

Introduzione ai Test di Avidità



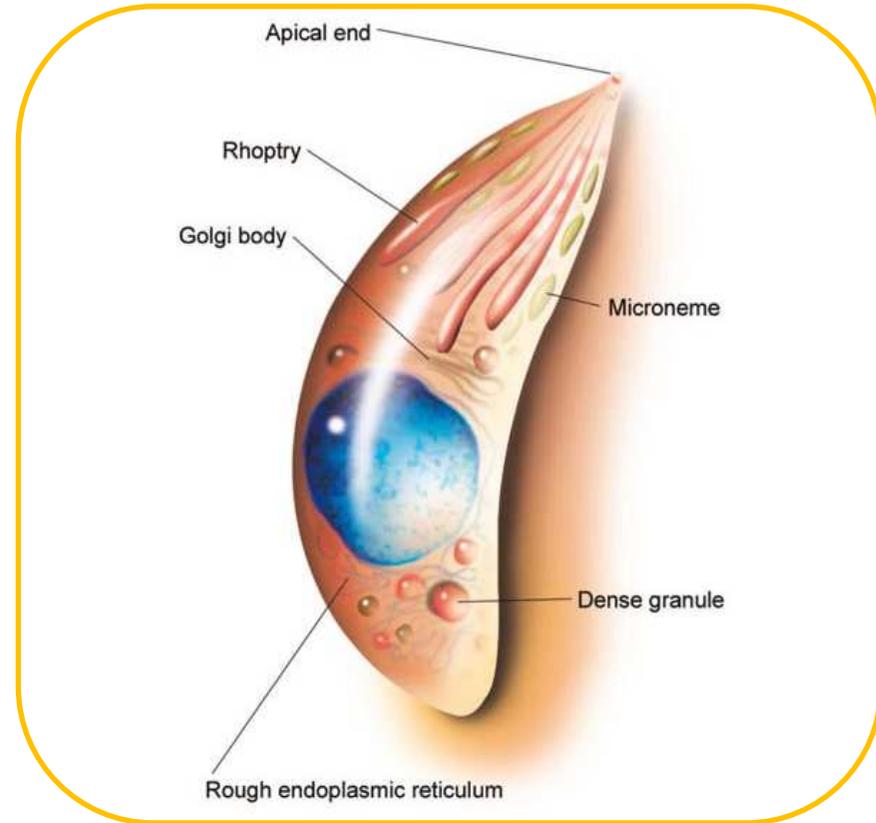
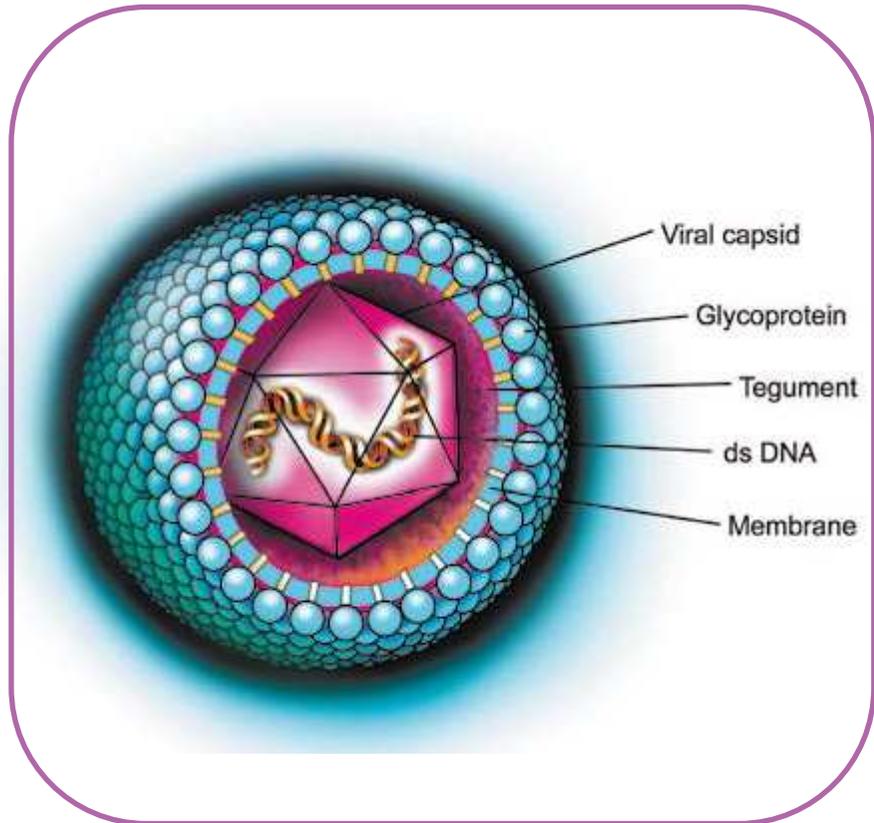
**3° Congresso NEWMICRO
Padenghe sul Garda
20-22 Marzo 2013**

Daniela Bernasconi
*Product Manager Infectious Disease
Abbott Diagnostici Italia*

CMV e *T. gondii*

Principali Differenze:

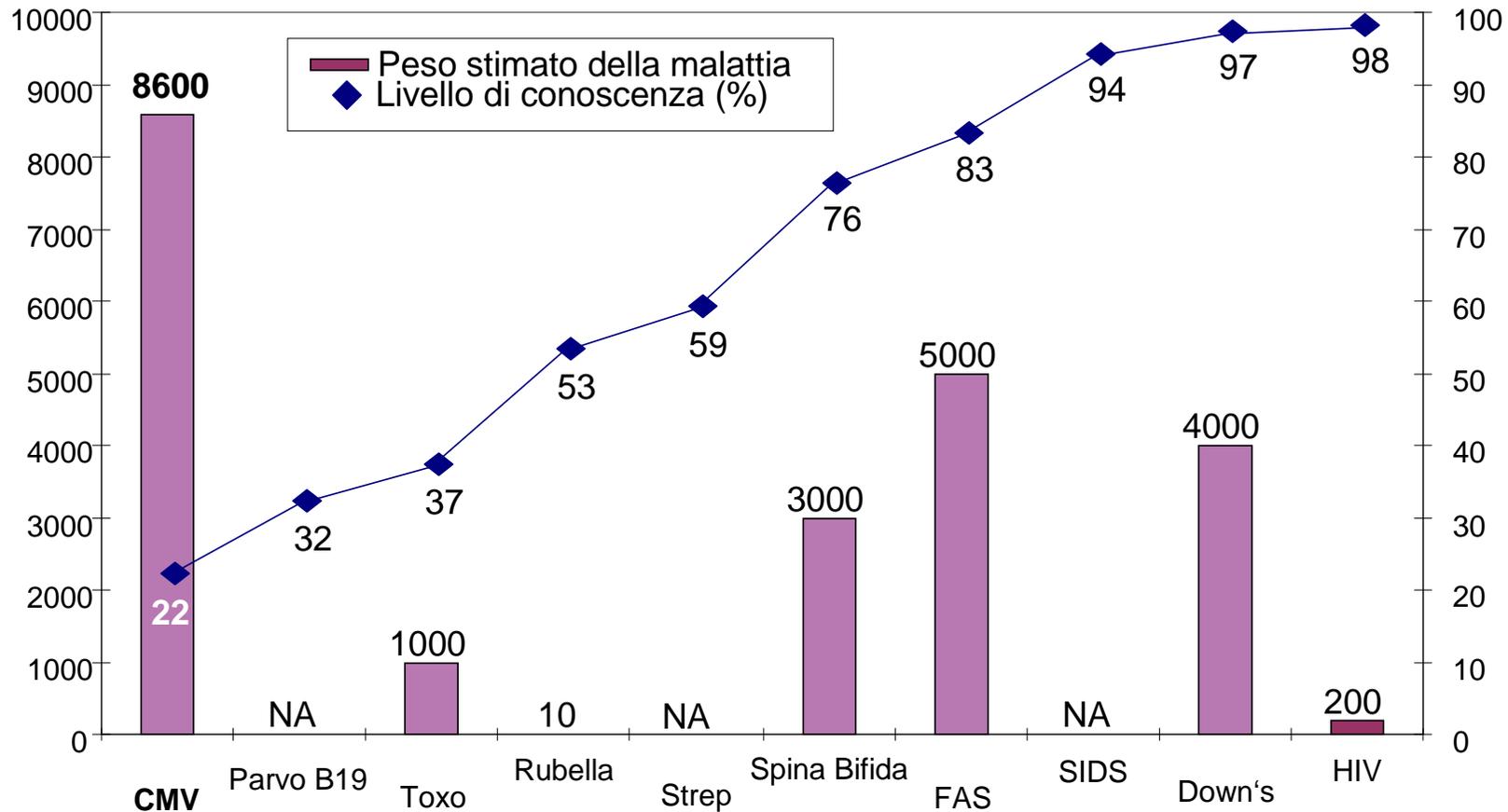
Classificazione, Spettro d'ospite, Ciclo vitale, Trasmissione,



