

Modifiche: §1, §2, §4, §5, §6, §7, §8, §9, §10, §12, §15.3, §15.4, Bibliografia;
Soppressioni: §14;

LIAISON® CMV IgG Avidity II (REF 310765)

1. USO PREVISTO

Il test LIAISON® CMV IgG Avidity II impiega la tecnologia della **chemiluminescenza indiretta** (CLIA) per la determinazione **in vitro** dell'avidità di legame agli antigeni degli anticorpi di classe IgG diretti contro il **citomegalovirus umano** in campioni di siero e plasma umano. **Il test serve come ausilio nella diagnosi e nella stadiazione dell'infezione da hCMV, in soggetti selezionati positivi per la presenza di anticorpi di classe IgG anti-hCMV e IgM anti-hCMV.** Il test deve essere eseguito sulla serie LIAISON® Analyzer*.

2. SIGNIFICATO CLINICO

Il citomegalovirus (CMV) è un virus a spettro d'ospite ristretto che appartiene alla famiglia degli Herpetoviridae. L'infezione primaria è caratterizzata da un periodo di replicazione attiva del virus con diffusione del virus nella saliva, nell'urina, nel latte e nelle secrezioni genitali, una fase viremica. L'infezione da CMV è endemica e senza variazioni stagionali¹.

Negli ospiti immunocompetenti, le infezioni da CMV sono generalmente subcliniche. Tuttavia, quando l'infezione si verifica durante la gravidanza senza conseguenze per la madre, può avere gravi ripercussioni sul feto. Nelle madri immunocompetenti, la riattivazione del virus endogeno e/o la reinfezione con nuovi ceppi si verificano periodicamente e in entrambi i casi possono essere presenti DNAemia e viruria². Meno del 5% delle donne in stato di gravidanza con infezione primaria accertata da CMV è sintomatico, e una percentuale ancora minore manifesta una sindrome simile alla mononucleosi. Non sono state riportate manifestazioni cliniche con infezioni ricorrenti (riattivazioni o reinfezioni). I test sierologici IgG e IgM sono strumenti fondamentali per valutare le infezioni primarie da CMV durante la gravidanza.

La diagnosi di infezione primaria da CMV può essere facilmente confermata documentando la sieroconversione (cioè la comparsa "de novo" di anticorpi IgG specifici del virus in una donna in stato di gravidanza che era sieronegativa). In assenza di uno screening sierologico, raramente si può disporre di tali informazioni nella pratica clinica. La presenza di anticorpi IgG denota un'infezione pregressa di durata variabile da 2 settimane a diversi anni. Gli anticorpi IgM anti-CMV sono presenti durante infezioni primarie e non primarie, pertanto non sono particolarmente informativi per la determinazione della sieroconversione.

La risposta anticorpale delle IgM varia notevolmente da un paziente all'altro. La sieropositività delle IgM può essere rilevata fino a 16 settimane, peraltro è insolito che duri più di 1 anno. È tipico osservare un forte calo dei titoli anticorpali entro i primi 2 o 3 mesi dall'infezione. Test più sensibili degli anticorpi IgM hanno rilevato anticorpi IgM materni specifici del CMV fino a 1 anno dall'arruolamento negli studi clinici.

Il test di avidità delle IgG anti-CMV è considerato uno strumento fondamentale per datare le tempistiche di un contagio. Questo test si basa sul concetto che l'avidità delle IgG aumenta con il tempo; le IgG con bassa avidità sono associate a infezioni recenti, mentre un indice di avidità elevato indica infezioni pregresse. Questo test si basa sull'osservazione della presenza di anticorpi IgG a bassa avidità durante i primi mesi dopo l'insorgenza dell'infezione.

