



SeroMP™ IgG

Ensaio Imunoenzimático (ELISA)
para a detecção semi-quantitativa
de anticorpos IgG específicos para
Mycoplasma pneumoniae
em soro humano

Manual de Instruções

Kit para 96 determinações
(Refª. A261-01P)

Kit para 192 determinações
(Refª. B261-01P)

Para uso em 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

Utilização

O kit SeroMP™ IgG é um ensaio imunoenzimático (ELISA) semi-quantitativo para a determinação de anticorpos IgG específicos da espécie *Mycoplasma pneumoniae* em soro humano.

O kit SeroMP™ IgG da Savyon® é utilizado como auxiliar no diagnóstico de infecções por *Mycoplasma pneumoniae*. O teste também permite o diagnóstico de uma infecção corrente pela determinação do aumento de anticorpos IgG em pares de soros colhidos num intervalo de 1-4 semanas.

Para uso em Diagnóstico *In Vitro*.

Introdução

O *M. pneumoniae* é causa comum de pneumonia adquirida pela comunidade, frequentemente caracterizada pelo aparecimento gradual de dores de cabeça, febre, mau estar e, mais tipicamente, tosse seca. O *M. pneumoniae* é comum em todos os grupos etários, contudo, é mais frequente nas duas primeiras décadas de vida e é raro em crianças com menos de quatro anos de idade. Foi considerado como a causa de mais de 30% de todos os casos de pneumonia (1). O *M. pneumoniae* também tem sido associado com doenças não respiratórias como meningite, encefalite, pancreatite,

perda de audição sensor-neural, síndrome aguda de brainstem (2).

Devido à sua ocorrência comum, o *M. pneumoniae* deve ser considerado em todos os casos de pneumonia mas, sendo os sintomas de diferentes agentes idênticos, são necessários instrumentos de diagnóstico adicionais, tais como testes serológicos (3).

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

Os anticorpos *M. pneumoniae* IgM específicos aumentam cedo após o aparecimento da doença, atingem níveis máximos em uma a quatro semanas e depois diminuem para níveis sem significado diagnóstico em poucos meses (5). Devido ao rápido aparecimento e tempo de vida relativamente curto dos anticorpos IgM a sua detecção permite o diagnóstico da infecção aguda com uma única amostra. Os doentes jovens tendem a ter níveis de IgM mais elevados que os adultos (6). Os níveis de IgG aumentam mais lentamente que os IgM mas permanecem elevados por muito mais tempo, assim, um aumento significativo em duas amostras consecutivas colhidas com pelo menos 2 semanas de intervalo, pode indicar uma infecção corrente ou re-infecção mesmo na ausência de IgM. Os anticorpos IgA apresentam os níveis mais elevados em doentes com mais idade (5) e podem ter maior utilidade que os IgM no diagnóstico de uma infecção corrente nos adultos (6).

A Savyon® Diagnostics Ltd. desenvolveu testes ELISA IgG, IgA and IgM semi-quantitativos que permitem seguir as alterações dos níveis de anticorpos no soro humano. O antígeno utilizado no teste SeroMP™ é uma preparação da membrana de *M. pneumoniae* que contém a proteína de membrana P1, que é o principal imunogénio (7, 8, 9, 10, 11). O teste SeroMP™ permite a detecção precoce e rigorosa de anticorpos IgG, IgA e IgM específicos de *M. pneumoniae*

Princípio do Teste

- As placas de microtitulação SeroMP™ são revestidas com fracção purificada de proteínas da membrana de *M. pneumoniae*
- Os soros a serem testados são diluídos e incubados na placa SeroMP™. Neste passo, os anticorpos específicos para *M. pneumoniae* ligam-se aos antígenos imobilizados.
- Os anticorpos não específicos são removidos por lavagem.
- Adiciona-se IgG anti-humana conjugada a peroxidase de rábano picante (HRP). Neste passo, o conjugado-HRP liga-se ao complexo antígeno-anticorpo pré-ligado.
- O conjugado não ligado é removido por lavagem.
- Após a adição do substrato-TMB, este é hidrolizado pela peroxidase produzindo uma solução azul do Substrato reduzido.
- Após a adição da solução de paragem a cor azul passa a amarela e deve ser lida num leitor ELISA ao comprimento de onda de 450/620nm.
- A absorvância é proporcional aos níveis de anticorpos específicos que estão ligados aos antígenos de revestimento.

