



SeroMP™ IgA

Imuno- Ensaio Enzimático(ELISA)
para a detecção semi-quantitativa de anticorpos
IgA específicos contra
Mycoplasma pneumoniae
no soro humano

Manual de Instruções

Kit de testes para 96 determinações
(Referência No. A263-01P)

Kit de testes para 192 determinações
(Referência No. B263-01P)

Para Diagnóstico *In Vitro*
Apenas para uso profissional
Armazenar a 2-8°C. **Não Congelar.**



Savyon® Diagnostics Ltd.

3 Habosem St. Ashdod 77610
ISRAEL

Tel.: +972.8.8562920

Fax: +972.8.8523176

E-mail: support@savyondiagnosics.com

Interesse Clínico

O kit SeroMP™ IgA kit é um Imuno-Ensaio Enzimático (ELISA) semi-quantitativo para a determinação de anticorpos IgA específicos contra *Mycoplasma pneumoniae* no soro humano.

O kit Savyon® SeroMP™ IgA é utilizado como auxiliar no diagnóstico de infecções por *Mycoplasma pneumoniae*.

Para ser utilizado em Diagnóstico *In Vitro*.

Introdução

M. pneumoniae é uma causa comum de pneumonia adquirida na comunidade, frequentemente caracterizada por um início gradual de cefaleia, febre, mal-estar e, mais tipicamente, tosse seca. *M. pneumoniae* é comum a todos os grupos etários, no entanto, é mais comum nas duas primeiras décadas da vida e é raro em crianças com menos de quatro anos. Foi descrita como sendo a causa de 30% de todos os casos de pneumonia (1).

M. pneumoniae também tem sido associado a doenças não respiratórias como meningite, encefalite, pancreatite, perda de audição neurossensorial, e síndrome agudo do tronco encefálico (2).

Devido à sua ocorrência comum, *M. pneumoniae* deverá ser considerado em todos os casos de pneumonia, mas apresentando os mesmos sintomas que outros agentes diferentes são necessárias ferramentas de diagnóstico adicionais, tais como testes serológicos (3).

A técnica ELISA é sensível, específica e permite uma determinação diferencial de anticorpos específicos IgG, IgA e IgM (4).

Os anticorpos IgM específicos contra *M. pneumoniae* aumentam logo após o estabelecimento da doença, atingem um pico entre uma a quatro semanas, e depois declinam até níveis insignificantes, em termos de diagnóstico, após alguns meses (5). Devido ao aparecimento precoce e tempo de vida relativamente curto dos anticorpos IgM, a sua detecção permite o diagnóstico de infecção aguda usando uma única amostra de soro. Os pacientes mais jovens tendem a apresentar níveis de IgM mais elevados do que os adultos (6). Os níveis de IgG aumentam mais lentamente do que os IgM, mas apresentam níveis elevados durante mais tempo, por isso um aumento significativo em duas amostras consecutivas colhidas com 2 semanas de diferença, poderá indicar uma infecção activa ou uma re-infecção, mesmo na ausência de IgM. Os anticorpos IgA apresentam níveis elevados em pacientes mais velhos (5) e poderão ser ainda mais úteis do que os IgM no diagnóstico de infecções activas em adultos (6).

A Savyon® Diagnostics Ltd. desenvolveu testes ELISA semi-quantitativos para IgG, IgA e IgM, que permitem seguir alterações dos níveis de anticorpos em soros humanos. O antigénio usado no teste SeroMP™ é uma preparação membranar de *M. pneumoniae* que contém a proteína membranar P1, que é um imunogénio importante (7, 8, 9, 10, 11).

O teste SeroMP™ permite uma detecção precoce e precisa de anticorpos IgG, IgA e IgM específicos contra *M. pneumoniae*.