Nella determinazione del rischio di CMV congenito, un indice di avidità da moderata ad alta ottenuto prima della 18ª settimana di gestazione ha un valore predittivo negativo del 100%. Quando l'indice di avidità viene determinato tra la 21ª e la 23ª settimana di gestazione, il valore predittivo negativo scende al 91%. La spiegazione di questa osservazione è che alcune delle donne che hanno trasmesso l'infezione in utero avevano contratto l'infezione in un'età gestazionale molto precoce. Un limite importante dei primi studi che utilizzavano il test di avidità delle IgG era la mancanza di standardizzazione. In uno studio, la capacità di questi test di avidità delle IgG di identificare l'infezione primaria da CMV ha raggiunto quasi il 100%, mentre la capacità di escludere un'infezione recente variava dal 20% al 96%. In abbinamento alla rilevazione degli anticorpi IgM specifici del CMV, il test di avidità è stato utilizzato per stimare il rischio di infezione primaria e di infezione congenita dannosa. Questo approccio è stato ampiamente utilizzato in Europa e rappresenta ora una componente delle analisi di routine per le donne in stato di gravidanza, sebbene permangano dubbi sulla standardizzazione dei vari dosaggi. Tuttavia, non è ampiamente utilizzato negli Stati Uniti, presumibilmente a causa della mancanza di uno screening diffuso per le infezioni da CMV nelle donne in stato di gravidanza.

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

3. PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

Il metodo per la determinazione dell'avidità del legame di IgG specifiche anti-hCMV è un test indiretto basato sul principio della chemiluminescenza (CLIA). L'antigene hCMV è usato per rivestire le particelle magnetiche (fase solida) e un anticorpo monoclonale di topo è legato ad un derivato dell'isoluminolo (coniugato anticorpo-isoluminolo). La presenza di legami forti tra anticorpi IgG e hCMV (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 hCMV. Durante la prima incubazione, gli anticorpi anti-hCMV 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-hCMV 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-hCMV 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.

4. MATERIALI FORNITI

Integrale di reattivi

Particelle magnetiche (1,5 mL)	SORB	Particelle magnetiche ($\geq 0,25\%$ in fase solida) rivestite con antigene inattivato di hCMV (ceppo AD 169) (appr. 0,25 mg/mL), sieroalbumina bovina, tampone fosfato, < 0,1% sodio azide.
Calibratore 1 (2,3 mL)	CAL1	Siero/plasma umano contenente bassi livelli di IgG anti-hCMV (appr. 130 U/mL), sieroalbumina bovina, tampone fosfato, 0,2% ProClin™ 300 e un colorante giallo inerte. La concentrazione dei calibratori è tarata contro una preparazione dell'antigene realizzata internamente.
Calibratore 2 (2,3 mL)	CAL2	Siero/plasma umano contenente alti livelli di IgG anti-hCMV (appr. 3000 U/mL), sieroalbumina bovina, tampone fosfato, 0,2% ProClin™ 300 e un colorante giallo inerte. La concentrazione dei calibratori è tarata contro una preparazione dell'antigene 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)	BUFB	Tampone TRIS, urea, 0,2% ProClin™ 300, conservanti e un colorante blu inerte.
Coniugato (23 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® Module ([REF] 319130).
LIAISON® XL Disposable Tips ([REF] X0015) oppure	–
LIAISON® Disposable Tips ([REF] X0055).	–
LIAISON® XL Starter Kit ([REF] 319200) oppure	LIAISON® Starter Kit ([REF] 319102) oppure
LIAISON® EASY Starter Kit ([REF] 319300).	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® Wash/System Liquid ([REF] 319100).
LIAISON® XL Waste Bags ([REF] X0025).	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

LIAISON® Control CMV IgG Avidity II (a bassa e ad alta avidità) ([REF] 310766).

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 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.

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

Gli strumenti devono essere regolarmente sottoposti a pulizia e decontaminazione. Per le procedure di pulizia, consultare il manuale operativo.

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

REATTIVI:	[CAL1], [CAL2], [DILSPE], [BUFB], [CONJ]
CLASSIFICAZIONE:	Skin sens. 1A H317 Aquatic chronic 3 H412
SEGNALAZIONI:	Attenzione
SIMBOLI/PITTOGRAMMI:	 GHS07 Punto esclamativo
FRASI DI PERICOLO:	H317 Può provocare una reazione allergica cutanea. H412 Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
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.
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).

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 DEGLI INTEGRALI DI REATTIVI

Osservare scrupolosamente le seguenti precauzioni importanti per la manipolazione dei 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. Asciugare accuratamente la superficie di ciascun setto per eliminare il liquido residuo.

