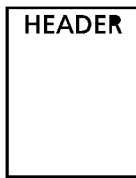


Revisions

Rev from	Rev to	ECO #
0903	0305	3302-05

Notes:

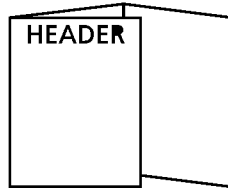
1. BD Cat. Number 255126, 255001, 255205
2. Blank (Sheet) Size : Length: 8 3/8" Width: 10.75"
 Number of Pages: 20 Number of Sheets: 5
 Page Size: Length 8 3/8" Width 5 3/8" Final Folded Size: N/A
3. Style (see illustrations below): # 5



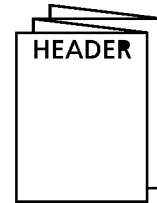
#1



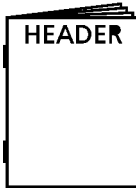
#2



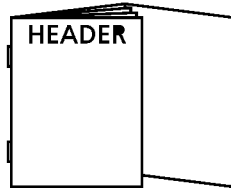
#3



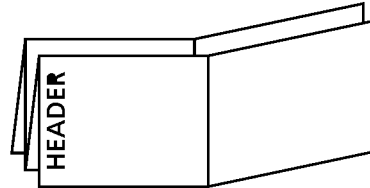
#4



#5



#6



#7

4. See Specification Control Number N/A for Material Information
5. Ink Colors: Printed two sides Yes No
 No. of Colors: 1 PMS# 2755 Blue
6. Graphics are approved by Becton, Dickinson and Company. Supplier has the responsibility for using the most current approved revision level

Label Design	Date	COMPANY CONFIDENTIAL. THIS DOCUMENT IS THE PROPERTY OF BECTON, DICKINSON AND COMPANY AND IS NOT TO BE USED OUTSIDE THE COMPANY WITHOUT WRITTEN PERMISSION	BD Becton, Dickinson and Company 7 Loveton Circle Sparks, MD 21152 USA	
Proofer	Date			
Checked By	Date			
Part Number: 0221005		Category and Description Package Insert, CMVscan	Sheet: 1 of 21 Scale: N/A	A

**BD CMVscan™****Passive latex agglutination test for detection of antibodies to cytomegalovirus (CMV)**

English: pages 1 – 6
 Français : pages 7 – 12

Español: páginas 13 – 19

0221005
 2005/03

U.S. Pat. 1,428,030

See symbol glossary at end of insert. / Voir le glossaire des symboles à la fin de la notice. / Consulte el glosario de símbolos al final del prospecto.

CLIA COMPLEXITY: MODERATE

INTENDED USE

The **CMVscan™** Card Test is a passive latex agglutination test for the detection of antibodies to cytomegalovirus in human serum and plasma. The test can be performed qualitatively to determine the presence of antibodies to CMV and quantitatively using serial two-fold dilutions to determine the CMV antibody titer.

The **CMVscan** Card Test performed as a qualitative test on a single specimen is designed to detect the presence of CMV antibodies. The **CMVscan** Card Test can be used as a diagnostic tool or to screen donor specimens. It will perform satisfactorily with acute phase or convalescent phase antibodies. Antibody present in a single specimen is evidence of prior exposure to the virus.

The quantitative test can be used to determine the relative amount of antibody in serum or plasma. When using properly paired specimens (at least two weeks apart), demonstration of seroconversion or four-fold or greater rise in antibody titer may serve as evidence of recent infection. *Both specimens should be tested simultaneously.* The absence of a four-fold titer rise does not necessarily rule out the possibility of exposure and infection (see "Summary and Explanation").

SUMMARY AND EXPLANATION

Cytomegalovirus (CMV) is an ubiquitous human viral pathogen belonging to the family of herpes viruses. CMV infection is usually asymptomatic and can persist in the host as a chronic or latent infection.¹

Certain individuals are at a greater risk in developing more severe forms of CMV infection. Congenitally infected newborns, especially those who acquire CMV during a maternal primary infection, are more prone to develop severe cytomegalic inclusion disease (CID).² The severe form of CID may be fatal or can cause permanent neurological sequelae, such as mental retardation, deafness, microcephaly and motor dysfunction. Transfusion of CMV-infected blood products or transplantation of CMV-infected donor organs can result in a mononucleosis-type syndrome in an immunocompromised recipient. Low birth weight neonates are also at high risk to CMV mononucleosis through transfusion of CMV-infected blood products.³

Selection of CMV seronegative blood donors or organ donors by screening with a serological test for antibody has been reported to be effective in reducing the occurrence of CMV infection in CMV seronegative recipients.³

Virus excretion is common during both primary and recurrent CMV infection and can persist sporadically for months or years.⁴ Seroconversion, or a significant rise in titer, may indicate recent infection, but cannot differentiate between primary or recurrent antibody response. Also, conversion from seronegativity to positivity or four-fold or greater change in antibody titer between paired sera may occasionally be caused by Influenza A or *Mycoplasma pneumoniae* infections, suggesting stress reactivation of CMV antibody.⁵

The timing of antibody response during a primary infection may differ slightly according to the antibody test methodology. With this technology, the pattern of antibody response during a primary CMV infection has not been demonstrated.

PRINCIPLES OF THE PROCEDURE

Passive latex agglutination provides a simple and rapid means for routinely detecting antibodies to specific viral or bacterial antigens. The detection of antibodies to specific antigens can be used to determine either immune status or evidence of prior exposure to the suspected pathogen. Early in primary infection, antibodies may not be detectable.

The **CMVscan** Card Test is based upon the principle of passive latex agglutination. Latex particles which have previously been sensitized with CMV viral antigens will agglutinate in the presence of antibody to CMV. After a suitable reaction time, the agglutinated particles will be visible to the naked eye. In the absence of specific antibody or in the presence of low concentrations of antibody, the latex particles will not agglutinate and will appear smooth and evenly dispersed. The **CMVscan** Card Test will detect IgM and IgG antibodies. Detection of IgA and IgE antibodies, while likely, has not yet been demonstrated.

CMV antibody positive serum and CMV antibody negative serum controls are provided with the kit to demonstrate the difference between agglutination and non-agglutination.

REAGENTS

Reagent A, CMVscan Latex Antigen, CMV (strain AD169) antigen-coated latex particles with 0.02% gentamicin and 0.02% sodium azide (preservatives).

Reagent B, CMVscan Card Dilution Buffer, phosphate buffered saline solution, pH 7.4, containing bovine serum albumin, with 0.02% sodium azide (preservative).

Control ++, CMVscan High Reactive Control (human serum), with 0.1% sodium azide (preservative).

Control +, CMVscan Low Reactive Control (human serum), with 0.1% sodium azide (preservative).

Control -, CMVscan Nonreactive Control (human serum), with 0.1% sodium azide (preservative)

Warnings and Precautions:

For *in vitro* Diagnostic Use.

After review by the U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), and the U.S. Food and Drug Administration (FDA) under CLIA '88, this product has been identified as moderate complexity.

Reagents: Do not use beyond the expiration date. Upon removal from refrigeration, allow reagents to warm to room temperature (23 to 29°C) before use. DO NOT mix reagents from different kit lot numbers. Avoid microbial contamination of reagents.

Vortexing of the **CMVscan Latex Antigen (Reagent A)** should be performed at the beginning of testing each batch of specimens. To assure proper drop delivery when dispensing **CMVscan Latex Antigen (Reagent A)**, the dispensing bottle must be inverted vertically.

The latex antigen has been prepared from disrupted CMV which has been judged to be inactivated by bioassay procedures.

The serum controls are derived from human blood tested by an FDA-approved method for the presence of the antibody to HIV (human immunodeficiency virus) and HBsAg (hepatitis B surface antigen) and found to be nonreactive.

WARNING: Because no test method can offer complete assurance that HIV, hepatitis B virus, or other infectious agents are absent, SPECIMENS AND THESE REAGENTS SHOULD BE HANDLED AS THOUGH CAPABLE OF TRANSMITTING AN INFECTIOUS DISEASE. *Standard Precautions*⁶⁻⁹ and institutional guidelines should be followed in handling all items contaminated with blood and other body fluids.

