



SeroMP™ IgG

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) pro stanovení protilátek IgG proti *Mycoplasma pneumoniae* v lidském séru.

Testovací souprava pro 96 stanovení.
(Katalogové č. A261-01)

Testovací souprava pro 192 stanovení.
(Katalogové č. B261-01)

Skladujte při 2 – 8°C. **Nezmrazujte.**
Pouze pro *in vitro* stanovení.
Pouze pro profesionální použití.

Dovází: GALI spol. s r.o.

Libštát 314, 512 03

Tel. 481 689 050

Fax. 481 689 051

E-mail: info@gali.cz



Vyrábí: Savyon Diagnostics Ltd.

3 Habosem St. Ashdod 7761003

ISRAEL

Tel. +972.8.8562920

Fax. +972.8.8523176

E-mail: support@savyondiagnosics.com

Použití

SeroMP™ IgG kit je semi-quantitativní ELISA diagnostikum pro stanovení specifických IgG protilátek proti *Mycoplasma pneumoniae* v lidském séru.

Test SeroMP IgG slouží jako pomůcka při diagnostice *Mycoplasma pneumoniae*. Stanovení též umožňuje diagnostiku probíhající infekce vyšetřením párových sér odebraných po 2-4 týdnech. Určující je zde vzestup protilátek.

Pro *In Vitro* diagnostické účely.

Úvod

M. pneumoniae je běžným případem populačně-získané pneumonie, počátek je často charakteristický bolestí hlavy, horečkou, nevolností, a typickým suchým kašlem.

M.pneumoniae je běžná ve všech věkových skupinách, nejběžnější je však u lidí v prvních dvou dekadách života, a zřídka se vyskytuje u dětí mladších 4 let. Bylo publikováno, že *M.pneumoniae* je příčinou více jak 30% všech případů pneumonií(1).

M.pneumoniae bývá také často spojována s nerespiračními onemocněními, jako je: meningitida, encefalitida, pankreatitida, sensorineurální ztráta sluchu, a akutní mozkový syndrom (2).

Vzhledem k častému výskytu, by bylo dobré mít na zřeteli *M.pneumoniae* ve všech případech pneumonie. Vzhledem ke stejným symptomům u různých agens, se doporučuje používat jako diagnostické pomůcky serologické testy(3).

ELISA metoda je citlivá, specifická a umožňuje diferenciální diagnostiku specifických IgA, IgG a IgM protilátek(4). Specifické protilátky proti *M. pneumoniae* ve třídě IgM stoupají brzo po nástupu onemocnění, maxima dosahují za 1 až 4 týdny, během 5 měsíců klesají pod detekovatelnou hladinu (5). Vzhledem k časnému nástupu protilátek, a k jejich poměrně krátkému výskytu, umožňuje detekce IgM protilátek, diagnostiku akutní infekce, užitím pouze jednoho séra pacienta. U mladých pacientů se nacházejí vyšší titry IgM než u dospělých (6). IgG protilátky stoupají pomaleji než IgM, ale zůstávají detekovatelné o mnoho déle. Významný vzestup hladiny protilátek u párových sér (odběr nejméně po 2 týdnech) může vypovídat o probíhající infekci nebo o reinfekci i v případě negativních IgM protilátek. Vysoké titry protilátek ve třídě IgA se vyskytují u postarších pacientů (5). Diagnostika ve třídě IgA se zdá být u dospělých, pro zjištění současné infekce, užitečnější(6).