Se necessario, ripetere la procedura fino alla completa risospensione delle particelle magnetiche.

Una risospensione incompleta delle particelle magnetiche può causare risultati analitici variabili e imprecisi.

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 i calibratori (posti in seconda e terza 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. L'integrale è pronto per l'uso quando è lasciato riposare nello strumento, le particelle magnetiche sono tenute in agitazione automatica e la schiuma è sciolta.

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 Analyzer e LIAISON® XS Analyzer 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.

8. CONSERVAZIONE E STABILITÀ DELL'INTEGRALE DI REATTIVI

- **Sigillato:** stabile a 2-8°C fino alla data di scadenza.
- **Aperto a bordo dello strumento o a 2-8°C:** fino a otto (8) settimane.
- Usare l'apposito supporto fornito in dotazione con gli strumenti LIAISON® Analyzer per mantenere l'integrale di reattivi in posizione verticale.
- Non congelare.
- Mantenere l'integrale di reattivi in posizione verticale durante la conservazione per facilitare la successiva adeguata risospensione delle particelle magnetiche.
- Tenere al riparo dalla luce diretta.

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;
- plasma raccolto con i seguenti anticoagulanti:
 - .litio eparina;
 - .sodio eparina;
 - .K2-EDTA;
 - .sodio citrato.

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 positivi alle IgG anti-hCMV (superiori a 14,0 U/mL con il test LIAISON® CMV IgG II [REF] 310745) devono essere sottoposti al test di avidità delle IgG: i campioni con concentrazioni inferiori possono dare luogo a una classificazione errata dei campioni.

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 (8) 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 rappresentante DiaSorin locale.

LIAISON® Analyzer: i valori dei calibratori sono codificati nei codici a barre riportati sull'etichetta dell'integrale.

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

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: CGAvII, CNTII e C-TII.

Per dosare i campioni usare CGAvII.

Mai usare CNTII o C-TII.

Per ottenere prestazioni analitiche ideali è necessario attenersi scrupolosamente al manuale operativo dello strumento.

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 e 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 e misurare la luce emessa.

12. CONTROLLO DI QUALITÀ

I controlli LIAISON® devono essere analizzati in singolo per valutare le prestazioni del test. Il controllo di qualità deve essere eseguito analizzando i controlli LIAISON® CMV IgG Avidity II ([REF 310766](#)):

- (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 refertati.

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-hCMV (rapporto tra i valori ottenuti per i campioni trattati con urea e i campioni di riferimento) e classifica i risultati. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per informazioni più dettagliate.

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 dosaggio. Indice di avidità (Av) per le IgG anti-hCMV compreso tra 0,000 e 0,950.

I campioni contenenti livelli di anticorpi IgG anti-hCMV superiori all'intervallo di dosaggio (superiori a 140 U/mL) previsto per LIAISON® CMV IgG II (REF 310745) devono essere prediluiti usando la funzione Dilute (Diluisci) dello strumento prima di eseguire il test CMV IgG Avidity. Il fattore di diluizione consigliato è di 1:10. Se i campioni diluiti 1:10 generano ancora risultati superiori all'intervallo di dosaggio del test di avidità, viene visualizzato il messaggio "Invalid Combi Partner" (Campione combinato non valido); in tal caso il test CMV IgG Avidity deve essere ripetuto dopo aver prediluito i campioni 1:20.

I campioni contenenti livelli di IgG anti-hCMV compresi nell'intervallo di dosaggio possono essere analizzati direttamente. Se i campioni presentano livelli anticorpali al di sopra dell'intervallo di dosaggio del test CMV 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 anticorpali 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.

Tutti i campioni analizzati tramite il test Liaison CMV IgG II che presentano un titolo di IgG anti-CMV superiore a 140 U/mL devono essere direttamente prediluiti 1:10 per l'esecuzione del test di avidità.

I risultati dei campioni devono essere interpretati come segue:

Un valore dell'indice di avidità delle IgG anti-hCMV inferiore a 0,150 deve essere classificato come *avidità bassa*.