Warning: Reagents contain sodium azide. Very toxic by inhalation, in contact with skin, and if swallowed. Contact with acids liberates very toxic gas. After contact with skin, wash immediately with plenty of water. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive metal azides. On disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.

Test Cards: Cards must be flat for proper reactions. If necessary, flatten cards by bowing back in a direction opposite to that of the curl. Care should be taken not to finger-mark the test areas, since this may result in an oily deposit and improper test results. Use each card once and discard. Store cards in the original package in a dry area at room temperature.

Reading of Test Results: To help differentiate weak agglutination from no agglutination, a brief hand rotation of the card must be made following mechanical rotation. Results should be read promptly under a high intensity incandescent lamp. Fluorescent lighting is generally insufficient to distinguish minimally reactive results. The use of magnification in reading test results is not recommended. Failure to add sample results in inability to spread sample to fill circle, as required in the procedure.

Rotation: The recommended speed for mechanical rotation is 100 ± 2 rpm, but rotation between 95 and 110 rpm does not significantly affect the results obtained. The rotator should circumscribe a circle approximately two centimeters in diameter in the horizontal plane. A moistened humidifying cover should be used to prevent drying of test specimens during rotation.

Storage of Reagents: Refrigerate at 2 to 8°C. DO NOT FREEZE. Reagents should be recapped and returned to refrigeration when not in use.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Whole blood, with or without EDTA, is collected and the serum or plasma (EDTA) is separated. Serum or plasma (EDTA) specimens may be stored up to one week at 2 to 8°C to retard bacterial contamination. Serum may be frozen at minus 18°C or lower if longer storage is required. Other storage conditions can be used only after appropriate testing has demonstrated equivalence to fresh serum or fresh plasma specimens. Specimens with obvious microbial contamination or icterus should not be tested with this method.

The presence of mild lipemia or hemolysis does not affect the test.

No special preparation of the patient is required prior to specimen collection.

Plasma specimens containing heparin as an anticoagulant can be used for qualitative or quantitative testing using the same procedures as for serum samples. Plasma specimens containing CPDA-1, EDTA, CPD and CP₂D as an anticoagulant can also be used for qualitative or quantitative testing after a 1:2 dilution is made with the Card Dilution Buffer. For an explanation of a 1:2 dilution, see "Quantitative Testing," step 3.d. Testing of CPDA-1 plasma samples from platelet units stored at 22°C for five days and from red cell units stored at 2 to 6°C for 14 days has been successful. Heating the samples at 56°C for 30 min has no effect on the qualitative performance of the test.

PROCEDURES

Review "Warnings and Precautions" and "Specimen Collection and Preparation" prior to performing procedures. The testing area, reagents, test specimens and test components should be at room temperature (23 to 29°C) when used.

Materials Provided:	(30 Tests)	(100 Tests)	(500 Tests)
Reagent A, CMVscan Latex Antigen,	0.5 mL	1.6 mL	5 x 1.6 mL
Reagent B, CMVscan Card Dilution Buffer,	5.0 mL	20.0 mL	20.0 mL
Control ++, CMVscan High Reactive Control (human serum),	1.0 mL	1.0 mL	3 x 1.0 mL
Control +, CMVscan Low Reactive Control (human serum),	1.0 mL	1.0 mL	3 x 1.0 mL
Control –, CMVscan Nonreactive Control (human serum),	1.0 mL	1.0 mL	2 x 1.0 mL
Test cards,	4	5	20
Plastic stirrers	33	120	600

Materials Required But Not Provided: Rotator with humidifying cover, micropipettor, 50 μ L delivery, centrifuge, high intensity incandescent lamp and vortex mixer.

Also required are the necessary equipment and labware used for preparation, storage and handling of serologic specimens.

Performance of CMV Antibody Testing:

- Vortex **Reagent A** for 5 to 10 s (use highest speed setting for variable speed mixers). Vortexing is necessary at the beginning of testing each batch of specimens even if more than one batch is tested per day.
- Mark the card to identify the controls and all samples being tested.

Qualitative Testing	Quantitative Testing
<ol style="list-style-type: none"> With a micropipettor, place 50 μL each of controls (see "Quality Control") or patient sample onto the appropriate circle using a new tip each time. 	<ol style="list-style-type: none"> Dilution of Controls and Samples: <ol style="list-style-type: none"> With a micropipettor, add 50 μL of Control – onto circle 1 in row marked "Nonreactive Control." No serial dilutions of this control are needed. Move to a new row. With a micropipettor, place 50 μL of Reagent B in circles 2 – 7, leaving circle 1 empty. With a micropipettor, place 50 μL of Control ++ into circle 1. Using the same micropipettor and tip, add an additional 50 μL of Control ++ directly into buffer in circle 2, and mix by drawing up and down with micropipettor seven times. The serum in circle 2 is now a 1:2 dilution. Using the same micropipettor and tip, transfer 50 μL of 1:2 dilution directly into the buffer in circle 3, mix as before, and continue this preparation of serial two-fold dilutions through circle 7. Withdraw 50 μL from circle 7 and discard. The dilution in circle 7 is now 1:64. <i>(If further dilutions are required, continue procedures described in steps "a" – "e" through next row of circles. Rather than discarding excess 50 μL of diluted specimen in circle 7, discard from whatever circle is last in next row.)</i> Repeat steps "b" through "e" for Control + and each sample being tested. Using a new plastic stirrer for each control and test sample, start at last circle and spread serum dilution to fill the entire circle. Proceed to next low dilution until each circle of sample row is spread.
<ol style="list-style-type: none"> Gently invert the Reagent A bottle several times to thoroughly mix the latex reagent. Before uncapping, gently tap the base on a counter top to assure no latex reagent remains in the tip. Holding the bottle in an inverted, vertical position, dispense one free-falling drop of Reagent A (approximately 15 μL) onto each circle containing the serum. Hand rotate the card three or four times back-and-forth to distribute the latex antigen throughout each circle. Avoid cross contamination of test areas in adjacent circles. Place the card on a rotator and rotate for eight min under a moistened humidifying cover. Immediately following mechanical rotation, read the card macroscopically in the wet state under a high intensity incandescent lamp. Gently tilt the card (three or four back-and-forth motions) to help differentiate weak agglutination from no agglutination. 	

Quality Control:

Diagnostic Testing – The **CMVscan Test Control +** and **Control –** should be tested each day of use for quality control of the qualitative procedure. When using the quantitative procedure, **Control ++** and **Control +** should be titrated with each batch of patient samples.^{1,2}

Donor Screening (using qualitative procedure) – The **CMVscan Test Control –** and a 1:4 dilution of the **Control +** should be tested with each batch of patient samples. Refer to the following procedures to make a 1:4 dilution:

Option 1 – (For use when testing one batch per day)

- With a micropipettor, place 50 μ L of **Reagent B** on circles A1 and A2.
- Using the same tip, add 50 μ L of **Control +** to circle A1, and mix by drawing up and down with micropipettor 7 times.
- Using the same micropipettor and tip, transfer 50 μ L from circle A1 to circle A2, and mix as before. Withdraw 50 μ L from circle A2 and discard.

- The dilution in the circle is now a 1:4 dilution of the Control + and should be tested immediately using the qualitative testing procedure.

Option 2 – (For use when testing more than one batch per day)

- With a micropipettor, place 150 µL of Reagent B into a clean dry test tube.
- With a micropipettor, add 50 µL of Control + to the test tube.
- Mix thoroughly by vortexing or shaking.
- The dilution in the tube is now a 1:4 dilution of the Control + and may be used for up to 24 h to perform quality control using the qualitative procedure.

Quality control requirements must be performed in accordance with applicable local, state and/or federal regulations or accreditation requirements and your laboratory's standard Quality Control procedures. It is recommended that the user refer to pertinent NCCLS guidance and CLIA regulations for appropriate Quality Control practices.