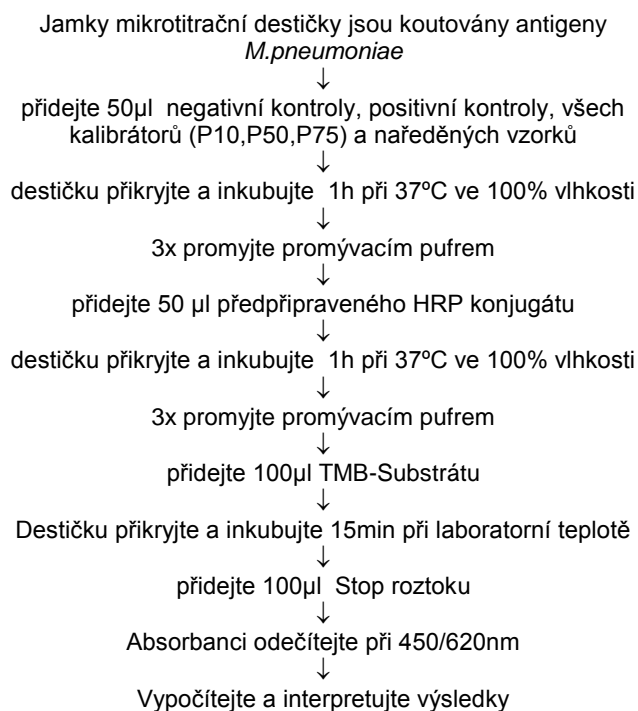
Savyon® Diagnostics Ltd. vyvinul semi-quantitativní ELISA testy, schopné měřit změnu hladiny protilátek ve třídách IgG, IgA, a IgM. Antigen použitý v těchto SeroMP™ soupravách je membránově připravený z *M.pneumoniae* a obsahuje P1 membránový protein, což je nejdůležitější imunogen (7, 8, 9, 10, 11).

SeroMP™ test umožňuje časnou a přesnou detekci specifických protilátek proti *M. pneumoniae* ve třídách IgG, IgA a IgM.

Princip stanovení

- SeroMP™ mikrotitrační destička je koutovaná čištěnou frakcí membránových proteinů *M. pneumoniae*.
- Naředěné testované sérum, se inkubuje v jamkách mikrotitrační destičky. Specifická protilátka přítomná v séru pacienta se naváže na antigen navázaný na mikrodestičce.
- Nespecifické protilátky jsou odstraněny promytím.
- Dále se přidává anti-lidská IgG protilátka konjugovaná s křenuvou peroxidázou (HRP). Jestliže v prvním kroku vznikl komplex antigen-protilátka, HRP značená protilátka se naváže na protilátku a vytvoří komplex.
- Nenavázaný konjugát je odstraněn promytím.
- V dalším kroku je do jamek přidáván chromogenní substrát, který při pozitivní enzymatické reakci vytvoří modré zbarvení.
- Enzymatická reakce je ukončena stop roztokem (1M H₂SO₄). Modré zbarvení se změní na žluté. Absorbance se měří při 450/620 nm.
- Hodnota absorbance je proporcionálně úměrná hladině specifických protilátek navázaných na koutované antigeny.

Přehled kroků



Součásti kitu

Souprava na 96 stanovení

Kat.č. A261-01

1. **Mikrotitrační destička koutovaná antigenem *M.pneumoniae*:** 96 odlamovatelných jamek (8x12) koutovaných antigeny *M.pneumoniae*, zabalené v hliníkové fólii se sušidlem.
1 destička
2. **Koncentrovaný promývací pufr (20X):** PBS - Tween pufr.
1 lahvička, 100 ml
3. **Roztok k ředění sér (modrý):** Roztok pufru, v pracovní koncentraci, s obsahem méně než 0.05% proclinu jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 60 ml
4. **Positivní kontrola:** V pracovní koncentraci. Lidské sérum pozitivní na IgG. S obsahem méně než 0.05% proclinu a méně než 0,1% azidu sodného jako konzervačního prostředku..
1 lahvička, 2.0 ml
5. **Negativní kontrola:** V pracovní koncentraci. Lidské sérum negativní na IgG. S obsahem méně než 0.05% proclinu a méně než 0,1% azidu sodného jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 2.0 ml
6. **P10 kalibrátor:** V pracovní koncentraci. Koncentrace 10 BU/ml (arbitrary binding units) specifických IgG protilátek proti *M.pneumoniae*. S obsahem méně než 0.05% proclinu a méně než 0,1% azidu sodného jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 2.0 ml
7. **P50 kalibrátor:** V pracovní koncentraci. Koncentrace 50 BU/ml (arbitrary binding units) specifických IgG protilátek proti *M.pneumoniae*. S obsahem méně než

0.05% proclinu a méně než 0,1% azidu sodného jako konzervačního prostředku.

