

# **Er aviditet en god metode for å identifisere gravide med primær CMV-infeksjon?**

Prosjektoppgave, litteraturstudie

Av Julie Flokkmann H15

## Innholdsfortegnelse

Abstract .....	3
Innledning.....	4
CMV.....	4
Infeksjon hos foster: .....	4
.....	5
Mikrobiologisk diagnostikk .....	6
Aviditet.....	7
Generelt om aviditet. ....	7
Prinsippet ved aviditet. ....	7
Alternative metoder i sikte? .....	8
Screening.....	8
Metode.....	9
Søkestreng .....	9
Inklusjons- og eksklusjonskriterier .....	9
PRISMA .....	10
Resultater.....	11
Tabell med funn .....	11
Diskusjon.....	24
Hvorfor trengs denne testen?.....	24
Hva er funnet? .....	24
Hvordan redusere diskrepansen?.....	26
Er aviditetsmåling bedre enn å kun måle antistoffer? .....	27
Feilkilder/ generelle problemer. ....	28
Hva er fordeler og ulemper?.....	28
Oppsummering/ Konklusjon: .....	29
Litteraturliste .....	30

## Abstract

**Background:** Human cytomegalovirus (HCMV) is now considered the most common cause of viral intrauterine infection. It is important to differentiate primary from recurrent infection because fetal damage is mostly due to maternal primary infection. Determination of HCMV-specific IgG avidity is considered an useful approach for distinguishing between primary- and non-primary infection when IgM antibodies are detected.

This is a review evaluating whether avidity is a trustworthy method for identifying HCMV infection or not.

**Method:** 27 articles were chosen as a basis for summarizing the current findings about avidity. I searched in PubMed with the following keywords: (pregnancy OR pregnancies OR pregnant OR gravidity) AND cytomegalovirus AND (antibody affinity OR affinity OR avidity). In this search I got 165 hits. The search started 3/10-2018 and ended 7/1-2019. The refinement on the search was English language. I have only used original articles that was published in a recognized international journal for this review. The relevance of the articles was evaluated due to title and summary.

**Results:** There is a lot of different commercial avidity kits out on the market, and it seems like there is no significant difference between them. Nevertheless, anti-CMV IgG-avidity testing seems to be the best non-invasive method for detecting and confirming infection and differentiate between primary and non-primary CMV infection.

**Conclusion:** Avidity should still be used as a method in the future, however, one cannot conclude on what particular kit is the most suitable one to use. More research is needed, but avidity can be safely used in the meantime. The aim of research is to find a safe method that ensure sufficient sensitivity and specificity. This will be even more important in the future when we hopefully also have good treatment and prevention options for CMV infections.

## Innledning

### CMV

Cytomegalovirus er et annet navn for humant herpesvirus 5, et svært vertsspesifikt virus som tilhører familien Herpes viridae. Dette viruset er det største viruset i familien og er morfologisk vanskelig å skille fra andre humane herpesvirus. Smitte skjer generelt gjennom kroppsvæsker og ofte tidlig i livet, enten ved fødsel, gjennom brystmelk eller gjennom kontakt med andre småbarn. CMV kan også smitte fra mor til foster i svangerskapet. Infeksjonen er som regel asymptomatisk, men symptomer på CMV-infeksjon kan for eksempel være økte leverenzzymer, lymfadenitt og forkjølelssymptomer (2).

I Norge ligger prevalensen av tidligere CMV-infeksjon på ca. 60% blant gravide. Etter man blir smittet første gang (primærinfeksjon) forblir viruset i kroppen for resten av livet. Det vil i hovedsak ligge latent, men kan reaktiveres. Man kan også smittes med en annen CMV-stamme enn den man har fra før, dette kalles reinfeksjon. Reaktivering og reinfeksjon kalles samlet for non-primær infeksjon.

#### Infeksjon hos foster:

Humant cytomegalovirus (HCMV) er den vanligste årsak til kongenital infeksjon i industrialiserte land (prevalens 0.3-2.4%)(3). Kongenitale CMV-infeksjoner er vanligere enn både Downs syndrom og føtalt alkoholsyndrom. I en undersøkelse gjort av Cannon et al fant man at selv om CMV er veldig vanlig hadde kun 13% av kvinnene og 7% av mennene hørt om kongenital CMV-infeksjon (4). Fosterinfeksjon kan gi skader som mental retardasjon (13%) og ikke-arvelig sensorinevral hørselstap (15%) (2).

Vertikal smitte er mest alvorlig om det skjer tidlig i svangerskapet, og særlig hvis mor har primærinfeksjon. Risikoen for kongenital infeksjon er omtrent 40% for babyer født av mødre som får primær infeksjon etter svangerskapets begynnelse. Når det gjelder mødre som var smittet før fødsel er det kun ca. 1% av disse barna som er smittet (5).

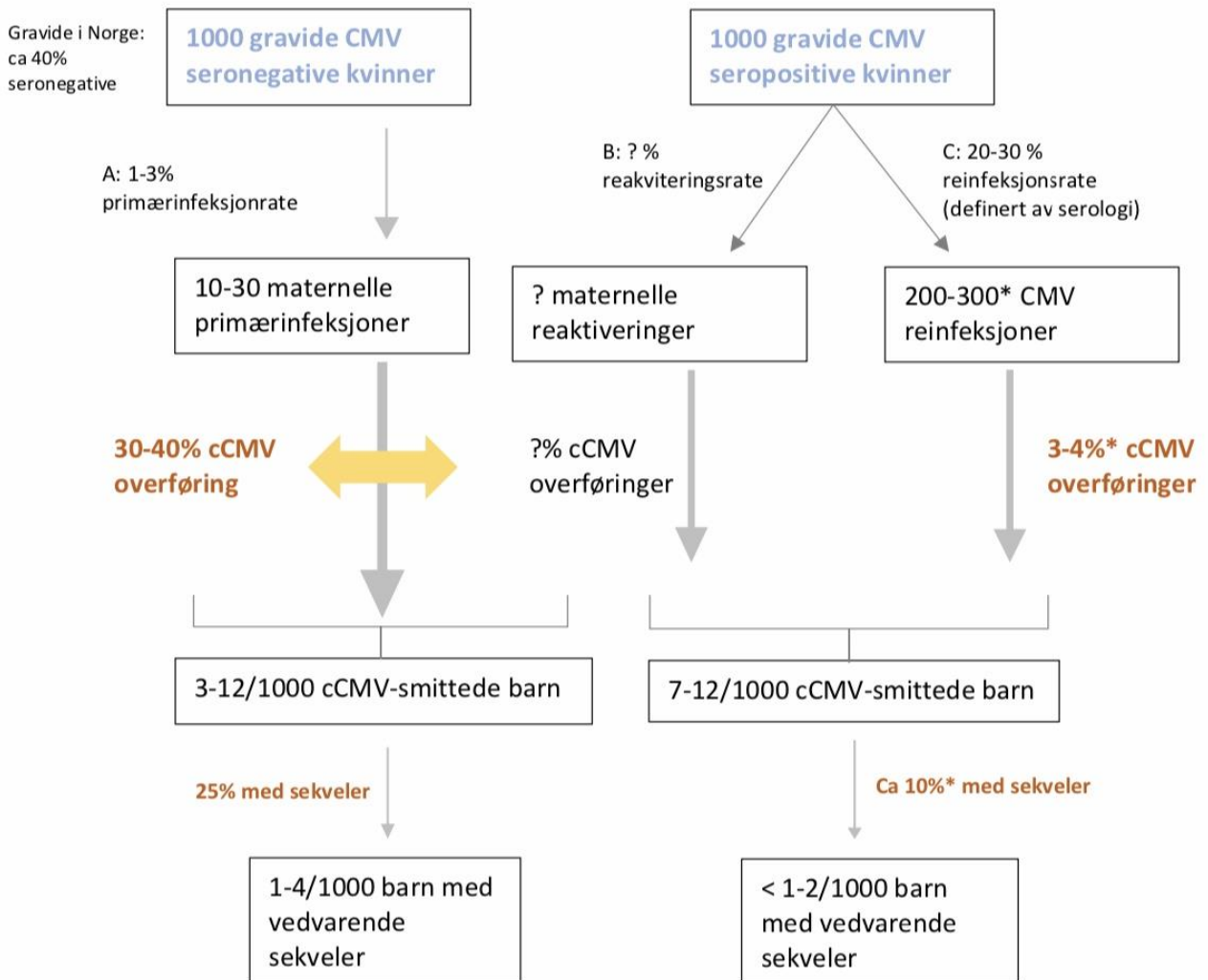
Forekomsten varierer geografisk, sosioøkonomisk og med alder. Halvparten av barna som sliter med sekveler etter kongenital CMV-infeksjon var asymptomatiske ved fødsel.

Kunnskap i forhold til risiko for ulike tilstander som kan oppstå ved kongenital infeksjon fører til tidligere diagnostisering og tidligere intervensjon, men for de asymptomatiske barna man ikke fanger opp kan det ha alvorlige konsekvenser for oppfølgingen av barnet (6).

**Figur 1: CMV kan smitte foster ved primær- og non-primær infeksjon hos gravide**

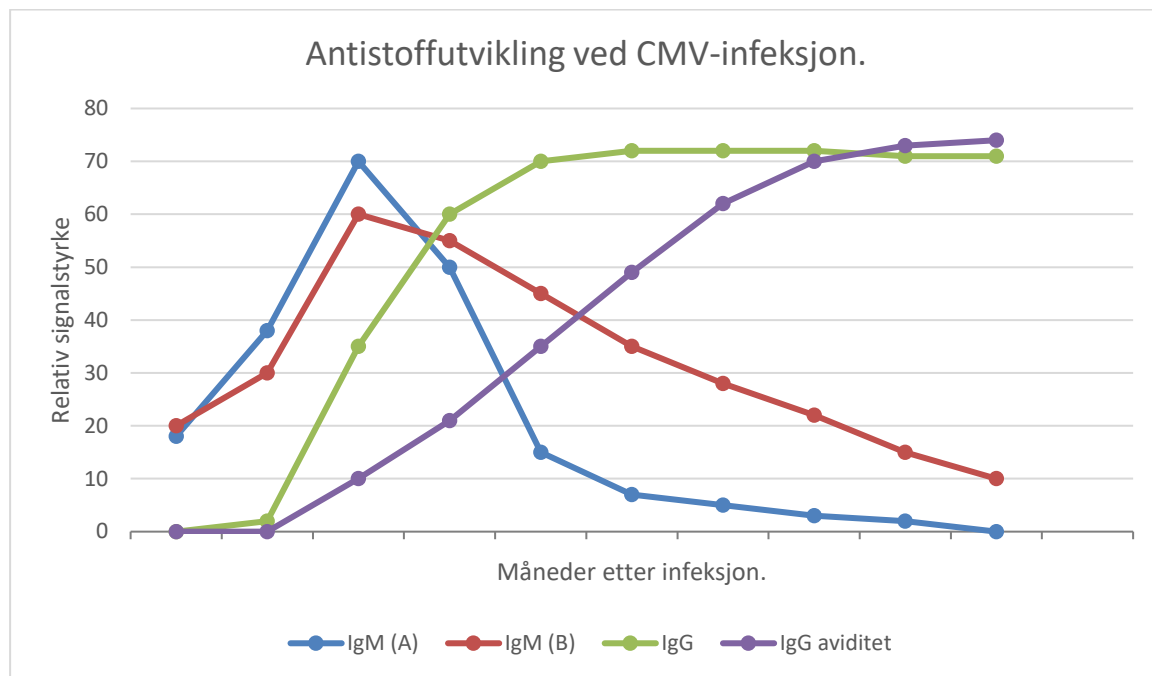
(30-40% versus (primær) < 1% risiko (sekundær))

Figur hentet fra Sallie R. Permar et al. J. Virol. 2018;92:e00030-18



## Mikrobiologisk diagnostikk

Hos en person som smittes med CMV for første gang vil det utvikles antistoffer som vist på Figur 2. Aktuelle analyser er CMV IgG, CMV IgM og CMV-IgG-aviditet(7).