Principali Somiglianze:

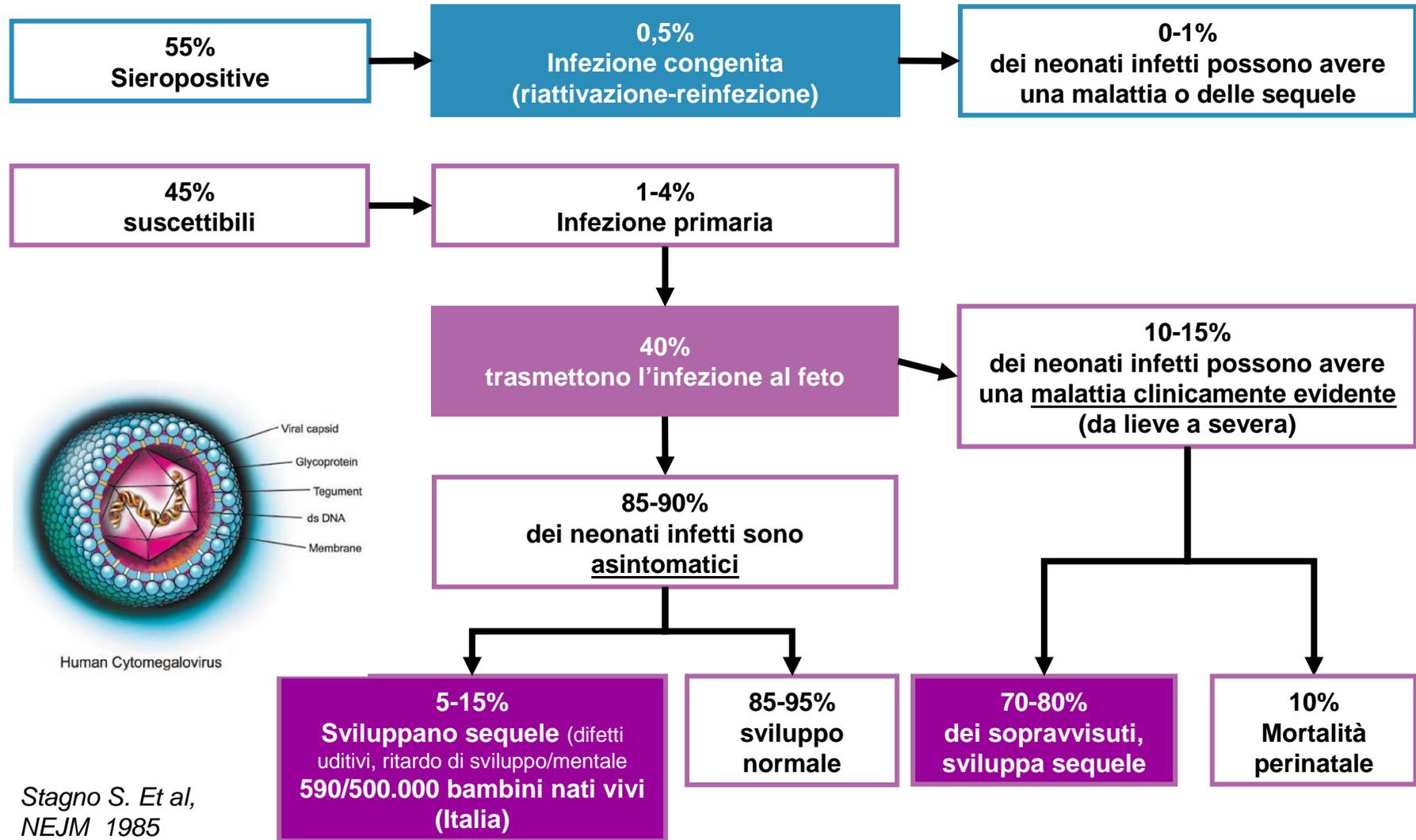
Parassiti intracellulari obbligati, Inf. aspecifica, Infezione congenita con patologie fetali

Le infezioni congenite sono la prima causa di problemi di salute pediatrici (US)



Jeon et al. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, 2006

CMV: infezione congenita e sequele



CMV: Rischio di infezione congenita e sequele

	Week of gestation		
	4-22	16-27	23-40
Congenital infections	51%	60%	44%
Symptoms at birth	12%	16%	0%
Severe handicaps	29%	0%	0%

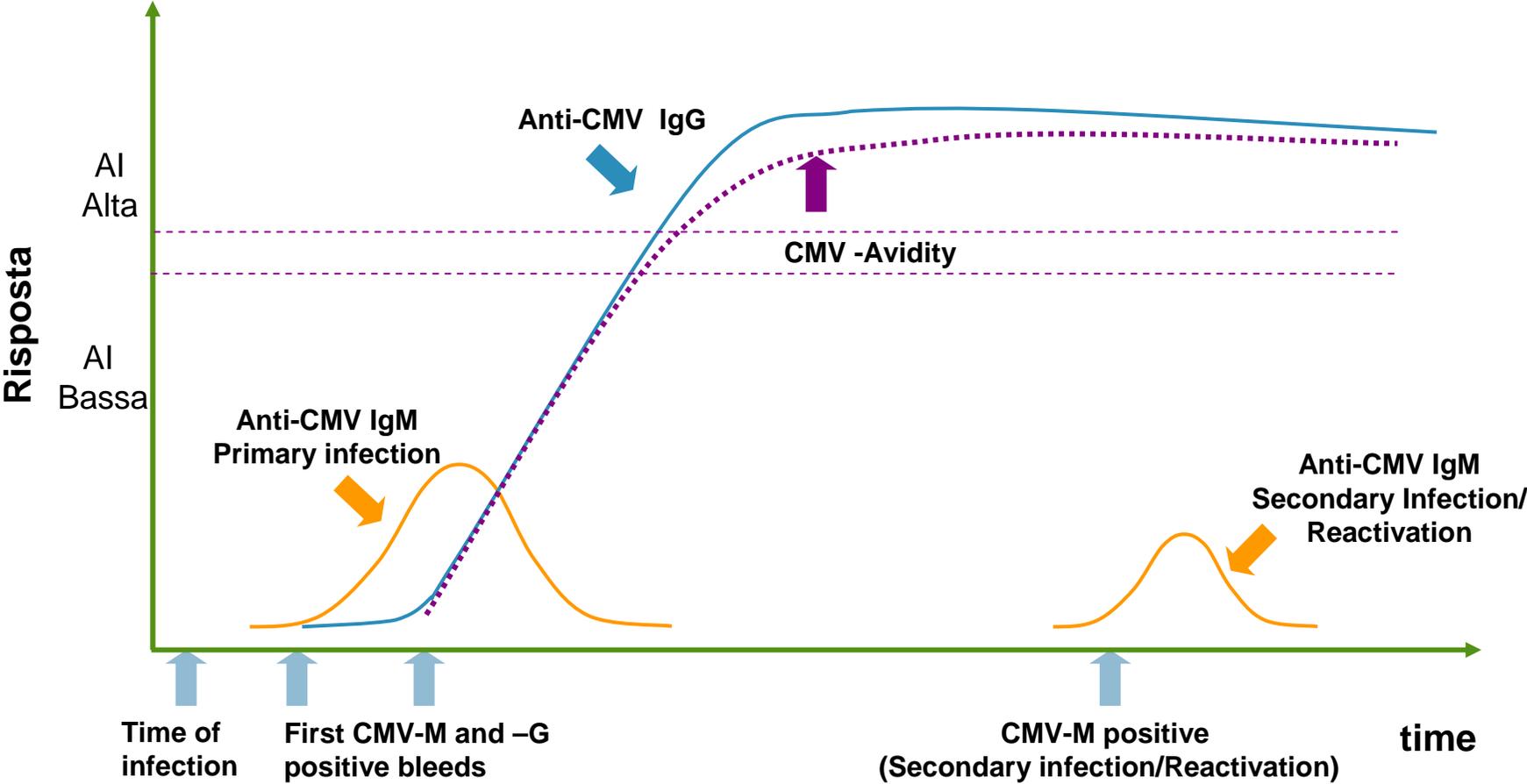
S. Stagno et al, JAMA 1986

La diagnosi delle infezioni congenite

Lo **stato sierologico** materno ed il **periodo** di gestazione durante il quale viene acquisita l'infezione sono **fattori** che **condizionano** la **possibilità** e la **severità dell'infezione** congenita (*T. gondii*: somministrare tempestivamente una **terapia** corretta)