1 lahvička, 2.0 ml

8. **P75 kalibrátor:** V pracovní koncentraci. Koncentrace 75 BU/ml (arbitrary binding units) specifických IgG protilátek proti *M.pneumoniae*. S obsahem méně než 0.05% proclinu a méně než 0,1% azidu sodného jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 2.0 ml
9. **Předpřipravený HRP konjugát (zelená barva):** Křenová peroxidáza (HRP) konjugovaná s anti-lidskou IgG (γ řetězec specifický). Obsahuje méně než 0.05% proclinu jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 10 ml
10. **TMB substrát:** v pracovní koncentraci, obsahuje 3,3',5,5'- tetramethylbenzidin jako chromogen a peroxid jako substrát
1 lahvička, 14 ml
11. **Stop roztok:** V pracovní koncentraci.. Obsahující 1M H₂SO₄.
1 lahvička, 15 ml
12. **Fólie na přikrytí destiček:** **1**
13. **Návod k použití:** **1**

Souprava na 192 stanovení

Kat.č. B261-01

1. **Mikrotitrační destička koutovaná antigenem *M.pneumoniae*:** 96 odlamovatelných jamek (8x12) koutovaných antigeny *M.pneumoniae*, zabalené v hliníkové fólii se sušidlem.
2 destičky
2. **Koncentrovaný promývací pufr (20X):** PBS - Tween pufr.
2 lahvičky, 100 ml v každé
3. **Roztok k ředění sér (modrý):** Roztok pufru, v pracovní koncentraci, s obsahem méně než 0.05% proclinu jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 60 ml
4. **Positivní kontrola:** V pracovní koncentraci. Lidské sérum pozitivní na IgG. S obsahem méně než 0.05% proclinu a méně než 0,1% azidu sodného jako konzervačního prostředku..
1 lahvička, 2.0 ml
5. **Negativní kontrola:** V pracovní koncentraci. Lidské sérum negativní na IgG. S obsahem méně než 0.05% proclinu a méně než 0,1% azidu sodného jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 2.0 ml
6. **P10 kalibrátor:** V pracovní koncentraci. Koncentrace 10 BU/ml (arbitrary binding units) specifických IgG protilátek proti *M.pneumoniae*. S obsahem méně než 0.05% proclinu a méně než 0,1% azidu sodného jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 2.0 ml
7. **P50 kalibrátor:** V pracovní koncentraci. Koncentrace 50 BU/ml (arbitrary binding units) specifických IgG protilátek proti *M.pneumoniae*. S obsahem méně než 0.05% proclinu a méně než 0,1% azidu sodného jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 2.0 ml
8. **P75 kalibrátor:** V pracovní koncentraci. Koncentrace 75 BU/ml (arbitrary binding units) specifických IgG protilátek proti *M.pneumoniae*. S obsahem méně než 0.05% proclinu a méně než 0,1% azidu sodného jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 2.0 ml

9. **Předpřipravený HRP konjugát (zelená barva):**
Křenová peroxidáza (HRP) konjugovaná s anti-lidskou IgG (γ řetězec specifický). Obsahuje méně než 0.05% proclinu jako konzervačního prostředku.
1 lahvička, 20 ml
10. **TMB substrát:** v pracovní koncentraci, obsahuje 3,3',5,5'- tetramethylbenzidin jako chromogen a peroxid jako substrát
1 lahvička, 24 ml
11. **Stop roztok:** V pracovní koncentraci.. Obsahující 1M H₂SO₄.
1 lahvička, 30 ml
12. **Fólie na přikrytí destiček:** **2**
13. **Návod k použití:** **1**

Potřebný materiál, nedodávaný v soupravě

1. naprosto čisté zkumavky pro ředění séra pacienta
2. plastové zkumavky na jedno použití pro ředění HRP konjugátu
3. vhodné mikropipety nebo multi-kanálové pipety (5-50, 50-200 a 200-1000 μ l) a špičky
4. jednolitrová volumetrická láhev
5. 50 ml volumetrický válec
6. promývací nádoba
7. filtrační papír
8. vortexové míchadlo
9. vodní lázeň s víčkem (37 \pm 1°C) nebo mlžná komora umístěná v inkubátoru (37 \pm 1°C)
10. reader s filtrem 450 / 620nm pro měření mikrodestiček
11. destilovaná nebo dvakrát deionizovaná voda.

