



SeroMP™ IgM

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

Manual de Instruções

Kit de testes para 96 determinações
(Referência No. A262-01P)

Kit de testes para 192 determinações
(Referência No. B262-01P)

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

O teste permite o diagnóstico precoce da infecção activa numa única amostra de soro, pela determinação de anticorpos IgM.

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 aguda 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).

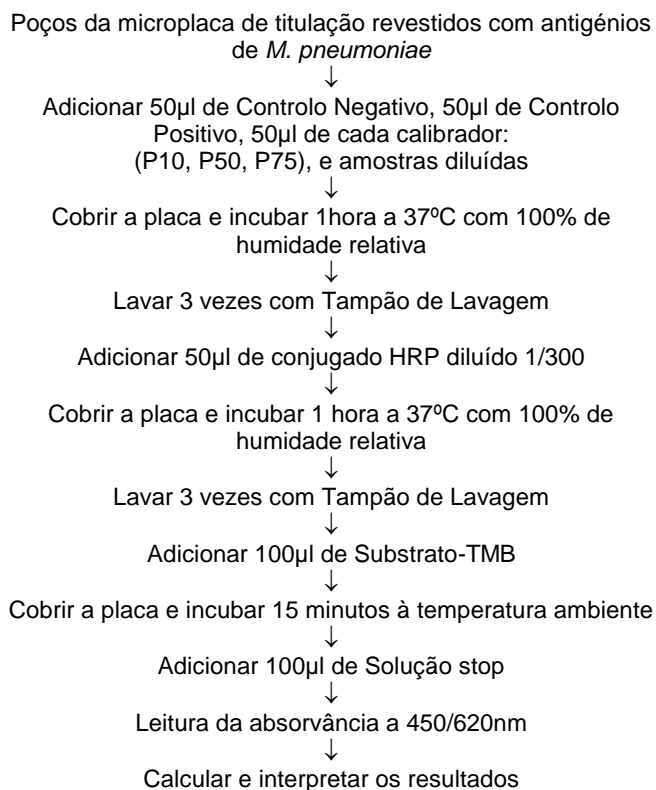
A Savyon® Diagnostics Ltd. desenvolveu testes ELISA semi-quantitativos para IgG, IgA e IgM, que permitem seguir alterações dos níveis de anticorpos em soros humanos. O antigénio usado no teste SeroMP™ é uma preparação membranar de *M. pneumoniae* que contém a proteína membranar P1, que é um imunogénio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



Composição do Kit

Kit de testes para 96 Determinações Catálogo. No. A262-01M

- 1. Placa de microtitulação revestida com antígenos de *M. pneumoniae*:** 96 poços separáveis (8x12) revestidos com antígenos 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. Diluente do Soro-IgM (vermelho):** IgM anti-Humana em solução tampão, pronta a usar. Contém menos de 0.05% de Proclin como conservante.
1 Frasco, 60ml
- 4. Diluente 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, IgM 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, IgM 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, IgM 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, IgM 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, IgM 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 IgM anti-humano (específico para a cadeia μ). 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. B262-01M

- 1. Placa de microtitulação revestida com antígenos de *M. pneumoniae*:** 96 poços separáveis (8x12) revestidos com antígenos 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. Diluente do Soro-IgM (vermelho):** IgM anti-Humana em solução tampão, pronta a usar. Contém menos de 0.05% de Proclin como conservante.
1 Frasco, 60ml
- 4. Diluente 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, IgM 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, IgM 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, IgM fracamente positivo para *M. pneumoniae*. Contém 10 UA/ml de IgM (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, IgM moderadamente positivo para *M. pneumoniae*. Contém 50 UA/ml de IgM (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, IgM altamente positivo para *M. pneumoniae*. Contém 75 UA/ml de IgM (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 IgM anti-humano (específico para a cadeia μ). 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 H_2SO_4 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-IgM Humana.
3. Micropipetas ajustáveis, pipetas multi-canal (5-50, 50-200 e 200-1000 μ l) 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 antígenos 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 infeções, 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 (H_2SO_4 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 asepticamente, 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.

