



Modifiche: §1, §2, §4, §5, §6, §9, §12, §15.3, Bibliografia;
Soppressioni: §14;

LIAISON® XL Toxo IgG Avidity (REF 310795)

1. USO PREVISTO

Il test LIAISON® XL Toxo IgG Avidity impiega la tecnologia chemiluminescente (CLIA) in un saggio immunologico per la misurazione *in vitro* dell'avidità di legame agli antigeni degli anticorpi di classe IgG diretti contro il *Toxoplasma gondii* in campioni di siero e plasma umano. Il test serve come ausilio nella diagnosi e nella stadiazione dell'infezione da *Toxoplasma*, in soggetti selezionati positivi per la presenza di anticorpi di classe IgG e IgM anti-*Toxoplasma*. Il test deve essere eseguito sulla serie LIAISON® Analyzer*.

2. SIGNIFICATO CLINICO

La toxoplasmosi è causata dall'infezione da parassita *Toxoplasma gondii*. Si tratta di una delle infezioni parassitarie più comuni nell'uomo ed è più tipicamente asintomatica. L'infezione primaria in una donna in gravidanza può causare una patologia severa e invalidante nel feto in via di sviluppo.

Il *Toxoplasma gondii* è un parassita protozoo che infetta la maggior parte delle specie di animali a sangue caldo, compreso l'uomo. I membri della famiglia dei gatti Felidi sono gli unici ospiti definitivi conosciuti per gli stadi sessuali del *T. gondii* e sono pertanto i principali serbatoi di infezione.

L'OMS ha messo in atto strategie volte a diminuire la trasmissione madre-figlio attraverso la tempestiva identificazione di donne in gravidanza con infezione acuta e il successivo trattamento appropriato.

Il *Toxoplasma gondii* è diffuso a livello mondiale. Come esaminato in diverse pubblicazioni, i tassi di sieropositività mostrano variazioni geografiche estreme, da meno dell'1% a più del 95%. I tassi complessivi più alti si trovano nei paesi dell'America Latina (soprattutto in Brasile), nell'Africa subsahariana, in Medio Oriente e in alcune parti dell'Asia. I tassi più bassi sono riportati nell'Asia sudorientale. Le stime per il Nord America sono inferiori al 25% e quelle per l'Europa sono per lo più inferiori al 36%.

Sono necessari test su sangue per stabilire se la paziente abbia o meno un'immunità pregressa o se abbia contratto l'infezione dopo il concepimento e, in questo caso, per determinare quando ciò è avvenuto.² Il rilevamento di anticorpi specifici di classe IgG e IgM anti-*Toxoplasma* è il test più largamente utilizzato.

Gli anticorpi di classe IgG anti-*Toxoplasma* sono rilevabili da 2 a 4 settimane dopo l'infezione (a seconda della risposta di ogni singolo paziente) e persisteranno tutta la vita. Un test positivo per IgG durante il periodo della gravidanza indica che il feto non è a rischio.

Gli anticorpi di classe IgM anti-*Toxoplasma* sono tradizionalmente testati in parallelo con gli anticorpi di classe IgG per avvisare il medico di una possibile infezione acuta quando gli anticorpi di classe IgG sono negativi. Quando gli anticorpi IgM e IgG sono entrambi positivi, il medico deve determinare se si tratta di un'infezione recente o vecchia (cronica). L'avidità degli anticorpi IgG misura la forza del legame antigene-anticorpo, che aumenta con il tempo trascorso dall'infezione. Gli anticorpi IgG prodotti durante il primo mese dopo l'infezione primaria sono a bassa avidità, mentre quelli prodotti diversi mesi o un anno dopo l'infezione mostrano un'alta avidità. Un medico, sulla base di un test con un risultato di alta avidità, può decidere di non iniziare alcun trattamento perché la malattia è cronica.

3. PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

Il metodo per la determinazione dell'avidità del legame di IgG specifiche anti-*Toxoplasma gondii* è un test indiretto basato sul principio della chemiluminescenza (CLIA). Il *Toxoplasma gondii* è usato per rivestire le particelle magnetiche (fase solida) e un anticorpo monoclonale di tipo anti-IgG umane è legato ad un derivato dell'isoluminolo (coniugato anticorpo-isoluminolo). La presenza di legami forti tra anticorpi IgG e *Toxoplasma gondii* (ossia l'avidità delle IgG) in un dato campione positivo per IgG si rileva confrontando il segnale di un campione di riferimento (ossia non trattato) con il segnale dello stesso campione trattato con urea, che dissocia i legami deboli tra IgG e *Toxoplasma gondii*. Durante la prima incubazione, gli anticorpi anti-*Toxoplasma gondii* presenti nei calibratori, nei campioni o nei controlli legano la fase solida (campione di riferimento e trattato). Durante la seconda incubazione, l'agente dissociante modifica i legami tra antigene e anticorpo (solo campione trattato). Solo gli anticorpi ad alta avidità restano legati alla fase solida, mentre gli anticorpi a bassa avidità sono eliminati. Durante l'ultima incubazione, l'anticorpo coniugato reagisce con le IgG anti-*Toxoplasma gondii* già legate alla fase solida (campione di riferimento e trattato). Dopo ciascuna incubazione, il materiale non legato è rimosso mediante un ciclo di lavaggio.

In seguito, vengono aggiunti i reagenti starter che inducono una reazione di chemiluminescenza. Il segnale luminoso, e quindi la quantità di coniugato anticorpo-isoluminolo, è misurato da un fotomoltiplicatore in unità relative di luce (RLU, relative light units) ed è indicativo della concentrazione di IgG anti-*Toxoplasma gondii* presente nei calibratori, nei campioni o nei controlli. L'indice di avidità del legame delle IgG è dato dal rapporto tra campione trattato con urea e campione di riferimento.

*(LIAISON® Analyzer, LIAISON® XL e LIAISON® XS).