Un valore dell'indice di avidità delle IgG anti-hCMV compreso tra 0,150 e 0,250 deve essere classificato come *avidità moderata*.

Un valore dell'indice di avidità delle IgG anti-hCMV pari o superiore a 0,250 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 Analyzer) con un risultato di C-TII << 0,00 U/mL (< 0 U/mL per gli strumenti LIAISON® XL e LIAISON® XS). 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 tre mesi prima del prelievo del campione. 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 per diversi mesi.

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 valore elevato dell'indice di avidità può escludere che l'infezione primaria sia stata contratta meno di tre mesi prima del prelievo del campione. I dati sierologici derivanti dal rilevamento di altri indicatori di hCMV 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 0,150 e 0,250) 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

La specificità analitica è definita come la capacità del test di rilevare esattamente l'analita specifico in presenza di fattori potenzialmente interferenti nella matrice del campione (per esempio anticoagulanti, emolisi, effetti di trattamenti del campione).

Interferenze. Studi controllati su sostanze potenzialmente interferenti hanno dimostrato che le prestazioni del test non sono influenzate da anticoagulanti (sodio citrato, EDTA, sodio eparina 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 dell'analita specifico. La variabilità indicata nelle tabelle non ha dato luogo ad errata classificazione dei campioni.

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

Ripetibilità	A	B	C	D	E	F	G	H	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Media (Av)	0,070	0,093	0,116	0,122	0,292	0,623	0,687	0,711	0,048	0,713
Deviazione standard (Av)	0,004	0,007	0,011	0,009	0,021	0,044	0,038	0,026	0,007	0,053
Coefficiente di variazione (%)	5,4	7,4	9,4	7,5	7,1	7,0	5,5	3,7	15,7	7,4
Valore minimo (Av)	0,065	0,081	0,099	0,105	0,268	0,569	0,630	0,661	0,039	0,567
Valore massimo (Av)	0,081	0,105	0,140	0,141	0,366	0,734	0,762	0,760	0,064	0,782

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 siti.

Riproducibilità - Sito 1	A	B	C	D	E	F	G	H	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Media (Av)	0,084	0,102	0,122	0,136	0,293	0,635	0,714	0,725	0,043	0,726
Deviazione standard (Av)	0,010	0,009	0,008	0,009	0,014	0,043	0,050	0,039	0,006	0,048
Coefficiente di variazione (%)	11,4	8,7	6,4	6,6	4,8	6,8	7,0	5,4	14,5	6,7
Valore minimo (Av)	0,071	0,089	0,111	0,118	0,264	0,584	0,635	0,672	0,029	0,657
Valore massimo (Av)	0,103	0,121	0,144	0,153	0,318	0,746	0,833	0,846	0,055	0,813

Riproducibilità - Sito 2	A	B	C	D	E	F	G	H	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Media (Av)	0,073	0,089	0,112	0,122	0,289	0,634	0,704	0,728	0,039	0,758
Deviazione standard (Av)	0,003	0,002	0,005	0,004	0,007	0,019	0,019	0,018	0,005	0,029
Coefficiente di variazione (%)	4,0	2,4	4,4	3,3	2,5	3,0	2,7	2,5	14,0	3,9
Valore minimo (Av)	0,069	0,085	0,105	0,116	0,270	0,591	0,660	0,692	0,034	0,714
Valore massimo (Av)	0,080	0,094	0,121	0,131	0,302	0,663	0,739	0,779	0,059	0,840

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 dell'analita specifico. La variabilità indicata nelle tabelle non ha dato luogo ad errata classificazione dei campioni.

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

Ripetibilità	1	2	3	4	5	6	7	8	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Media (Av)	0,084	0,102	0,124	0,131	0,285	0,624	0,650	0,743	0,051	0,784
Deviazione standard (Av)	0,003	0,003	0,004	0,005	0,011	0,018	0,027	0,034	0,002	0,024
Coefficiente di variazione (%)	3,8	3,2	3,4	3,5	3,7	2,9	4,1	4,5	4,1	3,0
Valore minimo (Av)	0,077	0,096	0,118	0,123	0,268	0,597	0,595	0,681	0,048	0,743
Valore massimo (Av)	0,089	0,108	0,131	0,140	0,309	0,654	0,699	0,814	0,055	0,831

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 siti.

