

Prevalência de *Chlamydia Pneumoniae* e *Mycoplasma Pneumoniae* em Diferentes Formas da Doença Coronariana

Prevalence of *Chlamydia Pneumoniae* and *Mycoplasma Pneumoniae* in Different Forms of Coronary Disease

Irineu Luiz Maia^{1,2}, José Carlos Nicolau³, Maurício de Nassau Machado^{1,2}, Lília Nigro Maia^{1,2}, Isabela Thomaz Takakura², Paulo Ricardo de Fernando Rocha², José Antônio Cordeiro¹, José Antônio Franchini Ramires³

Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (Famerp)¹, Hospital de Base de São José do Rio Preto², Instituto do Coração - Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor - USP)³, São José do Rio Preto, SP; São Paulo, SP - Brasil

Resumo

Fundamento: Vários agentes infecciosos foram investigados desde que se demonstrou a associação entre infecção e aterosclerose, porém os resultados desses estudos são conflitantes.

Objetivo: Testar a associação entre títulos séricos de anticorpos anti-*Chlamydia* e anti-*Mycoplasma* em diferentes formas de síndromes coronarianas agudas (SCA).

Métodos: Cento e vinte e seis pacientes foram divididos em quatro grupos: SCA com elevação do segmento ST (32 pacientes), SCA sem elevação do segmento ST (30 pacientes), doença arterial coronariana crônica (30 pacientes) e doadores de sangue sem doença coronariana conhecida (34 pacientes – grupo-controle). Nos primeiros dois grupos, amostras de soro foram coletadas na admissão (primeiras 24 horas de hospitalização) e após 6 meses de seguimento. Nos outros dois grupos, colheu-se apenas uma amostra basal. Em todas as amostras, anticorpos IgG anti-*Chlamydia* e anti-*Mycoplasma* foram dosados por imunofluorescência indireta.

Resultados: Diferenças significativas foram observadas entre a medida basal e após 6 meses de seguimento nos pacientes com infarto do miocárdio com elevação do segmento ST, tanto para *Chlamydia* ($650 \pm 115,7$ vs. $307 \pm 47,5$, $p = 0,0001$) quanto para *Mycoplasma* ($36,5 \pm 5,0$ vs. $21,5 \pm 3,5$, $p = 0,0004$). Os grupos com SCA tiveram níveis séricos de anticorpos anti-*Chlamydia* e anti-*Mycoplasma* mais altos na dosagem basal, em relação aos pacientes com doença arterial coronariana crônica e grupo-controle, mas as diferenças obtidas não tiveram significância estatística.

Conclusão: O presente estudo mostrou associação entre os títulos de anticorpos anti-*Chlamydia* e anti-*Mycoplasma* na fase aguda dos pacientes com angina instável ou infarto do miocárdio. (Arq Bras Cardiol 2009;92(6):439-445)

Palavras-chave: *Chlamydia pneumoniae*, *mycoplasma pneumoniae*, aterosclerose, doença da artéria coronariana.

Summary

Background: Several infectious agents have been investigated since the association between atherosclerosis and infection was demonstrated; however, the results of these studies are contradictory.

Objective: To test the association between serum titers of anti-*Chlamydia* and anti-*Mycoplasma* antibodies in different forms of acute coronary syndromes (ACS).

Methods: One hundred and twenty-six patients were divided in 4 groups: ACS with ST-segment elevation (32 patients), ACS without ST-segment elevation (30 patients), chronic coronary artery disease (30 patients) and blood donors without known coronary disease (34 patients - control group). In the two first groups, serum samples were collected at hospital admission (first 24 hours of hospitalization) and after a 6-month follow-up. In the other two groups, only a basal sample was collected. Anti-*Chlamydia* and anti-*Mycoplasma* antibodies were measured by indirect immunofluorescence in all samples.

Results: Significant differences were observed between the basal sample and the one measured after a 6-month follow-up in patients with myocardial infarction with ST-segment elevation for *Chlamydia* (650 ± 115.7 versus 307 ± 47.5 , $p=0.0001$) as well as *Mycoplasma* (36.5 ± 5.0 versus 21.5 ± 3.5 , $p=0.0004$). The groups with ACS had higher anti-*Chlamydia* and anti-*Mycoplasma* serum antibody levels in the basal measurement, when compared to the patients with chronic coronary disease and the control group, but the differences were not statistically significant.

Conclusion: The present study showed an association between the serum titers of anti-*Chlamydia* and anti-*Mycoplasma* antibodies in the acute phase of patients with unstable angina or myocardial infarction. (Arq Bras Cardiol 2009;92(6):405-411)

Key words: *Chlamydia pneumoniae*; *mycoplasma pneumoniae*, atherosclerosis; coronary artery disease.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Irineu Luiz Maia •

Rua Raul de Carvalho 3862, Alto Rio Preto, 15020-020, São José do Rio Preto, SP - Brasil
E-mail: maia@famerp.com.br

Artigo recebido em 16/11/2007; revisado recebido em 06/05/2008; aceito em 30/05/2008.