INTERPRETATION OF TEST RESULTS

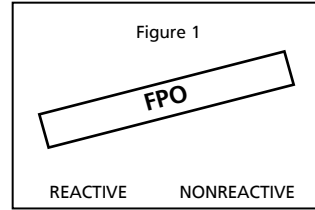
Qualitative Test: The Reactive Controls should show agglutination, while the Nonreactive Control should show no agglutination (see Figure 1).

Report as Positive:

Reactive-----Showing any agglutination of the **CMVscan Latex Antigen (Reagent A)**.

Report as Negative:

Nonreactive-----Suspension remains evenly dispersed, showing no agglutination of the **CMVscan Latex Antigen (Reagent A)**.



The presence of CMV antibodies is an indication of previous exposure to the virus but does not indicate immunity to subsequent reinfection. Recurrent infections can occur; however, the clinical severity may be less than seen in primary infection.² The absence of CMV antibodies is an indication that there has been no exposure to the virus.

Quantitative Test: Report reactivity in terms of the highest dilution showing any agglutination of the **CMVscan Latex Reagent**. Specimens showing no agglutination at any dilution are reported as nonreactive.

Demonstration of seroconversion or a four-fold or greater rise in antibody titer on properly collected paired specimens may serve as evidence of recent infection.¹⁰

Controls: The reactive controls are formulated to produce definite agglutination within the labeled dilutions. Do not report control endpoints as "Reactive" unless definite agglutination is observed, assuring that the antigen antibody system is performing properly within the test environment. The nonreactive control should show no agglutination. If controls do not produce appropriate response, test is invalid.

Refer to the following example.	1:1 Undiluted	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
High Reactive Control ++	R	R	R	R	R	R	R
Low Reactive Control +	R	R	R	R	N	N	N
Nonreactive Control -	N	N	N	N	N	N	N
Sample No. 1	R	R	R	N	N	N	N
Sample No. 2	R	R	R	R	R	R	N

R = Reactive N = Nonreactive

Report as: High Reactive Control – Reactive, ≥ 1:64 dilution Sample No. 1 – Reactive, 1:4 dilution
 Low Reactive Control – Reactive, 1:8 dilution Sample No. 2 – Reactive, 1:32 dilution
 Nonreactive Control – Nonreactive

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

The use of components or procedures other than recommended in this package insert may lead to incorrect results.

As with any serologic test, patients with acute infection may not have detectable antibody.

In addition, test results from neonates should be interpreted with caution, since the presence of CMV antibody is usually the result of passive transfer from the mother to the fetus. A negative test may be useful in excluding possible infection, but a diagnosis of active CMV infection may require viral culture.

Samples with abnormally high antibody levels to infectious agents other than CMV have not been tested.

EXPECTED VALUES

The incidence of CMV infection is dependent upon geographical, socioeconomic, and age factors. Serological studies indicate that 25 – 50% of the American population have CMV antibodies present by the age of 15.¹¹ In adult populations, the incidence of antibodies to CMV has been reported between 15% and 70%.¹²

From four clinical centers, a total of 1095 random specimens were evaluated by **CMVscan**. The samples were prospectively collected from mainly an adult population. In two centers, the specimens were entirely from blood bank donors. The other two sites represented a mixture of blood donors, organ transplant donors/recipients and miscellaneous cases where CMV antibody titers were routinely being requested. The sites were in the mid-Atlantic and southeastern United States. In the patient and blood donor populations, 53% and 34% of specimens, respectively, were positive for antibody to CMV.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Qualitative Performance: The qualitative performance of the **CMVscan Card Test** was determined with prospectively collected sera at two clinical centers and two blood banks.

At each clinical site, the specimens were tested by three methods. **CMVscan Card Test** and a commercially available indirect hemagglutination assay (IHA) were used at both sites. The third method at Site 1 was a commercially available solid phase fluorescence immunoassay (FIA). The third method at Site 2 was a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). A consensus result of reactive or nonreactive for antibodies to CMV was assigned to each serum specimen based on agreement of any two or more of the three test methods. The results are given in Table 1 and 2 and summarized in Table 3.

Table 1
CMVscan Card Test Performance
With a Patient Population; Site 1

		Consensus Result ^a		
		+	-	
CMVscan Card Test Result	+	182	4	Sensitivity = 100% (182/182) (95% C.I. = 98.0 – 100.0) Specificity = 96% (96/100) (95% C.I. = 90.1 – 98.9)
	-	0	96	
TOTAL		182	100	

Table 2
CMVscan Card Test Performance
With a Patient Population; Site 2

		Consensus Result ^a		
		+	-	
CMVscan Card Test Result	+	119	4	Sensitivity = 98% (119/121) (95% C.I. = 94.2 – 99.8) Specificity = 98% (165/169) (95% C.I. = 94.1 – 99.4)
	-	2	165	
TOTAL		121	169	

Table 3
CMVscan Card Test Performance
With a Patient Population;
Combined Sites

		Consensus Result ^a		
		+	-	
CMVscan Card Test Result	+	301	8	Sensitivity = 99% (301/303) (95% C.I. = 97.6 – 99.9) Specificity = 97% (261/269) (95% C.I. = 94.2 – 98.7)
	-	2	261	
TOTAL		303	269	

^aConsensus of two of the three assays

Blood bank 1 tested specimens with **CMVscan Card Test**, a commercially available IHA and an in-house ELISA. Blood bank 2 tested specimens with **CMVscan Card Test**, a commercially available IHA, a commercially available solid phase FIA, two commercially available ELISA, and a commercially available indirect fluorescent assay. A consensus result of reactive or nonreactive for antibodies to CMV was assigned to each serum specimen based on agreement of the majority of test methods. The results are given in Tables 4 and 5 and summarized in Table 6.

Table 4
CMVscan Card Test Performance
With a Blood Donor Population;
Site 3

		Consensus Result ^a		
		+	-	
CMVscan Card Test Result	+	117	5	Sensitivity = 97% (117/121) (95% C.I. = 94.2 – 99.8) Specificity = 97% (188/193) (95% C.I. = 94.1 – 99.2)
	-	4	188	
TOTAL		121	193	

Table 5
CMVscan Card Test Performance
With a Blood Donor Population;
Site 4¹³

		Consensus Result ^b		
		+	-	
CMVscan Card Test Result	+	58	2	Sensitivity = 100% (58/58) (95% C.I. = 93.8 – 100.0) Specificity = 99% (149/151) (95% C.I. = 95.3 – 99.8)
	-	0	149	
TOTAL		58	151	

Table 6
CMVscan Card Test Performance
With a Blood Donor Population;
Combined Sites

CMVscan Card Test Result	Consensus Result ^a		
	+	-	
+	175	7	Sensitivity = 98% (175/179) (95% C.I. = 94.4 – 99.4)
-	4	337	Specificity = 98% (337/344) (95% C.I. = 95.9 – 99.2)
TOTAL	179	344	

^aConsensus of two of the three assays

^bConsensus of four of the six assays

No prozoning was seen in the clinical trials or in-house studies. Specimen titers of 1:1024 or below were evaluated with the CMVscan Card Test Kit.

Reproducibility: The ability of the CMVscan Card Test to reproducibly quantitate serum antibody to CMV was demonstrated by testing a coded panel of 50 serum pairs. Reproducibility, as defined by the ability to give agreement to within one 2-fold dilution on duplicates, was determined to be 98%.

Interferences: To test the possible interference of antibodies to other agents with the performance of the CMVscan latex reagent, a special group of sera were analyzed for CMV antibody by latex agglutination and indirect hemagglutination assay. Multiple samples positive for rheumatoid factor, rubella, herpes simplex, Epstein-Barr, varicella zoster and/or *Toxoplasma gondii* and antinuclear antibodies were found nonreactive for CMV antibody suggesting lack of cross reactivity or interference.