4. MATERIALI FORNITI

Integrale di reattivi

Particelle magnetiche (1,5 mL)	[SORB]	Particelle magnetiche ($\geq 0,25\%$ fase solida) rivestite con <i>Toxoplasma gondii</i> inattivato (ceppo RH) (appr. 0,1125 mg/mL) ottenuto da trofozoiti sonicati ed estratto di detergente, sieroalbumina bovina, tampone fosfato, <0,1% di sodio azide.
Calibratore 1 (2,7 mL)	[CAL1]	Siero/plasma umano contenente bassi livelli di IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> (appr. 287 U/mL), sieroalbumina bovina, tampone fosfato, 0,2% ProClin™ 300 e un colorante giallo inerte. Le concentrazioni dei calibratori (U/mL) sono tarate contro una preparazione realizzata internamente.
Calibratore 2 (2,7 mL)	[CAL2]	Siero/plasma umano contenente alti livelli di IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> (appr. 6600 U/mL), sieroalbumina bovina, tampone fosfato, 0,2% ProClin™ 300 e un colorante blu inerte. Le concentrazioni dei calibratori (U/mL) sono tarate contro una preparazione realizzata internamente.
Diluente dei campioni (28 mL)	[DILSPE]	Sieroalbumina bovina, tampone fosfato, 0,2% ProClin™ 300 e un colorante giallo inerte.
Tampone B (13 mL)	[BUF B]	Tampone borato, urea, 0,2% ProClin™ 300, conservanti e un colorante blu inerte.
Coniugato (28 mL)	[CONJ]	Anticorpi monoclonali di topo anti-IgG umane coniugati con un derivato dell'isoluminolo (minimo 10 ng/mL), sieroalbumina bovina, tampone fosfato, 0,2% ProClin™ 300, conservanti.
Numero di test		25

Tutti i reattivi sono forniti pronti per l'uso. L'ordine dei reattivi riflette quello con cui sono assemblati i contenitori nell'integrale di reattivi.

Materiali richiesti, ma non forniti (relativi al sistema)

LIAISON® XL Analyzer	LIAISON® Analyzer
LIAISON® XL Cuvettes ([REF] X0016). LIAISON® XL Disposable Tips ([REF] X0015) oppure LIAISON® Disposable Tips ([REF] X0055). LIAISON® XL Starter Kit ([REF] 319200) oppure LIAISON® EASY Starter Kit ([REF] 319300). – – LIAISON® Wash/System Liquid ([REF] 319100). LIAISON® XL Waste Bags ([REF] X0025). –	LIAISON® Module ([REF] 319130). – – LIAISON® Starter Kit ([REF] 319102) oppure LIAISON® XL Starter Kit ([REF] 319200) oppure LIAISON® EASY Starter Kit ([REF] 319300). LIAISON® Light Check 12 ([REF] 319150). LIAISON® Wash/System Liquid ([REF] 319100). LIAISON® Waste Bags ([REF] 450003). LIAISON® Cleaning Kit ([REF] 310990).

LIAISON® XS Analyzer
LIAISON® Cuvettes on Tray ([REF] X0053). LIAISON® Disposable Tips ([REF] X0055). LIAISON® EASY Starter Kit ([REF] 319300). LIAISON® EASY Wash Buffer ([REF] 319301). LIAISON® EASY System Liquid ([REF] 319302). LIAISON® EASY Waste ([REF] X0054). LIAISON® EASY Cleaning Tool ([REF] 310996).

Altri materiali richiesti

Controlli LIAISON® XL Toxo IgG Avidity (a bassa e ad alta avidità) ([REF] 310796).

5. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Per uso diagnostico *in vitro*.

Esclusivamente per uso professionale di laboratorio.

Controllare visivamente i flaconi dell'integrale per escludere perdite dalla pellicola sigillante o in altri punti. Se si riscontra una perdita nei flaconi, avvisare immediatamente il Servizio Clienti locale.

Tutte le unità di siero e plasma di origine umana utilizzate per la fabbricazione dei componenti di questo kit sono state analizzate e trovate non reattive per la presenza di HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 e anti-HIV-2. Tuttavia, poiché nessun metodo di analisi può dare assoluta certezza che siano assenti agenti patogeni, tutto il materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infettivo e manipolato come tale.

6. REGOLE DI SICUREZZA

Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici durante l'esecuzione del dosaggio.

Non pipettare con la bocca.

Evitare il contatto diretto con il materiale potenzialmente infetto, indossando indumenti da laboratorio, occhiali protettivi e guanti monouso. Lavare accuratamente le mani al termine del dosaggio.

Evitare di provocare schizzi o aerosol. Ogni goccia di reattivo biologico deve essere rimossa con una soluzione di sodio ipoclorito allo 0,5% di cloro attivo ed il mezzo utilizzato deve essere trattato come materiale di rifiuto infetto.

Tutti i campioni e i reattivi contenenti materiali biologici usati per il saggio devono essere considerati potenzialmente in grado di trasmettere agenti infettivi; i rifiuti devono essere maneggiati con cura e smaltiti secondo le linee guida del laboratorio e le disposizioni legislative vigenti in ciascun Paese. Qualsiasi materiale che deve essere riutilizzato deve essere trattato con processo di sterilizzazione adeguato in accordo alle leggi e alle linee guida applicabili localmente. Si raccomanda di verificare l'efficacia del ciclo di sterilizzazione/decontaminazione. **Gli strumenti devono essere regolarmente sottoposti a pulizia e decontaminazione. Per le procedure di pulizia, consultare il manuale operativo.**

Non usare kit o componenti dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta.