Introdução

Desde 1978, quando se demonstrou pela primeira vez a associação entre infecção e aterosclerose¹, vários agentes infecciosos foram investigados². Dentre esses, é a *Chlamydia pneumoniae* (Cp) que apresenta maiores evidências quanto à sua participação na doença aterosclerótica estável, no infarto agudo do miocárdio (IAM) e no acidente vascular cerebral (AVC)³⁻⁷.

Entretanto, os resultados contraditórios dos estudos que testaram os efeitos de antibióticos anti-Cp na redução de eventos cardiovasculares colocaram em dúvida a participação da infecção e, mais especificamente, da Cp na doença aterosclerótica.

Em 2000, Higuchi e cols.^{8,9}, em estudo de peças de necropsia, além de confirmarem uma alta quantidade de células infectadas pela Cp em placas ateroscleróticas rotas, demonstraram de forma pioneira a presença de um outro agente infeccioso no local, posteriormente identificado como *Mycoplasma pneumoniae* (Mp)^{8,9}.

Esse agente infeccioso comporta-se como superantígeno e necessita do colesterol para sobreviver, uma vez que sua membrana é constituída dessa substância¹⁰. Do ponto de vista fisiopatológico, uma hipótese atraente seria a de que o Mp funcionaria como um “gatilho” para a ativação da Cp, promovendo assim a instabilidade da placa aterosclerótica coronariana.

Esse estudo-piloto foi planejado para avaliar, por meio de investigação sorológica, o papel desses dois agentes bacterianos no desencadeamento de eventos isquêmicos coronarianos agudos.

Métodos

Desenho do estudo

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa local, e todos os pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

No período de março de 2002 a novembro de 2004, foram incluídos de forma prospectiva 138 pacientes, sendo:

a) 34 pacientes portadores de IAM com supradesnivelamento do segmento ST (idade média de 55,1±1,7 anos, sendo 73,5% do sexo masculino);

b) 40 pacientes portadores de angina instável ou IAM sem supradesnivelamento do segmento ST (idade média de 60,1±2,1 anos, sendo 52,5% do sexo masculino);

c) 30 pacientes portadores de aterosclerose crônica, assintomáticos ou portadores de angina estável (idade média de 65,9±2,0 anos, sendo 63,3% do sexo masculino);

d) 34 indivíduos sem doença coronariana conhecida, doadores de sangue (idade média de 42,5±1,2 anos, sendo 64,7% do sexo masculino).

Objetivo primário

O objetivo principal do estudo foi testar a associação entre títulos sorológicos de anticorpos anti-*Chlamydia pneumoniae* e anti-*Mycoplasma pneumoniae* (anti-Cp e anti-Mp) e síndromes isquêmicas miocárdicas instáveis (SIMI).

Crítérios de inclusão

Foram incluídos pacientes de ambos os sexos com idade acima de 18 anos, após terem assinado o termo de consentimento informado. Os diferentes grupos foram assim definidos:

a) SIMI com supradesnivelamento do segmento ST

Pacientes que apresentavam dor com características anginosas ≤ 24 horas de evolução, que preencheram pelo menos dois dos seguintes critérios de IAM:

- *Clínicos*: dor retroesternal de forte intensidade e caráter opressivo, duração superior a 20 minutos, que não cedeu com o uso de nitratos.

- *Eletrocardiográficos*: supradesnivelamento do segmento ST ≥ 1 mm em pelo menos duas derivações periféricas e/ou supradesnivelamento do segmento ST ≥ 2 mm em pelo menos duas derivações consecutivas precordiais e/ou presença de bloqueio de ramo esquerdo.

- *Marcadores de necrose miocárdica*: elevação de pelo menos duas vezes em relação aos valores normais da CKMB atividade (normal até 25 U/l) e/ou troponina T (normal até 0,010 ng/ml).

b) SIMI sem supradesnivelamento do segmento ST

Pacientes que apresentavam dor com características anginosas ≤ 24 horas de evolução, com (IAM sem supradesnivelamento do segmento ST) ou sem (angina instável) elevação dos biomarcadores de necrose miocárdica (CKMB e/ou troponina T). Foram selecionados nesse grupo apenas pacientes de alto risco, de acordo com a classificação da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC)¹¹.

- Idade > 75 anos.

- Dor progressiva, sintomas nas últimas 48 horas.

- Dor prolongada (> 20 min), em repouso.

- Edema pulmonar, piora ou surgimento de sopro de regurgitação mitral, B3, hipotensão, bradicardia e taquicardia.

- Infradesnivelamento do segmento ST ≥ 0,5 mm (associado ou não com angina), alteração dinâmica do ST, bloqueio completo de ramo, novo ou presumidamente novo. Taquicardia ventricular sustentada.