- Diluir o Tampão de Lavagem Concentrado 1/20 com água desionizada ou destilada. Por exemplo, para preparar um litro de tampão de lavagem, adicionar 50 ml de Tampão de Lavagem Concentrado a 950 ml de água desionizada ou destilada.

B. Incubação das amostras séricas e dos controlos

- 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.
- Nota:** O diluente de Soro contém IgG anti-humana para remover os anticorpos IgG do soro Humano.
- 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.
- Cobrir as tiras com a tampa da placa e incubar durante 1h a 37°C numa câmara húmida.
- Eliminar o conteúdo líquido dos poços.
- Etapas de lavagem:** Encher cada poço com tampão de lavagem até ao topo do poço e eliminar o líquido, repetir esta etapa três vezes.
- Secar as tiras e o suporte, batendo suavemente sobre papel absorvente limpo.

C. Incubação com o conjugado

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

D. Incubação com o Substrato-TMB

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

E. Determinação dos Resultados

- 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.

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

Cálculo dos Resultados do Teste

Para normalizar os resultados obtidos nos diferentes testes, o cálculo das amostras em UA/ml deve ser realizado do seguinte modo:

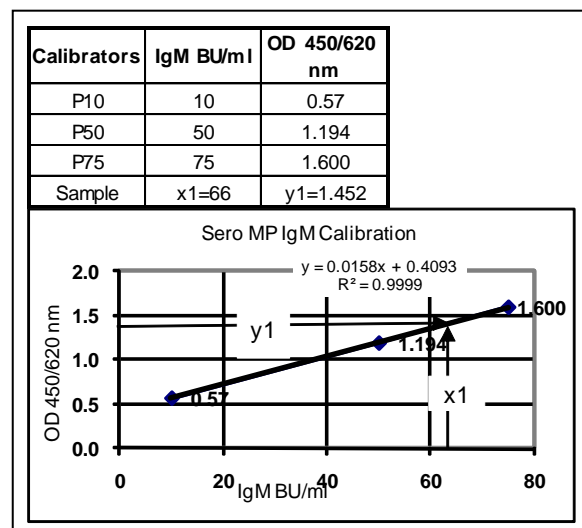
Método manual, usando um gráfico em papel milimétrico:

- 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.
- Desenhar a linha de tendência que melhor se ajusta aos pontos.
- 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 intercepção, desenhar uma linha vertical até ao eixo dos XX.

Ler a concentração da amostra em UA/ml.



Interpretação dos Resultados

IgM UA/ml	Resultado	Interpretação de Diagnóstico
< 10 UA/ml	Negativo Anticorpos IgM 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 IgM	Indicação de infecção activa <i>M. pneumoniae</i>

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

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

Reacções Cruzadas

Pacientes hospitalizados, infectados com patogénios 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 reacções cruzadas significativas.

Limitações do Teste

- Um teste serológico individual não deverá ser usado para o diagnóstico final. Deverão ser considerados todos os dados clínicos e laboratoriais.
- 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.

- 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

A sensibilidade e Especificidade do SeroMP™ IgM foi calculada com soros, testados e concordantes com 2 outros ensaios ELISA comerciais (resultados concordantes), em 22 soros obtidos a partir de pacientes hospitalizados com pneumonia e 21 soros obtidos a partir de dadores de sangue saudáveis.

		Resultados Concordantes	
		Positivo	Negativo
SeroMP™ IgM	Positivo	21	0
	Negativo	1	21

Sensibilidade: $21/22 \times 100 = 95\%$

Especificidade: $21/21 \times 100 = 100\%$

Concordância Total: $42/43 \times 100 = 98\%$

Precisão

Precisão intra-ensaios (aquando do teste)

Amostra	Nº de Réplicas	Valor Médio	CV%
Positivo	10	1.341	3.4%
Negativo	10	0.243	4.3%

Precisão inter-ensaios (entre testes):

Amostra	Nº de Réplicas	Valor Médio	CV%
Positivo	10	1.302	4.4%
Negativo	10	0.330	8.6%

Bibliografia

1. Liberman D., Schläffer 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., 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.



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