Procedimento

Poços da placa de microtitulação revestidos com antígenos *M.pneumoniae*

↓

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

↓

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

↓

Lavar 3 vezes com Tampão de Lavagem

↓

Adicionar 50µl de Conjugado HRP diluído 1/300

↓

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

↓

Lavar 3 vezes com Tampão de Lavagem

↓

Adicionar 100µl de Substrato-TMB

↓

Cobrir a placa e incubar 15min à temperatura ambiente

↓

Adicionar 100µl de Solução de Paragem

↓

Ler as absorvâncias a 450/620nm

↓

Calcular e interpretar os resultados

Conteúdo do kit:

Kit para 96 Determinações

Refª A261-01M

1. **Placa de microtitulação revestida com antígeno *M. pneumoniae*:** 96 poços separáveis (8x12) revestidos com antígenos *M. pneumoniae*, embalados numa saqueta de alumínio com um cartão dessecante. **1 Placa**
2. **Tampão de Lavagem Concentrado (20X):** Tampão PBS-Tween. **1 Frascos, 100ml**
3. **Diluyente de Soro (azul):** Solução tampão pronta a usar. Contém menos de 0.05% Proclina como conservante. **1 Frasco, 30ml**
4. **Diluyente do Conjugado (verde):** Solução tampão pronta a usar. Contém menos de 0.05% Proclina como conservante. **1 Frasco, 40ml**
5. **Controlo Positivo:** Um soro humano, IgG 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:** Soro humano IgG negativo para *M.pneumoniae*, pronto a usar. Contém menos de 0.05% Proclina e menos 0.1% azida sódica como conservantes. **1 Frasco, 2.0ml**
7. **Calibrador P10:** Soro humano de baixa positividade IgG para *M. pneumoniae*, pronto a usar. Contém 10 BU/ml de IgG (unidades arbitrárias de ligação). Contém menos de 0.1% de azida sódica e menos de 0.05% Proclina como conservantes.

1 Frasco, 2.0ml

8. **Calibrador P50:** Soro humano de média positividade IgG para *M. pneumoniae*, pronto a usar. Contém 50 BU/ml de IgG (unidades arbitrárias de ligação). Contém menos de 0.1% de azida sódica e menos de 0.05% Proclina como conservantes. **1 Frasco, 2.0ml**

1 Frasco, 2.0ml

9. **Calibrador P75:** Soro humano de elevada positividade IgG para *M. pneumoniae*, pronto a usar. Contém 75 BU/ml de IgG (unidades arbitrárias de ligação). Contém menos de 0.1% de azida sódica e menos de 0.05% Proclina como conservantes. **1 Frasco, 2.0ml**

1 Frasco, 2.0ml

10. **Conjugado HRP Concentrado (300 X):** IgG (específica da cadeia γ) anti-humana conjugada a HRP. Contém menos de 0.05% Proclina como conservante. **1 Frasco, 0.2ml**

1 Frasco, 0.2ml

11. **Substrato-TMB:** Solução pronta a usar. Contém 3, 3', 5, 5' - tetrametilbenzidina como cromogénio e peroxidase como substrato. **1 Frasco, 14ml**

1 Frasco, 14ml

12. **Solução de Paragem:** Solução pronta a usar. Contém 1M H₂SO₄. **1 Frasco, 15ml**

1 Frasco, 15ml

13. **Revestimento de placa:** **1 unidades**

1

14. **Manual de Instruções:** **1**

1

Kit para 192 Determinações

Refª B261-01M

1. **Placa de microtitulação revestida com antígeno *M. pneumoniae*:** 96 poços separáveis (8x12) revestidos com antígenos *M. pneumoniae*, embalados numa saqueta de alumínio com um cartão dessecante. **2 Placas**
2. **Tampão de Lavagem Concentrado (20X):** Tampão PBS-Tween. **2 Frascos, 100ml cada**
3. **Diluyente de Soro (azul):** Solução tampão pronta a usar. Contém menos de 0.05% Proclina como conservante. **1 Frasco, 60ml**
4. **Diluyente do Conjugado (verde):** Solução tampão pronta a usar. Contém menos de 0.05% Proclina como conservante. **1 Frasco, 80ml**
5. **Controlo Positivo:** Um soro humano, IgG 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:** Soro humano IgG negativo para *M.pneumoniae*, pronto a usar. Contém menos de 0.05% Proclina e menos 0.1% azida sódica como conservantes. **1 Frasco, 2.0ml**
7. **Calibrador P10:** Soro humano de baixa positividade IgG para *M. pneumoniae*, pronto a usar. Contém 10 BU/ml de IgG (unidades arbitrárias de ligação). Contém menos de 0.1% de azida sódica e menos de 0.05% Proclina como conservantes. **1 Frasco, 2.0ml**
8. **Calibrador P50:** Soro humano de média positividade IgG para *M. pneumoniae*, pronto a usar. Contém 50 BU/ml de IgG (unidades arbitrárias de ligação). Contém menos

de 0.1% de azida sódica e menos de 0.05% Proclina como conservantes.