- Marcadores de isquemia acentuadamente elevados (> percentil 99).

c) Grupo aterosclerose crônica

Pacientes com doença aterosclerótica coronariana crônica assintomática ou com angina estável. A presença da doença foi definida pelos seguintes critérios:

- IAM prévio; e/ou

- Revascularização cirúrgica do miocárdio prévia; e/ou

- Intervenção coronariana percutânea prévia; e/ou

- Cineangiografiografia prévia demonstrando lesões obstrutivas de artérias coronárias.

d) Grupo-controle

Indivíduos selecionados aleatoriamente a partir dos doadores de sangue do Hospital de Base e que negavam a presença de qualquer doença aterosclerótica conhecida.

Critérios de exclusão

Foram excluídos os pacientes que apresentaram pelo menos um dos seguintes critérios:

- Dificuldade de compreensão do consentimento informado;
- Recusa em assinar o consentimento informado;
- Impossibilidade de retornar para o seguimento do estudo;
- Idade inferior a 18 anos;
- Tempo de evolução > 24 horas;
- Infecção ativa;
- Uso de antimicrobianos nos últimos 30 dias;
- Doenças terminais.

Metodologia da coleta sanguínea

Nos grupos portadores de SIMI com e sem supradesnívelamento ST, amostras sanguíneas foram colhidas em duas ocasiões, a primeira durante o evento agudo e a segunda 6 meses após. Nos outros dois grupos (aterosclerose crônica e controle), tais amostras foram coletadas apenas uma vez. Como a meia-vida dos anticorpos da classe IgG é de 30 dias, a coleta após 6 meses do evento agudo visou refletir os valores basais de uma pessoa infectada cronicamente, tanto pela Cp como pelo Mp.

Em todas as amostras, foram dosados os títulos de anticorpos anti-Cp e anti-Mp da classe IgG com os resultados expressos pelo maior valor da diluição em que a reação foi positiva.

Exames laboratoriais

Os exames sorológicos foram realizados por um único e experiente examinador, de forma cega e usando a técnica de imunofluorescência indireta¹².

Análise estatística

Os dados categóricos são apresentados em números absolutos e percentuais, e as variáveis contínuas em média \pm erro padrão (EP) para maior clareza. As variáveis contínuas não tiveram distribuição gaussiana e foram avaliadas por testes não-paramétricos (Kruskal-Wallis e Wilcoxon)¹³. Gráficos tipo *Box Plot* são apresentados em mediana e interquartis. Valores $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos (bicaudais). O software utilizado para a análise estatística foi o StatsDirect Statistics Software v. 2.6.5.

Resultados

O tamanho da amostra recomendado foi de 30 pacientes por grupo, totalizando 120 pacientes.

No decorrer do estudo, oito pacientes faleceram, sendo dois do grupo SIMI com supra ST e seis do grupo SIMI sem supradesnívelamento ST. Quatro pacientes do grupo SIMI sem supradesnívelamento ST não compareceram aos retornos pré-agendados e após várias tentativas malsucedidas de contato, foram considerados como perda de seguimento, e, portanto, nesses casos, não foi possível colher a segunda sorologia.

Essas perdas foram repostas, tendo sido incluídos no total 138 pacientes: 34 no grupo SIMI com supradesnívelamento ST; 40 pacientes no grupo SIMI sem supradesnívelamento ST; 30 pacientes no grupo aterosclerose crônica e 34 indivíduos no grupo-controle. Apenas os pacientes que realizaram todas as sorologias planejadas para o seu grupo foram incluídos em todas as análises realizadas no estudo.

Características clínicas dos pacientes

Na tabela 1, estão relacionadas as características clínicas dos 126 pacientes que realizaram todas as sorologias planejadas.

Tabela 1 – Características clínicas da população (126 pacientes)

Características clínicas n (%)	SIMI com supra ST (n = 32)	SIMI sem supra ST (n = 30)	DAC estável (n = 30)	Controle (n = 34)	Valor p
Idade (média \pm EP)	55,1 \pm 1,7	60,1 \pm 2,1	65,9 \pm 2,0	42,5 \pm 1,2	< 0,0001
Homens	24 (75)	17 (56,7)	19 (63,3)	22 (64,7)	0,5007
História de hipertensão	15 (46,9)	22 (73,3)	25 (83,3)	N/A	0,0065
História de diabete	4 (12,5)	6 (20,0)	5 (16,7)	N/A	0,7252
Tabagismo	22 (68,7)	11 (36,7)	16 (53,3)	N/A	0,0407
Angina prévia	15 (46,9)	21 (70,0)	8 (26,7)	N/A	0,0035
IAM prévio	7 (21,9)	10 (33,3)	20 (66,7)	N/A	0,001
História familiar de DAC	14 (43,7)	13 (43,3)	17 (56,7)	N/A	0,4977
Dislipidemia	12 (37,5)	10 (33,3)	27 (90,9)	N/A	<0,0001
Uso prévio de estatinas	4 (12,5)	3 (10,0)	24 (80,8)	N/A	< 0,0001
ICP prévia	3 (9,4)	3 (10,0)	8 (26,7)	N/A	0,104
RM prévia	2 (6,2)	3 (10,0)	14 (46,7)	N/A	< 0,0001

SIMI - síndromes isquêmicas miocárdicas instáveis; DAC - doença arterial coronária; EP - erro padrão; IAM - infarto agudo do miocárdio; ICP - intervenção coronária percutânea; RM - revascularização do miocárdio; supra - supradesnívelamento.