Ai sensi del Regolamento CE 1272/2008 (CLP) i reattivi pericolosi sono classificati ed etichettati come segue:

REATTIVI:	[CAL1], [CAL2] [DILSPE], [CONJ]	[BUF B]
CLASSIFICAZIONE:	Skin sens. 1A H317 Aquatic chronic 3 H412	Skin sens. 1A H317 Aquatic chronic 3 H412 Repr. 1B H360FD
SEGNALAZIONE:	Attenzione	Pericolo
SIMBOLI/PITTOGRAMMI:	 GHS07 Punto esclamativo	  GHS07 Punto esclamativo GHS08 Pericolo per la salute
FRASI DI PERICOLO:	H317 Può provocare una reazione allergica cutanea. H412 Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.	H317 Può provocare una reazione allergica cutanea. H412 Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. H360FD Può nuocere alla fertilità. Può nuocere al feto
CONSIGLI DI PRUDENZA:	P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/ proteggere gli occhi/il viso. P273 Non disperdere nell'ambiente. P362 Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.	P261 Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P280 Indossare guanti/indumenti protettivi/ proteggere gli occhi/il viso. P363 Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente. P202 Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze. P308+P313 IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.
CONTIENE: (solo le sostanze prescritte ai sensi dell'articolo 18 del Regolamento CE 1272/2008).	miscela di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [CE n. 247-500-7] e 2-metil-2H - isotiazol-3-one [CE n. 220-239-6] (3:1) (ProClin™ 300).	miscela di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [CE n. 247-500-7] e 2-metil-2H - isotiazol-3-one [CE n. 220-239-6] (3:1) (ProClin™ 300); Acido borico.

Ai sensi del Regolamento CE 1272/2008 (CLP), [SORB] è etichettato come EUH210, Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta.

Per ulteriori informazioni consultare le Schede dati di sicurezza disponibili su www.diasorin.com.

7. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

INTEGRALE DI REATTIVI

Risospensione delle particelle magnetiche

Le particelle magnetiche devono essere completamente risospese prima di posizionare l'integrale nello strumento. Seguire le fasi indicate di seguito per garantire la sospensione completa delle particelle:

Prima di rimuovere le pellicole sigillanti dai contenitori, ruotare avanti e indietro la rotellina posta in corrispondenza del contenitore delle particelle magnetiche fino a che il colore della sospensione diventa bruno. Agitare orizzontalmente l'integrale di reattivi con delicatezza ed estrema cura può favorire la sospensione delle particelle magnetiche (evitare la formazione di schiuma). Controllare visivamente il fondo del contenitore delle particelle magnetiche per assicurarsi che tutte le particelle magnetiche sedimentate siano state risospese. Se necessario, ripetere la procedura fino alla completa risospensione delle particelle magnetiche. Dopo la rimozione del sigillo, pulire accuratamente la superficie di ciascun setto per rimuovere i residui di liquido, se necessario.

Formazione di schiuma nei reattivi

Per garantire prestazioni ottimali dell'integrale, si raccomanda di evitare la formazione di schiuma nei reattivi. Osservare le raccomandazioni seguenti per evitarla:

Prima di usare l'integrale, controllare visivamente i reattivi, in particolare il calibratore (posto in seconda posizione dell'integrale dopo il contenitore delle particelle magnetiche) per escludere la presenza di schiuma. Se si osserva la presenza di schiuma dopo la risospensione delle particelle magnetiche, posizionare l'integrale nello strumento e lasciare sciogliere la schiuma. Caricare l'integrale nella zona di reazione una volta che la schiuma si è dispersa.

Caricamento dell'integrale nell'area reattivi dello strumento

LIAISON® Analyzer

- Posizionare l'integrale di reattivi nell'area reattivi dello strumento con l'etichetta dei codici a barre rivolta a sinistra e lasciare in agitazione per 30 minuti prima dell'uso. In questo lasso di tempo le particelle magnetiche sono tenute automaticamente in agitazione per assicurare una risospensione completa.
- Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per caricare i campioni e iniziare il test.

Analizzatori LIAISON® XL e LIAISON® XS

- Gli analizzatori LIAISON® XL e LIAISON® XS sono dotati di un dispositivo magnetico integrato che favorisce la dispersione delle microparticelle prima di posizionare un integrale di reattivi nell'area reattivi dello strumento. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per i dettagli tecnici.
 - a. Posizionare l'integrale di reattivi nella scanalatura apposita.
 - b. Lasciare riposare l'integrale di reattivi nel dispositivo magnetico per almeno 30 secondi (fino a diversi minuti). Ripetere l'operazione se necessario.
- Posizionare l'integrale di reattivi nell'area reattivi dello strumento con l'etichetta rivolta a sinistra e lasciare in agitazione per 15 minuti prima dell'uso. In questo lasso di tempo le particelle magnetiche sono tenute automaticamente in agitazione per assicurare una risospensione completa.
- Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per caricare i campioni e iniziare il test.

CONTROLLI

Fare riferimento alle istruzioni del set di controlli LIAISON® XL Toxo IgG Avidity per preparare e manipolare i controlli adeguatamente.

8. CONSERVAZIONE E STABILITÀ DELL'INTEGRALE DI REATTIVI

Subito dopo l'arrivo, l'integrale di reattivi deve essere conservato in posizione verticale per facilitare successivamente la risospensione delle particelle magnetiche. Se l'integrale è conservato sigillato e mantenuto in posizione verticale, i reattivi sono stabili a 2-8°C fino alla data di scadenza. Non congelare. Non usare l'integrale di reattivi oltre la data di scadenza indicata sulle etichette del kit e dell'integrale. Dopo aver rimosso le pellicole sigillanti, l'integrale di reattivi è stabile per otto settimane se conservato refrigerato a 2-8°C o mantenuto a bordo dello strumento.

9. PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Nel dosaggio deve essere utilizzato il tipo di campione corretto. Le seguenti matrici sono state testate e possono essere utilizzate:

- siero;
- sodio citrato;
- potassio EDTA;
- litio eparina;
- sodio eparina.

Il sangue deve essere raccolto asepticamente mediante prelievo venoso e il siero o il plasma deve essere separato dal coagulo, dai globuli rossi o dal gel separatore dopo la centrifugazione, seguendo con attenzione le istruzioni del fabbricante e in conformità alle buone pratiche di laboratorio.

Le condizioni di centrifugazione delle provette per prelievo possono variare a seconda del fabbricante. È indicato un minimo di 1.000 g per 10 minuti. L'uso delle condizioni di centrifugazione deve essere valutato e convalidato dal laboratorio.

Confezionare ed etichettare i campioni in conformità ai regolamenti applicabili in materia di trasporto di campioni clinici e sostanze infettive.

I campioni possono essere spediti su ghiaccio secco (congelati), su ghiaccio bagnato (2-8°C), attenendosi ai limiti di conservazione dei campioni descritti di seguito.