Per la gestione ottimale del paziente è fondamentale:
una diagnosi accurata, precoce, capace di definire il periodo di acquisizione dell'infezione

Infezione da CMV: marcatori sierologici



CMV IgM: l'osservazione più frequente

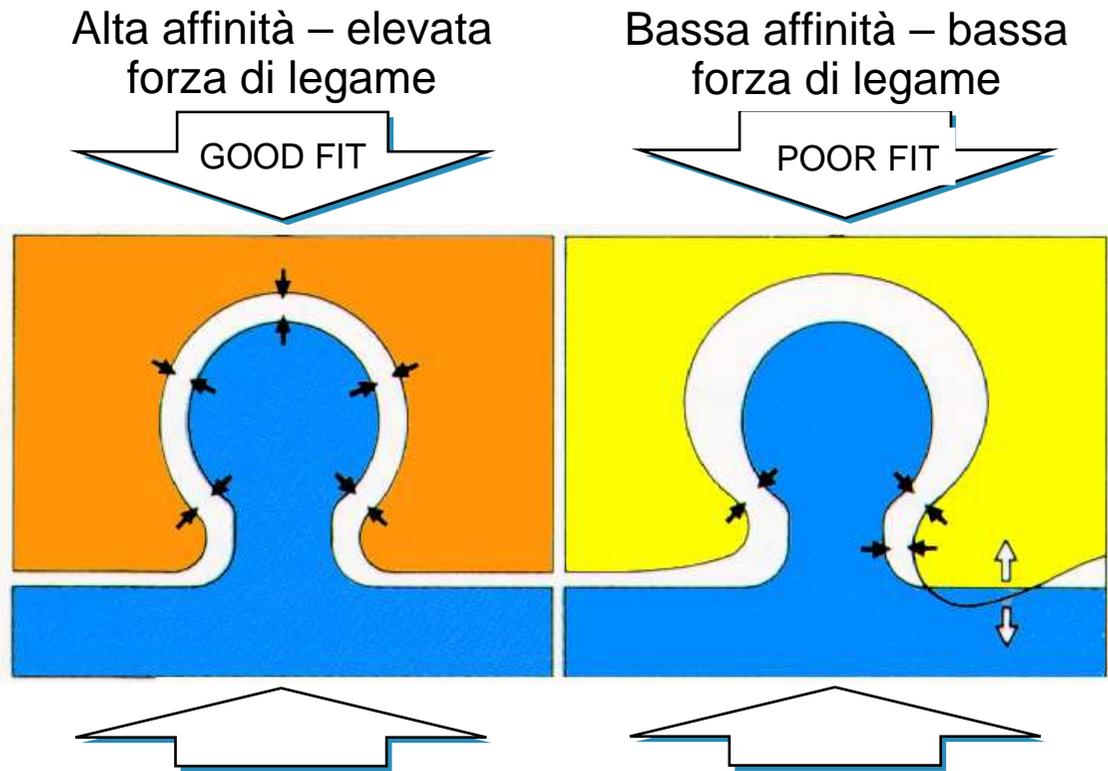
“Questo test per CMV IgM è troppo sensibile. Abbiamo il 5% (7%, 10%...) di falsi positivi sui campioni di donne in gravidanza, **non è possibile che ci siano così tante infezioni recenti!** Inoltre, il ginecologo che vede questi risultati consiglia l'interruzione della gravidanza”

CMV IgM: la gestione del risultato

1. Le IgM sono frequentemente positive anche nelle riattivazioni e nelle reinfezioni. Una riattivazione in gravidanza avviene nel 20% circa dei casi
2. Nessun test è in grado di identificare solo le IgM da infezione acuta e non quelle da riattivazione; si comprometterebbe la sensibilità nelle prime fasi di infezione
3. Si raccomanda l'esecuzione del test di avidità per IgG sui campioni positivi per IgM; in gravidanza, circa il 90% dei campioni positivi per IgM hanno un'avidità elevata

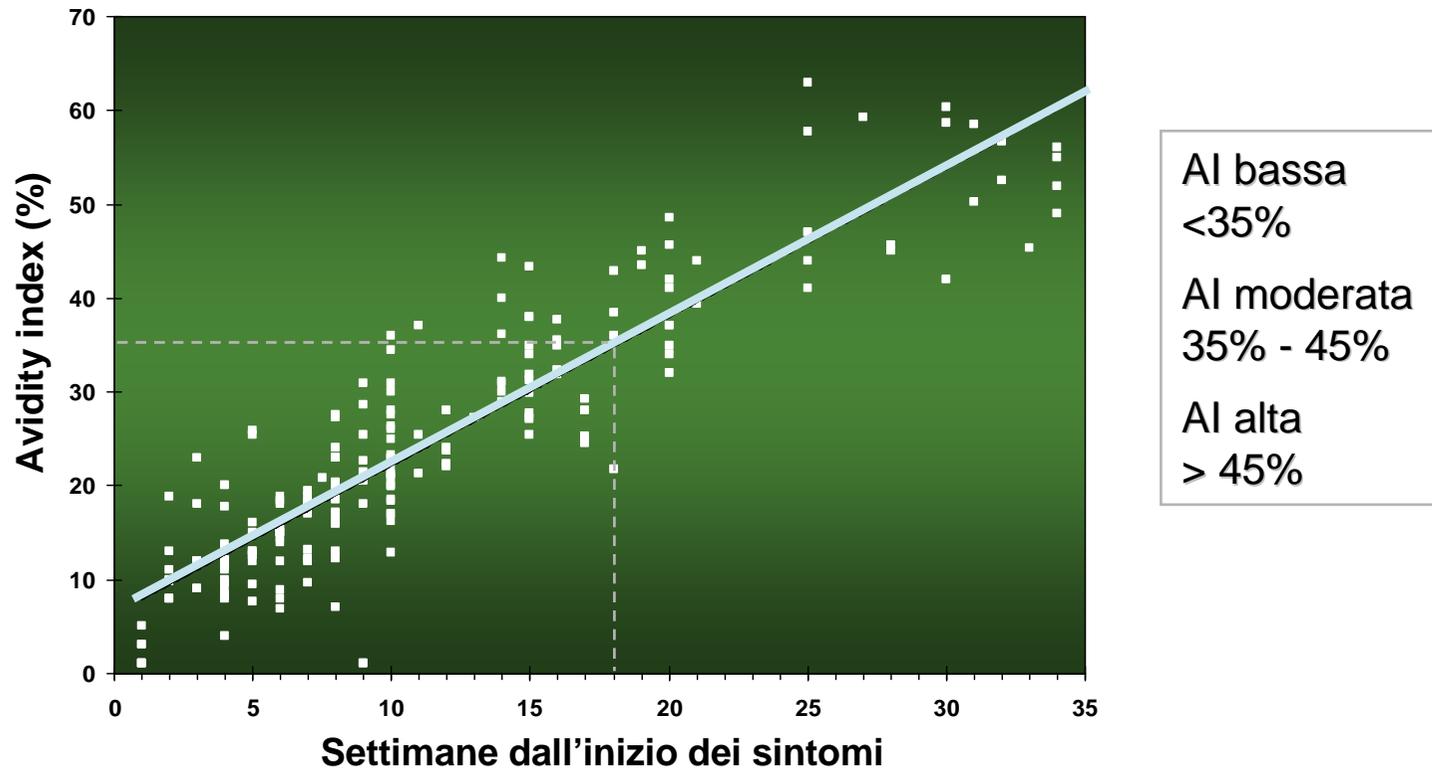
Affinità e avidità anticorpale

Affinità anticorpale: la forza di ogni singolo legame antigene-anticorpo



Avidità anticorpale: la forza con la quale un antisiero multivalente lega un antigene multivalente