**Figur 2:** Figuren over viser hvordan antistoffene utvikler seg når man er smittet med cytomegalovirus. Den blå kurven, IgM (A), viser det vanligste forløpet av CMV IgM-nivå. CMV-spesifikt IgM antistoffer har en topp 1-3 måneder etter en primærinfeksjon og kan gjenfinnes i opptil et år(6). Noen har også en saktere IgM-reduksjon og det er det IgM (B)-kuven viser. CMV IgG-antistoffer begynner å dannes etter ca. 1 måned, øker i løpet av noen uker og forblir normalt påvisbar resten av livet. Skrive også noe her om aviditeten?

Det er viktig å finne ut om en CMV-infeksjon hos en gravid er primær eller non-primær. Er den primær vil man typisk ha positiv IgM, positiv IgG og lav IgG aviditet. Ved non-primær infeksjon vil man vanligvis ha negativ IgM, positiv IgG og høy aviditet. I realiteten er antistoffene ikke alltid så enkle å tolke. IgM-antistoffer kan persistere i måneder eller år etter primærinfeksjon, men også opptre ved en reaktivering eller reinfeksjon med en annen stamme av CMV (8). Andre faktorer som påvirker IgM-nivået kan være forstyrrende faktorer, kryssreaksjoner, persisterende IgM-produksjon (1).

Dette gjør at man ikke kan stole kun på et positivt IgM-svar. Serokonversjon, tilstedeværelse av CMV-spesifikke IgG antistoffer hos en tidligere seronegativ kvinne, regnes som den beste tilnærmingen for å diagnostisere en CMV-primærinfeksjon. For å påvise en slik endring

trengs prøver tatt på minst to ulike tidspunkt. Ofte foreligger det ikke tidligere prøve til sammenligning, og for å tidfeste infeksjonen kan CMV-IgG-aviditetsanalyse være til hjelp (1).

## Aviditet

### Generelt om aviditet.

IgG-aviditet ble først brukt i forbindelse med en stor studie om toxoplasmose, og har i ettertid vist seg å kunne benyttes for å skille mellom primær og ikke-primær også for andre agens (6).

Aviditet er et uttrykk for affinitetsmodning, det vil si at bindingsevnen mellom antistoffene og antigenene blir sterkere over tid. Aviditeten øker normalt gradvis etter infeksjonstidspunktet, se figur 2 (9, 10). For CMV er aviditeten vanligvis lav de første 3-4 mnd., intermediaær i 1-2 mnd. og høy innen 5-6 mnd.

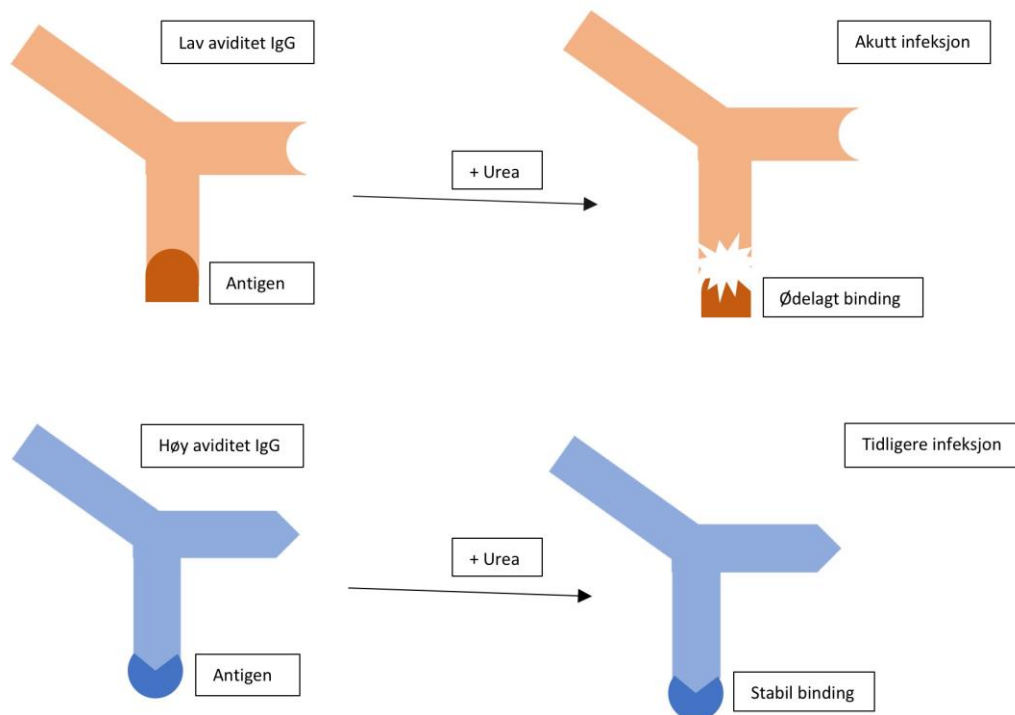
Aviditet kan derfor benyttes til å vurdere risiko for vertikal transmisjon av CMV til fosteret. Høy aviditet i første trimester taler i stor grad for en tidligere infeksjon, lav risiko for fostersmitte, og videre prenatal diagnostikk er da ikke nødvendig (11).

Dagens retningslinjer sier at man først skal måle CMV IgG og CMV IgM. Dersom man får positiv IgM, vil man gå videre å teste for IgG-aviditet. Denne fremgangsmåten ble validert i 2012 i en studie av Maine (12). Det finnes foreløpig ikke noe standardisert program i forhold til undersøkelse av CMV-infeksjon hos gravide

### Prinsippet ved aviditet.

Aviditetsanalyse er en metode for å måle bindingsstyrken til IgG-antistoffene. Prinsippet går ut på å blande IgG-antistoffene som skal undersøkes med agensspesifikke antigener. IgG vil binde seg til antigenet. Lavaviditets-IgG vil dissosiere fra antigenet ved tilsetning av denatureringsmiddel, ofte urea. Høyaviditets-IgG vil derimot ikke dissosiere fra antigenet i kontakt med denatureringsmiddel (se figur 3). Den vanligste metoden man benytter i denne sammenheng er ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay). Man utfører analysen både med og uten urea, og etter dette sammenligner man optisk tetthet (OD) i de to analysene. Ut i fra dette kan man beregne aviditetsindeksen. De ulike assaysene på markedet har spesifiserte cut-off verdier, som gjør at man kan klassifiserer indeksen som høy, intermediaær og lav aviditet (6, 13, 14).

**Figur 3:** Prinsippet ved aviditet.



### Alternative metoder i sikte?

Andre metoder for vurdering av primærinfeksjon under utprøving. Dette er et aktivt felt innen forskningen. I tillegg til aviditetsmåling ved hjelp av ulike assays, har man eksempelvis også immunoblots, IGRA, påvisning av IgG i kroppsvæsker og måling av T-celle-aktivitet.

### Screening

Innføring av screening av gravide med tanke på primær CMV-infeksjon er omdiskutert. Visse krav må oppfylles for å sette i gang en sykdomsscreening. Nøkkeltreier er at sykdommen er klinisk viktig, prevalent og godt karakterisert. Testen må også være trygg, troverdig og validert. Intervensjonen må være effektiv, kostnadseffektiv og gjennomførbar (15).

Rutinemessig antistoffscreening av gravide er ikke anbefalt av internasjonale retningslinjer, men om man mistenker primær CMV-infeksjon hos gravide bør man teste. Funn hos foster som kan indikere CMV-infeksjon er også indikasjon (16). Hovedårsaken til at man ikke har screening som rutine er manglende dokumentert behandling/intervensjoner ved positive funn, men andre faktorer som kostnader og serologiske metoders utilstrekkelighet i å fange opp ikke-primære CMV-infeksjoner spiller også inn. Dessuten er det kun en liten andel av barn med kongenital infeksjon som utvikler alvorlige sekveler. Målet med maternell



antistoffundersøkelse er å identifisere dem med primærinfeksjon og for å kunne forutsi risiko for smitte til foster og dermed kongenital infeksjon.

Flere Europeiske land og Israel tilbyr serologisk CMV-screening og rådgivning om preventive strategier og eventuell senere kontroll av prøver (17). En innføring av screening vil være svært kostbart, men man må også se det i lys av hvor stor belastning på helsevesenet eventuelle sekveler kan gi i fremtiden. Foreløpig er kunnskap om CMV, virusoverføring og forhåndsregler i forhold til hygiene den sikreste forebyggende strategien for å redusere risiko for kongenital infeksjon.

## Metode

### Søkestreng

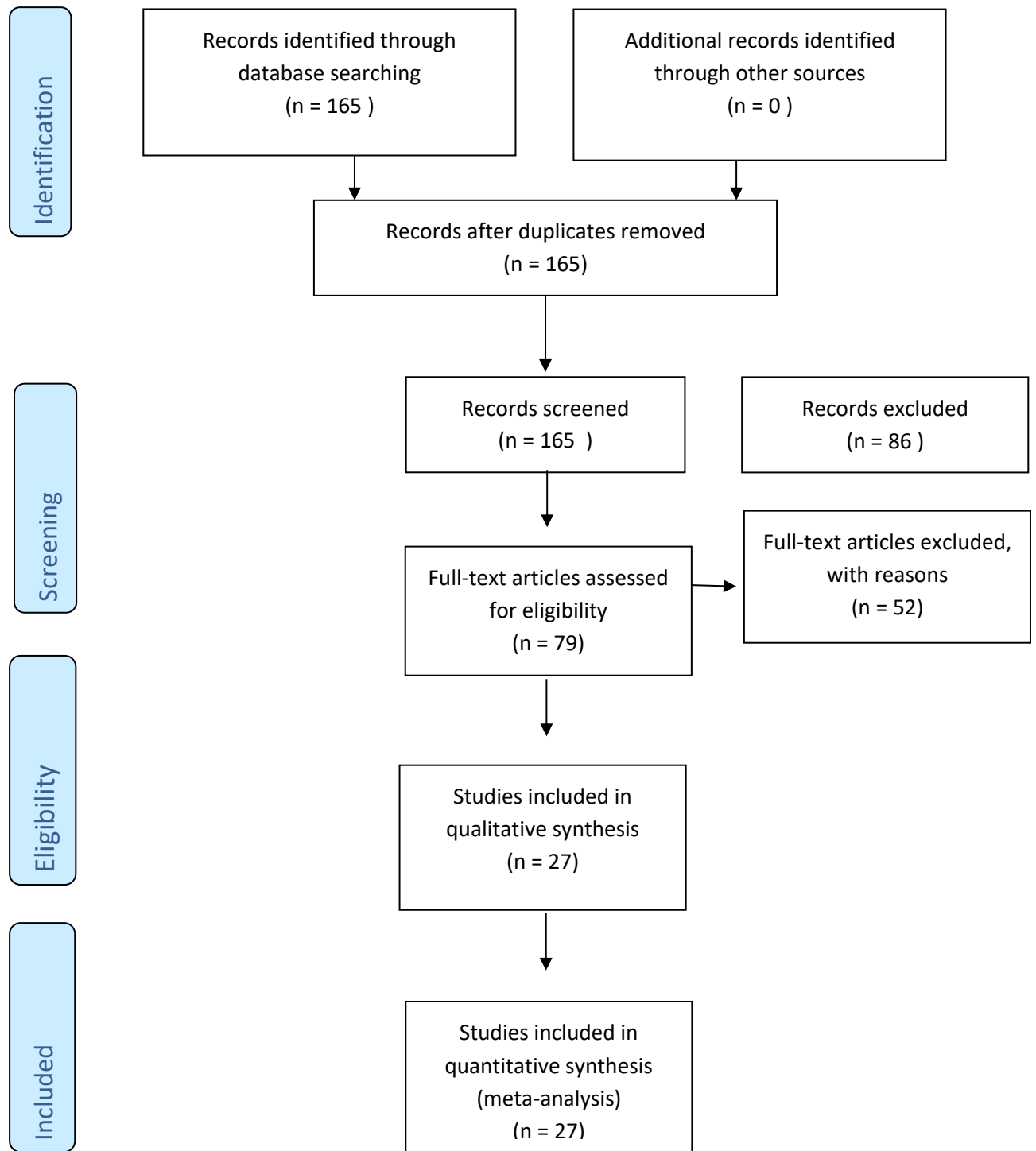
Jeg søkte i databasen PubMed med søkeordene: (pregnancy OR pregnancies OR pregnant OR gravidity) AND cytomegalovirus AND (antibody affinity OR affinity OR avidity). Ved dette søket fikk jeg i utgangspunktet 165 treff. Søket ble startet 3/10-2018 og avsluttet 7/1-2019. Avgrensningen jeg benyttet var språk på engelsk. Deretter importerte jeg kildene til endnote hvor jeg fjernet treffene som ikke var originalartikler eller publisert i et anerkjent internasjonalt tidsskrift. Artiklenes relevans ble deretter vurdert på bakgrunn av tittel og sammendrag.