Artigo Original

Vale destacar a alta prevalência de fatores de risco encontrados no grupo aterosclerose crônica (83,3% eram hipertensos, 53,3% tabagistas e 90% dislipidêmicos).

Comparação entre as sorologias obtidas na admissão e 6 meses após internação nos grupos com e sem supradesnivelamento do segmento ST

Nos gráficos 1 e 2, demonstram-se os valores sorológicos colhidos na fase aguda do evento coronariano e 6 meses após, nos grupos com e sem supradesnivelamento do segmento ST, sendo essa análise o objetivo principal do estudo.

Os pacientes portadores de SIMI com supradesnivelamento apresentaram significativa redução dos títulos sorológicos nas coletas realizadas 6 meses após a internação, tanto em relação à Cp ($p = 0,0001$) quanto em relação ao Mp ($p = 0,0004$).

Não foi observado o mesmo comportamento sorológico no grupo sem supradesnivelamento do segmento ST, tanto para a Cp como para o Mp ($p = 0,27$ e $0,99$, respectivamente).

Comparação entre os valores sorológicos realizados no início do estudo

Os gráficos 3 e 4 comparam as diferenças sorológicas entre os diferentes grupos analisados (primeira amostra sorológica).

Notam-se, nos grupos que apresentaram isquemia miocárdica aguda (SIMI com e sem supradesnivelamento ST), valores sorológicos mais elevados comparados aos grupos que não tiveram evento agudo (aterosclerose crônica e controle),

tanto em relação à Cp quanto ao Mp, embora essas diferenças não tenham atingido significância estatística.