CMV: determinazione dell'avidità delle IgG



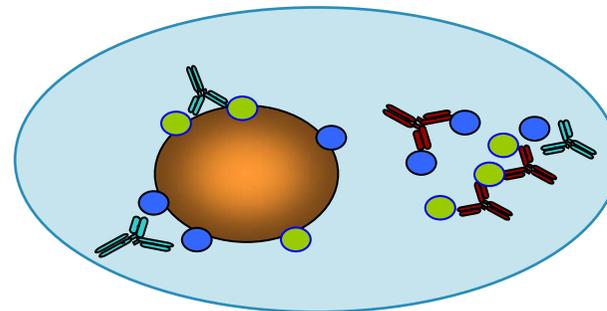
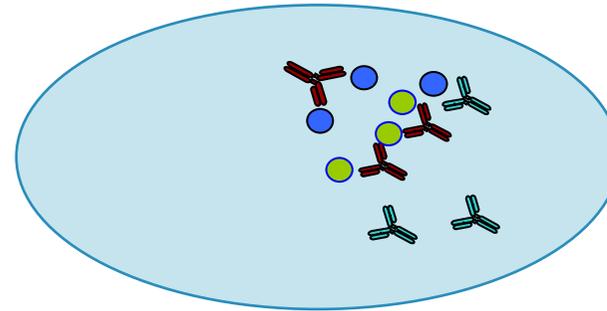
- La maturazione dell'Avidità avviene in 18-20 settimane
- A 6-18 settimane: sensibilità 100%
- A 21-22 settimane: sensibilità 60% *T. Lazzarotto et al, Clin Diagn Lab Immunol 1999*

Avidità mediante la tecnologia AVIcomp

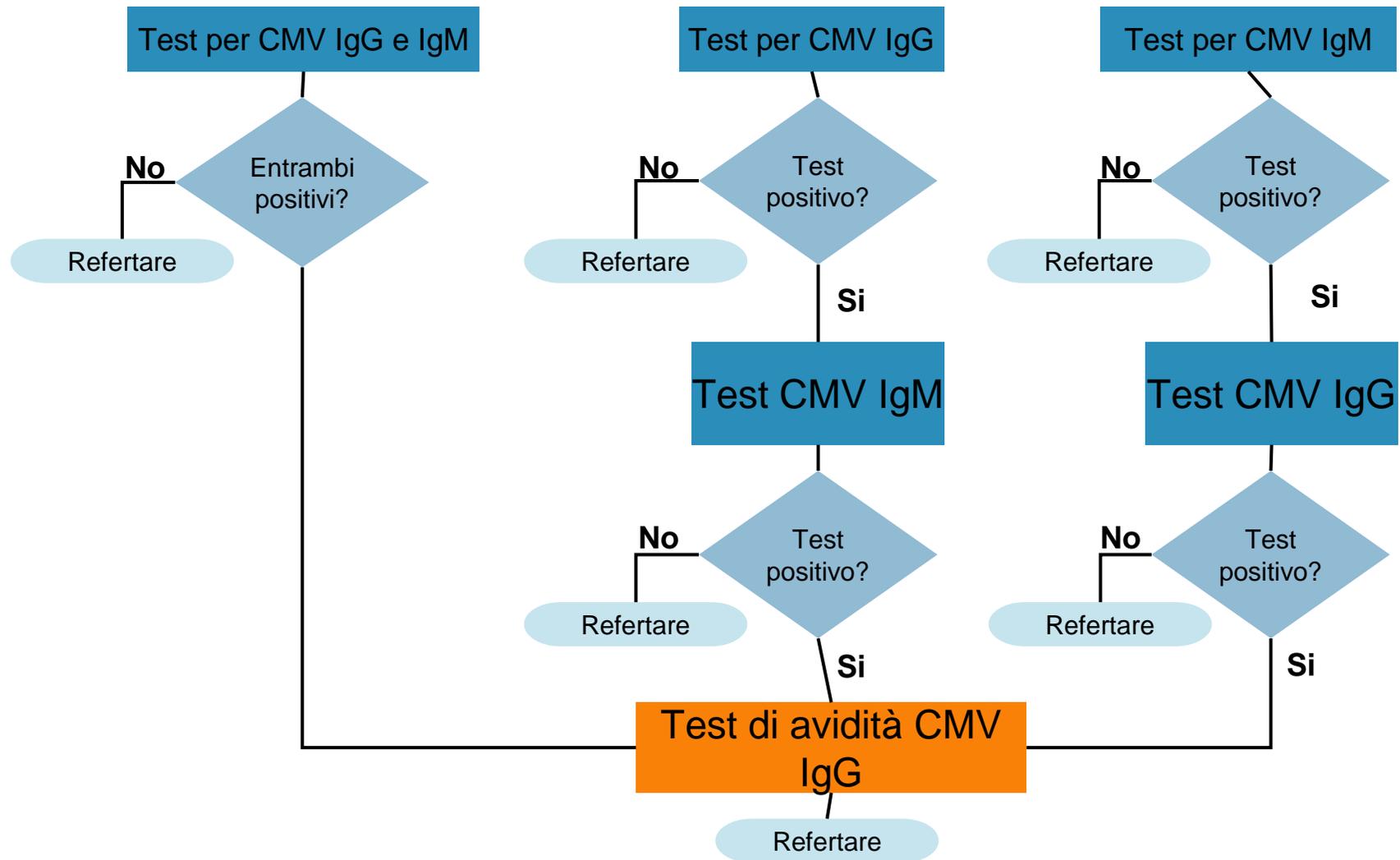
Nella fase di pretrattamento del campione le IgG nel campione (bassa ed alta avidità) vengono incubate con un eccesso di lisato virale in soluzione.

Allo stato di equilibrio quasi tutti gli anticorpi ad elevata avidità si legano al lisato, mentre la maggior parte degli anticorpi a bassa avidità rimane in soluzione a causa della forza di legame inferiore.

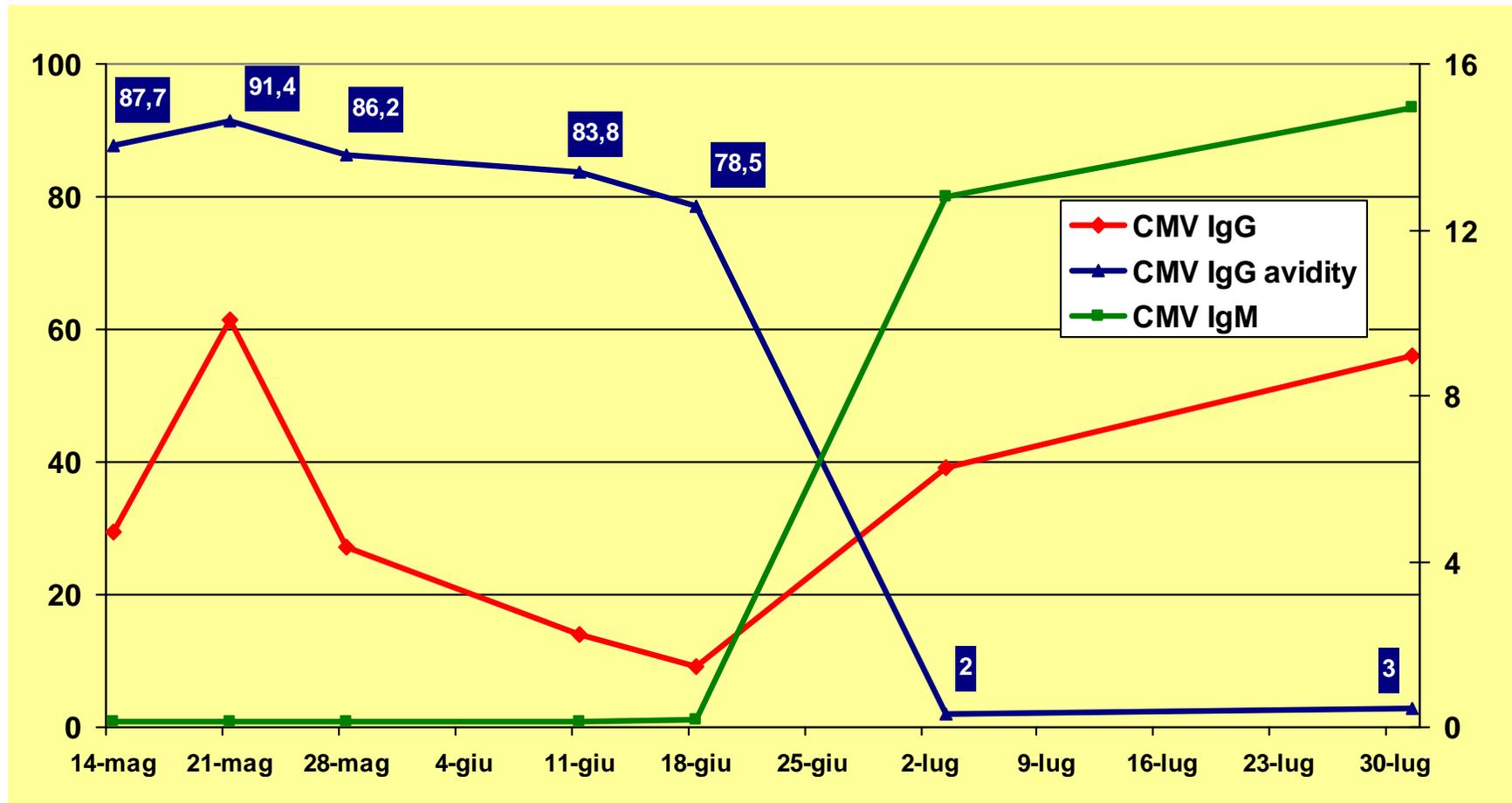
Dopo l'aggiunta delle microparticelle rivestite con antigeni, gli anticorpi a bassa avidità rimasti liberi si legano alle microparticelle, mentre gli anticorpi ad elevata avidità rimangono legati all'antigene in soluzione.