Condizioni di trasporto non controllate (in termini di temperatura e tempo) possono provocare risultati analitici non accurati. Durante gli studi di convalida, sono state utilizzate delle provette per prelievo campioni disponibili in commercio al momento delle analisi. Pertanto non sono state valutate tutte le provette per la raccolta di tutti i fabbricanti. I dispositivi per prelievo ematico provenienti da fabbricanti diversi possono contenere sostanze che in alcuni casi potrebbero influenzare i risultati dei test (Bowen et al., Clinical Biochemistry, 43, 4-25, 2010).

Uno studio dedicato sui limiti di conservazione è stato condotto su campioni di siero o plasma dopo la rimozione del coagulo, dei globuli rossi e del gel separatore. Le seguenti condizioni di conservazione non hanno mostrato differenze significative:

- si deve evitare la conservazione a temperatura ambiente;
- 2-8°C per 7 giorni, diversamente devono essere suddivisi in aliquote e congelati (-20°C o temperature inferiori);
- fino a 6 cicli di congelamento e scongelamento, tuttavia si devono evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento.

Se i campioni sono stati scongelati, agitare con cura prima di dosarli. Si raccomanda l'ulteriore centrifugazione dei campioni dopo la rimozione dei globuli rossi, del coagulo o del gel separatore (si suggerisce tra 3.000 e 10.000 g per 10 minuti) per garantire la coerenza dei risultati ogniqualvolta sia identificata una delle seguenti condizioni:

- campioni precedentemente centrifugati e conservati a 2-8°C;
- campioni con materiale in sospensione, fibrina, opalescenza, lipemia o residui eritrocitari;
- campioni congelati e scongelati;
- campioni che richiedono la ripetizione dell'analisi.

I campioni con uno strato superiore di lipidi devono essere trasferiti in una provetta secondaria, avendo cura di trasferire solo il materiale chiarificato.

Non usare campioni fortemente emolizzati o lipemici, né campioni che presentano materiale in sospensione o evidente contaminazione microbica. L'inattivazione con il calore dei campioni può influenzare i risultati del test. Eliminare le bolle di aria eventualmente presenti prima del dosaggio.

Il volume minimo di campione necessario per una determinazione è 170 µL (20 µL di campione + 150 µL di volume morto).

Solo i campioni biologici risultati positivi al test di rilevamento delle IgG anti-Toxoplasma gondii eseguito tramite il LIAISON® Toxo IgG II (REF 310780) possono essere sottoposti al test per l'avidità delle IgG.

10. TARATURA

Il dosaggio dei calibratori specifici contenuti nell'integrale di reattivi permette di regolare la curva predefinita memorizzata dal fabbricante sulle unità relative di luce (RLU = relative light units) rilevate. Ogni soluzione dei calibratori permette di eseguire quattro tarature.

La ritaratura deve essere eseguita in triplicato ogniqualvolta si verifica almeno una delle condizioni seguenti:

- Viene usato un nuovo lotto di integrali di reattivi o un nuovo lotto di reagenti starter.
- La taratura precedente è stata eseguita più di otto settimane prima.
- I valori dei controlli sono al di fuori dei limiti attesi.
- **Analizzatori LIAISON® e LIAISON® XL:** lo strumento ha subito un intervento di assistenza tecnica.
- **LIAISON® XS Analyzer:** dopo un intervento tecnico, solo se richiesto dalla procedura di assistenza, come comunicato dall'Assistenza tecnica o dal rappresentate DiaSorin locale.

LIAISON® Analyzer: i valori dei calibratori sono codificati nei codici a barre dell'integrale di reattivi.

LIAISON® XL Analyzer: i valori dei calibratori sono codificati nel Tag per identificazione a radiofrequenza (Radio Frequency Identification transponder, RFID Tag) dell'integrale di reattivi.

LIAISON® XS Analyzer: i valori dei calibratori sono codificati nel Tag per identificazione a radiofrequenza (Radio Frequency Identification transponder, RFID Tag) dell'integrale di reattivi.

11. PROCEDIMENTO OPERATIVO

Questo test richiede i seguenti file del dosaggio: TGA_v, TGNT e TG-T.

Per dosare i campioni usare TGA_v.

Mai usare TGNT o TG-T.

LIAISON® Analyzer. Tutti i parametri del test vengono descritti attraverso i codici a barre riportati sull'etichetta dell'integrale di reattivi. Nel caso lo strumento non possa leggere il codice a barre, l'integrale non potrà essere utilizzato. Non gettare l'integrale; contattare il supporto tecnico DiaSorin locale per istruzioni.

Analizzatori LIAISON® XL e LIAISON® XS. Tutti i parametri del test vengono descritti dalle informazioni codificate nel Tag per identificazione a radiofrequenza (Radio Frequency IDentification transponder, RFID Tag) nell'integrale di reattivi. Nel caso lo strumento non possa leggere il RFID Tag, l'integrale non potrà essere utilizzato. Non gettare l'integrale; contattare il supporto tecnico DiaSorin locale per istruzioni.

I campioni devono essere analizzati con entrambi i protocolli per ottenere il risultato finale (indice di avidità). Lo strumento esegue le seguenti operazioni:

Protocollo A

1. Distribuire i calibratori, i controlli o i campioni nel modulo di reazione.
2. Distribuire le particelle magnetiche rivestite.
3. Distribuire il diluente dei campioni.
4. Incubare.
5. Lavare con il liquido di lavaggio.
6. Distribuire il coniugato nel modulo di reazione.
7. Incubare.
8. Lavare con il liquido di lavaggio.
9. Aggiungere i reagenti Starter 1 e 2, quindi misurare la luce emessa.

Protocollo B

1. Distribuire i controlli o i campioni nel modulo di reazione (la taratura non viene eseguita).
2. Distribuire le particelle magnetiche rivestite.
3. Distribuire il diluente dei campioni.
4. Incubare.
5. Lavare con il liquido di lavaggio.
6. Distribuire il tampone B.
7. Incubare.
8. Lavare con il liquido di lavaggio.
9. Distribuire il coniugato nel modulo di reazione.
10. Incubare.
11. Lavare con il liquido di lavaggio.
12. Aggiungere i reagenti Starter 1 e 2, quindi misurare la luce emessa.

