stopp-løsningen, blir den blå fargen gul og bør leses av på en ELISA-leser ved bølgelengden 450/620nm.
- Absorpsjonen er proposjonal med nivåene av spesifikke antistoffer som er bundet til de belagte antigenene.

Analyseprosedyre

Mikrotiterbrønner dekket med *M.pneumoniae* antigener
↓
Tilsett 50µl med negativ kontroll, 50µl med positiv kontroll, 50µl av hver kalibrator: (P10, P50, P75), og fortynnete prøver
↓
Dekk platen og inkuber i 1 time på 37°C ved 100% fuktighet
↓

Vask 3 ganger med vaskebuffer
 ↓
 Tilsett 50µl med 1/300 fortynnet HRP konjugat
 ↓
 Dekk platen og inkuber i 1 time på 37°C ved 100% fuktighet
 ↓
 Vask 3 ganger med vaskebuffer
 ↓
 Tilsett 100µl med TMB-Substrat
 ↓
 Dekk platen og inkuber i 15 min ved romtemperatur
 ↓
 Tilsett 100µl med stoppløsning
 ↓
 Les absorpsjon på 450/620nm
 ↓
 Beregn og tolk resultater

Innhold i settet

Testsett for 96 påvisninger

Kat. Nr. A261-01M

- M. pneumoniae* antigen-dekket mikrotiter-plate:** 96 adskillbare brønner (8x12) dekket med *M. pneumoniae* antigener, pakket i en aluminiumspose som inneholder et tørrende kort.
1 plate
- konsentrert vaskebuffer (20X):** Et PBS - Tween buffer
1 flaske, 100ml
- serumfortynner (blå):** En klar til bruk buffer-løsning. Inneholder mindre enn 0.05% Proclin som et konserveringsmiddel.
1 flaske, 30ml
- konjugat-tyner (grønn):** En klar til bruk buffer-løsning. Inneholder mindre enn 0.05% Proclin som et konserveringsmiddel.
1 flaske, 40ml
- positiv kontroll:** Et klart til bruk *M. pneumoniae* IgG positivt humant serum. Inneholder mindre enn 0.05% Proclin og mindre enn 0.1% natriumazid som konserveringsmidler.
1 ampulle, 2,0ml
- negativ kontroll:** Et klart til bruk *M. pneumoniae* IgG negativt humant serum. Inneholder mindre enn 0.05% Proclin og mindre enn 0.1% natriumazid som konserveringsmidler.
1 ampulle, 2,0ml
- P10-kalibrator:** Et klart til bruk *M. pneumoniae* IgG lavt positivt humant serum. Inneholder 10 BU/ml med IgG (vilkårlige bindende enheter) Inneholder mindre enn 0.1% natriumazid og mindre enn 0.05% Proclin som konserveringsmidler.
1 ampulle, 2,0ml
- P50-kalibrator:** Et klart til bruk *M. pneumoniae* IgG medium positivt humant serum. Inneholder 50 BU/ml med IgG (vilkårlig bindende enheter). Inneholder mindre enn 0.1% natriumazid og mindre enn 0.05% Proclin som konserveringsmidler.
1 ampulle, 2,0ml

- P75-kalibrator:** Et klart til bruk *M.pneumoniae* IgG høyt positivt humant serum. Inneholder 75 BU/ml med IgG (vilkårlig bindende enheter). Inneholder mindre enn 0.1% natriumazid og mindre enn 0.05% Proclin som konserveringsmidler.
1 ampulle, 2,0ml
- konsentrert HRP-konjugat (300X):** HRP (Horseradish Peroxidase) konjugert anti-humant IgG (gamma kjedespesifikk). Inneholder mindre enn 0.05% Proclin som et konserveringsmiddel.
1 ampulle, 0,2ml
- TMB-substrat:** En klar til bruk løsning. Inneholder 3, 3', 5, 5' – tetrametyl-benzidin som et kromogen og peroksid som et substrat.
1 flaske, 14ml
- stoppløsning:** En klar til bruk løsning. Inneholder 1M H₂SO₄.
1 flaske, 15ml
- Platedeksel:**
1 enhet
- Instruksjonsmanual:**
1