„Reflex testing“ per CMV IgG avidity con ARCHITECT

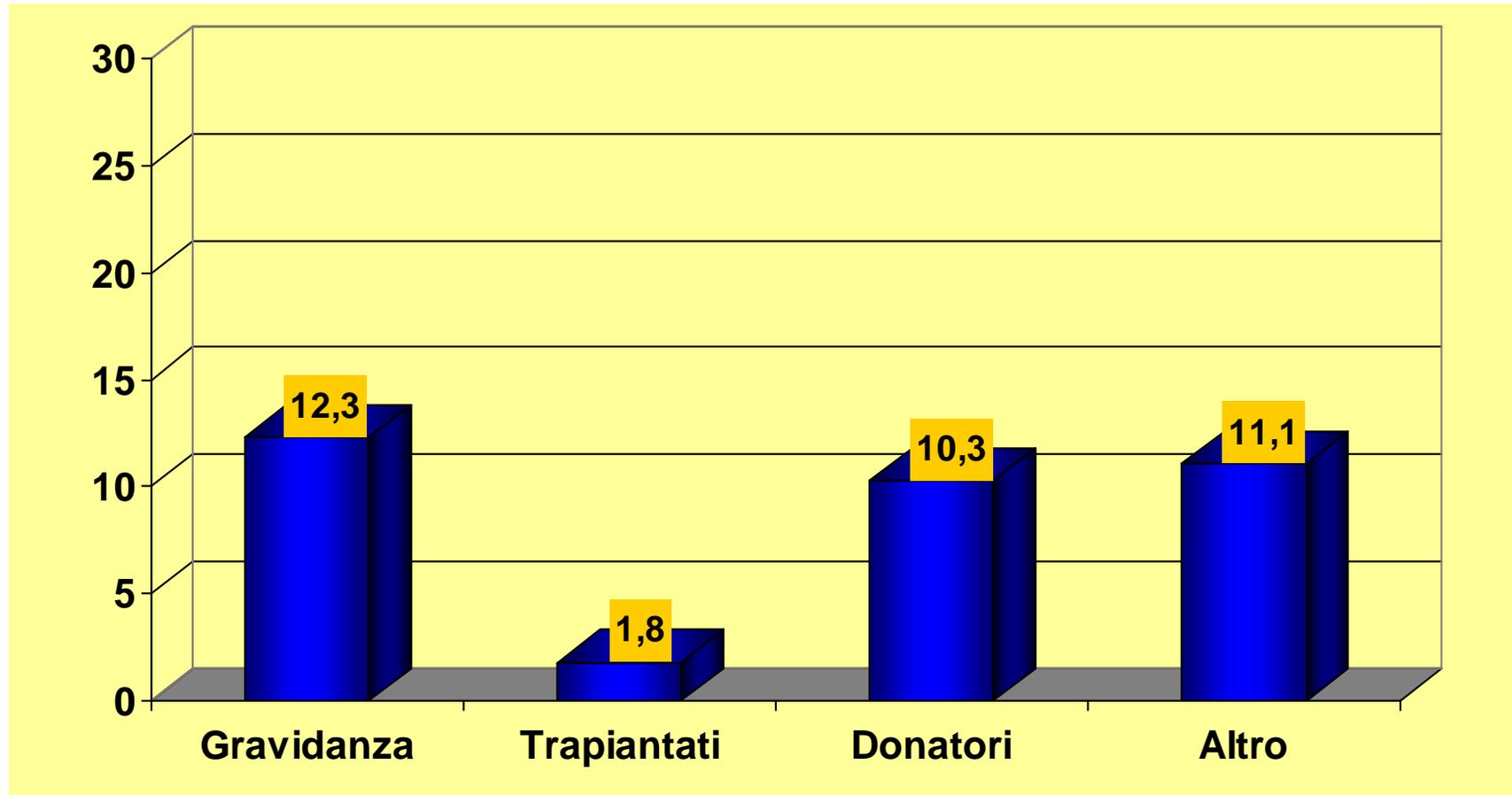


Infezione primaria da CMV in paziente trapiantato



La positività iniziale per IgG è da Ab passivi

Bassa avidità di IgG anti-CMV: percentuali per categoria (routine)



CMV IgM: il valore di una maggiore sensibilità

Table 1 Combined results of CMV IgM testing in 40 pregnant women in whom CMV shedding in urine samples was assessed by cell culture

IgM assays results	Low IgG avidity	High IgG avidity	Shell vial positive	Shell vial negative
AxSYM, Radim and Sorin positive	6	0	5	1
AxSYM and Radim positive, Sorin negative	0	1	0	1
AxSYM positive, Radim and Sorin negative	2	0	2	0
AxSYM positive, Radim and Sorin negative	0	31	6	25

The IgG avidity was low in 6 out of 7 cases that were IgM positive according to more than one assay, 5 of whom had a positive shell vial result. Conversely, 31 out of 33 women positive for IgM according to only the AxSYM assay had a high IgG avidity. Virus isolation was positive in both patients from the latter group with a low IgG avidity and also in 6 out of 31 cases with a high avidity (19.3%)

- L'utilizzo di un test per IgM con elevata sensibilità consente di identificare dei casi di infezione molto recente non rilevati da altri test
- Per contro, quasi il 90% delle gravide positive per IgM con un test sensibile non aveva un'infezione acuta o recente
- **L'impiego di un test altamente sensibile seguito dalla valutazione dell'avidità delle IgG sui campioni positivi per IgM sembra la strategia più efficiente per identificare e classificare correttamente le infezioni da CMV**

Gentile M. et al, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2009

ARCHITECT CMV IgG Avidità: Interpretazione dei Risultati

CMV IgG	CMV IgM	CMV IgG Avidità	Può significare/Test raccomandati
Non reattivo (<6 AU/ml)	Non reattivo ($<0,85$ S/CO)	N/A	<ul style="list-style-type: none"> Nessuna Infezione
Non reattivo (<6 AU/ml)	Reattivo (≥ 1 S/CO)	NA	<ul style="list-style-type: none"> Nuovo campione 2-3 settimane dopo il campione iniziale e analizzare per CMV IgG e IgM
Reattivo (≥ 6 AU/ml)	Non reattivo ($<0,85$ S/CO)	Alta Avidità ($\geq 60\%$ Avi)	<ul style="list-style-type: none"> Infezione vecchia. Forte indicazione che un'infezione è avvenuta più di 4 mesi prima
Reattivo (≥ 6 AU/ml)	Reattivo (≥ 1 S/CO)	Bassa Avidità ($<50\%$ Avi)	<ul style="list-style-type: none"> Infezione primaria. Forte indicazione che l'infezione sia avvenuta 4 mesi prima
Reattivo (≥ 6 AU/ml)	Reattivo (≥ 1 S/CO)	Alta Avidità ($\geq 60\%$ Avi)	<ul style="list-style-type: none"> Infezione non primaria. Forte indicazione che un'infezione sia avvenuta più di 4 mesi prima