12. CONTROLLO DI QUALITÀ

I controlli LIAISON® XL Toxo IgG Avidity devono essere analizzati in singolo per valutare le prestazioni del test. Il controllo di qualità deve essere eseguito analizzando i controlli LIAISON® XL Toxo IgG Avidity ([REF 310796](#)):

- (a) almeno una volta per ogni giorno di lavoro,
- (b) quando si usa un nuovo integrale di reattivi,
- (c) quando si tara il kit,
- (d) quando si usa un nuovo lotto di reagenti Starter,

o secondo le disposizioni legislative o la regolamentazione vigenti in ciascun Paese.

I valori dei controlli devono essere compresi nei limiti attesi: ogniqualvolta uno o entrambi i valori dei controlli sono al di fuori dei limiti attesi, la taratura (calibrazione) deve essere rieseguita e i controlli devono essere rianalizzati. Se i valori sperimentali dei controlli sono di nuovo al di fuori degli intervalli predefiniti dopo la taratura, il test deve essere ripetuto usando un flacone di controllo non aperto. Se i valori dei controlli sono al di fuori dei limiti attesi, i risultati dei campioni non devono essere referati.

Le prestazioni di altri controlli devono essere valutate per assicurarne la compatibilità con questo test prima dell'uso. È indispensabile pertanto stabilire gli intervalli dei valori dei materiali usati per il controllo di qualità.

13. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Lo strumento calcola automaticamente l'indice di avidità di legame delle IgG specifiche anti-*Toxoplasma gondii* (rapporto tra i valori ottenuti per i campioni trattati con urea e i campioni di riferimento) con il rispettivo antigene e classifica i risultati. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per informazioni più dettagliate.

I risultati dei campioni che presentano concentrazioni di IgG anti-Toxoplasma gondii inferiori a 15 IU/mL tramite il LIAISON® Toxo IgG II ([REF] 310780) devono essere interpretati con cautela. I campioni successivi devono essere raccolti e testati con due o tre settimane di ritardo, al fine di stabilire se i livelli di anticorpi e l'indice di avidità sono in calo o in aumento.

Calibratori e controlli possono fornire dati diversi espressi in valori di RLU o di concentrazione su LIAISON®, LIAISON® XL e LIAISON® XS, ma i risultati clinici sono equivalenti.

Intervallo di misura. Indice di avidità (Av) di Liason per le IgG anti-*Toxoplasma gondii* compreso tra 0,010 e 0,950.

I campioni contenenti livelli di anticorpi IgG anti-*Toxoplasma gondii* superiori all'intervallo di misura (superiori a 400 IU/mL) previsto per LIAISON® Toxo IgG II ([REF] 310780) devono essere prediluiti usando la funzione Dilute (Diluisci) dello strumento prima di eseguire il test Toxo IgG Avidity. Il fattore di diluizione consigliato è di 1:10. Se i campioni diluiti 1:10 generano ancora risultati superiori all'intervallo di misura del test di avidità, viene visualizzato il messaggio "Invalid Combi Partner" (Campione combinato non valido); in tal caso il test Toxo IgG Avidity deve essere ripetuto dopo aver prediluito i campioni 1:20. I campioni contenenti livelli di anticorpi delle IgG anti-*Toxoplasma gondii* compresi nell'intervallo di misura possono essere analizzati direttamente. Se i campioni presentano livelli di anticorpi al di sopra dell'intervallo di misura del test Toxo IgG Avidity, viene visualizzato il messaggio "Invalid Combi Partner" (Campione combinato non valido); in tal caso i campioni devono essere prediluiti 1:10 e rianalizzati.

I risultati saranno quindi moltiplicati automaticamente per il fattore di diluizione per ottenere i livelli di anticorpi dei campioni non diluiti e calcolare l'indice di avidità. Il diluente dei campioni disponibile in eccesso nell'integrale di reattivi permette la prediluizione di 25 campioni.

I risultati dei campioni devono essere interpretati come segue:

Un valore dell'indice di avidità per le IgG anti-*Toxoplasma gondii* inferiore a 0,200 deve essere classificato come *avidità bassa*. Un valore dell'indice di avidità delle IgG anti-*Toxoplasma gondii* compreso tra 0,200 e 0,300 deve essere classificato come *avidità moderata*.

Un valore dell'indice di avidità delle IgG anti-*Toxoplasma gondii* pari o superiore a 0,300 deve essere classificato come *avidità alta*.

I campioni che generano un indice di avidità superiore a 0,950 devono essere rianalizzati. Se il valore dell'indice di avidità viene confermato, il campione deve essere classificato come ad *avidità alta*.

Devono essere rianalizzati i campioni che visualizzano il messaggio "Invalid Combi Partner Alert" (Campione combinato non valido) (per la piattaforma dello strumento LIAISON® Analyzer) o il messaggio "Failed Avidity" (Avidità non superata) (per le piattaforme degli strumenti LIAISON® XL e LIAISON® XS) con un risultato di TG-T < 1,5 U/mL (<< 1,500 U/mL per le piattaforme degli strumenti LIAISON® XL e LIAISON® XS) per campioni trattati con urea. Se dopo la ripetizione dell'analisi il valore viene confermato, il campione deve essere classificato come ad *avidità bassa*.

Un valore basso dell'indice di avidità suggerisce la possibile occorrenza di un'infezione primaria contratta meno di quattro mesi prima del prelievo del campione.

Avvertenza - *Tuttavia, un indice di avidità basso non esclude la possibilità di un'infezione pregressa, dal momento che una parte degli individui infetti può presentare livelli di anticorpi IgG a bassa avidità persistenti.*

Un valore moderato dell'indice di avidità non esclude la possibile occorrenza di un'infezione recente, ma può anche indicare un'infezione pregressa con incompleta maturazione dell'avidità delle IgG. Un indice di avidità inferiore a 0,300 non fornisce alcuna chiara indicazione di un'infezione recente.