1 Frasco, 2.0ml

9. **Calibrador P75:** Soro humano de elevada positividade IgG para *M. pneumoniae*, pronto a usar. Contém 75 BU/ml de IgG (unidades arbitrárias de ligação). Contém menos de 0.1% de azida sódica e menos de 0.05% Proclina como conservantes.

1 Frasco, 2.0ml

10. **Conjugado HRP Concentrado (300 X):** IgG (específica da cadeia γ) anti-humana conjugada a HRP. Contém menos de 0.05% Proclina como conservante.

1 Frasco, 0.2ml

11. **Substrato-TMB:** Solução pronta a usar. Contém 3, 3', 5, 5' - tetrametilbenzidina como cromogénio e peroxidase como substrato.

1 Frasco, 24ml

12. **Solução de Paragem:** Solução pronta a usar. Contém 1M H₂SO₄.

1 Frasco, 30ml

13. **Revestimento de placa:**
unidades

2

14. **Manual de Instruções:**

1

Material Necessário mas não fornecido:

1. Tubos teste limpos para as diluições das amostras.
2. Frascos de plástico descartáveis para a diluição do Conjugado-HRP concentrado.
3. Micropipetas ajustáveis e pipetas multicanal (5-50, 50-200 e 200-1000 μ l) e pontas descartáveis.
4. Balão de vidro para 1 litro de volume.
5. Tubo de ensaio de 50ml de volume.
6. Frasco de lavagem.
7. Papel absorvente.
8. Vortex
9. Banho com tampa a 37°C ou câmara húmida colocada numa incubadora de 37°C.
10. Leitor ELISA com filtros de 450 e 620nm.
11. Água destilada ou duplamente desionizada.

Avisos e Precauções

Para uso em Diagnóstico *In Vitro*

1. Este kit contém soros humanos que foram testados e considerados negativos por técnicas aprovadas pela FDA para antigénio HBV e para anticorpos HCV e HIV 1 e 2. Dado que nenhum método pode oferecer completa segurança que os produtos derivados de sangue humano não transmitem infecção, todos os componentes de sangue humano fornecidos neste kit têm de ser manuseados como soro ou sangue potencialmente infecciosos de acordo com as recomendações publicadas no manual CDC/NIHS "Biosafety in Micro Biological and Biomedical Laboratories, 1988".
2. A solução Substrato-TMB é material irritante para a pele e membranas mucosas. Evitar contacto directo.
3. Todos os componentes deste kit foram calibrados e testados por lote. Não é recomendável misturar componentes de lotes diferentes uma vez que isso pode afectar os resultados.
4. O ácido sulfúrico diluído (1M H₂SO₄) é um agente irritante para os olhos e pele. Em caso de contacto com

os olhos, lavar abundantemente com água e consultar um médico.

Armazenamento e Validade dos Reagentes

1. Todos os reagentes fornecidos devem ser armazenados a 2-8°C. Os frascos de reagentes fechados são estáveis até à data indicada na embalagem do kit. A exposição durante algumas horas à temperatura ambiente de componentes originalmente tapados ou selados não prejudica os reagentes. **NÃO CONGELAR!**
2. Uma vez aberto, a validade do kit é de 90 dias.
3. As tiras não usadas têm de ser reseladas na saqueta de alumínio com o cartão dessecante.
4. Durante o armazenamento no frio, podem-se formar cristais no Tampão de Lavagem concentrado 20x, fenómeno perfeitamente normal. Dissolver os cristais aquecendo o tampão a 37°C antes de diluir. Uma vez diluída, a solução pode ser armazenada a 2-8°C até vinte e um dias.

Colheita do Soro

Preparar o soro a partir de amostras colhidas assepticamente por técnicas standard. Não deve ser usado soro inativado pelo calor. Não é recomendada a utilização de soro lipémico, turbido ou contaminado. Soros com partículas e precipitados podem conduzir a falso resultados. Tais amostras devem ser limpas por centrifugação ou filtração antes de serem testadas.