Architect CMV-IgG Avidità:
permette di discriminare tra un'infezione primaria ed una riattivazione-reinfezione

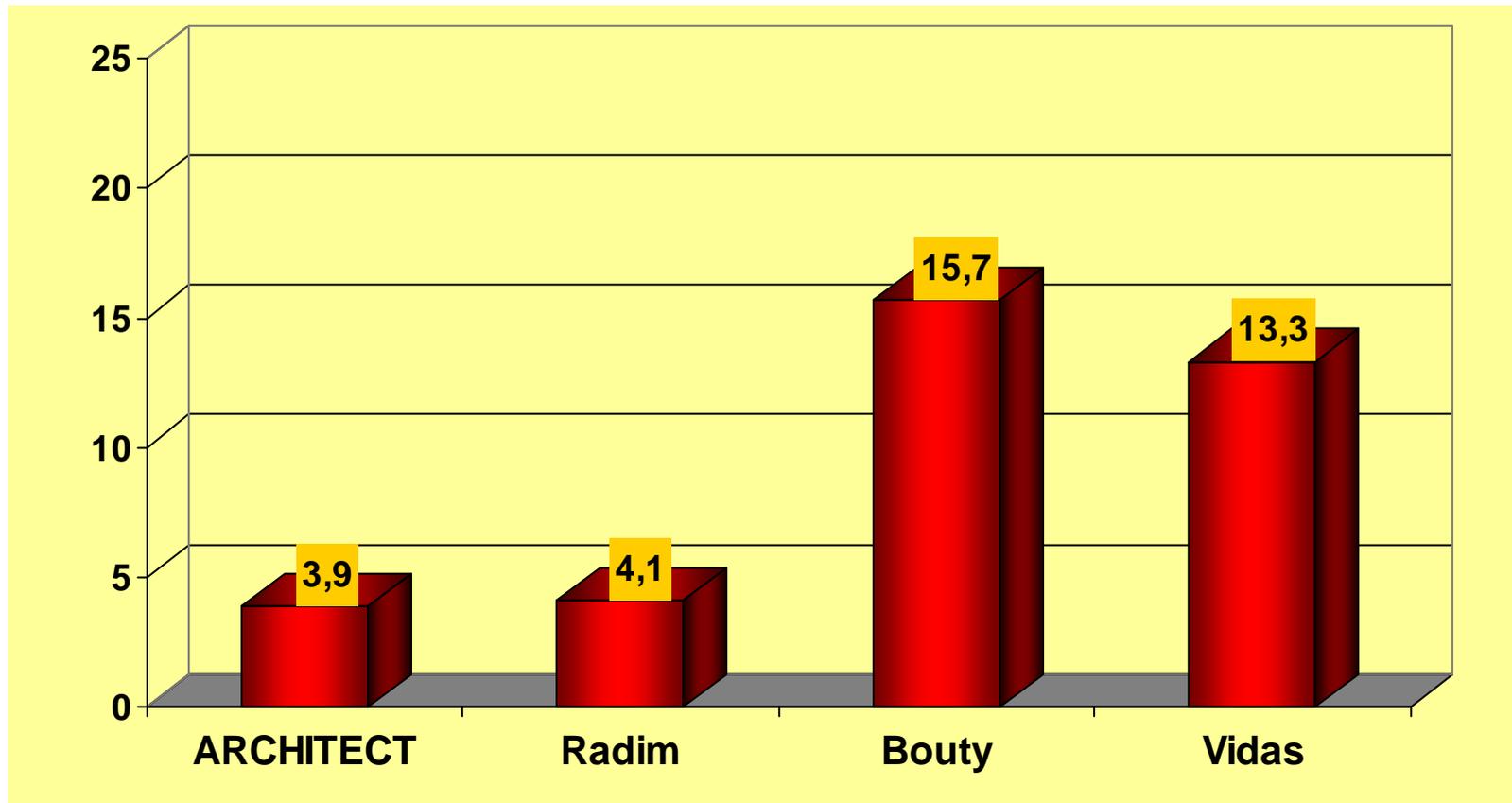
CMV IgG avidity: classificazione dei risultati

Test	Bassa avidità	GZ	Alta avidità
------	---------------	----	--------------

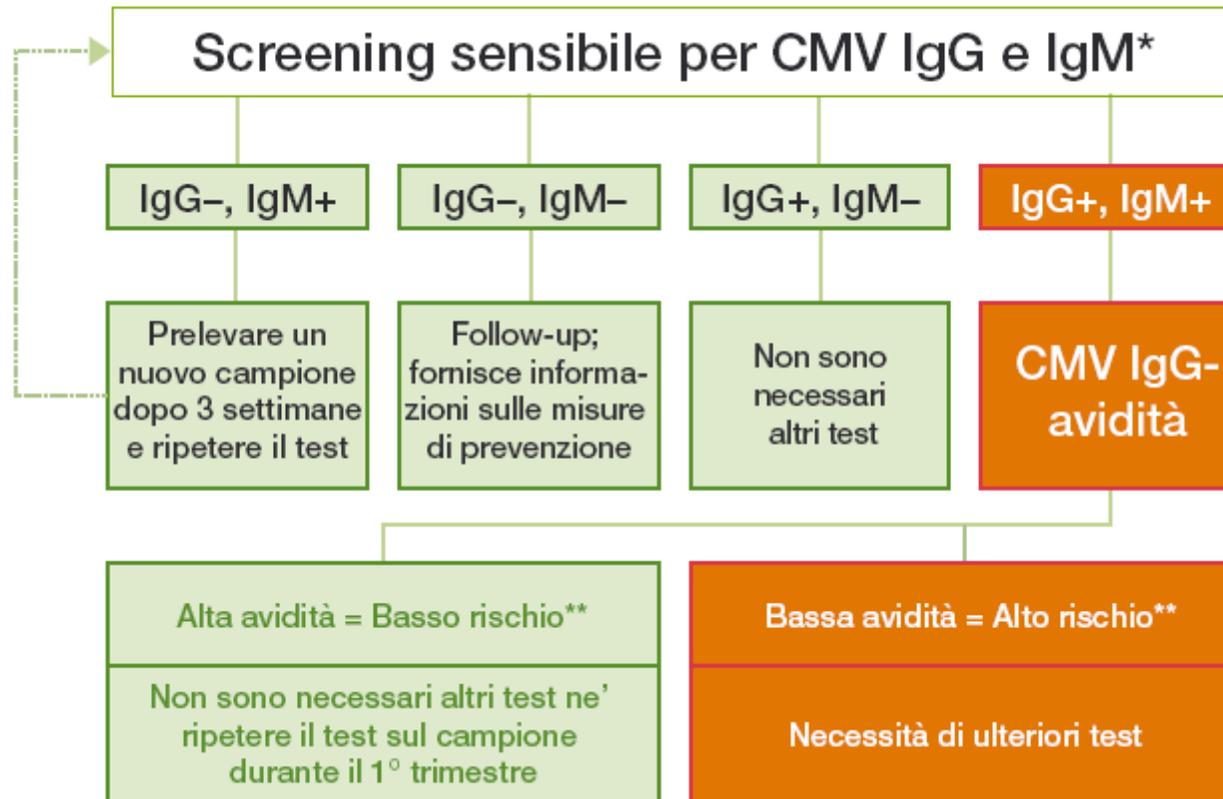
ARCHITECT	<50	50-59	>59
Radim	<35	35-45	>45
Bouty	<25	25-45	>45
<i>Vidas</i>	<20	20-80	>80