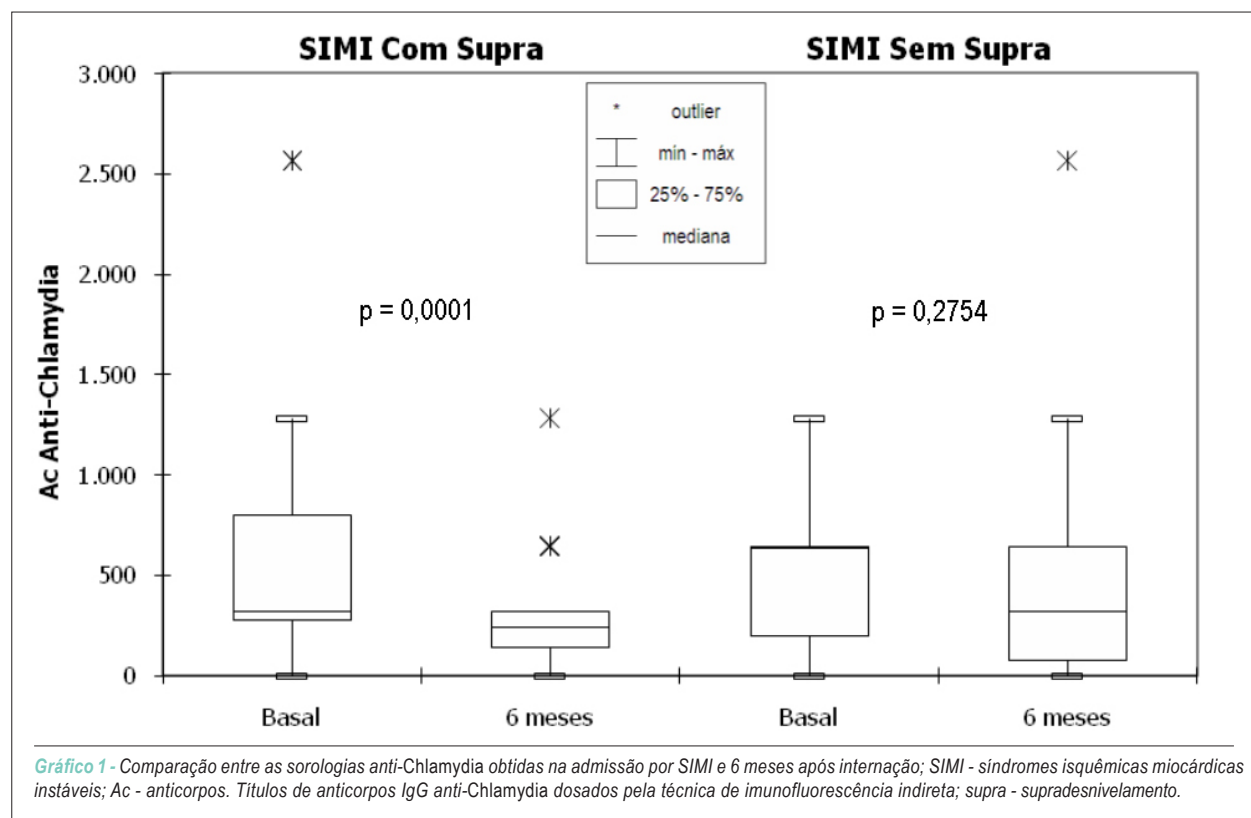
Discussão

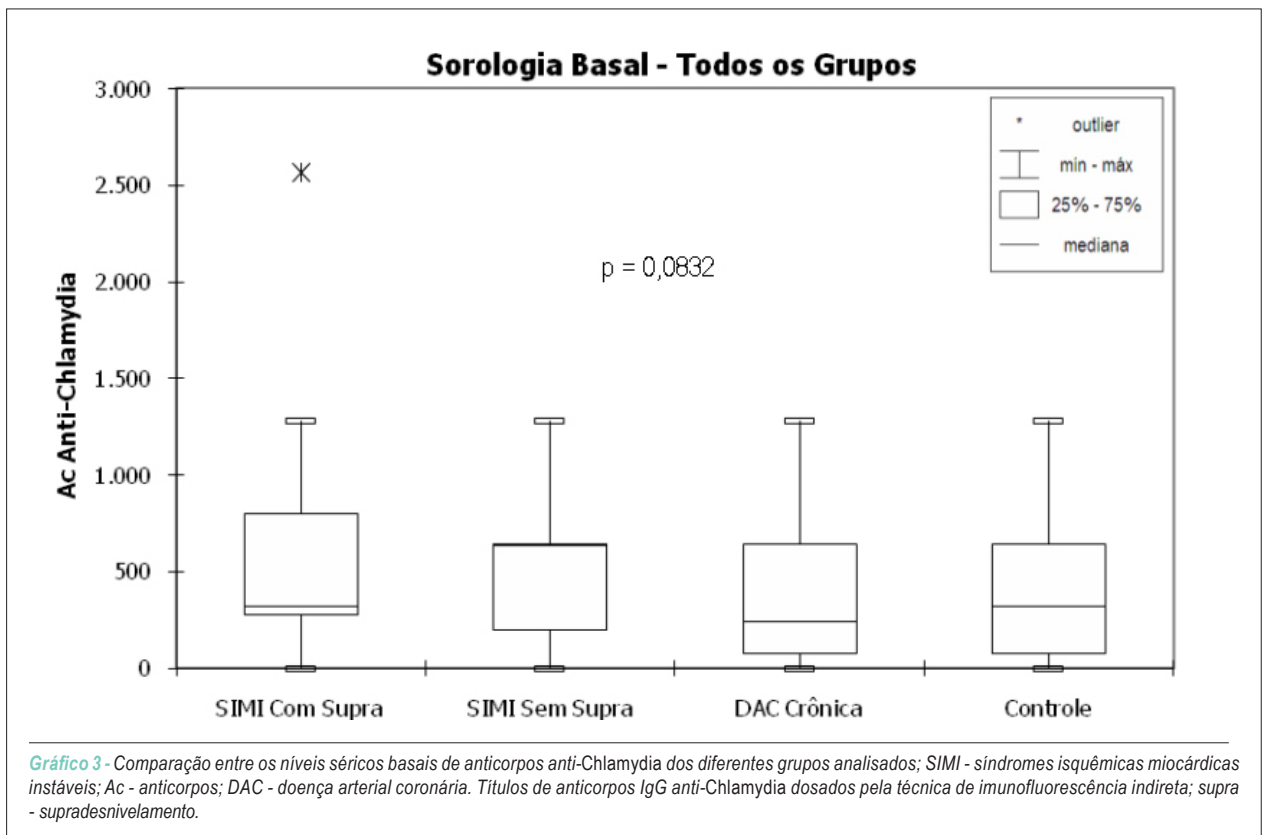
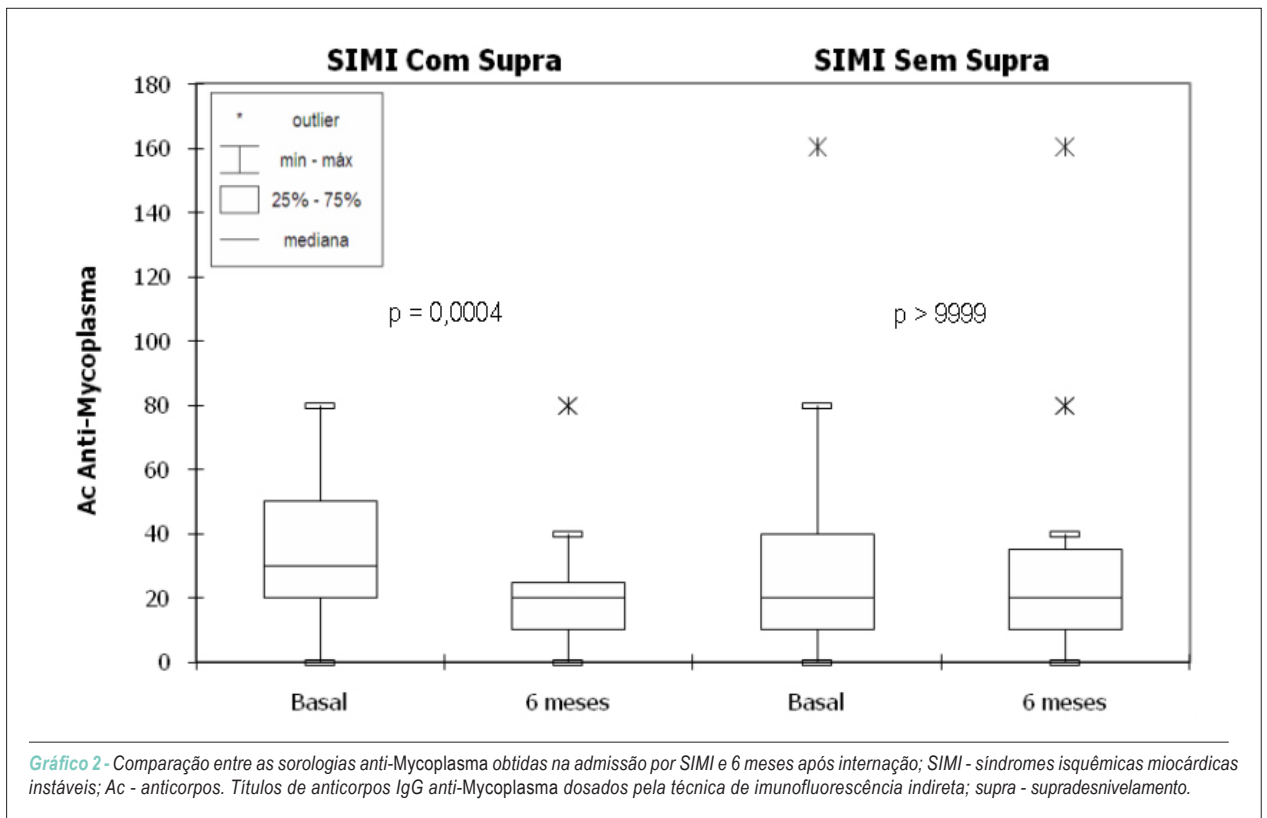
O presente estudo foi motivado pela necessidade de se avaliar, clinicamente, a presença concomitante do *Mycoplasma pneumoniae* e da *Chlamydia pneumoniae* em lesões ateromatosas coronarianas, descrita previamente por Higuchi e cols⁹ em achados de necropsia.