Princípio do Teste

- As microplacas de titulação SeroMP™ são fornecidas revestidas com a fracção purificada de proteínas membranares de *M. pneumoniae*
- O soro a testar é diluído e incubado na placa SeroMP™. Nesta etapa, os anticorpos específicos contra *M. pneumoniae* ligam-se aos antigénios imobilizados.
- Os anticorpos não específicos são removidos aquando da lavagem.
- É adicionado o conjugado peroxidase de rábano (HRP)/ anti-IgA Humana. Nesta etapa, o conjugado-HRP liga-se ao complexo antigénio-anticorpo já formado.
- O conjugado que não se liga é removido aquando da lavagem.
- Aquando da adição do substrato-TMB, o substrato é hidrolisado pela peroxidase, produzindo uma coloração azul do substrato reduzido.
- Aquando da adição da solução stop, a coloração azul passa a amarela e deve-se proceder à leitura usando um leitor de ELISA com um comprimento de onda de 450/620 nm.
- A absorvância é proporcional à quantidade de anticorpos específicos que se ligaram aos antigénios imobilizados.

Resumo do Procedimento

Poços da microplaca de titulação revestidos com antigénios de *M. pneumoniae*

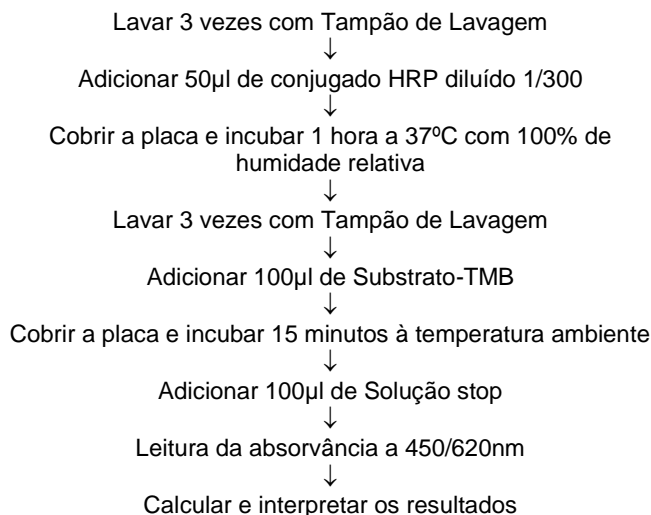
↓

Adicionar 50µl de Controlo Negativo, 50µl de Controlo Positivo, 50µl de cada calibrador: (P10, P50, P75), e amostras diluídas

↓

Cobrir a placa e incubar 1hora a 37°C com 100% de humidade relativa

↓



Composição do Kit

Kit de testes para 96 Determinações Catálogo. No. A263-01M

1. **Placa de microtitulação revestida com antigénios de *M. pneumoniae*:** 96 poços separáveis (8x12) revestidos com antigénios de *M. pneumoniae*, embalado numa bolsa de alumínio, com dessecador incluído.
1 Placa
2. **Tampão de Lavagem Concentrado (20 X):** Um tampão PBS - Tween.
1 Frasco, 100ml
3. **Diluyente do Soro (azul):** Uma solução tampão, pronta a usar. Contém menos de 0.05% de Proclin como conservante.
1 Frasco, 30ml
4. **Diluyente do Conjugado (verde):** Uma solução tampão, pronta a usar. Contém menos de 0.05% de Proclin como conservante.
1 Frasco, 40ml
5. **Controlo Positivo:** Um soro humano, IgA positivo para *M. pneumoniae*, pronto a usar. Contém menos de 0.05% Proclin e menos de 0.1% de azida de sódio como conservantes.
1 Frasco, 2.0ml
6. **Controlo Negativo:** Um soro humano, IgA negativo para *M. pneumoniae*, pronto a usar. Contém menos de 0.05% de Proclin e menos de 0.1% de azida de sódio como conservantes.
1 Frasco, 2.0ml
7. **Calibrador P10:** Um soro humano, IgA fracamente positivo para *M. pneumoniae*. Contém 10 UA/ml de IgA (unidades arbitrárias de ligação). Contém menos de 0.1% de Azida de Sódio e menos de 0.05% de Proclin como conservantes.
1 Frasco, 2.0ml
8. **Calibrador P50:** Um soro humano, IgA moderadamente positivo para *M. pneumoniae*. Contém 50 UA/ml de IgA (unidades arbitrárias de ligação). Contém menos de 0.1% de Azida de Sódio e menos de 0.05% de Proclin como conservantes.
1 Frasco, 2.0ml
9. **Calibrador P75:** Um soro humano, IgA altamente positivo para *M. pneumoniae*. Contém 75 UA/ml de IgA (unidades arbitrárias de ligação). Contém menos de 0.1% de Azida de Sódio e menos de 0.05% de Proclin como conservantes.
1 Frasco, 2.0ml