### Inklusjons- og eksklusjonskriterier

Inklusjonskriterier: originalartikkel, primærinfeksjon, gravide, engelsk, anerkjent internasjonalt tidsskrift, kun originalartikler.

Eksklusjonskriterier: Omhandlet klinikk, ikke diagnostikk, ved kongenital CMV-infeksjon, annen diagnostikk enn CMV-aviditet, reviews.

# PRISMA



## Resultater

### Tabell med funn

Studie	Antall gravide	Fremgangsmåte/ Resultater	Artikkelens konklusjon				
1)Antenatal CMV infection screening (Sert) (3) 2008-2017 (2019)	32188	IgG-positive kvinner: 62% (16759/26854) IgM- positive kvinner: 0.22% (74/32188) Aviditet ble testet hos de IgG-positive kvinnene, hvorav 251 hadde høy, 50 var i intermediærgruppen, mens(42 stk hadde lav aviditet). PCR for dem som ble med videre av dem med lav aviditet (36 stk). 9 av disse var positive for CMV.	CMV IgG positivitet: 62%. IgM seropositivitet: 0.22%. 36 av dem med lav aviditet ble PCR-testet og 9 var positive, men kun 1 av disse hadde symptomer på kongenital infeksjon ved fødsel. IgG-aviditet har en spesifisitet på 100% og en sensitivitet på 94,3%. Å måle serologisk status er viktig for å identifisere smitterisiko for befolkningen og dermed redusere antall kongenitale infeksjoner.				
2)Combination of line immunoassays Mikrogen recomLine CMV IgG and recomLine CMV IgG Avidity helps to date the onset of CMV primary infection. (Delforge) (10) (2018)	40 gravide (89 sera)	Sammenlikning av to aviditetskits for å se hvor gode de er til å datere CMV-infeksjon. <table border="1" data-bbox="600 1034 1693 1329"> <tr> <td data-bbox="600 1034 1211 1201"> <b>Mikrogen Recomline CMV IgG Avidity</b> </td> <td data-bbox="1211 1034 1693 1201">           Riktig resultat: 83,1% (74/89)            Galt resultat: 4.5% (4/89)            Intermediær: 12.4% (11/89)            (pos IgG).         </td> </tr> <tr> <td data-bbox="600 1201 1211 1329"> <b>VIDAS</b> </td> <td data-bbox="1211 1201 1693 1329">           Riktig resultat: 71,9% (64/89)            Galt resultat: 1.1% (1/89)            Intermediær: 27% (24/ 89)         </td> </tr> </table>	<b>Mikrogen Recomline CMV IgG Avidity</b>	Riktig resultat: 83,1% (74/89) Galt resultat: 4.5% (4/89) Intermediær: 12.4% (11/89) (pos IgG).	<b>VIDAS</b>	Riktig resultat: 71,9% (64/89) Galt resultat: 1.1% (1/89) Intermediær: 27% (24/ 89)	En kombinasjon av disse metodene (Mikrogen Recomline CMV IgG avidity og VIDAS) er den beste metoden for riktigst dato.
<b>Mikrogen Recomline CMV IgG Avidity</b>	Riktig resultat: 83,1% (74/89) Galt resultat: 4.5% (4/89) Intermediær: 12.4% (11/89) (pos IgG).						
<b>VIDAS</b>	Riktig resultat: 71,9% (64/89) Galt resultat: 1.1% (1/89) Intermediær: 27% (24/ 89)						

<p>3)Clinical evaluation of the new Roche platform of serological CMV-specific assays..(Chiereghin) (18) (2017)</p>	<p>50 (150 sera)</p>	<p>Her ønsket man å se på samstemtheten mellom to sammenlikningskit og Roche Elecsys assay.</p> <p><b><u>Elecsys sammenliknet med Enzygnost og Architect</u></b> <b><u>(Antall Enzygnost, architect/ELECSYS)</u></b></p> <p>IgG 50/50 IgM (43/47) Tvetydig IgM (7/3)</p> <p><b><u>Elecsys sammenliknet med RADIM (RADIM/ELECSYS):</u></b> Lav aviditet (44/47) Moderati aviditet (6/1) Høy aviditet (0/2)</p> <p>Samstemthet av ELESCYS: IgG: 100% IgM 100% Aviditet: 100%</p>				<p>Roche serologiske og molekulære CMV-spesifikke assays kan fint brukes i diagnostikk, siden dem omtrent fungerer like bra som andre etablerte rutinetester.</p>	
<p>4)Rapid increase in the serum CMV IgG avidity index in women with a congenitally infected fetus (Ebina) (19) (2015)</p>	<p>17</p>	<p>Serum CMV IgG aviditetsindex (AI) ble målt flere ganger hos 17 gravide med positiv eller på grensen IgM sammen med en initiell IgG Aviditetsindex (AI)-verdi &lt; 40%. Hurtigheten på endringen i IgG pr. 4 uker ble definert som delta AI (%). Sammenlikner delta AI hos kvinner med og uten barn med kongenital infeksjon.</p>				<p>Målet med studien var å sjekke om hurtigheten av endring i CMV IgG aviditetsindex kunne være assosiert med tilstedeværelsen av kongenital CMV infeksjon hos barn av mødre med mistenkt primær CMV-infeksjon.</p> <p>Delta AI hos 9 mødre med barn med kongenital CMV-infeksjon var signifikant høyere enn hos de 8 mødrene uten infeksjon.</p> <p>Måling av delta AI kan være en brukbar metode for å estimere smitte mellom mor og barn.</p>	
<p>5)Comparison of the LIASON IgG Avidity II and the VIDAS CMV IgG Avidity II assays for the diagnosis of primary infection in pregnant women (Sellier)(20) (2015)</p>	<p>280</p>	<p>Sammenlikner to aviditetskits</p>	<p>IgM</p>	<p>AVIDITET: LAV</p>	<p>AVIDITET : INTERMEDIÆR</p>	<p>AVIDITET : HØY</p>	<p>Denne (2. gen LIASON) viser en mye større grad av konkordans ift 1. gen (1. gen LIASON) med VIDAS.</p> <p>Færre sera nådde intermediær eller høy aviditet med VIDAS i forhold til LIASON, noe som sier at cut-off-verdien fortsatt er for høy. LIASON nådde høy aviditet raskere enn VIDAS. 3 pas fikk falskt</p>

(jan 2013-feb 2015)		LIASON	Pos	55	54	171	høy aviditet ved LIASON – obs! Korrelasjon på 77% med 2. gen vs. 49% ved 1.gen.
		VIDAS	pos	73	71	136	
6)Evaluation of the new LIASON CMV IgG, IgM and IgG avidity II assays (Delforge) (21) (2015)	383	<p>Samsvarer med VIDAS: aviditet 81%.</p> <p>På 51 sera med kjent tid for infeksjon, ble det ikke funnet høy aviditet i gruppen som ble infisert for mindre enn 3 mnd. siden.</p> <p>Sammenlikner nye LIASON CMV IgG og IgM med tradisjonelle metoder for å finne ut hvor god denne testen er. Grad av totalt samsvar var for IgG 98,9% og 95% for IgM. I retrospektive studier stemte den helt hos seronegative og tidligere infeksjonsgrupper. I nylig infeksjonsgruppen ble det observert diskordans på 7,1% ved IgG og 13,1% ved IgM. LIASON klarte å identifisere alle med ny infeksjon.</p>					Konkluderer med at LIASON CMV II line assays er sammenliknbare ift referansemotodene brukt i laben for prospektive og selekterte populasjoner.
7)Clinical evaluation of the Roche elecsys CMV IgG avidity assay (Vauloup-Fellous) (22) (2014) (Mars-Juli 2010)	246	<p>Klinisk evaluering av Roche Elecsys aviditetsassay:</p> <p><b>Lav aviditet:</b> 98,8% (infeksjon for &lt; 180 dager før prøvetakning)</p> <p><b>Høy aviditet:</b> 77,8% infeksjon for &gt; 90 dager før prøvetakning).</p>					Denne studien ser på Elecsys CMV IgG aviditets assay evne til å si noe om primærinfeksjon og tidligere infeksjon. Man finner av Elecsys diskriminerer bra mellom tidlige og sene faser av infeksjon. Sensitivitet: 90-97% Spesifisitet: 89-100% Dette viser at Elecsys kan benyttes som en adekvat prediktor for hvilken infeksjonsfase man er i.
8)The combination of specific IgM antibodies and IgG antibodies of low avidity does not	64	<p>Undersøker om påvisning av spesifikke IgM-antistoffer og IgG-antistoffer med lav aviditet alltid betyr CMV-infeksjon. 6 pasienter ble først testet med lav aviditet med Abbott. Deretter ble de samme pasientene målt med Diasorin, og da ble resultatene annerledes. Se tabell.</p>					Noen av kvinnene med lav aviditet og pos IgM på abott architect assay har altså ikke primærinfeksjon. Disse kan ved en feil tas