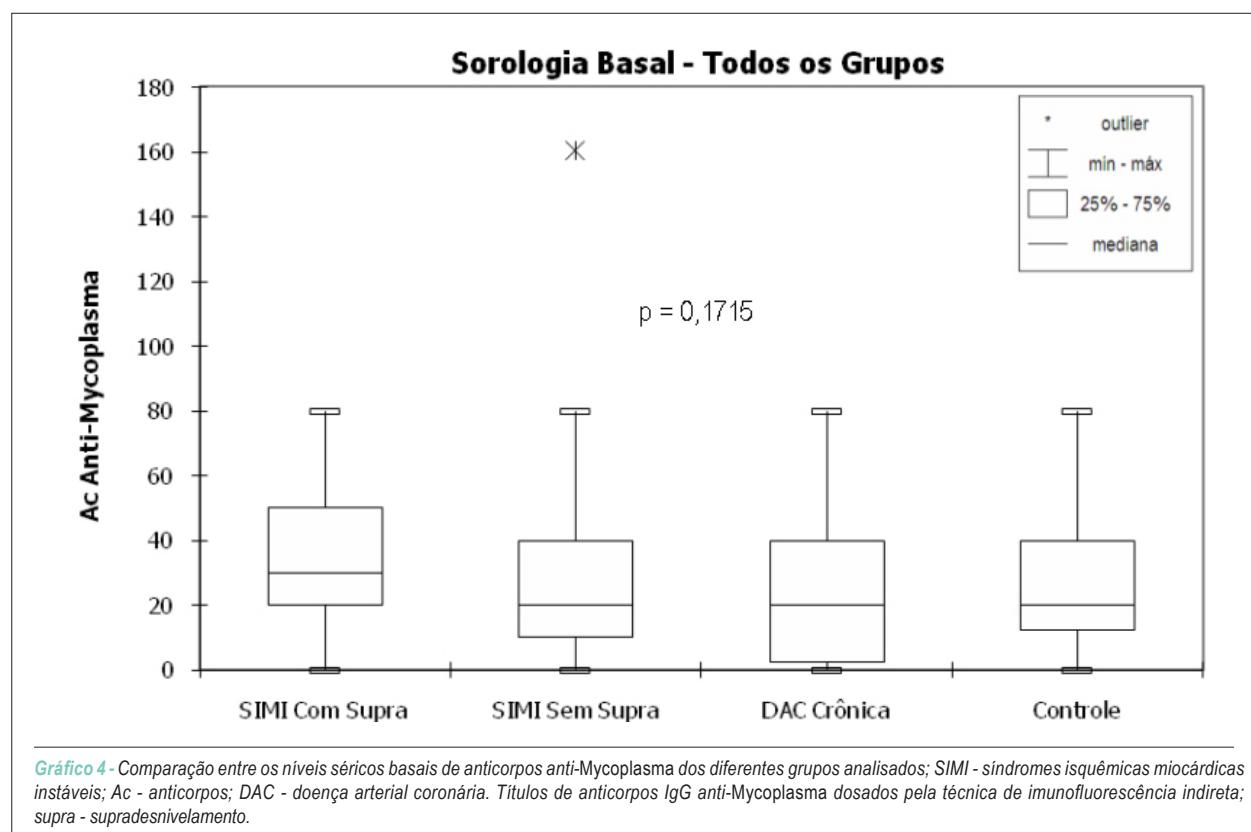
A *Chlamydia*, o *Mycoplasma* e outros agentes causadores de infecções respiratórias agudas são patógenos de alta prevalência, de forma que, a partir da idade adulta, a maioria da população já apresenta anticorpos nas avaliações soropidemiológicas. Por essa razão, não foi feito o pareamento para idade no grupo-controle, já que, na idade adulta, admite-se não existir relação entre os valores sorológicos e a faixa etária. Assim, ao serem escolhidos indivíduos mais jovens para este grupo (doadores de sangue), diminuiu-se também a possibilidade de doença arterial coronariana clinicamente não-detectável.