CMV IgG avidity: percentuale di risultati in zona grigia con i diversi metodi

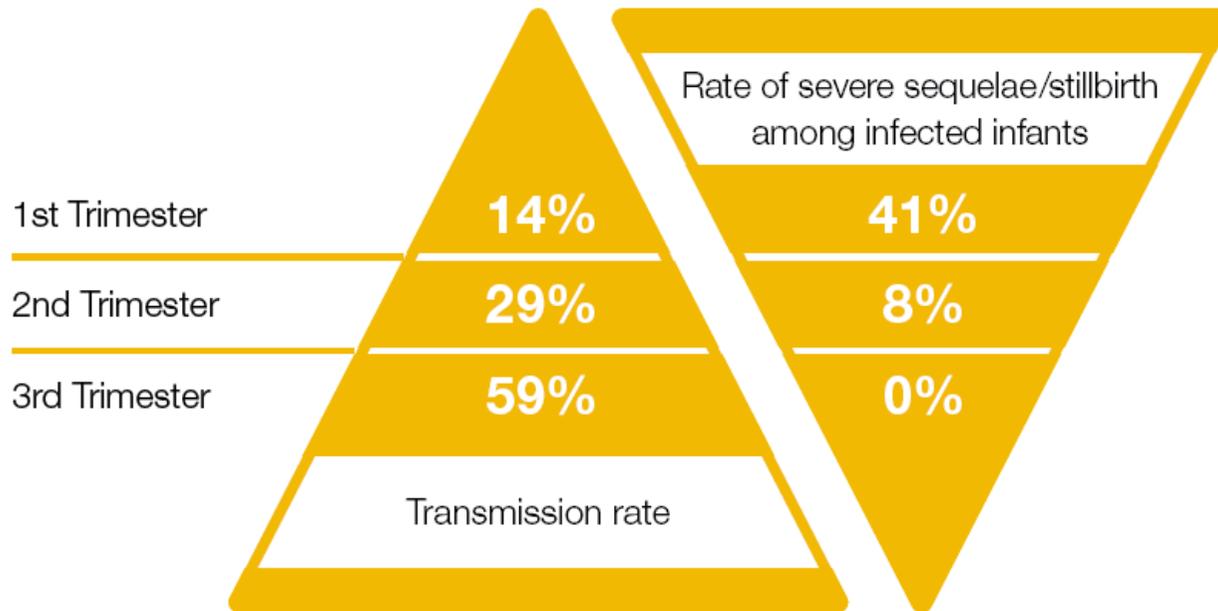
900 campioni analizzati



Infezione da CMV: Algoritmo Diagnostico di Screening (es gravidanza)



Infezione da *T. gondii*: rischio di trasmissione e sequele



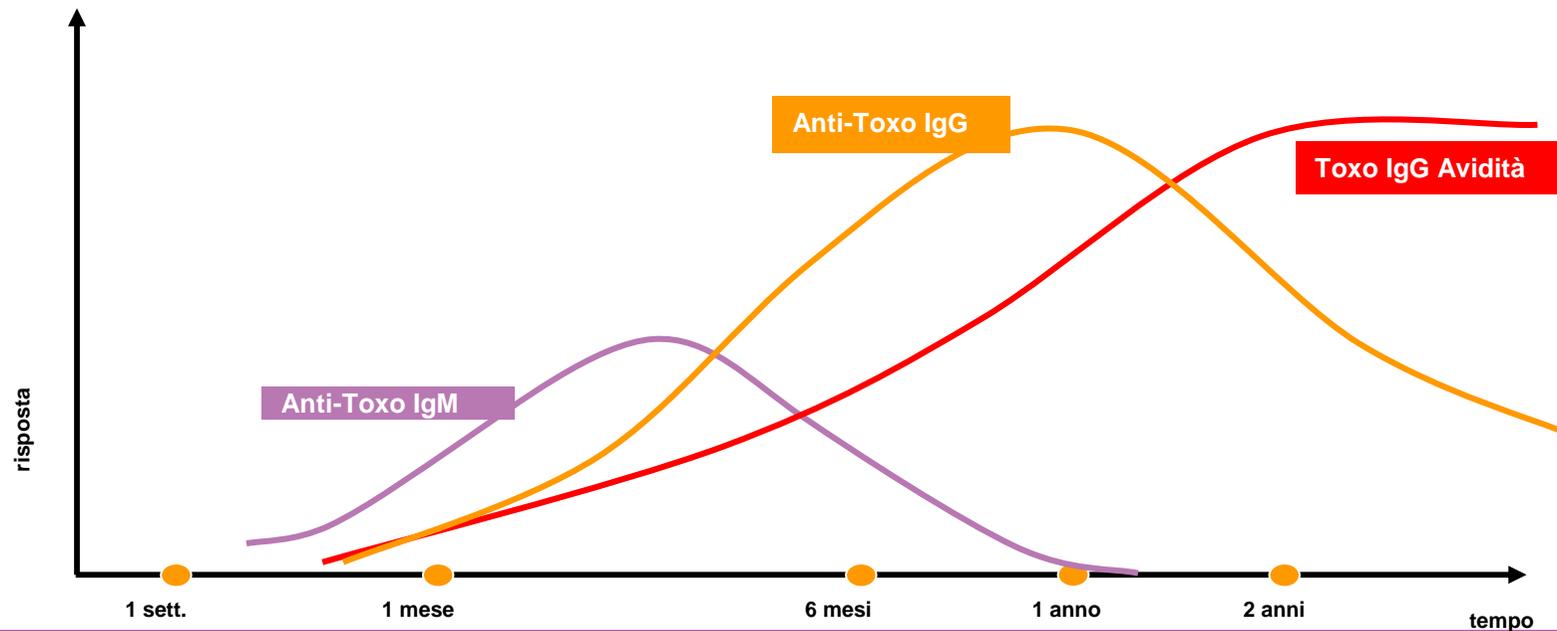
Source: Desmonts and Couvreur, Ann. Pediatr., 1984

Le infezioni congenite contratte precocemente possono determinare ritardo di crescita, morte fetale, aborto, parto pretermine; quelle contratte nel III trimestre sono generalmente asintomatiche

Marcatori sierologici della Toxoplasmosi

La misurazione dell'avidità delle IgG specifiche è particolarmente di aiuto in caso di positività per IgG ed IgM sul primo campione di sangue prelevato durante la gravidanza.

Un risultato di avidità alta consente di escludere che l'infezione sia stata contratta nei 3-5 mesi precedenti (varia secondo il kit utilizzato). Un risultato di avidità bassa può persistere per un anno e quindi non può essere utilizzato per diagnosticare una infezione recente