<p>always indicate primary infection with CMV (Lumley).(23) <b>(2014)</b> (Juni 2008-aug 2013)</p>	<p>Mange ekskludert ned til 6 stk.</p>	<p>6 pasienter (alle IgM-pos)</p>	<p><b>Abbott architect avidity</b></p>	<p><b>Diasorin Liason avidity</b></p>	<p>med i studier og få behandling, noe som ikke er gunstig. Viser for treig stigning av IgG aviditet etter 18 uker i forhold til hva som er forventet. Kan kanskje hindre overføring til fosteret. Spesifisiteten av lav aviditet ved abbott architect assay bør kontrolleres av et annet assay, da det her viste så forskjellige resultater Evt bør man bare ta med dem som har ekstremt lav aviditet i us.</p>
		Pas 1	Lav	Høy	
		Pas 2	lav	lav	
		Pas 3	lav	lav	
		Pas 4	lav	lav	
		Pas 5	lav	Intermediær	
		Pas 6	lav	Høy	
<p>9)Application of commercial CMV IgG Avidity Diagnostic Kit (Yang)(24) <b>(2014)</b></p>	<p>37</p>	<p>I denne studien, beskrives bruken av noen kommersielle CMV IgG aviditets kits for å diagnostisere nylig CMV-infeksjon.</p> <p>Ut i fra resultater fra 3 ulike kommersielt tilgjengelige serokonversjonspaneler (RP-003, RP-019 og PTC901) med totalt 37 prøver fant man at 99 dager etter serokonversjonen, viste Autobioaviditets-verdiene at &gt; 50% tilsvarte høy aviditet. Det vil si at høy aviditet kan ekskludere nylig infeksjon ila de siste 3 månedene.</p> <p>Totalt 130 prøver ble testet og sammenliknet med RADIM CMV IgG aviditetsassay. 7 gråsoneresultater ble ekskludert. Samstemtheten når det gjaldt lav aviditet var 100% (22/22) og samstemtheten når det gjaldt høy aviditet var noe lavere på 95% (96/101).</p> <p>Spesifisiteten av Autobio CMV IgG aviditetsassay ble vurdert utifra 744 prøver, som var reaktive med Autobio IgG assay og ikke-reaktiv med Autobio IgM assay. 17 gråsonep prøver ble ekskludert, og den kliniske spesifisiteten for Autobio CMV IgG aviditetsassay var 97,4% (708/727)</p>	<p>Konkluderer med at Autobio CMV IgG aviditetsassay er en pålitelig metode for å identifisere nylig infeksjon med CMV, ifølge disse dataene.</p>		

<p>10)Primary CMV infection in pregnant egyptian women confirmed by CMV IgG avidity testing (Kamel) <b>(2014)</b> (juni 2011-okt 2012)</p>	<p>546</p>	<p>Forsøker her å bestemme hyppighet av primære CMV infeksjoner hos et visst antall Egyptiske kvinner ved hjelp av aviditetstesting. <b>IgG pos:</b> 546 <b>IgM pos:</b> 40 (7.3%)</p> <table border="1" data-bbox="616 359 1323 616"> <thead> <tr> <th rowspan="2">CMV IgM positiv/ gråsone</th> <th colspan="3">AVIDITET</th> </tr> <tr> <th>Høy</th> <th>intermediær</th> <th>Lav</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Første trimester</td> <td>14</td> <td>3</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>Andre trimester</td> <td>5</td> <td>1</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>Tredje trimester</td> <td>13</td> <td>4</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>Totalt</td> <td>32</td> <td>8</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table>	CMV IgM positiv/ gråsone	AVIDITET			Høy	intermediær	Lav	Første trimester	14	3	0	Andre trimester	5	1	0	Tredje trimester	13	4	0	Totalt	32	8	0	<p>VIDAS CMV-IgG avidity assay reflekterer CMV IgG aviditetsmodningskinetikk. God kvalitet på dette kitet. Endrer man aviditets index cut-off values fra (0.20-0.80) til (0.40-0.65) minsker antallet tvetydige resultater. Ingen av kvinnene med pos IgM hadde lav IgG-aviditet. God metode. Viktig å sjekke aviditet også.</p>
CMV IgM positiv/ gråsone	AVIDITET																									
	Høy	intermediær	Lav																							
Første trimester	14	3	0																							
Andre trimester	5	1	0																							
Tredje trimester	13	4	0																							
Totalt	32	8	0																							
<p>11)Re-evaluation of the VIDAS CMV IgG avidity assay. Determination of the new cut-off values based on the study of kinetics of CMV-IgG maturation (Vauloup-Fellous)(25) <b>(2013)</b></p>	<p>35 gravide (135 sera)</p>	<p>Disse prøvene ble tatt fra kvinner med pos CMV-IgG (sikker primærinfeksjon) og deretter testet med VIDAS, Liason og Architect. Sammenlikner tre ulike aviditetsassays, og reevaluerer cut.off-verdiene.</p> <table border="1" data-bbox="604 858 1688 1136"> <tbody> <tr> <td>VIDAS</td> <td>31/ 31 korrekt datert med ny cut-off.</td> </tr> <tr> <td>LIASON</td> <td>29/31 korrekt datert med ny cut-off.</td> </tr> <tr> <td>ARCHITECT</td> <td>25/31 korrekt datert med ny cut-off</td> </tr> </tbody> </table>	VIDAS	31/ 31 korrekt datert med ny cut-off.	LIASON	29/31 korrekt datert med ny cut-off.	ARCHITECT	25/31 korrekt datert med ny cut-off	<p>Analysen av dataene førte til en ny foreslått cut-off-verdi på 0.40 for lav aviditet og 0.65 for høy aviditet, noe som signifikant bedret testresultatene og som kan gi bedre pasienthåndtering. VIADS CMV-IgG aviditetsassay gir oss også muligheten til å observere korrekt modning av aviditeten, som kan bli nyttig som en tilleggsparameter for duagnostisering av en nylig CMV infeksjon. Denne studien bekrefter god kvalitet på VIDAS-assayet.</p>																	
VIDAS	31/ 31 korrekt datert med ny cut-off.																									
LIASON	29/31 korrekt datert med ny cut-off.																									
ARCHITECT	25/31 korrekt datert med ny cut-off																									

<p>12)Improving diagnosis of primary CMV infection in pregnant women using immunoblots (Rajasekhariah) (26)</p> <p><b>(2013)</b></p>	<p>60</p>	<p>Sammenlikning mellom konvensjonell serologi og Recomblot for detektering av IgG, IgM og IgG aviditet. Tabellen under viser hvordan diagnostisering av primær, nylig og tidligere CMV-infeksjon kan resultere i med Recomblot (Rec) sammenliknet med konvensjonell serologi.</p> <table border="1" data-bbox="616 343 1010 662"> <thead> <tr> <th>vs</th> <th colspan="4">Serologi (IgM og IgG aviditet)</th> </tr> <tr> <th>Rec</th> <th>pr</th> <th>N</th> <th>Pa</th> <th>tot</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Pr</td> <td>13</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>13</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>7</td> <td>15</td> <td>13</td> <td>35</td> </tr> <tr> <td>Pa</td> <td>0</td> <td>5</td> <td>7</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>U</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>tot</td> <td>20</td> <td>20</td> <td>20</td> <td>60</td> </tr> </tbody> </table> <p><u>TABELLFORKORTELSER:</u>  Rec: Recomblot IgG (avidity) - immunoblotmetode  Pr: Primary infection  N: Recent infection  Pa: Past infection  U: Uncertain  Tot: Totalt</p>	vs	Serologi (IgM og IgG aviditet)				Rec	pr	N	Pa	tot	Pr	13	0	0	13	N	7	15	13	35	Pa	0	5	7	12	U	0	0	0	0	tot	20	20	20	60	<p>Er immunoblot et alternativt verktøy til serologi for å finne IgM og identifisere en primærinfeksjon? Recomblot er ikke så god til å identifisere IgM. Samsvar mellom recomblot og serologi var bare 65%. Immunoblot kan bidra til å diagnostisere de serologiske tvetydige resultatene. Serologi er fortsatt det beste verktøyet vi har.</p>
vs	Serologi (IgM og IgG aviditet)																																					
Rec	pr	N	Pa	tot																																		
Pr	13	0	0	13																																		
N	7	15	13	35																																		
Pa	0	5	7	12																																		
U	0	0	0	0																																		
tot	20	20	20	60																																		
<p>13)The value of CMV IgG avidity and immunoblot for timing the onset of primary CMV infection in pregnancy (Enders) (2)</p> <p><b>(2013)</b></p>	<p>61 (188 sera)</p>	<p>Testet 61 gravide kvinner hvor man visste nøyaktig når infeksjonen hadde skjedd. 147 sera ble undersøkt med VIDAS CMV IgG avidity, EIA (BioMerieux) og 83 sera ved bruk av recomBlot CMV IgG med aviditet (Mikrogen).</p> <p>Begge assays later til å være plausible ift å datere primærinfeksjons-onset. En aviditetsindex i VIDAS avidity EIA på &lt; 40% indikerte primærinfeksjon ila de siste 20 ukene, mens en intermediær AI ekskluderte primærinfeksjon ila de siste 12 ukene. Recomblot viste høy grad av realibilitet for å tidfeste infeksjonen ila de siste 14 ukene. Aviditetstesting vha blotting kunne ikke bli brukt i 11 av 47 sera.</p>	<p>Konklusjonen ble at CMV aviditetstesting er den beste metoden hvis det måles ila det første trimesteret frem til begynnelsen av andre trimester.</p>																																			
<p>14)Kinetics of CMV seroconversion in a swiss pregnant women population (Maine)</p>	<p>31</p>	<p>Alle kvinnene om ble testet hadde hatt en dokumentert nylig serokonversjon. Prøvene ble testet av en eller flere ulike kits.</p> <p>Formålet med denne studien var å se på kinetikken for CMV serokonversjon for å bestemme om de anbefalte retningslinjene for CMV serologi er valide.</p>	<p>Konkluderer med at algoritmen om brukes i dag støttes utifra dataene.</p>																																			