Testsett for 192 påvisninger

Kat. Nr. B261-01M

- M. pneumoniae* antigen-dekket mikrotiter-plate:** 96 adskillbare brønner (8x12) dekket med *M. pneumoniae* antigener, pakket i en aluminiumspose som inneholder et tørrende kort.
2 plater
- konsentrert vaskebuffer (20X):** Et PBS - Tween buffer
2 flasker, à 100ml
- serumfortynner (blå):** En klar til bruk buffer-løsning. Inneholder mindre enn 0.05% Proclin som et konserveringsmiddel.
1 flaske, 60ml
- konjugat-tyner (grønn):** En klar til bruk buffer-løsning. Inneholder mindre enn 0.05% Proclin som et konserveringsmiddel.
1 flaske, 80ml
- positiv kontroll:** Et klart til bruk *M. pneumoniae* IgG positivt humant serum. Inneholder mindre enn 0.05% Proclin og mindre enn 0.1% natriumazid som konserveringsmidler.
1 ampulle, 2,0ml
- negativ kontroll:** Et klart til bruk *M. pneumoniae* IgG negativt humant serum. Inneholder mindre enn 0.05% Proclin og mindre enn 0.1% natriumazid som konserveringsmidler.
1 ampulle, 2,0ml
- P10-kalibrator:** Et klart til bruk *M. pneumoniae* IgG lavt positivt humant serum. Inneholder 10 BU/ml med IgG (vilkårlige bindende enheter) Inneholder mindre enn 0.1% natriumazid og mindre enn 0.05% Proclin som konserveringsmidler.
1 ampulle, 2,0ml
- P50-kalibrator:** Et klart til bruk *M. pneumoniae* IgG medium positivt humant serum. Inneholder 50 BU/ml med IgG (vilkårlig bindende enheter). Inneholder mindre enn 0.1% natriumazid og mindre enn 0.05% Proclin som konserveringsmidler.
1 ampulle, 2,0ml

9. **P75-kalibrator:** Et klart til bruk *M.pneumoniae* IgG høyt positivt humant serum. Inneholder 75 BU/ml med IgG (vilkårlig bindende enheter). Inneholder mindre enn 0.1% natriumazid og mindre enn 0.05% Proclin som konserveringsmidler.

1 ampulle, 2,0ml

10. **konsentrert HRP-konjugat (300X):** HRP (Horseradish Peroxidase) konjugert anti-humant IgG (gamma kjedespesifikk). Inneholder mindre enn 0.05% Proclin som et konserveringsmiddel.

1 ampulle, 0,2ml

11. **TMB-substrat:** En klar til bruk løsning. Inneholder 3, 3', 5, 5' – tetrametyl-benzidin som et kromogen og peroksid som et substrat.

1 flaske, 24ml

12. **stoppløsning:** En klar til bruk løsning. Inneholder 1M H₂SO₄.

1 flaske, 30ml

13. **Platedeksel:**

2 enheter

14. **Instruksjonsmanual:**

1

Nødvendige materialer som ikke medfølger

1. Rene prøverør for fortytning av pasientserum.
2. Engangs plastampulle for fortytning av konsentrert HRP-konjugat.
3. Justerbare mikropipetter og flerkanalspipetter (5-50, 50-200 og 200-1000µl områder) og engangsspisser.
4. En liters volumetrisk flaske.
5. En 50ml volumetrisk sylinder.
6. Vaskeflaske.
7. Trekkpapir.
8. Virvelmikser
9. Et 37°C vannbad med lokk, eller et fuktighetskammer plassert i en 37°C inkubator.
10. ELISA-leser med 450 og 620nm filtre.
11. Destillert eller dobbelt avionisert vann.