Riproducibilità - Sito 1	1	2	3	4	5	6	7	8	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Media (Av)	0,081	0,104	0,126	0,140	0,283	0,631	0,705	0,758	0,049	0,764
Deviazione standard (Av)	0,004	0,006	0,006	0,006	0,009	0,027	0,022	0,041	0,002	0,035
Coefficiente di variazione (%)	4,5	6,1	4,6	4,6	3,3	4,2	3,2	5,4	4,7	4,6
Valore minimo (Av)	0,074	0,089	0,117	0,130	0,265	0,593	0,662	0,688	0,044	0,709
Valore massimo (Av)	0,088	0,111	0,142	0,150	0,301	0,676	0,740	0,838	0,052	0,837

Riproducibilità - Sito 2	1	2	3	4	5	6	7	8	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Media (Av)	0,078	0,101	0,117	0,127	0,277	0,614	0,704	0,727	0,047	0,750
Deviazione standard (Av)	0,006	0,007	0,009	0,009	0,016	0,046	0,045	0,051	0,006	0,072
Coefficiente di variazione (%)	8,1	7,2	7,3	7,2	5,6	7,5	6,4	7,1	12,7	9,7
Valore minimo (Av)	0,062	0,078	0,104	0,107	0,236	0,513	0,586	0,625	0,033	0,572
Valore massimo (Av)	0,091	0,111	0,132	0,146	0,296	0,701	0,779	0,827	0,059	0,920

Riproducibilità tra i lotti. Campioni analizzati in singolo su cinque diversi strumenti LIAISON® XL in almeno quattro lotti diversi.

Riproducibilità	LIAISON® CMV IgG Avidity II (codice 310765) su LIAISON® XL					
ID campione	A	B	C	D	Controllo basso	Controllo alto
Media (Av)	0,568	0,595	0,469	0,501	0,073	0,719
Coefficiente di variazione inter-lotto (%)	6,3	4,0	0,0	11,9	19,8	5,8

15.4. Precisione con LIAISON® XS Analyzer

Uno studio di precisione della durata di cinque giorni è stato condotto su tre strumenti LIAISON® XS Analyzer per verificare la precisione con il dosaggio LIAISON® CMV IgG Avidity II. 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 7 campioni congelati contenenti una diversa concentrazione di analita e controlli del kit.

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

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

La dose media, 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 7 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	9	10	11	12	13	14	15	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	90	90	90	90	90	90	90	90	90
Media (Av)	0,0458	0,0753	0,177	0,151	0,191	0,488	0,808	0,0556	0,789
Deviazione standard	0,002	0,002	0,005	0,004	0,007	0,019	0,027	0,002	0,017
Coefficiente di variazione (%)	3,5	3,3	3,0	2,8	3,4	3,9	3,4	3,5	2,2
Valore minimo (Av)	0,0400	0,0692	0,159	0,134	0,168	0,740	0,712	0,0489	0,698
Valore massimo (Av)	0,0512	0,0822	0,197	0,165	0,223	0,554	0,870	0,0629	0,869

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	9	10	11	12	13	14	15	Controllo basso	Controllo alto
Numero di determinazioni	90	90	90	90	90	90	90	90	90
Media (Av)	0,0458	0,0753	0,177	0,151	0,191	0,488	0,808	0,0556	0,789
Deviazione standard	0,002	0,003	0,006	0,005	0,009	0,020	0,030	0,003	0,024
Coefficiente di variazione (%)	4,1	3,7	3,6	3,6	4,5	4,1	3,7	4,6	3,0
Valore minimo (Av)	0,0400	0,0692	0,159	0,134	0,168	0,740	0,712	0,0489	0,698
Valore massimo (Av)	0,0512	0,0822	0,197	0,165	0,223	0,554	0,870	0,0629	0,869