Armazenamento

As amostras devem ser armazenadas a 2-8°C e testadas em 7 dias (recomenda-se a adição de azida sódica 0.1%). Se se prever um período de armazenamento maior, alíquotar e armazenar as amostras a menos de -20°C. Evitar ciclos de congelamento-descongelamento

Procedimento do Teste - Manual

Protocolo para automatização, disponível sob requisição

A. Preparação dos Reagentes

1. Colocar à temperatura ambiente todos os componentes e amostras a serem testados. Misturar bem os calibradores (P10, P50, P75), Controlo Negativo e amostras antes de usar.
2. Determinar o número total de amostras a testar. Para além das amostras, tem de se incluir em todos os testes o seguinte: um poço para o Branco, um poço de Controlo Negativo e três poços de calibradores (P10, P50, P75).
3. Retirar a placa de microtitulação da saqueta de alumínio cortando uma extremidade próxima da marca. Deixar o número de tiras necessárias (de acordo com o número de amostras a serem testadas) no suporte de 96 poços.
4. Diluir o Tampão de Lavagem Concentrado 1/20 com água destilada ou duplamente desionizada. Por exemplo, para preparar um litro de tampão de lavagem, adicionar 50ml de Tampão de Lavagem Concentrado a 950ml de água destilada ou duplamente desionizada.

B. Incubação das amostras e controlos

- Diluir cada amostra 1:105 com o Diluente de Soro fornecido: Adicionar 10 µl de amostra a 200µl de Diluente de Soro (1/21) e, de seguida, diluir novamente adicionado 25µl da diluição 1/21 a 100µl de Diluente de Soro.
- Dispensar 50µl de Branco (diluente de soro), Controlo Negativo, três calibradores (P10, P50, P75), e amostras diluídas 1:105 em poços separados da tira teste.
- Cobrir as tiras e incubar 1h a 37°C numa câmara húmida.
- Eliminar o conteúdo líquido dos poços.
- Lavagem:** Encher cada poço com tampão de lavagem até ao cimo e deitar fora o líquido, repetir três vezes.
- Secar as tiras e suporte batendo suavemente sobre papel absorvente limpo.

C. Incubação com o conjugado

- O conjugado IgG anti-humano-HRP concentrado deve ser diluído pouco tempo antes de usar. Diluir 1/300 com diluente de conjugado. Por exemplo: para duas tiras preparar um mínimo de 3ml de conjugado da seguinte forma: misturar 10µl de conjugado IgG anti-humano-HRP concentrado com 3ml de Diluente do Conjugado.
- Dispensar 50µl de conjugado diluído em cada poço.
- Cobrir as tiras e incubar 1h a 37°C numa câmara húmida.
- Deitar fora o conteúdo líquido e lavar como descrito nos passos 9-10.

D. Incubação com o Substrato-TMB

- Dispensar 100µl de Substrato-TMB em cada poço, cobrir as tiras e incubar à temperatura ambiente por **15 minutos**.
- Parar a reacção adicionando 100µl de solução de paragem (1M H₂SO₄) a cada poço.

E. Determinação dos Resultados

- Determinar a absorvância a 450/620nm e registar os resultados. A determinação não deve exceder 30 minutos após a paragem da reacção cromogénica.
 - Nota:** Antes da leitura deve ser removida qualquer bolha de ar. A base da placa ELISA deve ser cuidadosamente limpa.

Validação do Teste

Para que o teste seja válido devem ser reunidos os seguintes critérios. Caso isso não aconteça o teste deve ser considerado inválido e deve ser repetido.

- D.O._{P75} > **0.9**
- Razão: D.O._{P10} / D.O._{CN} > **1.5**
- Razão: D.O._{P50} / D.O._{CN} > **4**
- Razão: D.O._{P75} / D.O._{CN} > **5.5**
- CP deverá ser ≥ 40 UA/ml

Cálculo dos Resultados

Método manual, com papel gráfico quadricular:

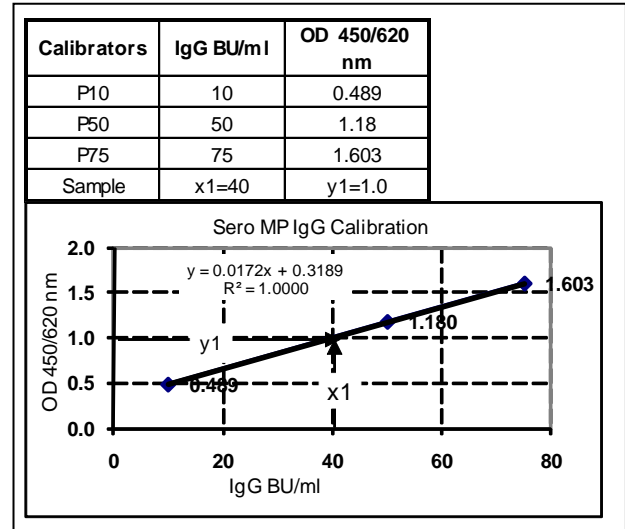
- Colocar os valores de absorvância (DO) dos e calibradores (P10, P50 e P75) no eixo Y versus a sua concentração (BU/ml) no eixo X.
- Desenhar a melhor linha através dos pontos.
- Usando a curva standard, interpolar os valores de concentração das amostras testadas (em BU/ml) a partir de cada absorvância medida (ver exemplo 1).