Advarsler og forholdsregler

For *In Vitro* diagnostisk bruk

1. Dette settet inneholder humant serum, som har blitt testet med FDA- og CE-godkjente teknikker, og funnet negative for HBV antigen og for HCV og HIV 1 og 2 antistoffer. Siden ingen kjent metode kan gi fullstendig forsikring om at produkter avledet fra humant blod ikke overfører infeksjon, må alle humane blod-komponenter som leveres med dette settet behandlet som potensielt smittomt serum eller blod i henhold til anbefalingene publisert i CDC/NIH-manualen "Biosafety in Micro Biological and Biomedical Laboratories, 1988".
2. TMB-substrat-løsning er et irriterende material for hud og slimhinner. Unngå direkte kontakt.
3. Alle komponentene i dette settet har blitt kalibrert og testet etter parti. Det anbefales ikke å blande komponenter fra forskjellige partier siden dette kan påvirke resultatene.
4. Fortynt svovelsyre (1M H₂SO₄) er et irriterende middel for øyne og hud. Ved kontakt med øyne, skylk øyeblikkelig området med vann og konsulter en lege.

Lagring og lagringstid for reagensmidler

1. Alle medfølgende reagensmidler bør lagres ved 2-8°C. Uåpnede reagensampuller er stabile inntil utløpsdatoen indikert på settemballasjen. Utsetting av originalt plomberte eller forseglede komponenter for omgivende temperatur for noen timer vil ikke føre til skade på reagensmidlene. **MÅ IKKE FRYSES!**
2. Når settet er åpnet, er dets lagringstid 90 dager.
3. Ubrukte remser må forsegles i aluminiumsposen med tørkemiddelkortet, ved å rulle den åpne enden og forsegle den tett med tape over hele åpningens lengde.
4. Krystaller kan formes i den 20x konsentrerte vaskebufferen under kjølelagring, dette er helt normalt. Løs opp krystallene ved å varme bufferen til 37°C før fortytning. Når den er fortynt, kan løsningen lagres ved 2-8°C i opptil tjueen dager.

Seruminnhenting

Forbered serum fra sterilt innhentede prøver ved hjelp av standard teknikker. Varme-inaktivert serum bør ikke brukes. Bruk av lipemisk, grumset eller forurenset serum anbefales ikke. Partikkelmaterial og bunnfall i serum kan føre til feilaktige resultater. Slike prøver bør oppklares ved sentrifugering eller filtrering før testen.

Lagring

Prøver bør lagres ved 2-8°C og testes innen 7 dager (tilsetting av 0.1% natriumazid er høyt anbefalt). Dersom en lengre lagringsperiode er forventet, alikvot og lagre prøvene under -20°C. Unngå gjentatt tining og frysing.

Testprosedyre

A. Forberedelse av reagensmidler

1. Varm opp alle komponenter og kliniske prøver som skal testes til romtemperatur. Miks kalibratorene (P10, P50, P75), negativ kontroll, positiv kontroll og de kliniske prøvene godt før bruk.
2. Avgjør totalt antall prøver som skal testes. I tillegg til prøvene, må følgende være inkludert i hver test: En brønn med blank, en brønn med negativ kontroll, positiv kontroll og tre brønner med kalibratorene (P10, P50, P75).
3. Fjern mikrotiterplaten fra aluminiumsposen ved å kutte en ende nær forseglingen. La nødvendig antall remser (i henhold til antall prøver som skal testes) sitte i 96 brønns rammen.
4. Fortynn den konsentrerte vaskebufferen 1/20 med dobbelt avionisert eller destillert vann. For eksempel, for å forberede en liter vaskebuffer, tilsett 50ml konsentrert vaskebuffer til 950ml med dobbelt avionisert eller destillert vann

B. Inkubering av serumprøver og kontroller

- Fortynn hvert pasientserum 1:105 med medfølgende serumfortynner som følger: Tilsett 10µl med pasientserum til 200µl av serumfortynner (1/21), og fortynn videre ved å tilsette 25µl av 1/21 fortynner til 100µl med serumfortynner.
- Dispenser 50µl med blank (serumfortynner), negativ kontroll, positiv kontroll, tre kalibratører (P10, P50, P75), og 1/105 fortynnete serumprøver i separate brønner på testremsen.
- Dekk remsene med et platedeksel og inkuber i 1 time ved 37°C i et fuktighetskammer.
- Kasser det flytende innholdet i brønnene.
- Vaskesteg:** Fyll hver brønn med vaskebuffer (300-350µl) opp til enden av brønnen og forkast væsken, gjenta dette steget to ganger, for totalt tre vaskesteg.
- Tørk remsene og rammen ved å banke dem forsiktig over rent trekkpapir.