Upozornění

Pouze pro in-vitro diagnostické použití!

- Tato souprava obsahuje lidská séra, která byla testována technikami podle FDA. Séra jsou negativní na HBsAg a protilátky proti HCV a HIV, nicméně, jelikož žádná známá metoda nemůže zaručit s úplnou jistotou, že výrobky derivované z lidské krve nepřenášejí infekci, se všemi komponenty z lidské krve, obsaženými v této soupravě se musí zacházet jako s potencionálně infekčním sérem nebo krví, způsobem identickým (nebo podobným) s doporučením publikovaným v CDC/NIH manuálu „Biobezpečnost mikrobiologických a lékařských laboratořích“, 1988.
- Roztok chromogenního substrátu působí dráždivě na pokožku a mukózní membrány. Vyvarujte se přímého kontaktu.
- Všechny součásti kitu jsou kalibrovány na danou šarži. Kombinování součástí kitů různých šarží může ovlivnit výsledek stanovení.
- Kyselina sírová 1M, je pro oči a pokožku dráždivá. V případě kontaktu s oční sliznicí, vyplachujte oko proudem vody.

Uchovávání a trvanlivost reagensů

1. Všechny dodávaný materiál je nutno skladovat při teplotě 2 až 8°C. Reagencie, uchovávané při teplotě 2 až 8°C, jsou stabilní do data expirace,

vyznačeného na obalu soupravy. Expozice složek soupravy obyčejné teplotě po dobu několika hodin nepůsobí zničení reagensů. **Reagencie nezmrazujte.**

2. Životnost kitu po otevření je 90 dní.
3. Nepoužité stripy se musí skladovat v hliníkové fólii společně se sušidlem.
4. V 20x koncentrovaném promývacím pufru se mohou během skladování tvořit krystalky. Toto je běžné. Krystalky rozpustíte zahřátím pufru na 37°C ještě před jeho ředěním. Naředěný pufr skladujte při 2-8°C a to po dobu maximálně 21 dní.

Odběr vzorků

Vzorky sér se odebírají asepticky standardními technikami. Tepelně inaktivovaná séra nemohou být použita. Nedoporučuje se použití lipemických, zakalených a kontaminovaných sér. Drobné částice a sraženiny v séru mohou způsobovat chybné výsledky. Tyto vzorky by měly být před stanovením vyčeřeny centrifugací nebo filtrací.

Skladování vzorků

Vzorky by se měly skladovat při teplotě 2-8°C pokud jsou testovány během 7 dní (doporučuje se přidavek 0,1% azidu sodného). Pro delší uchování je nutno alikvoty séra uchovávat při teplotě -20°C. Vyhněte se opakovanému mrazení a rozmrazování séra.

Pracovní postup - Ruční

Aplikační listy pro automatické zpracování jsou na vyžádání

A. Příprava reagensů.

1. Všechny testovací reagentie a vzorky před použitím vytemperujte na laboratorní teplotu. Před použitím dobře promíchejte kalibrátory (P10, P50, P75) negativní kontrolu, pozitivní kontrolu a testované vzorky sér.
2. Určete celkové množství jamek potřebných na testování. Kromě vzorků pacienta musí být v každém měření zahrnuta jedna jamka pro blank, jedna pro negativní kontrolu, pozitivní kontrolu a tři jamky pro kalibrátory (P10, P50, P75).
3. Vyjměte mikrodestičku z hliníkové folie rozstřížením jednoho konce blízko sváru. Odeberte potřebné množství stripů (odpovídající množství testovaných vzorků) z 96 jamkového rámečku.
4. Zředte 1/20 koncentrovaný promývací pufr deionizovanou nebo destilovanou vodou. Pro příklad: pro přípravu 1 L promývacího pufru přidejte k 50ml koncentrovaného roztoku promývacího pufru 950ml dvakrát deionizované nebo destilované vody.