Summary of Results		
Agreement of Duplicates	CMVscan Latex	
	No.	%
Both of Same Titer	32	64
One Dilution Difference	17	34
Two Dilution Difference	1	2
Total No. of Pairs	50	
Reproducibility	49/50 = 98%	

AVAILABILITY

Cat. No.	Description
255126	CMVscan™ 30 Test Kit (Qualitative).
255001	CMVscan™ 100 Test Kit (Qualitative).
255205	CMVscan™ 500 Test Kit (Qualitative).

REFERENCES

- Ho, M.: Characteristics of Cytomegalovirus. In "Cytomegalovirus — Biology and Infection," Plenum Medical Book Co., New York, 9-32, 1982.
- Stagno, S., Pass, R.F., Dworsky, M.E., Henderson, R.E., Moore, E.G., Walton, P.D. and Alford, C.A., Congenital Cytomegalovirus Infection, N. Eng. J. Med., 306:945, 1982.
- Adler, S.P.: Transfusion-associated Cytomegalovirus Infections. Rev. Inf. Dis. 5:977-993, 1983.
- Hanshaw, J.V.: Cytomegalovirus. In "Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant" by Remington, J.S. and Klein, J.O., W.B. Saunders Co., Philadelphia, Pa., 104-142, 1983.
- Chernesky, M.A., Ray, C.G., Smith, T.F.: Laboratory Diagnosis of Viral Infections, *Cumitech*, 15:9-11, May 1982.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
- Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
- U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
- Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
- Prince, A.M., Szmunes, W., Millian, S.J. and David, D.S.: A Serologic Study of Cytomegalovirus Infections Associated with Blood Transfusions., N. Eng. J. Med., 284:1125, 1971.
- Sullivan, J.L. and Hanshaw, J.B.: Human Cytomegalovirus Infections. In "Human Herpesvirus Infections — Clinical Aspects" ed. by Glaser, R. and Gottleib-Stematsky, T. Marcel Dekker, Inc., New York, 57-83, 1982.
- Betts, R.F.: The Relationship of Epidemiology and Treatment Factors to Infection and Allograft Survival in Renal Transplantation. In "CMV: Pathogenesis and Prevention of Human Infection," ed. by Plotkin, S.A., Michelson, S., Pagano, J., and Rapp, F., Alan R. Liss, Inc., New York, 87-99, 1984.
- Beckwith, D.G., Halstead, D.C., Alpaugh, K., Schweder, A., Blount-Fronefield, D.A. and Toth, K.: Comparison of a Latex Test with Five Other Methods for Determining the Presence of Antibody Against Cytomegalovirus. J. Clin. Microbiol. 27:328-331, 1985.

BD CMVscan

Test d'agglutination passive sur latex pour la détection d'anticorps anti-Cytomégalo­virus (CMV)

Français

COMPLEXITE CLIA : MODEREE

APPLICATION

Le **CMVscan** Card Test est un test d'agglutination passive sur latex pour la détection d'anticorps anti-Cytomégalo­virus dans le sérum et le plasma humain. Le test peut être effectué de façon qualitative afin de déterminer la présence d'anticorps anti-CMV et de façon quantitative, par dilutions à 1:2 afin de déterminer le titre d'anticorps anti-CMV.

Le **CMVscan** Card Test utilisé comme test qualitatif sur un échantillon unique est conçu pour détecter la présence d'anticorps anti-CMV. Le **CMVscan** Card Test peut être utilisé comme moyen de diagnostique ou pour dépister des échantillons des donneurs de sang. Il donnera des résultats satisfaisants sur les anticorps en poussées évolutives ou en phase convalescente. La présence d'anticorps dans un échantillon unique sert de preuve à une exposition antérieure au virus.

Le test quantitatif peut servir à déterminer la quantité relative d'anticorps dans le sérum ou le plasma. Si l'on prend soin d'utiliser des échantillons correctement appariés (à au moins deux semaines d'intervalle l'un de l'autre), la mise en évidence d'une séroconversion ou d'une multiplication par au moins quatre du titre d'anticorps peut témoigner d'une infection récente. *Les deux échan-tillons doivent être examinés simultanément.* L'absence de quadruplement du titre n'élimine pas nécessairement la possibilité d'exposition et d'infection (voir "Résumé et explication").

RESUME ET EXPLICATION

Le Cytomégalo­virus (CMV) est un agent pathogène viral humain, ubiquitaire, appartenant à la famille des virus hé­pétiques. Une infection par le CMV est généralement asymptomatique et peut persister chez l'hôte sous forme d'infection chronique ou latente.¹

Certains sujets sont plus susceptibles de développer des formes d'infection par le CMV d'acuité supérieure. Les nouveau-nés infectés congénitalement, en particulier les sujets contaminés lors d'une primo-infection maternelle, sont plus enclins à développer des cas graves de la maladie des inclusions cytomégali­ques (MIC).² Sous forme grave, la MIC peut s'avérer fatale ou causer des séquelles neurologiques permanentes telles que les cas d'arriération mentale, de surdité, de microcéphalie et de dysfonctionnement moteur. La transfusion de produits sanguins ou les greffes d'organes de donneurs infectés par le CMV peut provoquer un syndrome du type mononucléose chez un receveur souffrant d'un déficit immunitaire. Les nouveau-nés de faible poids à la naissance sont également particulièrement enclins au syndrome mononucléosique à CMV, transmis par transfusion de produits sanguins contaminés par le CMV.³

La sélection de donneurs de sang ou d'organes séronégatifs au CMV, effectuée par criblage sérologique des anticorps, s'est avérée efficace quant à la réduction des cas de contamination par le CMV chez les receveurs séronégatifs au CMV.³

L'excrétion du virus est courante dans les cas d'infection par le CMV primaire ou récurrente et peut persister de façon sporadique pendant des mois, voire des années.⁴ La séroconversion, soit une hausse significative du titre, peut être la preuve d'une infection récente, sans pour autant indiquer s'il s'agit d'une réaction primaire ou récurrente aux anticorps. De même, le passage de la séronégativité à la positivité ou un quadruplement (ou plus) du titre des anticorps, notés sur des paires d'échantillons de sérum, peuvent parfois résulter de cas de grippe de type A ou d'infection au *Mycoplasma pneumoniae* laissant supposer une reprise évolutive de l'anticorps anti-CMV en présence de tension nerveuse.⁵

Le temps de réponse des anticorps durant une primo-infection peut différer légèrement selon la méthode de recherche d'anticorps retenue. Le schéma de réaction des anticorps durant une primo-infection CMV n'a pas été démontré par cette méthode.

PRINCIPES DE LA MÉTHODE

L'agglutination passive sur latex permet une détection systématique simple et rapide des anticorps dirigés contre certains antigènes viraux ou bactériens. Cette détection peut servir à déterminer un état d'immunité ou la preuve d'une exposition antérieure à l'agent pathogène suspecté. Dans les premiers temps d'une primo-infection, les anticorps peuvent ne pas être détectables.

Le **CMVscan** Card Test repose sur le principe de l'agglutination passive sur latex. Des particules de latex préalablement sensibilisées à des antigènes viraux CMV s'agglutinent en présence d'anticorps anti-CMV. Après le temps nécessaire à la réaction, les particules agglutinées sont visibles à l'œil nu. En l'absence des anticorps spécifiques ou en présence de faibles quantités de ceux-ci, les particules de latex ne s'agglutinent pas ; elles gardent un aspect lisse et une disposition éparse. Le **CMVscan** Card Test peut détecter des anticorps IgM et IgG. Bien que probable, la détection d'anticorps IgA et IgE n'a pas encore été démontrée.

Des sérums de contrôle positif aux anticorps anti-CMV et négatif aux anticorps anti-CMV sont fournis avec le kit afin de démontrer la différence entre une réaction avec agglutination et une réaction sans agglutination.

REACTIFS

Réactif A, antigène figé sur latex **CMVscan**, particules de latex recouvertes d'antigène CMV (souche AD169), contenant 0,02 % de gentamicine et 0,02 % d'azide de sodium (agents conservateurs).