<p>(12) <b>(2011)</b> 1996-2006</p>		<p>Ved kinetikkanalyse av CMV serokonversjon ble det påvist rask økning av CMV antistoffindex etter infeksjon tett fulgt av en økning av CMV IgG titer. CMV IgG titer fortsetter å øke mens CMV IgM index fortsetter å falle etter serokonversjon.</p>																													
<p>15)Comparative evaluation of eight commercial human cytomegalovirus IgG avidity assays (revello)(1)  <b>(2010)</b></p>	<p>65 gravide (198 sera)</p>	<p><b>Aviditetsassay</b></p>	<p>ROCAU (95% CI) (Receiver operator characteristics area under curve)</p> <table border="1" data-bbox="884 528 1498 1002"> <thead> <tr> <th data-bbox="884 528 1498 564"></th> <th data-bbox="884 528 1498 564">&lt;90 dager</th> <th data-bbox="884 528 1498 564">&gt;180 dager</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="600 564 884 603">Abbott</td> <td data-bbox="884 564 1498 603">0.7 Recent infection</td> <td data-bbox="1498 564 2163 603">0.79 Non Recent</td> </tr> <tr> <td data-bbox="600 603 884 641">BioMerieux</td> <td data-bbox="884 603 1498 641">0.6 Recent infection</td> <td data-bbox="1498 603 2163 641">0.72 Non Recent</td> </tr> <tr> <td data-bbox="600 641 884 679">Bio-Rad</td> <td data-bbox="884 641 1498 679">0.74 Recent infection</td> <td data-bbox="1498 641 2163 679">0.76 Non Recent</td> </tr> <tr> <td data-bbox="600 679 884 718">DiaSorin</td> <td data-bbox="884 679 1498 718">0.74 Recent infection</td> <td data-bbox="1498 679 2163 718">0.74 Non Recent</td> </tr> <tr> <td data-bbox="600 718 884 756">Diesse</td> <td data-bbox="884 718 1498 756">0.78 Recent infection</td> <td data-bbox="1498 718 2163 756">0.87 Non Recent</td> </tr> <tr> <td data-bbox="600 756 884 794">Euroimmun</td> <td data-bbox="884 756 1498 794">0.78 Recent infection</td> <td data-bbox="1498 756 2163 794">0.72 Non Recent</td> </tr> <tr> <td data-bbox="600 794 884 833">Radim</td> <td data-bbox="884 794 1498 833">0.84 Recent infection</td> <td data-bbox="1498 794 2163 833">0.85 Non Recent</td> </tr> <tr> <td data-bbox="600 833 884 1002">Technogenetics (Pavia)</td> <td data-bbox="884 833 1498 1002">0.61 Recent infection (0.8 R recent infection)</td> <td data-bbox="1498 833 2163 1002">0.54 Non Recent (0.85 Non Recent)</td> </tr> </tbody> </table>		<90 dager	>180 dager	Abbott	0.7 Recent infection	0.79 Non Recent	BioMerieux	0.6 Recent infection	0.72 Non Recent	Bio-Rad	0.74 Recent infection	0.76 Non Recent	DiaSorin	0.74 Recent infection	0.74 Non Recent	Diesse	0.78 Recent infection	0.87 Non Recent	Euroimmun	0.78 Recent infection	0.72 Non Recent	Radim	0.84 Recent infection	0.85 Non Recent	Technogenetics (Pavia)	0.61 Recent infection (0.8 R recent infection)	0.54 Non Recent (0.85 Non Recent)	<p>Høy spesifisitet foretrekkes fremfor høy sensitivitet når det gjelder IgM-screening. Man bør også være forsiktig når man benytter aviditetsresultater fra kits i studier for å forklare patogenetiske mekanismer vha antistoffer.</p> <p>Ingen av disse kits ga identiske resultater i noen av prøvene. Euroimmun og Radim viste best korrelasjon ved lav, deretter intermediær og høy aviditet. Når det gjaldt å avgjøre primær eller sekundærinfeksjon var Radim best, etterfulgt av Euroimmun og Disse.</p> <p>Tabellen over viser nøyaktigheten ved bruk av de ulike kommersielle kits og Pavia assay til å identifisere nylig (&lt;90 dager etter onset) eller ikke nylig (&gt;180 dager etter onset) primær HCMV infeksjon.</p>
	<90 dager	>180 dager																													
Abbott	0.7 Recent infection	0.79 Non Recent																													
BioMerieux	0.6 Recent infection	0.72 Non Recent																													
Bio-Rad	0.74 Recent infection	0.76 Non Recent																													
DiaSorin	0.74 Recent infection	0.74 Non Recent																													
Diesse	0.78 Recent infection	0.87 Non Recent																													
Euroimmun	0.78 Recent infection	0.72 Non Recent																													
Radim	0.84 Recent infection	0.85 Non Recent																													
Technogenetics (Pavia)	0.61 Recent infection (0.8 R recent infection)	0.54 Non Recent (0.85 Non Recent)																													

<p>16)Evaluation of the new architect cytomegalovirus immunoglobulin M (IgM), IgG og IgG aviditets assays (Lagrou)(27) <b>(2009)</b></p>	<p>100 for å evaluere spesifisiteten til CMV-aviditet.</p>	<p>Hensikten med denne studien var å sammenlikne ytelsen til denne fullt automatiserte CMV immunoglobulin M, IgG og IgG aviditetstesten på Architect instrument med de andre tilgjengelige assaysene. IgG pos og IgM negative prøver ble testet på VIDAS, AxSYM og Architect instrumenter. Spesifisiteten for IgG aviditetstest var 98% for Architect assay og 76% for Vidas assay.</p> <p>Høy aviditet for 76% Aviditeten var lavere for sera med lav IgG-konsentrasjon, enn for dem med høy på Vidas. Det ble ikke målt høy IgG-aviditet for noen av testene de første 3 mnd.</p>	<p>Konkluderte med at korrelasjonen av resultatene mellom de nylig utviklede CMV IgM og IgG testene fra Architect og de etablerte metodene er veldig god (best med Vidas). CMV aviditetstesten ekskluderte pasienter med nylige infeksjoner og viste veldig høy spesifisitet.</p>
<p>17)High cytomegalovirus IgG avidity is a reliable indicator of past infection in patient with positive IgM detected during the first trimester of pregnancy (28) <b>(2009)</b></p>	<p>79</p>	<p>79 pasienter med positiv CMV IgM og høy IgG aviditet. De hadde IgG aviditet &gt; 65%. Serologisk testing ble utført i de første trimester hos 65 av pasientene, hvorav 28 ble tatt forstervannsprøve av.</p> <p>Dette må selvfølgelig bekreftes i større studier. CMV-spesifikk IgM er en ekstremt sensitiv, men lite spesifikk markør for å finne primær CMV infeksjon. Lav spesifisitet fordi antistoffene persisterer over tid etter primær infeksjon. Denne verdien kan også øke ved sekundærinfeksjon hos noen.</p>	<p>Fant at IgG-aviditet &gt; 65% er en indikator for tidligere infeksjon, og derfor ekskluderer muligheten for at det er CMV i fostervannet. Man trenger derfor ikke ta noen invasive prøver for å forsikre seg om dette når aviditeten er &gt; 65%.</p>
<p>18)Development of fully automated determination and marker-specific IgG avidity based on the avidity competition assay format: application for Abbott Architect Cytomegalovirus and Toxo IgG Avidity Assays. (Curd)(29)</p>	<p>312</p>	<p>Godt samsvar mellom den kaotriske metoden og AVIcompmetiden gir trolig uttrykk for at den kan ha flere funksjoner. Dataene som er representert viser at AVIcomp-metoden virker med «Crude lysates» fra CMV-infiserte celler like godt som med rent rekombinant antigen. Man hypotetiserer at det generelt kan være mulig å bruke AVIcomp formatet for å bestemme aviditeten av IgG rettet mot infeksjøs agens og til å avgjøre hvor lang tid det har gått siden infeksjonen ble tilegnet. IgG pos og IgM-neg.</p>	<p>Sammenlikner AVIcomp med tradisjonelle metoder for aviditetsmåling. Benytter VIDAS, architect og Radim til å sammenlikne. Ser ut om AVIcomp-metoden er omtrent like god.</p>

(2009)									
<p>19)Improvement of CMV avidity testing by adjusting the concentration of CMV-specific IgG in test samples (Dangel)(30)</p> <p>(2006)</p>	<p>82 prøver fordelt i 3 grupper</p>	<p>I denne studien ha man forsøkt å forbedre CMV-aviditetstesting ved å justere konsentrasjonen av CMV IgG i prøvene.</p> <p>I gruppen med antatt akutt eller nylig primærinfeksjon hadde 12/44 sera CMV-spesifikke IgG-verdier over 100 AU (arbitrary units)/ ml og i disse tilfellene var en økning i AI målbar etter fortynning av serumprøven. I to tilfeller, ble aviditetsindexen endret mot eller over cut-offverdien på AI &gt; 0.8, noe som indikerer tidligere infeksjon. Fortynning av sera som var CMV-spesifikt IgM-positivt og hadde spesifikke IgG-konsentrasjoner på &lt; 100 AU/ml lager kun små forskjeller i AI. Hos dem som har serologi passende med tidligere infeksjon så man at fortynningseffekter som likner gruppen av akutt eller nylig infiserte mennesker ble observert, og hvis CMV-spesifikt IgG var over 100 AU/ml, vil en økning i AI til over eller det samme som cut-off-verdien er kun beregnes etter fortynning.</p> <p>82 serumprøver ble undersøkt fra tre kliniske scenarier, de tre gruppene under:</p> <table border="1" data-bbox="607 804 1693 1214"> <tr> <td data-bbox="607 804 884 975"> <p><b>Gr. 1</b> IgM neg, IgG neg (kontroll) – 18 stk</p> </td> <td data-bbox="884 804 1693 975">neg</td> </tr> <tr> <td data-bbox="607 975 884 1098"> <p><b>Gr. 2</b> Primærinfeksjon – 44 prøver fra 20 personer.</p> </td> <td data-bbox="884 975 1693 1098">12 hadde IgG &gt;100, resten IgG &lt;100</td> </tr> <tr> <td data-bbox="607 1098 884 1214"> <p><b>Gr. 3</b> – tidligere infeksjon IgM neg, IgG pos – 20 stk</p> </td> <td data-bbox="884 1098 1693 1214">Etter fortynning kunne man identifisere 8 pasienter med tidligere infeksjon.</td> </tr> </table>	<p><b>Gr. 1</b> IgM neg, IgG neg (kontroll) – 18 stk</p>	neg	<p><b>Gr. 2</b> Primærinfeksjon – 44 prøver fra 20 personer.</p>	12 hadde IgG >100, resten IgG <100	<p><b>Gr. 3</b> – tidligere infeksjon IgM neg, IgG pos – 20 stk</p>	Etter fortynning kunne man identifisere 8 pasienter med tidligere infeksjon.	<p>Dataene viser at for å beregne nøyaktig aviditetsindeks bør man ha et utgangspunkt i form av en «startkonsentrasjon» for IgG (i denne studien satt til &lt; 100 AU/ml). Denne konsentrasjonen bør settes før man måler CMV-aviditet med Vidas-systemet. Dette vil hindre feilaktig diagnostisering av falske positive primærinfeksjoner hos gravide kvinner.</p> <p>VIDAS assay, bestemmelse av spesifikk IgG-konsentrasjon og forhåndsfortynning av sera er sterkt anbefalt for nøyaktig CMV-aviditetsberegning.</p>
<p><b>Gr. 1</b> IgM neg, IgG neg (kontroll) – 18 stk</p>	neg								
<p><b>Gr. 2</b> Primærinfeksjon – 44 prøver fra 20 personer.</p>	12 hadde IgG >100, resten IgG <100								
<p><b>Gr. 3</b> – tidligere infeksjon IgM neg, IgG pos – 20 stk</p>	Etter fortynning kunne man identifisere 8 pasienter med tidligere infeksjon.								
<p>20)Diagnosis of and screening for Cytomegalovirus Infection in Pregnant women (Munro)(6)</p>	<p>600 gravide kvinner delt i to grupper:</p>	<p>PCR av urin og blod hos alle seropositive.</p> <p>56,8% var CMV IgG seropositive, og 5,5% var også CMV IgM positive.</p>	<p>Kvinner med høy risiko for intrauterin transmisjon av CMV fantes på alle tidspunkt av graviditeten. Kvinner infisert med CMV sent i graviditeten har økt sannsynlighet for å</p>						