Un valore elevato dell'indice di avidità può escludere che l'infezione primaria sia stata contratta meno di quattro mesi prima del prelievo del campione. I dati sierologici derivanti dalla rilevazione di altri indicatori del virus del *Toxoplasma gondii* possono fornire informazioni utili per l'interpretazione dei risultati.

Tuttavia, la diagnosi di una malattia infettiva non deve essere formulata sulla base del risultato di un singolo dosaggio, ma questo deve essere valutato insieme ad altri riscontri clinici, procedure diagnostiche e al giudizio del medico.

14. LIMITI DEL METODO

L'esecuzione ripetuta del test su campioni che presentano valori dell'indice di avidità prossimi alla soglia di discriminazione (ossia, Av pari a 0,200 e 0,300) può dar luogo ad alcune fluttuazioni nella classificazione dei campioni, a seconda della precisione del sistema. Questo comportamento atteso non influenza le prestazioni metodologiche del test.

Per ottenere risultati affidabili è necessario attenersi strettamente alle istruzioni per l'uso e possedere una adeguata manualità tecnica.

La contaminazione batterica dei campioni o l'inattivazione con il calore possono influenzare i risultati del test.

Non è possibile scambiare gli integrali fra i diversi analizzatori (LIAISON®, LIAISON® XL e LIAISON® XS). Quando un integrale è stato inserito in un particolare tipo di analizzatore, dovrà essere sempre utilizzato su quel tipo di analizzatore fino ad esaurimento.

15. PRESTAZIONI METODOLOGICHE DEL KIT

15.1. Specificità analitica

Interferenze. Studi controllati su sostanze potenzialmente interferenti hanno dimostrato che le prestazioni del test non sono influenzate da anticoagulanti (sodio citrato, EDTA, sodio e litio eparina), emolisi (fino a 1000 mg/dL di emoglobina), lipemia (fino a 3000 mg/dL di trigliceridi), bilirubinemia (fino a 20 mg/dL di bilirubina) o da cicli di congelamento e scongelamento dei campioni.

15.2. Precisione con LIAISON® Analyzer

La ripetibilità e la riproducibilità del saggio (ossia la variabilità intra-saggio e inter-saggio) sono state determinate utilizzando dei campioni di riferimento a diverse concentrazioni di analita. La variabilità indicata nelle tabelle non ha dato luogo ad errata classificazione dei campioni. I risultati si riferiscono ai gruppi di campioni studiati e non costituiscono specifiche garantite, a causa delle possibili differenze fra i laboratori e le sedi.

Ripetibilità. Per valutare la ripetibilità sono stati dosati venti replicati nella stessa sessione.

Ripetibilità	A	B	C	D	E	F	G	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Indice medio di avidità	0,081	0,168	0,209	0,455	0,472	0,595	0,606	0,091	0,593
Valore minimo	0,068	0,153	0,190	0,401	0,428	0,528	0,566	0,080	0,557
Valore massimo	0,094	0,186	0,233	0,539	0,503	0,670	0,646	0,111	0,636
Coefficiente di variazione (%)	9,6	5,8	5,5	9,3	4,1	6,1	4,1	6,9	3,5

Riproducibilità. Sono stati eseguiti venti replicati in giorni diversi (una o due sessioni per giorno) per valutare la riproducibilità. I test sono stati eseguiti in due laboratori diversi.

Riproducibilità - Laboratorio 1	A	B	C	D	E	F	G	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Indice medio di avidità	0,077	0,184	0,224	0,465	0,551	0,601	0,588	0,097	0,521
Valore minimo	0,065	0,168	0,185	0,374	0,434	0,482	0,476	0,082	0,428
Valore massimo	0,098	0,201	0,253	0,532	0,622	0,675	0,691	0,117	0,612
Coefficiente di variazione (%)	11,7	5,0	8,7	10,8	10,7	9,9	10,1	9,0	10,4

Riproducibilità - Laboratorio 2	A	B	C	D	E	F	G	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Indice medio di avidità	0,068	0,160	0,195	0,436	0,478	0,561	0,569	0,088	0,472
Valore minimo	0,056	0,140	0,177	0,365	0,411	0,490	0,499	0,072	0,399
Valore massimo	0,094	0,214	0,233	0,552	0,587	0,667	0,700	0,110	0,581
Coefficiente di variazione (%)	16,3	12,0	8,0	11,7	11,3	8,6	10,6	13,1	12,6

15.3. Precisione con LIAISON® XL Analyzer

La ripetibilità e la riproducibilità del saggio (ossia la variabilità intra-saggio e inter-saggio) sono state determinate utilizzando dei campioni di riferimento a diverse concentrazioni di analita. La variabilità indicata nelle tabelle non ha dato luogo ad errata classificazione dei campioni. I risultati si riferiscono ai gruppi di campioni studiati e non costituiscono specifiche garantite, a causa delle possibili differenze fra i laboratori e le sedi.

Ripetibilità. Per valutare la ripetibilità sono stati dosati venti replicati nella stessa sessione.

Ripetibilità	1	2	3	4	5	6	7	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Indice medio di avidità	0,073	0,181	0,228	0,353	0,544	0,557	0,606	0,126	0,628
Valore minimo	0,065	0,155	0,203	0,304	0,479	0,492	0,468	0,104	0,585
Valore massimo	0,088	0,199	0,248	0,428	0,620	0,656	0,690	0,142	0,657
Coefficiente di variazione (%)	8,8	5,5	6,8	9,8	7,9	7,1	9,6	7,2	3,8

Riproducibilità. Sono stati eseguiti venti replicati in giorni diversi (una o due sessioni per giorno) per valutare la riproducibilità. I test sono stati eseguiti in due laboratori diversi.