- Réactif B,** tampon de dilution pour carte **CMVscan**, solution saline tamponnée de phosphate à pH 7,4, contenant de la sérum-albumine bovine et 0,02 % d'azide de sodium (agent conservateur).
- Contrôle + +,** contrôle fortement réactif **CMVscan** (sérum humain), contenant 0,1 % d'azide de sodium (agent conservateur).
- Contrôle +,** contrôle faiblement réactif **CMVscan** (sérum humain), contenant 0,1 % d'azide de sodium (agent conservateur).
- Contrôle -,** contrôle non-réactif **CMVscan** (sérum humain), contenant 0,1 % d'azide de sodium (agent conservateur).

Avertissements et précautions :

Réservé au diagnostic *in vitro*.

Après une évaluation de sa complexité d'exécution au regard des normes CLIA '88 effectuée par les U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) et la U.S. Food and Drug Administration (FDA), ce produit a été identifié comme présentant une complexité modérée.

Réactifs : utiliser avant la date de péremption. Après avoir sorti les réactifs du réfrigérateur les laisser se réchauffer à température ambiante (entre 23 et 29 °C) avant de les utiliser. NE PAS mélanger des réactifs provenant de coffrets portant des numéros de lot différents. Eviter toute contamination microbienne des réactifs.

Une agitation énergique (au vortex) de l'antigène sur latex **CMVscan (Réactif A)** doit être effectuée en début de test pour chaque lot d'échantillons. Pour assurer une distribution correcte des gouttes de l'antigène sur latex **CMVscan (Réactif A)** le flacon verseur doit être tenu verticalement à l'envers.

L'antigène sur latex a été préparé à partir d'un CMV scindé, estimé inactif grâce à une recherche d'activité biologique.

Les sérums de contrôle sont fabriqués à partir de sang humain, qui a satisfait aux tests prouvant l'absence de contamination par le virus VIH (virus d'immunodéficience humaine) et par HBsAg (antigènes de surface de l'hépatite B) exigés par la FDA.

AVERTISSEMENT : étant donné qu'aucune méthode d'analyse ne peut apporter une garantie absolue de l'absence du VIH, du virus de l'hépatite B ou d'autres agents infectieux, LES ECHANTILLONS ET CES REACTIFS DEVRONT ETRE MANIPULES COMME S'ILS ETAIENT SUSCEPTIBLES DE TRANSMETTRE UNE MALADIE INFECTIEUSE. Respecter les "Précautions standard"⁶⁻⁹ et les consignes en vigueur dans l'établissement pour manipuler tout objet contaminé avec du sang ou d'autres liquides organiques.

Avertissement : les réactifs contiennent de l'azide de sodium, très toxique par inhalation, par contact avec la peau et en cas d'ingestion. Au contact d'un acide, un gaz très toxique est dégagé. Après contact avec la peau, se laver immédiatement et abondamment avec beaucoup d'eau. L'azide de sodium peut réagir au contact du plomb ou du cuivre des canalisations et former des azides métalliques très explosifs. Lors de l'élimination, faire couler un volume d'eau important pour éviter l'accumulation d'azides.

Tests sur carte : les cartes doivent être bien plates pour donner des réactions justes. Si nécessaire les aplatir en les faisant bomber dans le sens inverse de l'incurvation. Bien veiller à ne pas laisser d'empreintes de doigts sur les zones test car tout dépôt gras risque de fausser les résultats. N'utiliser chaque carte qu'une seule fois, puis la jeter. Conserver les cartes neuves dans l'emballage d'origine à l'abri de l'humidité et à température ambiante.

Lecture des résultats du test : pour aider à différencier une agglutination faible d'une absence d'agglutination, une brève rotation manuelle doit suivre l'agitation mécanique. Lire immédiatement les résultats sous une lampe à incandescence de forte intensité. L'éclairage fluorescent est généralement insuffisant pour distinguer l'agglutination lorsque la réaction est faible. Il est déconseillé d'utiliser un système de grossissement pour lire les résultats. Si une quantité insuffisante de l'échantillon est ajoutée, il sera impossible de répartir celui-ci jusqu'à ce qu'il recouvre toute la surface du rond, tel que requis par la méthode.

Rotation : la vitesse de rotation mécanique recommandée est de 100 ± 2 tpm (tours par minute), mais une vitesse entre 95 et 110 tpm ne modifie pas de façon significative les résultats obtenus. L'appareil rotateur doit décrire un cercle d'approximativement deux centimètres de diamètre à l'horizontale. Il faut utiliser un protège-carte humidificateur mouillé pour empêcher que les échantillons ne se dessèchent pendant la rotation.

Conservation des réactifs : réfrigérer à une température comprise entre 2 et 8 °C. NE PAS CONGELER. Les remettre bouchés au réfrigérateur après usage.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Prélever le sang total, avec ou sans EDTA, et séparer le sérum ou le plasma (EDTA). Les échantillons de sérum ou de plasma (EDTA) peuvent être conservés pendant une période ne dépassant pas une semaine, à une température comprise entre 2 et 8 °C, afin de retarder une contamination bactérienne. Le sérum peut être congelé à moins 18 °C ou à températures inférieures si une conservation plus longue est souhaitée. L'usage d'une autre méthode de conservation est acceptable uniquement à condition qu'il ait été démontré par des essais appropriés que les échantillons obtenus sont équivalents à des échantillons frais de sérum ou de plasma. Il est déconseillé d'analyser par cette méthode des échantillons présentant une contamination microbienne ou un ictère évident.

La présence d'une lipémie ou d'une hémolyse légère n'influe pas sur les résultats du test.

Aucune préparation spéciale du patient n'est requise avant le prélèvement de l'échantillon.

Les échantillons de plasma contenant de l'héparine (comme anticoagulant) peuvent être analysés à des fins qualitatives ou quantitatives en utilisant les mêmes procédures que pour les échantillons de sérum. Les échantillons de plasma contenant du CPDA-1, l'EDTA, CPD et CP₂D (comme anticoagulants) peuvent également servir à condition qu'une dilution à 1:2 soit effectuée à l'aide du tampon de dilution pour carte (voir "Test quantitatif" étape 3.d. pour

l'explication de la dilution à 1:2). Des tests d'échantillons de plasma contenant du CPDA-1, prélevés sur un stock de sang à plaquettes conservé à 22 °C, pendant cinq jours et sur un stock de sang à hématies conservé entre 2 et 6 °C pendant quatorze jours, ont donné de bons résultats. Le fait de chauffer les échantillons à 56 °C pendant 30 min n'a aucun effet sur les résultats qualitatifs du test.

MODE OPERATOIRE

Relire les paragraphes "Avertissements et précautions" et "Prélèvement et préparation des échantillons" avant de procéder au test. Lors de l'analyse, le plan de travail, les réactifs, les échantillons et les composants du test doivent tous être à température ambiante (entre 23 et 29 °C).

Matériel fourni :	(30 tests)	(100 tests)	(500 tests)
Réactif A , antigène figé sur latex CMVscan ,	0,5 mL	1,6 mL	5 x 1,6 mL
Réactif B , tampon de dilution pour carte CMVscan ,	5,0 mL	20,0 mL	20,0 mL
Contrôle ++ , contrôle fortement réactif CMVscan (sérum humain),	1,0 mL	1,0 mL	3 x 1,0 mL
Contrôle + , contrôle faiblement réactif CMVscan (sérum humain),	1,0 mL	1,0 mL	3 x 1,0 mL
Contrôle - , contrôle non-réactif CMVscan (sérum humain),	1,0 mL	1,0 mL	2 x 1,0 mL
Tests sur carte,	4	5	20
Agitateurs en plastique	33	120	600

Matériaux requis mais non fournis : rotateur avec protège-carte humidificateur, micropipette à distribution de 50 µL, centrifugeuse, lampe à incandescence puissante et agitateur vortex.

L'équipement et le matériel de laboratoire utilisés pour la préparation, la conservation et la manipulation des échantillons sérologiques sont également nécessaires.