10. **Conjugado-HRP Concentrado (300x):** Peroxidase de rábano (HRP) conjugada a IgA anti-humano (específico para a cadeia α). Contém menos de 0.05% de Proclin como conservante.
1 Frasco, 0.2ml
11. **Substrato-TMB:** Solução pronta a usar que contém 3, 3', 5, 5' - tetrametilbenzidina como cromogénio e peroxidase como substrato.
1 Frasco, 14ml
12. **Solução stop:** Solução pronta a usar que contém H₂SO₄ a 1M.
1 Frasco, 15ml
13. **Tampa da placa:**
1 Unidade
14. **Manual de Instruções:**
1

Kit de Testes para 192 Determinações Ref. No. B263-01M

1. **Placa de microtitulação revestida com antigénios de *M. pneumoniae*:** 96 poços separáveis (8x12) revestidos com antigénios de *M. pneumoniae*, embalado numa bolsa de alumínio, com dessecador incluído.
2 Placas
2. **Tampão de Lavagem Concentrado (20 X):** Um tampão PBS - Tween.
2 Frascos, 100ml cada
3. **Diluyente do Soro (azul):** Uma solução tampão, pronta a usar. Contém menos de 0.05% de Proclin como conservante.
1 Frasco, 60ml
4. **Diluyente do Conjugado (verde):** Uma solução tampão, pronta a usar. Contém menos de 0.05% de Proclin como conservante.
1 Frasco, 80ml
5. **Controlo Positivo:** Um soro humano, IgA positivo para *M. pneumoniae*, pronto a usar. Contém menos de 0.05% Proclin e menos de 0.1% de azida de sódio como conservantes.
1 Frasco, 2.0ml
6. **Controlo Negativo:** Um soro humano, IgA negativo para *M. pneumoniae*, pronto a usar. Contém menos de 0.05% de Proclin e menos de 0.1% de azida de sódio como conservantes.
1 Frasco, 2.0ml
7. **Calibrador P10:** Um soro humano, IgA fracamente positivo para *M. pneumoniae*. Contém 10 UA/ml de IgA (unidades arbitrárias de ligação). Contém menos de 0.1% de Azida de Sódio e menos de 0.05% de Proclin como conservantes.
1 Frasco, 2.0ml
8. **Calibrador P50:** Um soro humano, IgA moderadamente positivo para *M. pneumoniae*. Contém 50 UA/ml de IgA (unidades arbitrárias de ligação). Contém menos de 0.1% de Azida de Sódio e menos de 0.05% de Proclin como conservantes.
1 Frasco, 2.0ml
9. **Calibrador P75:** Um soro humano, IgA altamente positivo para *M. pneumoniae*. Contém 75 UA/ml de IgA (unidades arbitrárias de ligação). Contém menos de 0.1% de Azida de Sódio e menos de 0.05% de Proclin como conservantes.
1 Frasco, 2.0ml
10. **Conjugado-HRP Concentrado (300x):** Peroxidase de rábano (HRP) conjugada a IgA anti-humano (específico para a cadeia α). Contém menos de 0.05% de Proclin como conservante.
1 Frasco, 0.2ml

11. **Substrato-TMB:** Solução pronta a usar que contém 3, 3', 5, 5' – tetrametilbenzidina como cromogénio e peróxidase como substrato.

1 Frasco, 24ml

12. **Solução stop:** Solução pronta a usar que contém H₂SO₄ a 1M.

1 Frasco, 30ml

13. **Tampa da Placa:**

2 Unidades

14. **Manual de Instruções:**

1

Material Necessário Mas Não Fornecido

1. Tubos de ensaio limpos para diluição dos soros dos pacientes.
2. Frasco de plástico descartável para diluição do conjugado-HRP/anti-IgA Humana.
3. Micropipetas ajustáveis, pipetas multi-canal (5-50, 50-200 e 200-1000µl) e pontas descartáveis.
4. Balão volumétrico de um litro.
5. Uma proveta volumétrica de 50ml.
6. Um frasco de lavagem.
7. Papel absorvente.
8. Agitador automático (vortex).
9. Banho a 37° C com cobertura, ou câmara húmida colocada numa incubadora a 37° C.
10. Leitor de ELISA com filtro de 450 e de 620nm.
11. Água destilada ou desionizada.