Riproducibilità - Laboratorio 1	1	2	3	4	5	6	7	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Indice medio di avidità	0,077	0,173	0,221	0,381	0,549	0,580	0,623	0,099	0,576
Valore minimo	0,060	0,140	0,148	0,314	0,479	0,453	0,444	0,076	0,486
Valore massimo	0,110	0,206	0,271	0,472	0,633	0,695	0,745	0,121	0,683
Coefficiente di variazione (%)	17,5	11,6	12,3	12,7	7,7	10,8	10,7	11,5	9,4

Riproducibilità - Laboratorio 2	1	2	3	4	5	6	7	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Indice medio di avidità	0,087	0,190	0,240	0,422	0,571	0,633	0,715	0,104	0,624
Valore minimo	0,071	0,168	0,208	0,357	0,434	0,550	0,605	0,085	0,510
Valore massimo	0,108	0,218	0,278	0,526	0,656	0,718	0,824	0,131	0,787
Coefficiente di variazione (%)	12,6	8,0	8,3	9,7	8,3	8,4	8,4	9,4	9,6

Omogeneità tra i lotti. L'omogeneità tra i lotti è stata calcolata dai dati delle riproducibilità. I test sono stati eseguiti in due laboratori diversi su tre batch diversi.

Riproducibilità - Laboratorio 1	1	2	3	4	5	6	7	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Indice medio di avidità	0,079	0,177	0,222	0,390	0,517	0,572	0,628	0,103	0,571
Valore min.	0,075	0,171	0,218	0,374	0,500	0,559	0,621	0,097	0,558
Valore max.	0,085	0,188	0,227	0,416	0,549	0,580	0,638	0,112	0,579
Coefficiente di variazione (%)	6,9	5,4	2,2	5,8	5,3	2,0	1,5	8,2	2,0

Riproducibilità - Laboratorio 2	1	2	3	4	5	6	7	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Indice medio di avidità	0,092	0,205	0,251	0,431	0,571	0,652	0,689	0,113	0,635
Valore min.	0,087	0,190	0,240	0,413	0,544	0,633	0,670	0,104	0,624
Valore max.	0,094	0,224	0,259	0,458	0,597	0,670	0,715	0,130	0,643
Coefficiente di variazione (%)	4,6	8,5	3,9	5,5	4,6	2,8	3,3	12,3	1,5

15.4. Precisione con LIAISON® XS Analyzer

Uno studio di precisione della durata di cinque giorni è stato condotto su tre analizzatori LIAISON® XS per verificare la precisione con il dosaggio LIAISON® XL Toxo IgG Avidity. Nella preparazione del protocollo di analisi è stato consultato il documento CLSI EP15-A3.

Per lo studio è stato utilizzato un pannello codificato composto da 6 campioni congelati contenenti una diversa concentrazione di analita e controlli del kit.

Anche il set di controlli LIAISON® XL Control Toxo IgG Avidity è stato incluso nello studio di cinque giorni.

Il pannello codificato è stato analizzato su tre strumenti LIAISON® XS, in sei replicati in un'unica sessione analitica per giorno, per 5 giorni operativi.

L'indice medio di avidità, la deviazione standard e il coefficiente di variazione (CV %) dei risultati sono stati calcolati per ogni campione analizzato per ciascuno strumento e tra gli strumenti.

Ripetibilità. Per valutare la ripetibilità sono stati dosati novanta replicati nello stesso test. Sono stati analizzati 6 campioni contenenti una diversa concentrazione di analita e controlli del kit in 6 replicati per giorno, per 5 giorni operativi, su 3 unità e un lotto di reagenti.

Ripetibilità	8	9	10	11	12	13	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	90	90	90	90	90	90	90	90
Indice medio di avidità	0,064	0,318	0,600	0,217	0,174	0,230	0,120	0,548
Deviazione standard	0,004	0,016	0,021	0,010	0,007	0,021	0,008	0,026
Coefficiente di variazione (%)	5,5	5,1	3,5	4,8	4,1	9,0	6,4	4,8
Valore minimo	0,051	0,271	0,546	0,175	0,151	0,079	0,105	0,496
Valore massimo	0,081	0,389	0,676	0,247	0,197	0,272	0,149	0,647

Riproducibilità. Sono stati eseguiti novanta replicati in giorni diversi (una sessione per giorno) per valutare la riproducibilità. Sono stati analizzati 6 campioni contenenti una diversa concentrazione di analita e controlli del kit in 6 replicati per giorno, per 5 giorni operativi, su 3 unità e un lotto di reagenti.

Riproducibilità	8	9	10	11	12	13	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	90	90	90	90	90	90	90	90
Indice medio di avidità	0,064	0,318	0,600	0,217	0,174	0,230	0,120	0,548
Deviazione standard	0,006	0,018	0,023	0,012	0,011	0,023	0,009	0,028
Coefficiente di variazione (%)	8,7	5,8	3,8	5,5	6,3	9,8	7,7	5,2
Valore minimo	0,051	0,271	0,546	0,175	0,151	0,079	0,105	0,496
Valore massimo	0,081	0,389	0,676	0,247	0,197	0,272	0,149	0,647

15.5. Esattezza

L'esattezza del dosaggio è stata controllata mediante il test di diluizione.

Test di diluizione. Quattro campioni di siero contenenti IgG anti-*Toxoplasma gondii* ad alta avidità e quattro campioni di siero contenenti IgG anti-*Toxoplasma gondii* a bassa avidità sono stati analizzati sia in toto, sia dopo diluizione seriale con il diluente dei campioni. I valori dell'indice di avidità delle IgG anti-*Toxoplasma gondii* misurati prima e dopo la diluizione dei campioni non hanno evidenziato discrepanze nella classificazione dei campioni.