Exécution du test d'anticorps anti-CMV :

- Mélanger le **Réactif A** à l'aide d'un agitateur vortex pendant 5 à 10 s (avec les agitateurs à vitesse variable, régler sur la vitesse maximale). Il est nécessaire de procéder à ce mélange en début de test de chaque lot d'échantillons même en cas d'analyse de plusieurs lots par jour.
- Repérer sur la carte les sérums de contrôle et tous les échantillons soumis à l'analyse.

Test qualitatif	Test quantitatif
<ol style="list-style-type: none"> Au moyen d'une micropipette, déposer une goutte (50 µL) de chacun des contrôles (voir "Contrôle de qualité"), ou une de l'échantillon provenant du patient sur les ronds appropriés, en changeant d'embout chaque fois. 	<ol style="list-style-type: none"> Dilution des contrôles et des échantillons : <ol style="list-style-type: none"> Au moyen d'une micropipette, ajouter une goutte de 50 µL de Contrôle - sur le rond 1 de la rangée désignée "Contrôle non-réactif". Il n'est pas nécessaire d'effectuer des dilutions successives de ce sérum de contrôle. Passer à une nouvelle rangée. Par la même méthode, déposer une goutte de 50 µL de Réactif B dans les ronds 2 à 7, en laissant le rond 1 vide. Par la même méthode, déposer une goutte de 50 µL de Contrôle ++ dans le rond 1. Sans changer de micropipette ni d'embout, ajouter une goutte de 50 µL supplémentaire de Contrôle ++ dans le tampon du rond 2, et mélanger par aspiration/dépose (à sept reprises) à l'aide de la micropipette. Le sérum du rond 2 est maintenant dilué à 1:2. Toujours sans changer de micropipette ni d'embout, transférer 50 µL de la dilution à 1:2 directement dans le tampon du rond 3, mélanger comme indiqué précédemment, et continuer cette procédure de dilutions successives à 1:2 jusqu'au rond 7. Prélever et rejeter 50 µL du rond 7. Le rapport de dilution dans le rond 7 est maintenant de 1:64. <i>(Si d'autres dilutions sont nécessaires, procéder de même (étapes a. à e.) sur la rangée de ronds suivante, mais au lieu de jeter l'excédent de 50 µL d'échantillon dilué du rond 7, prélever cette même quantité dans le dernier rond de la rangée suivante et la rejeter.)</i> Répéter les étapes b. à e. pour le Contrôle + et pour chaque échantillon à analyser. En utilisant un agitateur en plastique différent par sérum de contrôle et par échantillon à analyser, et en partant du dernier rond, étaler le sérum dilué afin qu'il recouvre toute la surface du rond. Passer au rond de faible dilution suivant jusqu'à ce que le contenu de chaque rond de la rangée d'échantillons soit bien réparti.
<ol style="list-style-type: none"> Étaler le sérum à l'aide d'un agitateur en plastique (un par rond) de manière à ce que la surface entière du rond soit recouverte. 	
<ol style="list-style-type: none"> Retourner délicatement à plusieurs reprises le flacon de Réactif A pour mélanger complètement le réactif au latex. Avant de déboucher le flacon, en tapoter délicatement le fond afin de faire tomber le réactif éventuellement retenu dans l'embout. 	
<ol style="list-style-type: none"> En tenant le flacon verticalement et à l'envers, déposer une goutte à écoulement libre (environ 15 µL) de Réactif A dans chaque rond contenant le sérum. 	

7. Faire tourner la carte à la main trois ou quatre fois dans les deux sens afin de répartir l'antigène sur latex dans chaque rond. Eviter toute contamination croisée des champs d'analyse (d'un rond à l'autre).
8. Poser la carte sur un rotateur mécanique, et le mettre en marche pendant huit min avec le couvercle humidificateur mouillé.
9. Dès que l'appareil est arrêté, lire la carte à l'œil nu à l'état humide sous une lampe à incandescence de haute intensité. Incliner délicatement la carte (trois ou quatre mouvements de va-et-vient) pour permettre de différencier une agglutination faible d'une absence d'agglutination.

Contrôle de qualité :

Analyse de diagnostic – le Contrôle + et le Contrôle – du test **CMVscan** doivent être analysés chaque jour que la méthode qualitative est utilisée, en tant que contrôle de qualité. Lorsque la méthode quantitative est utilisée, il faut déterminer le titre du Contrôle ++ et du Contrôle + avec chaque lot d'échantillons provenant de patients.^{1,2}

Dépistage des donneurs (avec la méthode qualitative) – le Contrôle – du test **CMVscan** et une dilution 1:4 du Contrôle + doivent être analysés avec chaque lot d'échantillons provenant de patients. Se référer aux procédés suivants pour faire une dilution 1:4 :

Option 1 – (à utiliser lors de l'analyse d'un seul lot par jour)

1. Au moyen d'une micropipette, déposer une goutte de 50 µL de Réactif B sur les ronds A1 et A2.
2. Sans changer d'embout, ajouter 50 µL de Contrôle + au rond A1 et mélanger par aspiration/reflux (à sept reprises) à l'aide de la micropipette.
3. Toujours sans changer de micropipette ni d'embout, transférer 50 µL du rond A1 au rond A2, et mélanger comme décrit ci-dessus. Prélever et rejeter 50 µL du rond A2.
4. Le rapport de dilution du Contrôle + dans le rond A2 est maintenant de 1:4. Elle doit être analysée immédiatement avec la méthode qualitative.

Option 2 – (à utiliser lors de l'analyse de plusieurs lots par jour)

1. Au moyen d'une micropipette, déposer une goutte de 150 µL de Réactif B dans un tube à essai propre et sec.
2. Au moyen d'une micropipette, ajouter 50 µL du Contrôle + au tube.
3. Mélanger complètement à l'aide d'un agitateur vortex ou en agitant à la main.
4. Le rapport de dilution du Contrôle + dans le tube est maintenant de 1:4. Elle peut être utilisée pendant 24 h pour exécuter le contrôle de qualité de la méthode qualitative.

Effectuer les contrôles de qualité conformément aux réglementations nationales et/ou internationales, aux exigences des organismes d'homologation concernés et aux procédures de contrôle de qualité en vigueur dans l'établissement. Il est recommandé à l'utilisateur de consulter les directives NCCLS et la réglementation CLIA concernées pour plus d'informations sur les modalités de contrôle de qualité.

INTERPRETATION DES RESULTATS DU TEST

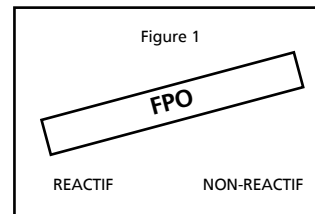
Test qualitatif : les contrôles réactifs doivent indiquer une agglutination, et le contrôle non-réactif aucune agglutination (voir Figure 1).

Interpréter positif :

Réactif-----Signes d'agglutination de l'antigène sur latex **CMVscan** (Réactif A).

Interpréter négatif :

Non-réactif-----La suspension demeure uniformément dispersée, sans aucun signe d'agglutination de l'antigène sur latex **CMVscan** (Réactif A).



La présence d'anticorps anti-CMV est une indication d'exposition antérieure au virus mais n'indique pas d'immunité à une réinfection ultérieure. Les infections récurrentes sont possibles ; cependant, la gravité clinique peut être inférieure à celle constatée dans une primo-infection.² L'absence d'anticorps anti-CMV est une indication d'absence d'exposition au virus.

Test quantitatif : la réactivité est notée par la mesure de la dilution la plus grande présentant une agglutination quelconque du réactif sur latex **CMVscan**. Les échantillons n'indiquant aucune agglutination, à aucun niveau de dilution, sont signalés comme étant non-réactifs.

La mise en évidence d'une séroconversion ou d'une hausse quadruple (ou plus) du titre de l'anticorps, sur des échantillons correctement prélevés et appariés, peut témoigner d'une infection récente.¹⁰

Sérums de contrôle : les contrôles réactifs sont formulés afin de produire une agglutination nette pour les dilutions indiquées. Ne pas reporter les points de contrôle comme étant "réactifs" à moins de constater une nette agglutination, preuve que le système antigène/anticorps fonctionne correctement dans le milieu d'analyse. Le contrôle non-réactif ne doit présenter aucune agglutination. Si les contrôles ne réagissent pas convenablement, le test n'est pas valable.