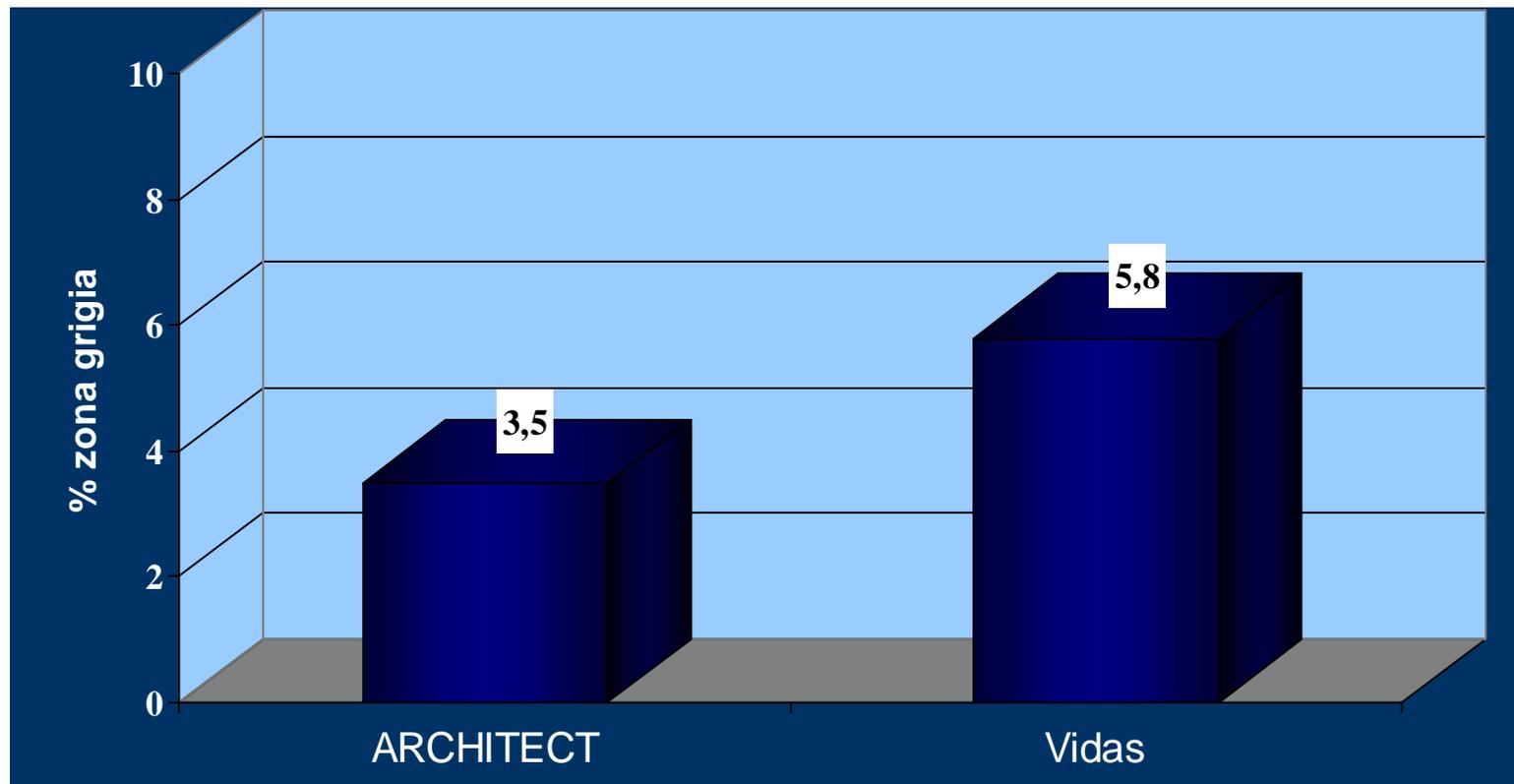


ARCHITECT Toxo IgG Avidità: Interpretazione dei Risultati

Toxo IgG	Toxo IgM	Toxo IgG Avidità	Può significare/Test raccomandati
Non reattivo ($<1,6$ IU/ml)	Non reattivo ($<0,83$ S/CO)	N/A	<ul style="list-style-type: none"> Nessuna Infezione
Non reattivo ($<1,6$ IU/ml)	Reattivo (≥ 1 S/CO)	NA	<ul style="list-style-type: none"> Nuovo campione 2-3 settimane dopo il campione iniziale e analizzare per Toxo IgG e Toxo IgM
Reattivo (≥ 3 IU/ml)	Non reattivo ($<0,83$ S/CO)	Alta Avidità ($\geq 60\%$ Avi)	<ul style="list-style-type: none"> Infezione vecchia. Forte indicazione che un'infezione è avvenuta più di 4 mesi prima
Reattivo (≥ 3 IU/ml)	Reattivo (≥ 1 S/CO)	Bassa Avidità ($<50\%$ Avi)	<ul style="list-style-type: none"> Nuovo campione 3 settimane dopo il campione iniziale e analizzare per Toxo IgG e Toxo IgM
Reattivo (≥ 3 IU/ml)	Reattivo (≥ 1 S/CO)	Alta Avidità ($\geq 60\%$ Avi)	<ul style="list-style-type: none"> Infezione vecchia. Forte indicazione che un'infezione sia avvenuta più di 4 mesi prima

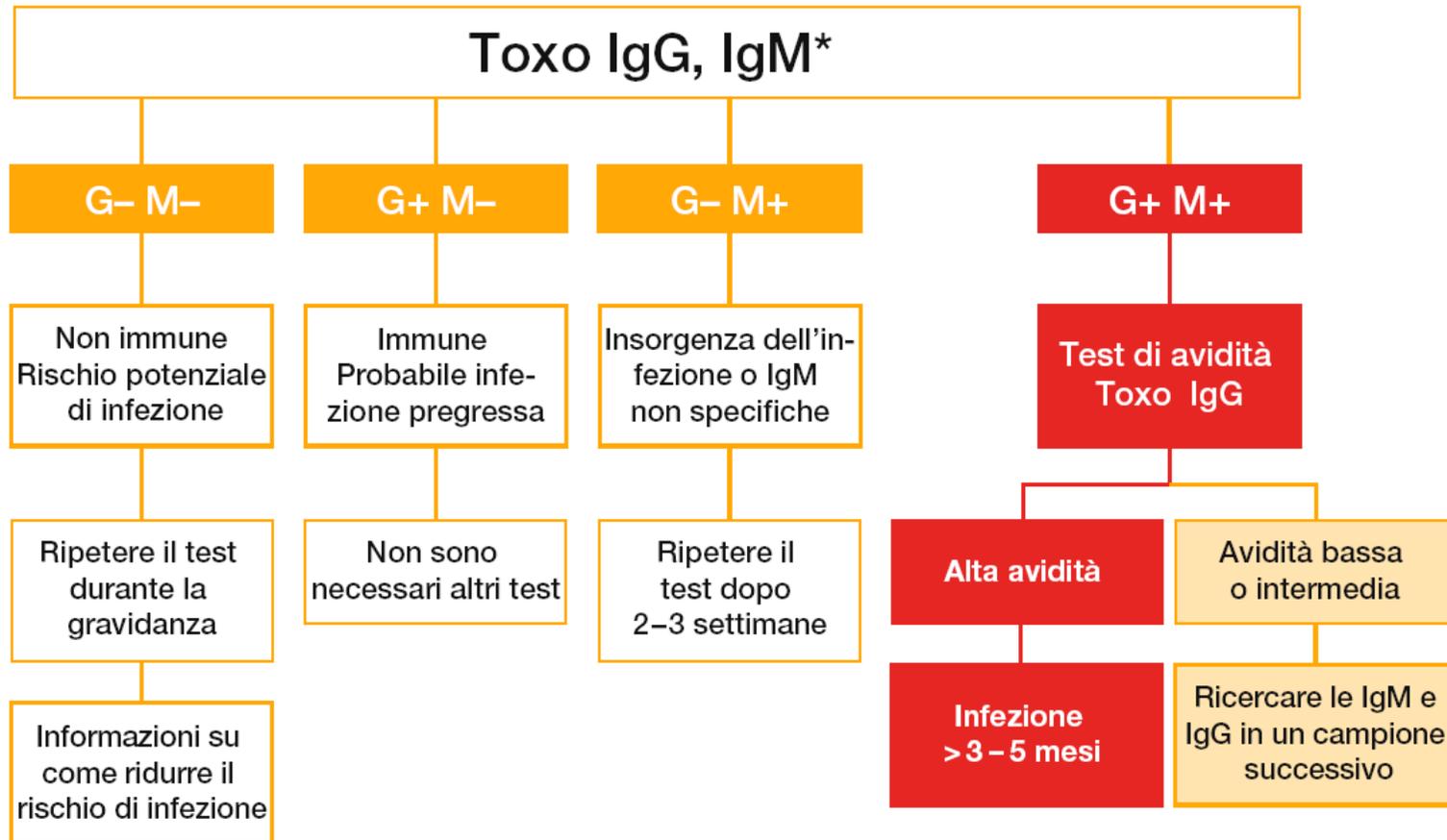
Architect Toxo-IgG Avidità permette di **escludere un'infezione acuta**: gli Ab ad alta avidità sono associati ad un'infezione primaria avvenuta più di 4 mesi prima

Toxo IgG avidity: ARCHITECT verso Vidas



E. Sickinger et al, Diagn Microbiol Infect Dis 2008; 62: 235-244

Infezione da *T. gondii*: Algoritmo Diagnostico di Screening (es gravidanza)



CMV e Toxo IgG avidity: esigenze e requisiti

- **Sensibilità** – identificazione corretta delle infezioni recenti

- ❖ *ARCHITECT AVIcomp*:

- Toxo: sensibilità **100%** (altro test: 98,9%)
- CMV: sensibilità **97,3%** (altro test: 75,7%)

- **Specificità** – identificazione corretta delle infezioni non recenti

- ❖ *ARCHITECT AVIcomp*:

- Toxo: specificità in gravidanza **98,8%** (equivalente a Vidas)
- CMV: specificità in gravidanza **100%** (altro test: 99,5%)

- **Operatività** – mantenimento ID campione, esecuzione in tempi brevi, minima manualità, accuratezza ai vari livelli di IgG

- ❖ *ARCHITECT AVIcomp*: reflex testing con diverse impostazioni, 2 ore per risposta completa IgM+IgG+IgG avidity, completamente automatizzato, protocollo modulato sui livelli di IgG

ARCHITECT CMV e Toxo IgG avidity: conclusioni

- Minore sensibilità CMV IgM per infezioni recenti per i metodi più “specifici”
- Avidità intermedia (“zona grigia”) per CMV e Toxo meno frequente con il metodo AVIComp
- AVIComp: affidabile, accurato, adatto per routine di qualsiasi entità e di facile uso (reflex testing)