Exemplo 1: Interpolação dos resultados:

Ler o valor de absorvância da amostra no eixo Y e projectar uma linha horizontal para a curva de calibração.

Da zona interceptada, projectar uma linha vertical para o eixo X.

Ler a concentração da amostra em BU/ml.



Interpretação dos Resultados

IgG BU/ml	Resultado	Interpretação diagnóstica
< 10 BU/ml	Negativo Anticorpos IgG não detectáveis	Ausência de indicação de infecção <i>M. pneumoniae</i>
≥10 BU/ml ≤ 20 BU/m	Borderline	Testar uma segunda amostra, colhida 2-4 semanas mais tarde em paralelo com a primeira amostra. Quando a segunda amostra é borderline o resultado deve ser considerado negativo
>20 BU/ml	Positivo Níveis relevantes de anticorpos IgG	Indicação de infecção <i>M. pneumoniae</i> corrente ou passada¹

¹ Para diferenciar entre infecção corrente e passada, recomenda-se obter uma segunda amostra após 2-4 semanas. Se o valor BU/ml da segunda amostra aumentar significativamente é indicativo de infecção corrente.

Para avaliar se a diferença entre as duas medições é significativa, a razão entre os soros deve ser calculada da seguinte forma:

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

BU1 = Concentração em BU/ml da 1ª amostra

BU2 = Concentração em BU/ml da 2ª amostra

Se $R \geq 1.55$, a diferença é estatisticamente significativa ($p=0.005$)

De forma a atingir um perfil de anticorpos compreensivo, também devem ser testados anticorpos IgM e IgA

Interpretação dos resultados baseada na combinação da detecção de anticorpos IgM, IgG e IgA.

Nível de anticorpos <i>M. pneumoniae</i>			
IgG	IgM	IgA	
Negativo	Negativo	Negativo	Não há indicação de infecção <i>M. pneumoniae</i>
Negativo ou Positivo	Positivo	Negativo ou Positivo	Indicação de infecção corrente
Positivo	Negativo	Negativo	Indicação de infecção passada
Negativo ou Positivo	Negativo	Positivo	Indicação de infecção corrente ou reinfeção

Reacções Cruzadas

Também foram testados com o kit SeroMP doentes hospitalizados, infectados com patógenos do tracto respiratório: *Chlamydia pneumoniae*, *Influenza A.*, *Influenza B.*, *Parainfluenza 1, 2 e 3* bem como *Adenovirus* e *EBV* que tinham sido diagnosticados por kits serológicos comerciais. A maioria dos soros apresentou resultados negativos, não se detectou reactividade cruzada significativa.

Limitações do Teste

1. Para o diagnóstico final não deve ser usado um teste serológico único. Devem-se ter em conta todos os dados clínicos e laboratoriais
2. As amostras obtidas muito cedo durante a infecção primária podem não conter anticorpos detectáveis. Se se suspeitar de infecção por *Mycoplasma* deve-se obter uma segunda amostra 2-4 semanas mais tarde e ser testada em paralelo com a amostra inicial.
3. Substâncias de interferência: Não é recomendada a utilização de soro lipémico, turbido ou contaminado. Soros com partículas e precipitados podem conduzir a falso resultados. Tais amostras devem ser limpas por centrifugação ou filtração antes de serem usadas.

Características de Performance

Sensibilidade e Especificidade

A sensibilidade e especificidade do SeroMP™ IgG foi calculado com soros, 31 obtidos de doentes com pneumonia e 28 de doadores saudáveis, que foram testados com resultados concordantes (Resultados de consenso) por 2 ensaios ELISA comerciais.

		Resultados de consenso	
		Positivo	Negativo
SeroMP IgG	Positivo	29	0
	Negativo	2	28

Sensibilidade: $29/31 \times 100 = 93.5\%$

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

Concordância: $57/59 \times 100 = 97\%$

Precisão

Precisão intra-ensaio (no mesmo ensaio):

Amostra	Nº de replicados	Valor Médio	CV%
Positiva	10	1.247	2.7%
Negativa	10	0.185	6.7%

Precisão inter-ensaio (entre ensaios):

Amostra	Nº de replicados	Valor Médio	CV%
Positiva	10	1.138	7.6%
Negativa	10	0.189	13.2%

Bibliografia:

1. Liberman D., Schlaffer 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