Se référer à l'exemple suivant.

	1:1 Non dilué	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
Contrôle fortement réactif ++	R	R	R	R	R	R	R
Contrôle faiblement réactif +	R	R	R	R	N	N	N
Contrôle non-réactif -	N						
Echantillon N° 1	R	R	R	N	N	N	N
Echantillon N° 2	R	R	R	R	R	R	N

R = Réactif

N = Non-réactif

Reporter comme : Contrôle fortement réactif – Réactif, dilution \geq 1:64 Echantillon N° 1 – Réactif, dilution au 1:4
 Contrôle faiblement réactif – Réactif, dilution au 1:8 Echantillon N° 2 – Réactif, dilution au 1:32
 Contrôle non-réactif – Non-réactif

LIMITES DE LA PROCÉDURE

L'utilisation de produits ou méthodes autres que ceux recommandés dans cette documentation est susceptible de fausser les résultats.

Comme dans le cas de tout test sérologique, la détection d'anticorps peut s'avérer impossible chez les patients gravement atteints.

De plus, les résultats des tests pratiqués sur nouveau-nés doivent être interprétés avec circonspection, puisque la présence d'anticorps anti-CMV est généralement causée par un transfert passif de la mère au fœtus. Un test négatif peut servir à exclure la possibilité d'infection, mais un diagnostic d'infection par le CMV active peut nécessiter une culture virale.

Des échantillons montrant des concentrations anormalement élevées d'anticorps dirigés contre des agents infectieux autres que le CMV n'ont pas été analysés.

VALEURS ESCOMPTEES

La fréquence des infections CMV dépend de facteurs géographiques et socioéconomiques ainsi que de l'âge. Des études sérologiques indiquent que 25 à 50 % de la population américaine possède des anticorps anti-CMV avant l'âge de 15 ans.¹¹ Chez les adultes, cette fréquence varie entre 15 et 70 %.¹²

Dans quatre centres cliniques, on a procédé à des analyses **CMVscan**, de 1095 échantillons pris au hasard. Ces échantillons ont été prélevés dans le cadre d'une étude prospective, principalement auprès d'adultes. Dans deux centres, les échantillons provenaient tous de donneurs d'une banque du sang. Les deux autres centres représentaient un assortiment de donneurs de sang, de donneurs/receveurs de greffes d'organes et de cas divers nécessitant régulièrement des titrages d'anticorps anti-CMV. Les lieux de prélèvement étaient concentrés dans la région moyen-atlantique et le sud-est des Etats-Unis. Chez les receveurs, 53 % des échantillons ont donné un résultat positif (présence d'anticorps anti-CMV) ; chez les donneurs, cette fréquence s'est située à 34 %.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Performances qualitatives : les performances qualitatives du **CMVscan Card Test** ont été évaluées sur des échantillons de sérum prélevés dans le cadre d'une étude prospective dans deux centres cliniques et deux banques de sang.

Dans chaque centre, les échantillons ont été analysés selon trois méthodes. Le **CMVscan Card Test** et un procédé d'analyse de l'hémagglutination indirecte (IHA, vendu dans le commerce) étaient communs à tous les deux centres. La troisième méthode au premier centre consistait en un dosage immunologique de la fluorescence en phase solide (FIA, vendu dans le commerce). La troisième méthode au deuxième centre consistait en un dosage immunoenzymologique ELISA (vendu dans le commerce). Chaque échantillon de sérum a été considéré comme donnant un "résultat concordant" (réactif ou non-réactif) quant à la présence d'anticorps anti-CMV, quand les résultats d'au moins deux des trois méthodes utilisées concordent. Les résultats sont exposés dans les tableaux 1 et 2, et résumés dans le tableau 3.

Tableau 1
Performance de **CMVscan Card Test** chez une population de receveurs ; centre 1

	Résultat concordant ^a		
	+	-	
Résultat du CMVscan Card Test			
+	182	4	Sensibilité = 100 % (182/182) (95 % I.C. = 98,0 - 100,0) Spécificité = 96 % (96/100) (95 % I.C. = 90,1 - 98,9)
-	0	96	
TOTAL	182	100	

Tableau 2
Performance de **CMVscan Card Test** chez une population de receveurs ; centre 2

	Résultat concordant ^a		
	+	-	
Résultat du CMVscan Card Test			
+	119	4	Sensibilité = 98 % (119/121) (95 % I.C. = 94,2 - 99,8) Spécificité = 98 % (165/169) (95 % I.C. = 94,1 - 99,4)
-	2	165	
TOTAL	121	169	

Tableau 3
Performance de CMVscan Card
Test chez une population de
receveurs ; les deux centres

		Résultat concordant ^a		
		+	-	
Résultat du CMVscan Card Test	+	301	8	Sensibilité = 99 % (301/303) (95 % I.C. = 97,6 – 99,9) Spécificité = 97 % (261/269) (95 % I.C. = 94,2 – 98,7)
	-	2	261	
TOTAL		303	269	

^aConcordance de deux tests sur trois

Dans la première banque de sang, les échantillons ont été analysés selon les méthodes **CMVscan Card Test**, un procédé IHA (vendu dans le commerce), et un dosage ELISA interne. Dans la deuxième banque de sang, les échantillons ont été analysés selon les méthodes **CMVscan Card Test**, un procédé IHA (vendu dans le commerce), un dosage immunologique de la fluorescence en phase solide (FIA, vendu dans le commerce), deux dosages ELISA (vendus dans le commerce), et un dosage de la fluorescence indirecte (vendu dans le commerce). Chaque échantillon de sérum a été considéré comme donnant un "résultat concordant" (réactif ou non-réactif) quant à la présence d'anticorps anti-CMV, quand les résultats de la majorité des méthodes utilisées concordent. Les résultats sont exposés dans les tableaux 4 et 5, et résumés dans le tableau 6.

Tableau 4
Performance de CMVscan Card
Test chez une population de
donneurs ; centre 3

		Résultat concordant ^a		
		+	-	
Résultat du CMVscan Card Test	+	117	5	Sensibilité = 97 % (117/121) (95 % I.C. = 94,2 – 99,8) Spécificité = 97 % (188/193) (95 % I.C. = 94,1 – 99,2)
	-	4	188	
TOTAL		121	193	

Tableau 5
Performance de CMVscan Card
Test chez une population de
donneurs ; centre 4¹³

		Résultat concordant ^b		
		+	-	
Résultat du CMVscan Card Test	+	58	2	Sensibilité = 100 % (58/58) (95 % I.C. = 93,8 – 100,0) Spécificité = 99 % (149/151) (95 % I.C. = 95,3 – 99,8)
	-	0	149	
TOTAL		58	151	

Tableau 6
Performance de CMVscan Card
Test chez une population de
donneurs ; les deux centres

		Résultat concordant ^a		
		+	-	
Résultat du CMVscan Card Test	+	175	7	Sensibilité = 98 % (175/179) (95 % I.C. = 94,4 – 99,4) Spécificité = 98 % (337/344) (95 % I.C. = 95,9 – 99,2)
	-	4	337	
TOTAL		179	344	

^aConcordance de deux tests sur trois

^bConcordance de quatre tests sur six

Aucun phénomène de prozone n'a été constaté dans les expériences cliniques ou les études internes. Des titres d'échantillons de 1:1024 (ou moins) ont pu être évalués grâce au kit **CMVscan**.

Reproductibilité : l'aptitude du **CMVscan Card Test** à quantifier de façon reproductible les anticorps sériques anti-CMV a été démontrée par l'analyse de 50 paires d'échantillons de sérum. Définie en fonction de la concordance des résultats à une double dilution près pour des échantillons répétés, la reproductibilité sur des échantillons d'un même sérum a été déterminée comme étant de 98 %.