<b>(2005)</b>	>(204) og <(396) 20 ukers graviditet.	Av de IgM-positive var 1,2% lav aviditets IgG (indikerer primær infeksjon og høy risiko for intrauterin smitte). To barn med asymptomatisk CMV-infeksjon ble født av mødre som hadde serokonvertert i andre trimester.	overføre viruset, slik at feil når det gjelder å oppdage serokonversjoner sent i graviditeten kan føre til at man ikke oppdager alle syke nyfødte.																																
21) Clinical evaluation of a Chemiluminescence Immunoassay for determination of IgG avidity to HCMV (Revello)(31)  <b>(2004)</b>	413	<p>255 av 301 sera samlet fra dem med primærinfeksjon &gt; 90 dager, eller peristerende IgM, reaktivering eller tidligere primærinfeksjon. Dette ga en AI &gt; 0.3 og en spesifisitet på 84.7%. Man bruker nå 4 ulike assays for aviditetsmåling (Biomerieux, Bouty, Radim og Dade-Behring).</p> <p>Aviditetsindex-resultater i ulike grupper av sera undersøkt av Liason CMV IgG aviditetsassay.</p> <table border="1" data-bbox="808 560 1487 1034"> <thead> <tr> <th>Primær</th> <th>Lav</th> <th>Moderat</th> <th>Høy</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>&lt;90</td> <td></td> <td>8</td> <td></td> </tr> <tr> <td>91-180</td> <td>104/112</td> <td>18</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>&gt;180</td> <td>13/38</td> <td>2</td> <td>7</td> </tr> <tr> <td></td> <td>1/17</td> <td></td> <td>14</td> </tr> <tr> <td>Persisterende IgM</td> <td>0</td> <td>10</td> <td>46</td> </tr> <tr> <td>Reaktivering</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>87</td> </tr> <tr> <td>Tidligere inf</td> <td>0</td> <td>2</td> <td>101</td> </tr> </tbody> </table>	Primær	Lav	Moderat	Høy	<90		8		91-180	104/112	18	0	>180	13/38	2	7		1/17		14	Persisterende IgM	0	10	46	Reaktivering	0	0	87	Tidligere inf	0	2	101	Liaison CMV IgG aviditets assay viste 92.8% sensitivitet for å finne en nylig (<90 dg) HCMV infeksjon. AI < 0.20. Studien viser at Biomerieux og Liaison er like gode.
Primær	Lav	Moderat	Høy																																
<90		8																																	
91-180	104/112	18	0																																
>180	13/38	2	7																																
	1/17		14																																
Persisterende IgM	0	10	46																																
Reaktivering	0	0	87																																
Tidligere inf	0	2	101																																

<p>22) A serological testing algorithm for the diagnosis of primary CMV infection in pregnant women (Mace).(16)</p> <p><b>(2004)</b></p>	310	<p>Finner ut om IgG-aviditet eller IgM bør testes først ved mistanke om primærinfeksjon. Datering vha IgM-antistoffer og IgG AI tok feil i 3/310 tilfeller (1%). Datobestemmelse vha IgG AI alene viste feil i 81 av 310 tilfeller (26%).</p> <table border="1" data-bbox="748 323 1545 798"> <thead> <tr> <th>Gruppe</th> <th>IgG AI (%)</th> <th>Antall</th> <th>Positiv IgM antistoff</th> <th>Tolkning</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>0-30</td> <td>5</td> <td>3</td> <td>Primær</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>30-50</td> <td>9</td> <td>0</td> <td></td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>50-70</td> <td>72</td> <td>3</td> <td></td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>70-100</td> <td>224</td> <td>3</td> <td>Tidligere</td> </tr> </tbody> </table>	Gruppe	IgG AI (%)	Antall	Positiv IgM antistoff	Tolkning	1	0-30	5	3	Primær	2	30-50	9	0		3	50-70	72	3		4	70-100	224	3	Tidligere	<p>Selv med det mest sensitive screening assay for IgM antistoffer, er prosentandelen av intermediære resultater lavere hvis man bruker IgM antistoff i tillegg til IgG AI enn ved å måle CMV-spesifikk IgG AI alene.</p>
Gruppe	IgG AI (%)	Antall	Positiv IgM antistoff	Tolkning																								
1	0-30	5	3	Primær																								
2	30-50	9	0																									
3	50-70	72	3																									
4	70-100	224	3	Tidligere																								
<p>23) Validation of an In-House assay for Cytomegalovirus immunoglobulin G avidity and relationship of avidity to CMV IgM levels (Prince)(32)</p> <p><b>(2002)</b></p>	222	<p>Her valideres en in-house metode for å måle CMV-aviditet.</p> <p><u>84 sera med serokonversjon:</u> 72 med AI &lt; 50% (16-220 dager)</p> <p><u>Resten av dem med serokonversjon</u> (121-220 dager) – 6 med AI &lt; 50%.</p> <p>74 sera var IgM-negative og viste ingen AI &lt; 50%</p> <p>65 sera var IgG pos og IgM pos. Av disse hadde 41 stk lav AI, 8 stk hadde intermediær AI og 15 stk hadde høy AI.</p>	<p>In-house metoden er effektiv når det gjelder å skille mellom primær og ikke-primær infeksjon.. De fant også at når CMV IgG er positiv og viser en IgM ELISA index på &gt; 3, trenger man ikke måle CMV aviditet for å bekrefte en primærinfeksjon. I motsetning vil en IgM capture index på &lt; 3 ikke kunne si noe om aviditet og infeksjon. Dersom man bare tester IgG aviditet hos de IgM positive, kan man risikere å overse noen med primærinfeksjon, avhengig av hvor godt IgM-assayet er.</p>																									

<p>24)Anticytomegalovirus IgG Avidity in Pregnancy: A 2 year prospective study (Bodeus)(11) <b>(2002)</b></p>	<p>409</p>	<p>409 IgM-positive kvinner uten en dokumentert serokonversjon ble prospektivt fulgt. Data fra oppfølging i svangerskapet ble tatt vare på. Disse prøvene ble sammenliknet med 76 stk med serokonversjon ila samme periode. Høy aviditet som ekskluderte primærinfeksjon ila de siste 3 mnd ble observert i 270 kvinner. Siden gestasjonsalder var mindre enn 3 mnd for 121 kvinner, fikk man ekskludert primærinfeksjon i 30% av tilfellene. Andel med amnionvæskeprøve ble påvirket av serologisk resultat: høy aviditet (9%), lav aviditet (42%) og serokonversjon (65%).</p>	<p>En høy aviditetindex iførste trimester indikerer en tidligere infeksjon, og ikke en primær. Gjør også prenatal invasiv diagnostikk unødvendig. Omtrent 70% av IgM-positive kvinner kan være sikre hvis den første serologien var systematisk sjekket før 12 ukers svangerskap.</p>
<p>25)Multicenter Evaluation of a rapid and convenient method for determination of CMV IgG avidity (Baccard-Longere)(33) <b>(2001)</b></p>	<p>416 serumprøver</p>	<p>Primærinfeksjon: Av 159 med primærinfeksjon var 61 fra asymptomatiske gravide kvinner, 15 med symptomer, 38 stk med leverpatologi, 3 med lungepatologi og 42 med diverse sykdommer. Av de 115 prøvene som ble tatt de første 4 mnd etter infeksjon, hadde alle AI &lt;0.8. Tidligere infeksjon: 257 med tidligere infeksjon (81.2% hadde AI &gt;0.8). Man kan ekskludere primærinfeksjon ved AI &gt; 0.8, men en AI &lt; 0.8 kan ikke utelukke en tidligere infeksjon.</p>	<p>Viser at VIDAS CMV IgG avidity test er en rask (40 min), reproducerbar test som er bra. Det viser seg å være relativt stor diskrepans mellom VIDAS og Behring. Mulige feilkilder kan være forurensning, autoantistoffer tilstede, sakte antistoffmodning (individuell). Med VIDAS kan man ekskludere en ny primærinfeksjon på mindre enn 4 mnd når AI &gt; 0.8.</p>
<p>26)Ability of three IgG-avidity assays to exclude recent CMV infection (Bodeus)(34) <b>(2001)</b></p>	<p>129.</p>	<p>Inkludert i studien: 49 med serokonversjon og 80 med tidligere infeksjoner. Dade-Behring (Enzygnost) Utilfredsstillende til å ekskludere en nylig CMV infeksjon (30%) In-house method: Ekskluderer med 96% riktighet. BioMerieuxmetoden (VIDAS): Ekskluderer med 82%.</p>	<p>Alle tre assays viste at de var gode til å detektere en tidligere infeksjon (98-100%). OBS! Studien er muligens ikke stor nok til å vise rett. Diskrepans mellom VIDAS og In house sett i 15 tilfeller. Disse to testene gjorde det like godt.</p>

		Gruppe	VIDAS	Enzygnost	In-house	Konkordansraten mellom VIDAS og in-house var 70%.
		<b>Gruppe 1: 49 stk m/ serokonversjon</b>	AI under diagnostisk terskel anbefalt for å ekskludere nylig infeksjon.	En prøve ga AI 41%, noe som indikerte tidl. Inf.	AI under diagnostisk terskel anbefalt for å ekskludere nylig infeksjon.	
<b>Gruppe 2: 80 stk med gammel infeksjon.</b>	Ekskl. nylig inf hos 67 stk..	Ekskl. nylig inf hos 26 stk.	Ekskl. nylig inf hos 78 stk.			
27)Combination of microneutralization and avidity assays: improved diagnosis of recent primary human CMV infection in single serum sample of second trimester pregnancy (Eggers)(35) (2000) (1998-1999)	227 (350 sera)	HCMV IgG aviditet i 350 serumprøver fra 227 gravide kvinner ble undersøkt ved å bruke 6M urea i buffer. HCMV spesifikke IgG-antistoffer nådde full modning omtrent 20-22 uker etter serokonversjon og lav IgG aviditet er derfor en markør for primær infeksjon.				Mikronøytralisering og aviditetsassays kombinert viser seg å være et nyttig verktøy i diagnostiseringen av en nylig primær HCMV-infeksjon i andre trimester av svangerskapet. Dette gjelder da spesielt når tidligere serologi ikke finnes.

## Diskusjon

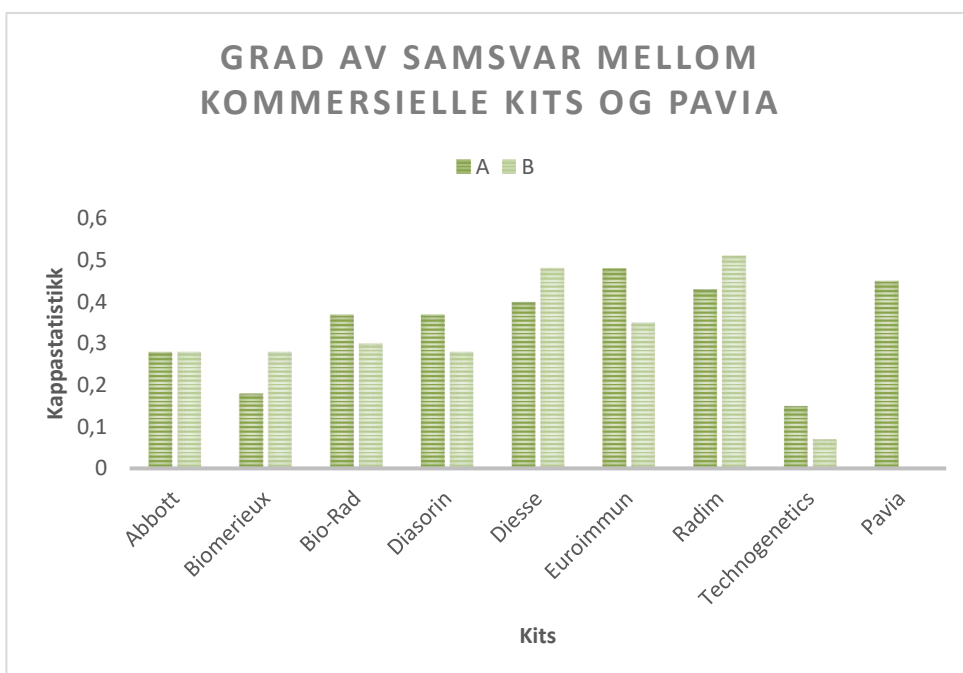
### Hvorfor trengs denne testen?