C. Inkubering med konjugat

- Konsentrert HRP-konjugert anti-humant IgG bør fortynnes til arbeidsløsning kort tid før bruk. Fortynn den konsentrerte HRP-konjugerte anti-humane IgG 1/300 med konjugatfortynner. For eksempel: for to remser, forbered minimum 3ml konjugat som følger: 10µl med konsentrert HRP-konjugert anti-humant IgG blandes med 3ml av konjugatfortynner.
- Dispenser 50µl med fortynnet konjugat i hver brønn.
- Dekk remsene med et platedeksel og inkuber i 1 time ved 37°C i et fuktighetskammer.
- Forkast det flytende innholdet og vask som beskrevet i steg 9-10.

D. Inkubering med TMB - substrat

- Dispenser 100µl TMB-substrat i hver brønn, dekk remsene med et platedeksel og inkuber ved romtemperatur i **15 minutter**.
- Stopp reaksjonen ved å tilsette 100µl med stoppløsning (1M H₂SO₄) i hver brønn.

E. Avlesning av resultater

- Avles absorpsjonen ved 450/620nm og noter resultatene. Avlesningstiden bør ikke overskride 30 minutter etter stopping av kromogenisk reaksjon.

Merk: Luftbobler bør fjernes før avlesing. Bunnen av ELISA-platen bør tørkes forsiktig.

Testvalidering

Følgende kriterier må være møtt for at testen skal være gyldig. Dersom disse kriteriene ikke er møtt, bør testen vurderes som ugyldig og bør gjentas.

- O.D._{P75} > **0,9**
- Forhold: O.D._{P10}/ O.D._{NC} > **1,5**
- Forhold: O.D._{P50}/ O.D._{NC} > **4**
- Forhold: O.D._{P75}/ O.D._{NC} > **5,5**
- PC bør være ≥ **40BU/ml**

Beregning av testresultater

For å normalisere resultatene innhentet i forskjellige tester, bør prøvenes BU/ml beregnes som følger:

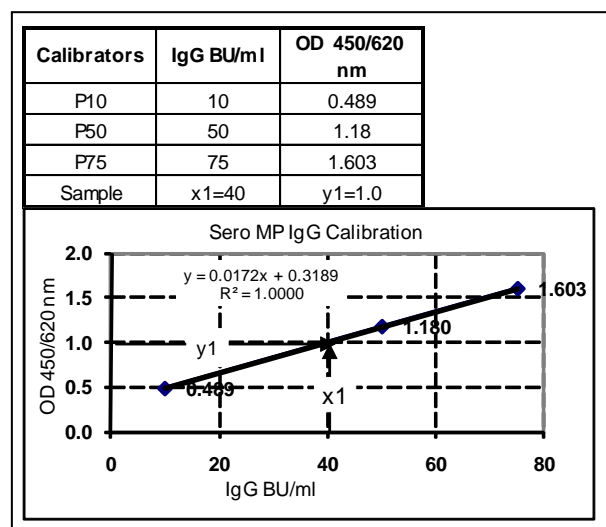
Manuell metode, ved hjelp av et kvadratisk millimeterpapir:

- Plott absorpsjonsverdiene (OD) for de 3 kalibratørene (P10, P50 og P75) på Y-aksen mot deres konsentrasjon (BU/ml) på X-aksen.
- Tegn den best tilpassede lineære kurven gjennom punktene.
- Med standardkurven, interpoler konsentrasjonen på testene. Prøveverdier (i BU/ml) fra hver målt absorpsjon (eksempel 1).