Optou-se pela imunoglobulina da classe IgG porque esta tem vida média de 20 a 30 dias e é o anticorpo (Ac) que melhor expressa a atividade do processo infeccioso, em decorrência de reinfecções prévias¹⁴.

Nos gráficos 1 e 2, observa-se, nos pacientes que apresentaram SIMI com supradesnivelamento, uma redução significativa dos títulos dos Ac anti-Cp e anti-Mp. Essa redução sugere fortemente que a *Chlamydia* e o *Mycoplasma* presentes na placa aterosclerótica estiveram em atividade, uma vez







que seria extremamente improvável que tivesse ocorrido reinfecção simultânea pelos dois agentes.

Poder-se-ia especular que a própria co-infecção da placa aterosclerótica poderia ter sido o “gatilho” que fez que esses dois agentes tivessem entrado em atividade, desencadeando a cascata inflamatória que, por sua vez, levaria ao evento coronariano agudo.

No grupo sem supradesnivelamento, observou-se apenas uma discreta redução não-significativa dos níveis sorológicos anti-Cp, com valores praticamente idênticos em relação ao Mp. Esses achados sugerem que, nesta forma de SIMI, ocorreria uma reativação infecciosa de menor intensidade, levando a menor dano da placa aterosclerótica.

Quando comparados os quatro grupos entre si, utilizando-se as amostras coletadas na primeira fase do estudo, observaram-se valores sorológicos mais elevados nos grupos que apresentaram evento coronariano agudo em relação aos outros dois grupos (aterosclerose crônica e controle, tanto em relação ao Ac anti-Cp quanto ao anti-Mp). Entretanto, as diferenças encontradas não atingiram significância estatística.

Tampouco foram observadas diferenças significativas dos níveis sorológicos entre os grupos aterosclerose crônica e controle, tanto para *Chlamydia* quanto para *Mycoplasma*. Esses dados sugerem que a participação do processo infeccioso poderia estar restrita apenas aos mecanismos de instabilidade da placa. Finalmente, demonstraram-se resultados similares entre os valores sorológicos encontrados

nos grupos controle e aterosclerose crônica; entretanto, não se pode descartar a possibilidade (a nosso ver remota) de que isso tenha ocorrido porque o grupo-controle já estaria com um processo aterosclerótico em andamento.

Torna-se difícil a comparação entre os resultados do presente estudo e os demais estudos soroepidemiológicos, uma vez que existem importantes diferenças metodológicas entre eles. A grande maioria desses estudos foi retrospectiva^{3,5,15-17}, e os poucos prospectivos utilizaram variadas técnicas de dosagem de Ac e diferentes critérios para positividade sorológica^{4,6,18}.