Smitte til foster er vanligst ved primærinfeksjon, og derfor er det viktigst å finne en god metode for å påvise dette. Den beste indikatoren for påvisning av primærinfeksjon er serokonversjon i løpet av svangerskapet. Dessverre har man ofte ikke tilgjengelige tidligere prøver og serokonversjonen kan da ikke tidfestes (5). For å kunne identifisere gravide med primær CMV infeksjon i svangerskapet ønsker man derfor en test som kan skille primær og non-primær infeksjon med god spesifisitet og sensitivitet.

CMV IgG-aviditetsanalyse har blitt etablert som en metode for å skille mellom primær og non-primær infeksjon. Ifølge Prince vil aviditetsanalysen som sådan i 90% (sensitivitet) av tilfellene gi lav indeks hos primærinfiserte, og høy index for dem som har hatt tidligere infeksjon. I ca. 1 av 10 tilfeller vil altså aviditetsanalysen kunne gi et misvisende resultat. Det er derfor viktig at aviditetsindex vurderes sammen med IgM og IgG (5). I denne oppgaven har jeg undersøkt hva ulike engelske og nordiske publiserte artikler om emnet har vist de siste årene (2000-2017).

### Hva er funnet?

Et hovedproblem med CMV aviditetsanalyse er at ulike metoder og produsenter kan gi ulike resultater. Man kan risikere at samme prøve ville gi konklusjon primærinfeksjon ved et laboratorium og non-primær infeksjon ved et annet laboratorium.



**Figur 4:** Figuren viser grad av samsvar mellom åtte kommerielle kits og Pavia assay (stolpe A), med forventet IgG aviditetsresultat ved <90 dager, 91-180 dager og > 180 dager etter smitte og mellom kommerielle kits og Pavia in-house assay (stolpe B). Disse beregningene ble gjort utifra 198 sera samlet fra 65 gravide kvinner 7-275 dager etter primærinfeksjonsutbrudd (1).

Kappa er et mål på samsvar mellom observatører. Her deler vi inn verdiene som følger. 0-0,2: svakt samsvar, 0,21-0,40: noe samsvar og 0,41-0,60: moderat samsvar.



Dette er en av de største utfordringene vi står ovenfor. Man ønsker en standardisert aviditetsmetode alle kan bruke, men i dag finnes mange tester, «kits», på markedet, med ulik spesifisitet og sensitivitet. Ulike analyseprodusenter har også like grenser for hva som regnes som høy og lav aviditet.

Videre kan svært lave IgG-antistoff nivåer gi falskt lave aviditetsverdier (36). Det finnes et dusin aviditetskits på markedet. Noen viser bedre resultater enn andre, men ved sammenlikning vises ikke så stor forskjell at det er avgjørende. Ulike cut-off verdier, befolkningsvariasjon og liknende gjør det vanskelig å avgjøre hvilken test som er best.

Flere studier har vist diskrepans mellom ulike aviditetsassays og da særlig falskt høye positive resultater (10). I studien til Sellier sammenlikner de to metoder for aviditetmåling (VIDAS vs. LIASON), hvor de fant at LIASON CMV IgG aviditet assay nådde høy aviditet status raskere enn VIDAS assay, noe som skaper usikkerhet (20).

Revello sammenliknet hele åtte ulike aviditetsassays på markedet for å se hvor gode disse var i forhold til hverandre. Ikke overraskende fant de at ingen av assaysene klarte å bestemme helt korrekt. Noen traff bedre enn andre tester. Når det gjaldt infeksjoner < 90 dager var Radim best (0.84), etterfulgt av Diesse og Euroimmun. Når man så på infeksjonene som var fra > 180 dager tilhørte de beste AUC-verdiene (arelaet under kurven Diesse (0.87) og Radim (0.85). I forhold til samsvar mellom de ulike assaysene var den moderat for Radim, Euroimmun og Pavia, tilfredsstillende for Diesse, Bio-Rad, DiaSorin og Abbott og svak for biomerieux (for høy cut-off) og Technogenetics (1). Dette er et godt eksempel på diskrepansen observert mellom de ulike kitsene, selv om vi også ser at noen korrelerer (se figur 4).

Guisasola og medforfattere publiserte i 2010 en sammenlikning av fire ulike konvensjonelle CMV IgG aviditetassays (Radim, Euroimmun, Platelia (BioRad) og Diasorin (Liaison)), hvor de fant at for detektering av primærinfeksjon hos IgM-positive kvinner var sensitiviteten 92,3% og spesifisiteten 100% for Radim, 100% og 82.1% for Euroimmun, 100% og 78.6% for Diasorin og 84.6% og 100% for Platelia. Euroimmun og Diasorin er altså ifølge denne studien best til å bekrefte primærinfeksjon, mens Radim og Platelia er best til å ekskludere primærinfeksjon ved tilstedeværelse av CMV-spesifikt IgM (37). Sensitiviteten og spesifisiteten var ganske god i denne studien.

Sensitiviteten er rapportert til å være ganske god i noen studier. For eksempel i Yang sin studie fra 2014 sammenliknet de Autobio Diagnostics Co. Ltd cytomegalovirus IgG avidity diagnostic kit for å påvise primærinfeksjon med andre kits på markedet. Autobios sensitivitet var på 97,4%, noe som bekrefter at denne testen fungerer godt (24). I Revello sin studie testet man Liason mot andre assays, og fant da en sensitivitet på 92.8% når det gjaldt å oppdage nylige primærinfeksjoner (<90 dager). Disse viste da en aviditetsindex på <0.20, noe man klassifiserer som lav aviditet. Total spesifisitet hvis man tar med alle data i tabellen viste 84.7%.

Bodeus og kollegaene fant i 2001 at evnen til tre IgG-aviditets assays har til å detektere en primærinfeksjon var 100%, mens evnen til å ekskludere en nylig infeksjon var mellom 96-32%. Dette viser at man trenger en standardisering av metoden, noe man forsøker å finne en god oppskrift på.

### Hvordan redusere diskrepansen?

I håp om å forbedre aviditetsmetoden har flere forbedringstiltak vært prøvd. For eksempel så man ved sammenlikning av to line assays for aviditet (VIDAS og Microgen recomLine) at kombinasjonen av de to er nyttig ved behov for bekreftelse og nærmere bestemmelse av tidspunkt for smitte (10).

En klinisk evaluering av Roche Elecsys CMV IgM, IgG, IgG aviditet viste seg å være et godt alternativ til å finne dem med maternell primærinfeksjon, sammenliknet med andre assays (18). Det spesielle med denne aviditetsmålingsmetoden er at man her bruker en blanding av ulike virale rekombinante proteiner istedenfor hele CMV-antigenet (22).

Automatisering av aviditetanalyse kan effektivisere og øke nøyaktigheten når det gjelder å vurdere aviditeten. Flere produsenter tilbyr nå automatiserte tester.

Fokuset har tidligere vært på denatureringstrinnet i prosessen istedenfor mengden total CMV spesifikk IgG tilstede i prøven. Dangel viser utifra sine data at for å måle aviditetsindeksen med stor treffsikkerhet må man på forhånd sette en initiell IgG-konsentrasjon før man måler CMV-aviditet med VIDAS (bioMérieux)-systemet. Dette vil føre til færre falske positive for primærinfeksjon, som vil spare gravide kvinner for mye engstelse og samfunnet for unødvendige kostnader og bortkastet tid. De konkluderer med at for Vidas assay vil bestemmelse av spesifikk IgG-konsentrasjon og forhåndsfortynning av sera være å anbefale for å nøyaktig kunne beregne CMV-aviditet.

AVIcomp (avidity competition) er en annen nylig utviklet metode for å påvise lav aviditet IgG tidlig, ved å direkte blokkere høy-aviditets IgG i en prøve med løselig antigen og bestemme konsentrasjonen av de gjenværende lav-aviditets IgG. «Comp» kalles det fordi man ser for seg en konkurranse mellom høy- og lavaviditet antistoffer for bindingssetene i et løselig antigen. CMV-assayet beregner gjennomsnittlig aviditet mot alle CMV-proteiner. For noen aviditets-assays har det vist seg at å fortynne en prøve til en viss konsentrasjon av spesifikt IgG før man legger til den solide fasen forbedrer metoden signifikant. AVIcomp-assays inkluderer også et antall fortynningsprotokoller som er automatisk valgt ut basert på konsentrasjonsspesifikk IgG (29).

I studien til Curdt undersøker man om denne nye metoden (AVIcomp, representert av architect CMV IgG Avidity Assay) er like god eller bedre enn de konvensjonelle, som representeres av Radim CMV IgG Avidity assay. Det viser seg da at sensitiviteten er lik og spesifisiteten faktisk er bedre for AVIcomp-formatet for bestemmelse av IgG-aviditet.

De fleste aviditets-assays baserer seg på samme metode, nemlig ELISA, men man har testet nye metoder på markedet, som for eksempel immunoblot hvor man ser på intensiteten på bånd med og uten urea (til sammenlikning). To studier har vist det samme, nemlig at immunoblot-metoden identifiserer de fleste primære og nylige infeksjonene, men viser ingen signifikant fordel fremfor konvensjonelle CMV IgG aviditets-assays (2, 26).

### Er aviditetsmåling bedre enn å kun måle antistoffer?

Man kan i dag teste for CMV IgG, CMV IgM og CMV-IgG-aviditet(7). CMV IgM har høy sensitivitet, og lav spesifisitet. IgM alene som indikator på primærinfeksjon er vanskelig å bruke i praksis, da IgM-antistoffer kan persistere i måneder eller år etter primærinfeksjon, men også opptre ved en reaktivering eller reinfeksjon med en annen stamme av CMV (8). IgM-nivået kan variere på grunn av forstyrrende faktorer, kryssreaksjoner eller persisterende IgM-produksjon (1).

Serologisk diagnostikk kan ifølge Mace utføres på to måter. Enten systematisk måling av aviditetsanalyse i alle CMV-IgG positive serumprøver med eller uten IgM-antistoff. Denne metoden vil påvise mange primærinfeksjoner, men mange vil havne i intermediærgruppen, som er vanskelig å behandle klinisk, og i tillegg er det dyrt å teste på denne måten. Alternativt og foretrukket grunnet billigere og mer nøyaktig, ifølge Mace, er først å måle (34) CMV-spesifikt IgM antistoff, og deretter måling av CMV IgG-aviditet (16).

### Feilkilder/ generelle problemer.

Det er mange faktorer som påvirker resultatet når man skal vurdere hvor god en metode som aviditet er.

Gravide kvinner, uavhengig av alder, er tatt med ved artikkelinnhenting til denne oppgaven. Som nevnt har forskjellige kits ulike cut-off-verdier avhengig av en ønsket standardfordeling blant deltakere i den respektive studien. Ulike metoder og utstyr er brukt til å utføre aviditetsmålingene. Geografisk forekomst må tas med i betraktningen da det er varierende utbredelse av CMV i verden. Antall deltakere i de respektive studiene kan også være kilde til så mye variasjon, at studiene egentlig ikke er sammenliknbare.

#### Andre feilkilder må også tas hensyn til:

I) Den rapporterte uvanlige langvarige persisterende (> 18 uker) mengden av lav-aviditets CMV IgG'er kan føre til feildiagnostisering av primær CMV-infeksjon. Dette gjelder spesielt når man også finner IgM i serum (23).

II) En annen ulempe er den store variabiliteten når det gjelder lav- og høyaviditetsterskler blant ulike kommersielle aviditetskits, slik Revello viste ved sammenlikning av åtte ulike assays (1).