B. Inkubace vzorků sér a kontrol.

5. naředte každý vzorek pacienta v poměru 1/105 dodávaným roztokem k ředění sér, následovně: přidejte 10 μ l séra pacienta k 200 μ l roztoku pro ředění sér (1/21). A následně přidejte 25 μ l takto získaného roztoku 1/21 ke 100 μ l roztoku k ředění sér.
6. Pipetujte 50 μ l blanku (roztok k ředění sér), 50 μ l negativní kontroly, pozitivní kontroly, tři kalibrátory (P10, P50, P75) a sér naředěných v poměru 1/105 do příslušných jamek na stripu.

7. Přikryjte strip víčkem a dejte inkubovat na 1 hodinu do mlžné komory (37°C).
8. Odstraňte přebytečné tekutiny z jamek.
9. **Promývací krok:** naplňte každou jamku promývacím pufrům (300-350µl) po okraj a poté tekutinu odstraňte. Postup opakujte 3x.
10. Osušte stripy a rámeček jemným poklepáním na absorpčním papíru.

C. Inkubace s konjugátem.

11. Do každé jamky přidejte 50 µl předpřipraveného HRP konjugovaného s anti-lidskou IgG, následně překryjte stripy víčkem (fólií) a inkubujte po dobu 1 hodiny při 37°C ve vlhké komoře.
12. Odstraňte přebytečné tekutiny z jamek a proveďte promývací krok, jak je uvedeno v bodě 9-10.

D. Inkubování s TMB-substrátem.

13. Odpipetujte 100µl roztoku TMB-Substrátu do každé z jamek, přikryjte víčkem a inkubujte při laboratorní teplotě 15 min.
14. Reakci ukončete přidáním 100µl roztoku Stop roztoku (1 M H₂SO₄) do každé z jamek.

E. Odečtení výsledků.

15. Proměřte absorbanci při 450/620 nm a výsledek zapište. Odečtení může být provedeno do 30 min od zastavení chromogenní reakce.

Pozn.: Před odečtením nesmí jamka obsahovat žádné bublinky. Dno destičky musí být opatrně otřeno.

Validita testu

Test je validní, jestliže jsou splněna následující kritéria: Pokud nejsou splněny tyto podmínky, není test validní a musí být zopakován.

1. O.D._{P75} > **0.9**
2. Poměr: O.D._{P10} / O.D._{NC} > **1.5**
3. Poměr: O.D._{P50} / O.D._{NC} > **4**
4. Poměr: O.D._{P75} / O.D._{NC} > **5.5**
5. PC by měl být ≥ 30 BU/ml

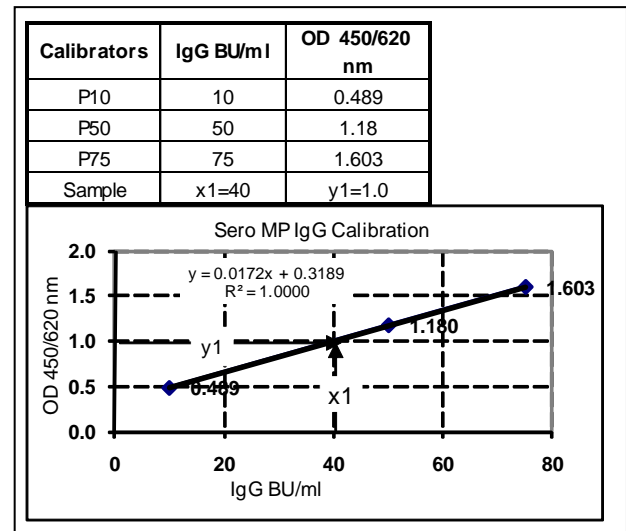
Výpočet výsledků

Manuální metoda, kde se používá milimetrový papír:

1. Vyneste hodnoty absorbance (OD) všech tří kalibračních standardů (P10, P50 a P75) na osu y proti jejich koncentracím v jednotkách BU/ml na ose x.
2. Vzniklými body vhodně proložte základní lineární křivku.
3. Použitím standardní křivky odečítejte hodnoty testovaných vzorků (v jednotkách BU/ml) z naměřených absorbancí jednotlivých testovaných vzorků pacientů (viz př.1).

Příklad 1. Interpolace výsledků:

Na osu Y vyneste hodnoty absorbance vzorku (Y1) a nakreslete horizontální čáru ke kalibrační křivce. Z daného bodu vedte vertikální čáru k ose X. Odečtěte koncentraci vzorku v BU/ml.