Avisos e Precauções

Para Diagnóstico In Vitro

1. Este kit contém soros humanos que foram testados com a técnicas aprovadas pela FDA, e deram resultados negativos quando na presença de antigénios de VHB e de anticorpos de VHC e VIH 1 e 2. Uma vez que nenhum método oferece uma segurança total de que os produtos derivados de sangue humano não transmitem infecções, todos os componentes sanguíneos humanos fornecidos no kit devem ser manuseados como sendo soros ou sangue potencialmente infecciosos, de acordo com as recomendações publicadas no CDC/NIH "Biosegurança em Laboratórios Microbiológicos e Biomédicos, 1988".
2. A solução Substrato-TMB é um material irritante para a pele e mucosas. Evitar contacto directo.
3. Todos os componentes deste kit foram calibrados e testados por lote. Não é recomendável misturar componentes provenientes de lotes diferentes, pois poderá afectar os resultados.
4. O ácido sulfúrico diluído (H₂SO₄ 1M) é um agente irritante para os olhos e a pele. Em caso de contacto com os olhos, lavar imediatamente a área com água e consultar um médico.

Conservação e Estabilidade dos Reagentes

1. Todos os reagentes fornecidos deverão ser armazenados entre 2 e 8°C. Os frascos de reagentes não abertos permanecem estáveis até ao prazo de validade indicado na embalagem do kit. A exposição de componentes, originalmente vedados ou selados, à temperatura ambiente durante algumas horas não irá provocar danos nos reagentes. **NÃO CONGELAR!**
2. Uma vez aberto, os elementos deste kit conservam-se até 90 dias.
3. As tiras não utilizadas devem ser fechadas na bolsa de alumínio com o dessecador, rolando a

extremidade aberta e selar firmemente com fita adesiva, sobre todo o comprimento da abertura.

4. Poderão formar-se cristais no Tampão de Lavagem concentrado 20x, durante o armazenamento no frio, o que é perfeitamente normal. Dissolver os cristais por aquecimento do tampão a 37°C, antes da diluição. Uma vez diluído, a solução poderá ser armazenada entre 2 e 8°C, até 21 dias.

Colheita de Soro

Preparar os soros a partir de amostras colhidas assepticamente, usando as técnicas padrão. Não deverão ser usados soros inactivados pelo calor. A utilização de soros lipídicos, turvos ou contaminados não é recomendável. A presença de partículas de material ou precipitados nos soros poderá conduzir a resultados erróneos. Tais amostras deverão ser clarificadas por centrifugação ou filtração, antes da realização do teste.

Armazenamento

As amostras deverão ser conservadas entre 2 e 8°C e testadas num período de 7 dias (é altamente recomendável a adição de 0.1% de Azida sódica). Se se prever um maior período de armazenamento, fazer alíquotas das amostras e conservar abaixo dos -20° C. Evitar descongelações sucessivas.

Procedimento do Teste - Manual

Protocolo para automatização, disponível sob requisição

A. Preparação dos Reagentes

1. Colocar todos os componentes e amostras clínicas a testar à temperatura ambiente. Misturar bem os calibradores (P10, P50, P75), Controlo Negativo, Controlo Positivo e as amostras clínicas antes de usar.
2. Determinar o número total de amostras a testar. Para além das amostras, em cada teste deverá ser considerado o seguinte: um poço para o branco, um poço para o Controlo Negativo e outro para o Controlo Positivo e três poços para os calibradores (P10, P50, P75).
3. Retirar a placa de microtitulação da sua bolsa de alumínio, cortando uma das extremidades junto ao sinal. Deixar o número de tiras necessárias (de acordo com o número de amostras a testar) no suporte dos 96 poços.
4. Diluir o Tampão de Lavagem Concentrado 1/20 com água desionizada ou destilada. Por exemplo, para preparar um litro de tampão de lavagem, adicionar 50ml de Tampão de Lavagem Concentrado a 950ml de água desionizada ou destilada.