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-hCMV ad alta avidità e quattro campioni di siero contenenti IgG anti-hCMV 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-hCMV 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	0,131	Alta	in toto	0,572
	1:2	0,140		1:2	0,541
	1:5	0,118		1:5	0,620
	1:10	0,072		1:10	0,639
	1:20	-		1:20	0,605
Bassa	in toto	0,120	Alta	in toto	0,716
	1:2	0,143		1:2	0,889
	1:5	0,136		1:5	0,879
	1:10	0,089		1:10	0,799
	1:20	-		1:20	0,853
Bassa	in toto	0,062	Alta	in toto	0,548
	1:2	0,075		1:2	0,592
	1:5	0,067		1:5	0,633
	1:10	0,045		1:10	0,610
	1:20	0,037		1:20	0,680
Bassa	in toto	0,039	Alta	in toto	0,517
	1:2	0,031		1:2	0,612
	1:5	0,032		1:5	0,755
	1:10	0,047		1:10	0,655
	1:20	0,036		1:20	0,680

15.6. Concordanza diagnostica

Sono stati analizzati 182 campioni prelevati da soggetti sottoposti al test CMV IgG Avidity in diversi laboratori europei.

Il momento della presunta infezione è stato stabilito sulla base dei risultati ottenuti con un test di riferimento a marchio CE (LIAISON® CMV IgG Avidity, [REF] 310760).

22 campioni sono risultati dubbi al metodo di riferimento e non sono stati inclusi nell'analisi dei dati.

Nella popolazione studiata che presumibilmente aveva contratto l'infezione nei tre mesi precedenti al prelievo, 39 campioni sono risultati a bassa avidità. La concordanza diagnostica era pari al 100% (intervallo di confidenza al 95%: 90,98-100%).

Nella popolazione studiata che presumibilmente aveva contratto l'infezione più di tre mesi prima del prelievo, 1 campione è risultato a bassa avidità, 3 ad avidità moderata e 117 ad alta avidità. La concordanza diagnostica era pari al 96,58% (intervallo di confidenza al 95%: 91,75-99,09%).

La 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- Remington and Klein's Infectious diseases of the fetus and newborn Infant Eighth Edition Elsevier chapter 24 pag 724-781.
- 2- Sheetal Manicklal,a Vincent C. Emery, Tiziana Lazzarotto, Suresh B. Boppana,d Ravindra K. Guptab The "Silent" Global Burden of Congenital Cytomegalovirus Clinical Microbiology Reviews p. 86 -102 January 2013 Volume 26 Number 1
- 3- Marianne Leruez-Ville, M.D., PhD.Yves Ville, M.D. Fetal cytomegalovirus infection FRCOG Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology 38 (2017) 97e107
- 4- Fowler KB, Stagno S, Pass RF, et al. The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. N Engl J Med 1992 Mar 5;326(10):663e7
- 5- Ross SA, Fowler KB, Ashrith G, et al. Hearing loss in children with congenital cytomegalovirus infection born to mothers with preexisting immunity. J Pediatr 2006 Mar; 148(3):332e6.
- 6- Townsend CL, Forsgren M, Ahlfors K, et al. Long-term outcomes of congenital cytomegalovirus infection in Sweden and the United Kingdom. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am 2013 May;56(9):1232e9.
- 7- Alda Saldan, Gabriella Forner, Carlo Mengoli, Nadia Gussetti, Giorgio Palù, Davide Abatea . Testing for Cytomegabovirus in Pregnancy March 2017 Volume 55 Issue 3 8-Journal of Clinical Microbiology 693-702
- 8- Camille N. Kotton, MD, Deepali Kumar, MD, Angela M. Caliendo, MD, PhD, Shirish Huprikar, MD, Sunwen Chou, MD, Lara Danziger- Isakov,MD, MPH, and Atul Humar, MD on behalf of the The Transplantation Society International CMV Consensus Group The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-organ Transplantation 2018; 102: 900-931
- 9- BOWEN et al., Impact of blood collection devices on clinical chemistry assay Clinical Biochemistry, 43, 4-25, 2010.
- 10- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) C15-A3, Vol.34, No.12, User Verification of Precision and Estimation of Bias; Approved Guideline - Third Edition

200/007-950, 13 - 2024-06