Eksempel 1-Interpolering av resultater:

Les prøvens absorpsjonsverdi på Y-aksen og trekk en horisontal linje til kalibreringskurven.

Trekk en vertikal linje fra krysspunktet til X-aksen. Les konsentrasjonen for prøven i BU/ml.



Tolking av resultater

IgG BU/ml	Resultat	Diagnostisk tolkning
< 10BU/ml	Negativ Intet påviselig nivå av IgG antistoffer	Ingen indikasjon på <i>M. pneumoniae</i> infeksjon
≥ 10 BU/ml ≤ 20 BU/ml	På grensen	Test en andre prøve, tatt to til fire uker senere parallelt med den første prøven. Når andre prøve gir grenseresultat skal resultatet betraktes som negativt.
> 20 BU/ml	Positiv Relevant nivå på IgG antistoffer	Indikasjon på nåværende eller tidligere <i>M. pneumoniae</i> infeksjon.¹

¹ For å skille mellom nåværende og tidligere infeksjon er det anbefalt å ta en andre prøve etter 2-4 uker. Om BU/ml-verdien for den andre prøven øker signifikant er det en indikasjon på nåværende infeksjon.

For å evaluere om forskjellen mellom de 2 målingene er signifikant skal forholdet mellom serumprøvene beregnes som følger:

$$R = \frac{BU2+15}{BU1+15}$$

BU1= Konsentrasjon i BU/ml for den første prøven

BU2= Konsentrasjon i BU/ml for den andre prøve

Dersom $R \geq 1.55$, forskjellen er statistisk signifikant

For å oppnå en mer omfattende antistoff-profil, bør IgM og IgA også testes.

Tolking av resultater basert på kombinasjonen av IgM og IgA og IgA antistoff-påvisning.

Nivå av <i>M. pneumoniae</i> antistoffer			
IgG	IgM	IgA	
Negativ	Negativ	Negativ	Ingen indikasjon på <i>M. pneumoniae</i> infeksjon
Negativ eller positiv	Positiv	Negativ eller positiv	Indikasjon på eksisterende infeksjon
Positiv	Negativ	Negativ	Indikasjon på tidligere infeksjon
Negativ eller positiv	Negativ	Positiv	Indikasjon på eksisterende infeksjon eller reinfeksjon

Kryssreaksjon

Sykehuspasienter, infisert med luftveis-patogener: *Chlamydia pneumoniae*, *Influenza A.*, *Influenza B.*, *Parainfluenza 1, 2 og 3* samt Adenovirus og EBV som ble diagnostisert med kommersielle serologi-sett, ble også testet med SeroMP-settet. Mesteparten av serumene ble funnet negativ, ingen betydelig kryssreaksjon ble påvist.

Testbegrensinger

1. Ingen enkelt serologisk test bør brukes som endelig diagnose. Alle kliniske data og laboratorie-data bør tas med i vurderingen.
2. Prøver tatt for tidlig under primær infeksjon vil kanskje ikke inneholde påviselige antistoffer. Dersom mykoplasma-infeksjon er mistenkt, bør en ny prøve innhentes 2-4 uker senere og testes parallelt med den originale prøven.
3. Forstyrrende substanser: Bruk av lipemisk, grumset eller forurenset serum anbefales ikke. Partikkelmateriale og bunnfall i serum kan føre til feilaktige resultater. Slike prøver bør oppklares ved sentrifugering eller filtrering før testen.

Ytelseskarakteristikk

Sensitivitet og nøyaktighet

Sensitivitet og nøyaktighet for SeroMP™ IgG ble beregnet med bruk av serum som har blitt testet og vært i overenstemmelse ved 2 kommersielle analyser (konsensusresultater), ved bruk av 31 serum innhentet fra lungebetennelse-pasient, 21 serum fra friske bloddonorer.