Alguns desses estudos demonstraram que uma alta carga de patógenos, ao atuar simultaneamente em um mesmo indivíduo, poderia exacerbar o processo aterosclerótico^{19,20}, o que vem de encontro aos achados do presente estudo.

Conclusões

O presente estudo demonstra associação entre títulos de anticorpos anti-Cp e de anti-Mp e doença coronariana aguda. Demonstra ainda a normalização daqueles títulos em um período de até 6 meses, a partir da instabilidade clínica do paciente.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo foi parcialmente financiado por FAPESP.

Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de doutorado de Irineu Luiz Maia pelo Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto.

Referências

1. Fabricant CG, Fabricant J, Litrenta MM, Minick CR. Virus-induced atherosclerosis. *J Exp Med.* 1978; 148 (1): 335-40.
2. Libby P, Egan D, Skarlatos S. Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation.* 1997; 96 (11): 4095-103.
3. Saikku P, Leinonen M, Mattila K, Ekman MR, Nieminen MS, Mäkelä PH, et al. Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet.* 1988; 2 (8618): 983-6.
4. Saikku P, Leinonen M, Tenkanen L, Linnanmäki E, Ekman MR, Manninen V, et al. Chronic Chlamydia pneumoniae infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *Ann Intern Med.* 1992; 116 (4): 273-8.
5. Thom DH, Grayston JT, Siscovick DS, Wang SP, Weiss NS, Daling JR. Association of prior infection with Chlamydia pneumoniae and angiographically demonstrated coronary artery disease. *JAMA.* 1992; 268 (1): 68-72.
6. Fagerberg B, Gnarpe J, Gnarpe H, Agewall S, Wikstrand J. Chlamydia pneumoniae but not cytomegalovirus antibodies are associated with future risk of stroke and cardiovascular disease: a prospective study in middle-aged to elderly men with treated hypertension. *Stroke.* 1999; 30 (2): 299-305.
7. Wimmer ML, Sandmann-Strupp R, Saikku P, Haberl RL. Association of chlamydial infection with cerebrovascular disease. *Stroke.* 1996; 27 (12): 2207-10.
8. Higuchi M, Castelli JB, Aiello VD, Palomino S, Reis MM, Sambiasi NV, et al. Great amount of C.pneumoniae in ruptured plaque vessel segments at autopsy. A comparative study with stable plaques. *Arq Bras Cardiol.* 2000; 74 (2): 149-51.
9. Higuchi ML, Sambiasi N, Palomino S, Gutierrez P, Demarchi LM, Aiello VD, et al. Detection of Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in ruptured atherosclerotic plaques. *Braz J Med Biol Res.* 2000; 33 (9): 1023-6.
10. Razin S, Yogeve D, Naot Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998; 62 (4): 1094-156.
11. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Guidelines of the Brazilian Cardiology Society on unstable angina and myocardial acute infarction without ST-segment elevation: Part I: Risk stratification and approaches in the first 12 hours after the patient arrives to the hospital. *Arq Bras Cardiol.* 2001; 77 (Suppl 2): 3-23.
12. Granato C. Procedimentos operacionais padrão.: manual do Laboratório Fleury. São Paulo: 2005.
13. Runyon RP. Fundamentals of statistics in the biological, medical and health sciences. Boston: PWS Publishers; 1985.
14. Parham P. O Sistema Imune. Porto Alegre: Ed Art Méd; 2001.
15. Mendall MA, Carrington D, Strachan D, Patel P, Molineaux N, Levi J, et al. Chlamydia pneumoniae: risk factors for seropositivity and association with coronary heart disease. *J Infect.* 1995; 30 (2): 121-8.
16. Blasi F, Cosentini R, Racanelli R, Massari FM, Arosio C, Tarsia P, et al. A possible association of Chlamydia pneumoniae infection and acute myocardial infarction in patients younger than 65 years of age. *Chest.* 1997; 112 (2): 309-12.
17. Thom DH, Wang SP, Grayston JT, Siscovick DS, Stewart DK, Kronmal RA, et al. Chlamydia pneumoniae strain TWAR antibody and angiographically demonstrated coronary artery disease. *Arterioscler Thromb.* 1991; 11 (3): 547-51.
18. Arcari CM, Gaydos CA, Nieto FJ, Krauss M, Nelson KE. Association between Chlamydia pneumoniae and acute myocardial infarction in young men in the United States military: the importance of timing of exposure measurement. *Clin Infect Dis.* 2005; 40 (8): 1123-30.
19. Stacey A, Bradlow A. Arcanobacterium haemolyticum and Mycoplasma pneumoniae co-infection. *J Infect.* 1999; 38 (1): 41-2.
20. Holland JF, Frei E. Cancer Medicine. 5th. ed. Boston: Ed Becker B.C. Inc.; 2000.