Interpretace výsledků

IgG BU/ml	Výsledek	Diagnostická Interpretace
< 10 BU/ml	Negativní Nedetektovatelná hladina IgG protilátek	Neindikuje infekci <i>M. pneumoniae</i>
≥10BU/ml ≤ 20 BU/m	Hraniční	Po 2-4 týdnech by se měl odebrat druhý vzorek, a testovat paralelně s prvním. Pokud je i druhý vzorek hraniční, vzorek se považuje za negativní.
>20 BU/ml	Positivní Významná hladina IgG protilátek.	Indikuje probíhající nebo nedávné <i>M. pneumoniae</i> infekci¹

¹ K rozlišení mezi proběhlou a probíhající infekcí se doporučuje odebrat druhý vzorek za 2-4 týdny. Pokud se hodnota druhého vzorku v BU/ml významně zvýší jedná se o probíhající infekci.

K posouzení, zda rozdíl mezi dvěma měřeními je významný slouží následující výpočet:

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

BU1 = Koncentrace prvního vzorku v BU/ml

BU2 = Koncentrace druhého vzorku v BU/ml

Jestliže **R ≥ 1.55**, rozdíl je statisticky významný (p=0.005)

Ke získání kompletního protilátkového profilu, by mělo být testováno IgA, IgM a IgG

Interpretace výsledků založených na detekci IgA, IgM a IgG protilátek.

Hladina <i>M. pneumoniae</i> protilátek			
IgG	IgM	IgA	
Negativní	Negativní	Negativní	Neindikuje infekci <i>M. pneumoniae</i>
Negativní nebo Positivní	Positivní	Negativní nebo Positivní	Indikuje probíhající <i>M. pneumoniae</i> Infekci
Positivní	Negativní	Negativní	Indikuje proběhlou infekci
Negativní nebo Positivní	Negativní	Positivní	Indikuje probíhající <i>M. pneumoniae</i> Infekci nebo re-infekci

Zkřížená reaktivita

Hospitalizovaní pacienti, infikovaní respiračními patogeny: *Chlamydia pneumoniae*, *Influenza A.*, *Influenza B.*, *Parainfluenza 1, 2 a 3* stejně jako *Adenovirus* a *EBV*, diagnostika byla provedena komerčně dostupnými kity. Tyto pacienti byli testováni kitem SeroMP kit.

Většina sér byla shledána negativní, nebyla detekována žádná zkřížená reaktivita.

Omezení testu

- Jednotlivé serologické testy nemohou být používány jako jediné kritérium pro stanovení diagnózy. Musí se brát v úvahu všechny klinické a laboratorní výsledky.
- Vzorky, které byly odebrány příliš brzo během primární infekce nemusí obsahovat detekovatelné množství protilátek. Pokud je podezření na mycoplasmovou infekci, měl by se během 2-4 týdnů odebrat další vzorek na analýzu. Ten by se měl testovat paralelně s prvním vzorkem.
- Používání lipemických, turbidních a kontaminovaných sér se nedoporučuje. Zakalení a precipitace v sérech může být příčinou špatných výsledků. Tyto vzorky by měly být před testováním vyčištěny centrifugací nebo filtrací.

Chování testu

Sensitivita a Specificita

Sensitivita a Specificita SeroMP™ IgG byla stanovena užitím jiných dvou komerčních testů (Consensus Results). Bylo testováno 63 sér pozitivních pacientů a 67 sér zdravých dárců.

		Consensus Results	
		Positivní	Negativní
SeroMP IgG	Positivní	61	0
	Negativní	2	67

Sensitivita: $61/63 \times 100 = 96.8\%$

Specificita: $67/67 \times 100 = 100\%$

Celková shoda: $128/130 \times 100 = 98.5\%$

Přesnost

Intra-assay (uvnitř běhu)

Vzorek	Počet opakování	Střední hodnota	CV%
Positivní	10	1.328	4,3%
Negativní	10	0.185	6,7%

Inter assay (mezi běhy)

Vzorek	Počet opakování	Střední hodnota	CV%
Positivní	10	0.963	3,2%
Negativní	10	0.189	13,2%

Literatura

- Liberman D., Schlafter 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.
- 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
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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