B. Incubação das amostras séricas e dos controlos

5. Diluir cada soro dos pacientes 1:105 com o Diluente de Soro fornecido, da seguinte forma: Adicionar 10µl de soro do paciente a 200µl de Diluente de Soro (1/21), e depois diluir uma vez mais adicionando 25µl da diluição 1/21 a 100µl de Diluente de Soro.
6. Pipetar 50µl de branco (diluente de soro), de Controlo Negativo, de Controlo Positivo, dos três calibradores (P10, P50, P75), e das amostras séricas diluídas 1:105 em poços separados da tira de testes.
7. Cobrir as tiras com a tampa da placa e incubar durante 1h a 37°C numa câmara húmida.
8. Eliminar o conteúdo líquido dos poços.

9. **Etapa de lavagem:** Encher cada poço com tampão de lavagem até ao topo do poço e eliminar o líquido, repetir esta etapa três vezes.
10. Secar as tiras e o suporte, batendo suavemente sobre papel absorvente limpo.

C. Incubação com o conjugado

11. O conjugado HRP/anti-IgA humano deverá ser diluído imediatamente antes de usar.
12. Diluir o conjugado- HRP em 1/300 com o diluente do conjugado. Por exemplo: para duas tiras preparar um mínimo 3ml de conjugado como se segue: misturar 10 µl do conjugado-HRP com 3ml de Diluente do Conjugado.
13. Pipetar 50µl de conjugado diluído em cada poço.
14. Cobrir as tiras com a tampa da placa e incubar durante 1h a 37°C, numa câmara húmida.
15. Eliminar o conteúdo líquido e lavar como descrito nos passos 9-10.

D. Incubação com o Substrato-TMB

15. Pipetar 100 µl de Substrato-TMB em cada poço, cobrir as tiras com a tampa da placa e incubar à temperatura ambiente durante **15 minutos**.
16. Parar a reacção adicionando 100 µl de solução stop (H₂SO₄ a 1M) em cada poço.

E. Determinação dos Resultados

17. Determinar a absorvância a 450/620nm e registar os resultados. A determinação não deverá exceder os 30 minutos após paragem da reacção cromogénica.
- **Nota:** Deverão ser removidas quaisquer bolhas de ar antes da leitura. O fundo da placa ELISA deverá ser cuidadosamente limpo.

Validação do Teste

Para que o teste seja válido devem cumprir-se os critérios seguintes. Se estes critérios não forem cumpridos, o teste deverá ser considerado inválido e deverá ser repetido.

1. D.O._{P75} >1.2
2. Proporção: D.O._{P10} / D.O._{NC} >1.5
3. Proporção: D.O._{P50} / D.O._{NC} >4
4. Proporção: D.O._{P75} / D.O._{NC} >7
5. CP deverá ser ≥ 40 UA/ml

Cálculo dos Resultados do Teste

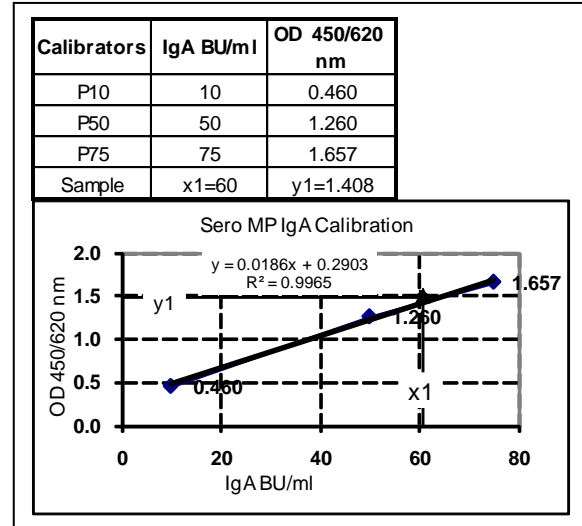
Método manual, usando um gráfico em papel milimétrico:

1. Traçar os valores de absorvância (DO) dos 3 calibradores (P10, P50 e P75) no eixo dos YY versus a sua concentração (UA/ml) no eixo dos XX.
2. Desenhar a linha de tendência que melhor se ajusta aos pontos.
3. Usando a curva padrão, interpolar a concentração dos valores das amostras testadas (em UA/ml) a partir de cada medição da absorvância (exemplo 1).