III) Et annet problem er å klassifisere kvinnene med intermediær, det vil si mellom høy og lav, aviditet. Hva kan man gjøre for å redusere antallet i denne gruppen? Intermediære resultater er vanskelig å bruke til å si noe om risiko for smitte. I en studie fra 2004 fra Bologna-gruppen så de på infeksjon i relasjon til CMV IgG aviditetsresultatet og fant andel med smitteoverføring til fosteret på 30% i lav-aviditetsgruppen, 4% i intermediær-gruppen og 2% av dem med høy aviditet. Liknende tall har også blitt vist av andre. De intermediære tilfellene kan ifølge denne studien likne mest på høy aviditet (38). En annen studie tok også med trimester i vurderingen og fant dermed at intermediær aviditet i første trimester er sammenliknbart med høy aviditet, mens en intermediær aviditet målt i andre eller tredje trimester kan tolkes mer som lav aviditet (39).

#### Hva er fordeler og ulemper?

Metoden jeg har brukt i dette litteraturstudiet har både fordeler og ulemper. Fordelen er at man kan sammenlikne de ulike funnene og oppsummere generelle betraktninger når det gjelder cytomegalovirus og påvisning av primærinfeksjon hos foster. Man får også et helhetlig

inntrykk av hvor god testen er med såpass mange internasjonale kilder, uten å ha tilgang på pasienter direkte.

Ulemper er at man må bruke litteratur som allerede finnes, av varierende kvalitet. Det er også vanskelig å lage en klar konklusjon, da det er store forskjeller på flere nivåer studiene i mellom. Når man ser på studier fra tjue år tilbake, har det vært stor utvikling på forskningsfronten. Dette kan i seg selv ha mye å si for resultatene.

### Oppsummering/ Konklusjon:

Aviditet som metode bør man fortsette å benytte i fremtiden, selv om man per i dag ikke kan konkludere med hvilken metode eller produsent som er best. Det man kan finne ut i fra nåværende forskning på feltet er det man har å gå etter for å lage best mulige retningslinjer når det gjelder diagnostikk av CMV hos gravide.

I praksis betyr dette at man må fortsette å lete etter tester som kan gi høyest mulig sensitivitet og spesifisitet, selv om dagens tester kan benyttes så langt.

Dersom det i fremtiden utvikles effektiv behandling som kan gis i svangerskapet vil denne diagnostikken bli enda viktigere enn den er i dag.

## Litteraturliste

1. Revello MG, Genini E, Gorini G, Klersy C, Piralla A, Gerna G. Comparative evaluation of eight commercial human cytomegalovirus IgG avidity assays. *J Clin Virol.* 2010;48(4):255-9.
2. Enders G, Daiminger A, Bader U, Exler S, Schimpf Y, Enders M. The value of CMV IgG avidity and immunoblot for timing the onset of primary CMV infection in pregnancy. *J Clin Virol.* 2013;56(2):102-7.
3. Sert Y, Ozgu-Erdinc AS, Saygan S, Engin Ustun Y. Antenatal Cytomegalovirus Infection Screening Results of 32,188 Patients in a Tertiary Referral Center: A Retrospective Cohort Study. *Fetal Pediatr Pathol.* 2019:1-9.
4. Cannon MJ, Westbrook K, Levis D, Schleiss MR, Thackeray R, Pass RF. Awareness of and behaviors related to child-to-mother transmission of cytomegalovirus. *Prev Med.* 2012;54(5):351-7.
5. Prince HE, Lape-Nixon M. Role of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity testing in diagnosing primary CMV infection during pregnancy. *Clin Vaccine Immunol.* 2014;21(10):1377-84.
6. Munro SC, Hall B, Whybin LR, Leader L, Robertson P, Maine GT, et al. Diagnosis of and screening for cytomegalovirus infection in pregnant women. *J Clin Microbiol.* 2005;43(9):4713-8.
7. Toriyabe K, Morikawa F, Minematsu T, Ikejiri M, Suga S, Ikeda T. Anti-cytomegalovirus immunoglobulin M titer for congenital infection in first-trimester pregnancy with primary infection: a multicenter prospective cohort study. *J Perinatol.* 2017;37(12):1272-7.
8. Kamel N, Metwally L, Gomaa N, Sayed Ahmed WA, Lotfi M, Younis S. Primary cytomegalovirus infection in pregnant Egyptian women confirmed by cytomegalovirus IgG avidity testing. *Med Princ Pract.* 2014;23(1):29-33.
9. Prince HE, Lape-Nixon M, Brenner A, Pitstick N, Couturier MR. Potential impact of different cytomegalovirus (CMV) IgM assays on an algorithm requiring IgM reactivity as a criterion for measuring CMV IgG avidity. *Clin Vaccine Immunol.* 2014;21(6):813-6.
10. Delforge ML, Eykmans J, Steensels D, Costa E, Donner C, Montesinos I. Combination of line immunoassays Mikrogen recomLine CMV IgG and recomLine CMV IgG Avidity helps to date the onset of CMV primary infection. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2018.
11. Bodeus M, Van Ranst M, Bernard P, Hubinont C, Goubau P. Anticytomegalovirus IgG avidity in pregnancy: a 2-year prospective study. *Fetal Diagn Ther.* 2002;17(6):362-6.
12. Maine GT, Stricker R, Stricker R. Kinetics of CMV seroconversion in a Swiss pregnant women population. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2012;73(3):275-7.
13. Chakravarti A, Kashyap B, Wadhwa A. Relationship of IgG avidity index and IgM levels for the differential diagnosis of primary from recurrent cytomegalovirus infections. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2007;6(4):197-201.
14. Prince HE, Lape-Nixon M, Novak-Weekley SM. Performance of a cytomegalovirus IgG enzyme immunoassay kit modified to measure avidity. *Clin Vaccine Immunol.* 2014;21(6):808-12.
15. Johnson JM, Anderson BL. Cytomegalovirus: should we screen pregnant women for primary infection? *Am J Perinatol.* 2013;30(2):121-4.
16. Mace M, Sissoeff L, Rudent A, Grangeot-Keros L. A serological testing algorithm for the diagnosis of primary CMV infection in pregnant women. *Prenat Diagn.* 2004;24(11):861-3.
17. Adler SP. Screening for cytomegalovirus during pregnancy. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2011;2011:1-9.
18. Chierighin A, Pavia C, Gabrielli L, Piccirilli G, Squarzone D, Turello G, et al. Clinical evaluation of the new Roche platform of serological and molecular cytomegalovirus-specific assays in the diagnosis and prognosis of congenital cytomegalovirus infection. *J Virol Methods.* 2017;248:250-4.
19. Ebina Y, Minematsu T, Morioka I, Deguchi M, Tairaku S, Tanimura K, et al. Rapid increase in the serum Cytomegalovirus IgG avidity index in women with a congenitally infected fetus. *J Clin Virol.* 2015;66:44-7.
20. Sellier Y, Guilleminot T, Ville Y, Leruez-Ville M. Comparison of the LIAISON((R)) CMV IgG Avidity II and the VIDAS((R)) CMV IgG Avidity II assays for the diagnosis of primary infection in pregnant women. *J Clin Virol.* 2015;72:46-8.

21. Delforge ML, Desomberg L, Montesinos I. Evaluation of the new LIAISON((R)) CMV IgG, IgM and IgG Avidity II assays. *J Clin Virol.* 2015;72:42-5.
22. Vauloup-Fellous C, Lazzarotto T, Revello MG, Grangeot-Keros L. Clinical evaluation of the Roche Elecsys CMV IgG Avidity assay. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014;33(8):1365-9.
23. Lumley S, Patel M, Griffiths PD. The combination of specific IgM antibodies and IgG antibodies of low avidity does not always indicate primary infection with cytomegalovirus. *J Med Virol.* 2014;86(5):834-7.
24. Yang JM, Li JX, Guo ZX. Application of commercial cytomegalovirus IgG avidity diagnostic kit. *Clin Lab.* 2014;60(8):1377-82.
25. Vauloup-Fellous C, Berth M, Heskia F, Dugua JM, Grangeot-Keros L. Re-evaluation of the VIDAS((R)) cytomegalovirus (CMV) IgG avidity assay: determination of new cut-off values based on the study of kinetics of CMV-IgG maturation. *J Clin Virol.* 2013;56(2):118-23.
26. Rajasekariah H, Scott G, Robertson PW, Rawlinson WD. Improving diagnosis of primary cytomegalovirus infection in pregnant women using immunoblots. *J Med Virol.* 2013;85(2):315-9.
27. Lagrou K, Bodeus M, Van Ranst M, Goubau P. Evaluation of the new architect cytomegalovirus immunoglobulin M (IgM), IgG, and IgG avidity assays. *J Clin Microbiol.* 2009;47(6):1695-9.
28. Kanengisser-Pines B, Hazan Y, Pines G, Appelmann Z. High cytomegalovirus IgG avidity is a reliable indicator of past infection in patients with positive IgM detected during the first trimester of pregnancy. *J Perinat Med.* 2009;37(1):15-8.
29. Curdt I, Praast G, Sickinger E, Schultess J, Herold I, Braun HB, et al. Development of fully automated determination of marker-specific immunoglobulin G (IgG) avidity based on the avidity competition assay format: application for Abbott Architect cytomegalovirus and Toxo IgG Avidity assays. *J Clin Microbiol.* 2009;47(3):603-13.
30. Dangel V, Bader U, Enders G. Improvement of cytomegalovirus avidity testing by adjusting the concentration of CMV-specific IgG in test samples. *J Clin Virol.* 2006;35(3):303-9.
31. Revello MG, Gorini G, Gerna G. Clinical evaluation of a chemiluminescence immunoassay for determination of immunoglobulin g avidity to human cytomegalovirus. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2004;11(4):801-5.
32. Prince HE, Leber AL. Validation of an in-house assay for cytomegalovirus immunoglobulin G (CMV IgG) avidity and relationship of avidity to CMV IgM levels. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2002;9(4):824-7.
33. Baccard-Longere M, Freymuth F, Cointe D, Seigneurin JM, Grangeot-Keros L. Multicenter evaluation of a rapid and convenient method for determination of cytomegalovirus immunoglobulin G avidity. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001;8(2):429-31.
34. Bodeus M, Beulne D, Goubau P. Ability of three IgG-avidity assays to exclude recent cytomegalovirus infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2001;20(4):248-52.
35. Eggers M, Bader U, Enders G. Combination of microneutralization and avidity assays: improved diagnosis of recent primary human cytomegalovirus infection in single serum sample of second trimester pregnancy. *J Med Virol.* 2000;60(3):324-30.
36. Berth M, Grangeot-Keros L, Heskia F, Dugua JM, Vauloup-Fellous C. Analytical issues possibly affecting the performance of commercial human cytomegalovirus IgG avidity assays. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014;33(9):1579-84.
37. Guisasola ME, Ramos B, Sanz JC, Garcia-Bermejo I, De Ory Manchon F. Comparison of IgG avidity assays in the confirmation of the diagnosis of cytomegalovirus primary infection. *APMIS.* 2010;118(12):991-3.
38. Lazzarotto T, Gabrielli L, Lanari M, Guerra B, Bellucci T, Sassi M, et al. Congenital cytomegalovirus infection: recent advances in the diagnosis of maternal infection. *Hum Immunol.* 2004;65(5):410-5.
39. Lazzarotto T, Guerra B, Gabrielli L, Lanari M, Landini MP. Update on the prevention, diagnosis and management of cytomegalovirus infection during pregnancy. *Clin Microbiol Infect.* 2011;17(9):1285-93.