Avidità	Diluizione	Indice di avidità misurato	Avidità	Diluizione	Indice di avidità misurato
Bassa	in toto	< 0,010	Alta	in toto	0,603
	1:2	< 0,010		1:2	0,433
	1:4	< 0,010		1:4	0,471
	1:8	< 0,010		1:8	0,467
	1:16	< 0,010		1:16	0,508
Bassa	in toto	0,071	Alta	in toto	0,449
	1:2	0,099		1:2	0,382
	1:4	0,098		1:4	0,559
	1:8	0,112		1:8	0,561
	1:16	0,096		1:16	0,589
Bassa	in toto	0,179	Alta	in toto	0,486
	1:2	0,152		1:2	0,574
	1:4	0,142		1:4	0,636
	1:8	0,150		1:8	0,641
	1:16	0,124		1:16	0,611
Bassa	in toto	0,169	Alta	in toto	0,589
	1:2	0,180		1:2	0,618
	1:4	0,182		1:4	0,628
	1:8	0,164		1:8	0,587
	1:16	0,166		1:16	0,574

15.6. Prestazioni diagnostiche

Sono stati analizzati 261 campioni ottenuti da diverse popolazioni selezionate positive alle IgG anti-*Toxoplasma gondii* (93 pazienti affetti da infezione primaria da *Toxoplasma gondii*, 48 soggetti con infezione passata da *Toxoplasma gondii*, 49 soggetti con infezione passata e livelli persistenti di IgM anti-*Toxoplasma gondii*, 30 soggetti con infezione riattivata da *Toxoplasma*, 41 follow-up da pazienti con precedente infezione primaria da *Toxoplasma*). I risultati dei test sono stati definiti dopo la valutazione dei risultati del metodo di riferimento e della loro idoneità rispetto alla classificazione clinica del paziente condotta da parte dello sperimentatore. A supporto dei risultati del test sono stati usati la classificazione clinica del paziente e il follow-up, quando disponibile, così come i test di altri marcatori di *Toxoplasma gondii*.

La concordanza diagnostica complessiva rispetto al metodo di riferimento è risultata del 98,1% (intervallo di confidenza al 95%: 95,58-99,37%). Considerando sui 261 campioni analizzati i 5 risultati discordanti rispetto al metodo di riferimento, 3 campioni sono risultati ad alta avidità con il test LIAISON® XL Toxo IgG ma compatibili con la classificazione clinica (2 infezioni passate e 1 infezione riattivata), mentre 2 campioni classificati come follow-up sono risultati rispettivamente ad alta e a bassa avidità.

Inoltre, i campioni per i quali era possibile una definizione clinica, sono stati distinti in campioni di soggetti con infezione primaria presumibilmente acquisita nei quattro mesi precedenti la raccolta del campione e in campioni di soggetti con infezione passata acquisita più di quattro mesi prima della raccolta del campione.

I risultati osservati hanno evidenziato l'assenza di casi di alta avidità, 18 casi di moderata avidità e 75 casi di bassa avidità nella popolazione studiata che ha presumibilmente contratto l'infezione nei quattro mesi precedenti la raccolta del campione. Quando valutata in relazione alla condizione clinica, la concordanza diagnostica è stata del 100% (intervallo di confidenza al 95%: 96,11-100%).

I risultati osservati hanno evidenziato 4 casi di bassa avidità, 7 casi di moderata avidità e 116 casi di alta avidità nella popolazione studiata che ha presumibilmente contratto l'infezione più di quattro mesi prima della raccolta del campione. Quando valutata in relazione alla condizione clinica, la concordanza diagnostica è stata del 91,34% (intervallo di confidenza al 95%: 85,03-95,60%).

[Una sintesi della sicurezza e delle prestazioni è disponibile su EUDAMED.](#)

Solo per UE: qualsiasi grave incidente che si sia verificato in relazione a questo dispositivo medico IVD deve essere riportato a DiaSorin Italia S.p.A. e all'autorità competente dello Stato membro dell'UE in cui risiede l'utente e/o il paziente.

REFERENCES

- 1- James B. McAuley
Congenital Toxoplasmosis
Journal of Pediatric Infectious Diseases Society Vol.3 Suppl 1 pp. 530-535 2014
- 2- Remington and Klein's Infectious diseases of the fetus and newborn Infant
Eighth Edition Elsevier chapter 31 pag 949-1042
- 3- Global incidence and Burden of Congenital Toxoplasmosis, by Region of the World Health Organization From Torgerson PR, Mastroiacovo P:
The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review.
Bull World Health Organ 91:501-508, 2013.
- 4- Milewska-Bobula B, Lipka B, Golab E, Debski R, Marczyńska M, Paul M, Panasiuk A, Seroczyńska M, Mazela J, Dunin-Wąsowicz D.
Recommended management of Toxoplasma gondii infection in pregnant women and their children.
Przegl Epidemiol. 2015;69(2):291-8, 403-10.
- 5- Tomasoni LR, Meroni V, Bonfanti C, Bollani L, Lanzarini P, Frusca T, Castelli F.
Multidisciplinary approach to congenital Toxoplasma infection: an Italian nationwide survey.
New Microbiol. 2014 Jul;37(3):347-54. Epub 2014 Jul 1.
- 6- Villena I, Ancelle T, Delmas C, Garcia P, Brezin AP, Thulliez P, Wallon M, King L, Goulet V; Toxosurv network and National Reference Centre for Toxoplasmosis.
Congenital toxoplasmosis in France in 2007: first results from a national surveillance system.
Euro Surveill. 2010 Jun 24;15(25). pii: 19600.
- 7- Wallon M, Peyron F. Pathogens.
Congenital Toxoplasmosis: A Plea for a Neglected Disease.
Pathogens. 2018 Feb 23;7(1). pii: E25. doi: 10.3390/pathogens7010025.
- 8- Prusa AR, Kasper DC, Sawers L, Walter E, Hayde M, Stillwaggon E.
Congenital toxoplasmosis in Austria: Prenatal screening for prevention is cost-saving.
PLoS Negl Trop Dis. 2017 Jul 10;11(7):e0005648. doi: 10.1371/journal.pntd.0005648. eCollection 2017 Jul.
- 9- Lange AE, Thyrian JR, Wetzka S, Flessa S, Hoffmann W, Zygmunt M, Fusch C, Lode HN, Heckmann M.
The impact of socioeconomic factors on the efficiency of voluntary toxoplasmosis screening during pregnancy: a population-based study.
BMC Pregnancy Childbirth. 2016 Jul 29;16(1):197. doi: 10.1186/s12884-016-0966-0.
- 10- BOWEN et al.,
Impact of blood collection devices on clinical chemistry assay
Clinical Biochemistry, 43, 4-25, 2010.

200/007-985, 13 - 2024-01