Exemplo 1: Interpolação dos resultados:

No eixo dos YY ler a absorvância da amostra e desenhar uma linha horizontal até à curva de calibração. Da intersecção, desenhar uma linha vertical até ao eixo dos XX.

Ler a concentração da amostra em UA/ml.



Interpretação dos Resultados

IgA UA/ml	Resultado	Interpretação de Diagnóstico
< 10 UA/ml	Negativo Anticorpos IgA não detectados	Sem indicação de infecção por <i>M. pneumoniae</i>
≥10 UA/ml ≤20 UA/ml	Duvidoso	Testar uma segunda amostra, desenhar duas a quatro semanas depois em paralelo com a primeira amostra. Quando a segunda amostra é duvidosa, o resultado deverá ser considerado negativo.
> 20 UA/ml	Positivo Níveis relevantes de anticorpos IgA	Indicação de infecção activa ou crónica <i>M. pneumoniae</i>

Para conseguir um perfil de anticorpos mais compreensivo, os IgM e os IgG também deverão ser testados

Interpretação dos resultados com base na combinação de detecção de anticorpos IgG e IgM e IgA.

Níveis de anticorpos contra <i>M. pneumoniae</i>			
IgG	IgM	IgA	
Negativo	Negativo	Negativo	Sem indicação de infecção por <i>M. pneumoniae</i>
Negativo ou Positivo	Positivo	Negativo ou Positivo	Indicação de infecção activa
Positivo	Negativo	Negativo	Indicação de infecção passada
Negativo ou Positivo	Negativo	Positivo	Indicação de infecção activa ou re-infecção

Reações Cruzadas

Pacientes hospitalizados, infectados com patógenos do tracto respiratório: *Chlamydia pneumoniae*, *Influenza A*, *Influenza B*, *Parainfluenza 1, 2 e 3* bem como *Adenovirus* e *VEB*, que foram diagnosticados através de kits serológicos comerciais, também foram testados com o kit SeroMP. A maioria dos soros apresentou-se negativa, pelo que não foram detectadas reações cruzadas significativas.

Limitações do Teste

1. Um teste serológico individual não deverá ser usado para o diagnóstico final. Deverão ser considerados todos os dados clínicos e laboratoriais.
2. As amostras obtidas muito precocemente aquando da infecção primária poderão não conter anticorpos detectáveis. Se se suspeita de infecção por *Mycoplasma*, deverá ser obtida uma segunda amostra entre 2 a 4 semanas depois, que deverá ser testada em paralelo com a amostra original.
3. Substância interferentes: A utilização de soros lipídicos, turvos ou contaminados não é recomendável. Partículas de material ou precipitados nos soros poderão causar resultados erróneos. Tais amostras deverão ser clarificadas por centrifugação ou filtração antes da realização do teste.

Características de Desempenho

Sensibilidade e Especificidade

Foi realizado um estudo, usando o SeroMP™ IgA e outros ensaios ELISA comerciais, com 13 soros obtidos a partir de pacientes hospitalizados com pneumonia e 98 soros obtidos a partir de doadores de sangue saudáveis.

ELISA comercial	Positivo	Negativo	Total
SeroMP™			
Positivo	12	7	19
Negativo	1	91	92
Total	13	98	111

Sensibilidade: $12/13 \times 100 = 92\%$

Especificidade: $91/98 \times 100 = 93\%$

Concordância Total: $103/111 \times 100 = 93\%$

Precisão

Precisão intra-ensaios (aquando do teste)

Amostra	Nº de Réplicas	Valor Médio	CV%
Positivo	10	1.390	5.9%
Negativo	10	0.314	4%

Precisão inter-ensaios (entre testes):

Amostra	Nº de Réplicas	Valor Médio	CV%
Positivo	10	1.300	6.3%
Negativo	10	0.285	7.2%

Bibliografia

1. Liberman D., Schlafler F., Boldur I., Liberman D., Horowitz S., Friedman, M.G., Leioninen 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. Epidermol. 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., Leiberman, 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., Leiberman, 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., Leiberman, 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.



Representante Europeu Autorizado: 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