		Konsensusresultater	
		Positiv	Negativ
SeroMP™ IgG	Positiv	29	0
	Negativ	2	28

Sensitivitet: $29/31 \times 100 = 93.6\%$

Nøyaktighet: $28/28 \times 100 = 100\%$

Gjennomsnittlig overenstemmelse: $57/59 \times 100 = 97\%$

Presisjon

Intra-analyse (innen)

Prøve	Ant. kopier	Gjennomsnittsverdi	CV%
Positiv	10	1.247	2.7%
Negativ	10	0.185	6.7%

Intra-analyse (mellom)

Prøve	Ant. kopier	Gjennomsnittsverdi	CV%
Positiv	10	1.138	7.6%
Negativ	10	0.189	13.2%

Bibliografi

1. Liberman D., Schlaffer F., Boldur I., Liberman D., Horowitz S., Friedman, M.G., Leinonen M., Horowitz O., Manor E. and Porath A. (1996) Multiple pathogens in adult patients admitted with Community - acquired pneumonia, a one year prospective study of 346 consecutive patients *Thorax* 1996 51: 179-184.
2. Okada T., Kato I., Miho I., Minami S., Kinoshita H., Akao I., Kemmochi M., Miyabe S. and Takeyama I (1996) Acute Sensorineural Hearing Loss Cause by *M. Pneumoniae* Acute Otolaryngol (Stockh) 1996 522: 22-25
3. Lieberman, D., Shvartzman, P., Lieberman, D., Ben-Yaakov, M., Lazarovich, Z., Hoffman, S., Mosckovitz, R., Ohana, B., Leinonen, M., Luffy, D. and Boldur I. (1998) Etiology of Respiratory Tract Infection in Adults in a General Practice Setting. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 17: 685-689.
4. Raisanen S.M. Suni J.I. and Leinikki P.O.: (1980) "Serological diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infections by enzyme immunoassay" : *J.Clin. Pathol.* 33, 836-840.
5. Seggav J.S., Sedmark G.V. and Krup V., (1996) Isotype-specific antibody responses to acute *M. pneumoniae* infection *Ann Allergy Asthma Immuno.* 77: 67-73.
6. Samra Z., and Gadba R.,(1993) "Diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infection by specific IgM antibodies using a new capture-enzyme-immunoassay; *Eur. J. Epidemiol.* 9: 97-99.
7. Lieberman, D., Lieberman, D., Printz, S., Ben-Yaakov, M., Lazarovich, Z., Ohana, B., Friedman, M.G., Dvoskin, B., Leinonen, M. and Boldur, I. (2003) Atypical Pathogen Infection in Adults with Acute Exacerbation of Bronchial Asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 167: 406-410.
8. Lieberman, D., Leibman, D., Ben-Yaakov, M., Shmarkov, O., Gelfer, Y., Varshavsky, R., Ohana, B., Lazarovich, Z. and Boldur, I. (2002) Serological evidence of *Mycoplasma pneumoniae* infection in acute exacerbation of COPD. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 44: 1-6.
9. Lieberman, D., Leibman, D., Ben-Yaakov, M., Lazarovich, Z., Ohana, B., Friedman, M.G., Dvoskin, B., Leinonen, M. and Boldur, I. (2003) Age and Ageing 32: 95-101.
10. Lieberman, D., Leibman, D., Koronsky, I., Ben-Yaakov, M., Lazarovich, Z., Friedman, M.G., Dvoskin, B., Leinonen, M. Ohana, B., and Boldur, I. (2002). A comparative study of the etiology of adult upper and lower respiratory tract infections in the community. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 42: 21-28.
11. Lim, T.H., Muhlestein, J.B., Carlquish, J.F., Ohana, B., Lipson, M., Horne, B.D., Anderson, J., L. (2002). *Mycoplasma pneumoniae* High IgA Titer but Not IgG Predicts Increased Hazard of Death or Myocardial Infarction Among Patients with Angiographically Defined Coronary Artery Disease. Abstract presented at the 51st Annual Scientific Session of the American College of Cardiology, March 17-20, 2002. Atlanta, Georgia.



European Authorized Representative: Obelis s.a.
Boulevard Général Wahis 53, B-1030 Brussels
Tel: +32.2.732.59.54 Fax: +32.2.732.60.03
E-mail: mail@obelis.net