Interférences : en vue d'établir les interférences des anticorps avec d'autres agents, les anticorps anti-CMV ont été recherchés sur un groupe spécial de sérums par les techniques d'agglutination sur latex et d'hémagglutination indirecte. De multiples échantillons positifs au facteur rhumatoïde, à la rubéole, à l'herpès, au virus d'Epstein-Barr, à l'herpès virus varicellae, et/ou au *Toxoplasma gondii* ainsi qu'aux anticorps anti-nucléaires, ont donné des résultats négatifs à l'examen des anticorps anti-CMV, suggérant une absence de réactivité croisée, ou d'interférence.

MATERIEL DISPONIBLE

No réf.	Description
255126	Coffret pour 30 tests (qualitatifs) CMVscan .
255001	Coffret pour 100 tests (qualitatifs) CMVscan .
255205	Coffret pour 500 tests (qualitatifs) CMVscan .

REFERENCES : voir la rubrique "References" du texte anglais

Résumé des résultats		
Concordance	Latex CMVscan	
	N°	%
Même titre	32	64
1 dilution de différence	17	34
2 dilutions de différence	1	2
Nombre total de paires	50	
Reproductibilité	49/50 = 98 %	



Prueba de aglutinación pasiva de látex para la detección de anticuerpos del citomegalovirus (CMV)

Español

USO PREVISTO

La prueba **CMVscan** en tarjeta es una prueba de aglutinación pasiva de látex para la detección de anticuerpos anti-citomegalovirus en suero y plasma humano. La prueba puede realizarse cualitativamente para determinar la presencia de anticuerpos frente al CMV, y cuantitativamente, utilizando diluciones dobles en serie para determinar el título de anticuerpos.

La prueba cuantitativa **CMVscan** en tarjeta realizada en una sola muestra sirve para detectar la presencia de anticuerpos frente al CMV. La prueba **CMVscan** en tarjeta puede utilizarse como una herramienta de diagnóstico o para someter a prueba las muestras de donantes. Proporciona resultados satisfactorios con anticuerpos de fase aguda o de convalecencia. Los anticuerpos presentes en una sola muestra son evidencia de exposición previa al virus.

La prueba cuantitativa puede usarse para determinar la cantidad relativa de anticuerpos en suero o plasma. Cuando se utilizan muestras pareadas adecuadas (extraídas con un intervalo mínimo de dos semanas), la presencia de seroconversión o de un aumento de cuatro veces o más del título de anticuerpos es indicativa de infección reciente. *Ambas muestras deben ser analizadas simultáneamente.* La ausencia de un aumento de cuatro veces del título no excluye necesariamente la posibilidad de exposición y de infección (vea "Resumen y explicación").

RESUMEN Y EXPLICACION

El citomegalovirus (CMV) es un patógeno vírico humano ubicuo que pertenece a la familia de los herpesvirus. La infección por CMV es generalmente asintomática y puede persistir en el huésped como infección crónica o latente.¹

Algunas personas son más propensas a desarrollar formas más severas de infección por CMV. Los recién nacidos infectados congénitamente, sobre todo aquellos que adquieren el CMV durante una infección primaria de la madre, son más propensos a desarrollar formas severas de la enfermedad de inclusiones citomegálicas.² Esta forma severa puede ser mortal o causar secuelas neurológicas permanentes, tales como retraso mental, sordera, microcefalia y disfunción motora. La transfusión de productos sanguíneos contaminados con CMV o el trasplante de órganos de un donante infectado por CMV puede resultar en un síndrome de tipo mononucleosis en un receptor inmunocomprometido. Los recién nacidos de poco peso también corren gran riesgo de contraer mononucleosis por CMV subsiguientemente a la transfusión de productos sanguíneos contaminados con CMV.³

Se ha publicado que la selección de donantes de sangre o de órganos seronegativos para CMV, sometiéndolos a una prueba serológica para detección de anticuerpos, es eficaz en reducir la incidencia de infección por CMV en receptores seronegativos al CMV.³

La excreción de virus es común tanto durante la infección primaria como en la recurrente y puede persistir esporádicamente a lo largo de meses o años.⁴ La seroconversión, o un aumento significativo del título, puede indicar una infección reciente, pero no permite diferenciar entre una respuesta primaria o una recurrente. Además, la conversión de seronegatividad a seropositividad, o el aumento de cuatro veces o más del título de anticuerpos entre sueros pareados, puede deberse en ciertos casos a infecciones por la influenza tipo A o *Mycoplasma pneumoniae*, lo que sugiere una reactivación bajo tensión de anticuerpos frente al CMV.⁵

El momento en que se produce la respuesta de los anticuerpos durante una infección primaria puede diferir ligeramente según la metodología utilizada para su detección. Con esta tecnología no se ha establecido el patrón de la respuesta de los anticuerpos durante una infección primaria por CMV.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La aglutinación pasiva de látex constituye un medio sencillo y rápido de detectar rutinariamente anticuerpos para antígenos víricos o bacterianos específicos. La detección de anticuerpos para antígenos específicos puede servir para determinar la existencia de un estado de inmunidad o la evidencia de una exposición previa al patógeno sospechado. Los anticuerpos, en las fases iniciales de la infección primaria, no siempre son detectables.

La prueba **CMVscan** en tarjeta se basa en el principio de la aglutinación pasiva de látex. Las partículas de látex que han sido sensibilizadas previamente con antígenos víricos se aglutinarán en presencia de anticuerpos frente al CMV. Después de un tiempo apropiado de reacción, la aglutinación será detectable a simple vista. En ausencia de anticuerpos específicos o en presencia de concentraciones bajas de anticuerpos, las partículas de látex no se aglutinarán, y aparecerán en dispersión uniforme. La prueba **CMVscan** en tarjeta detecta la presencia de anticuerpos IgM e IgG. La detección de anticuerpos IgA e IgE, aunque probable, no se ha demostrado.

El equipo contiene controles de suero positivo y negativo para anticuerpos frente al CMV, para demostrar la diferencia entre la aglutinación y la no aglutinación.

REACTIVOS

- Reactivo A,** CMVscan antígeno con látex, partículas de látex recubiertas de antígeno de CMV (cepa AD169) con 0,02% de gentamicina y 0,02% de azida sódica (conservantes).
- Reactivo B,** CMVscan solución tampón de dilución para tarjeta, solución salina con tampón de fosfato, pH 7,4, con albúmina de suero bovino y 0,02% de azida sódica (conservante).
- Control ++,** CMVscan control de reactividad alta (suero humano), con 0,1% de azida sódica (conservante).
- Control +,** CMVscan control de reactividad baja (suero humano), con 0,1% de azida sódica (conservante).
- Control -,** CMVscan control no reactivo (suero humano), con 0,1% de azida sódica (conservante).

Advertencias y precauciones:

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: No utilice los reactivos después de su fecha de caducidad. Después de sacarlos del refrigerador, deje que alcancen la temperatura ambiente (entre 23 y 29 °C) antes de usarlos. NO MEZCLE los reactivos de equipos que tengan números de lote diferentes. Evite la contaminación microbiana de los reactivos.

El antígeno de látex **CMVscan (Reactivo A)** debe agitarse (vórtex) al comienzo del análisis de cada grupo de muestras. Para asegurar la dosificación adecuada de las gotas del antígeno de látex **CMVscan (Reactivo A)**, el frasco dispensador debe invertirse en posición vertical.

El antígeno de látex ha sido preparado a partir de CMV rotos considerados inactivos después de ser sometidos a análisis biológicos.

Los sueros de control se derivan de sangre humana que se analizó y resultó ser no reactiva según un método aprobado por la U.S. Food and Drug Administration (FDA) para detectar la presencia de anticuerpos al HIV (virus de inmunodeficiencia humana) y al HBsAg (antígeno de superficie de la hepatitis B).

ADVERTENCIA: Debido a que ningún método de análisis puede ofrecer una garantía total de la ausencia del HIV, del virus de la hepatitis B o de otros agentes infecciosos, LAS MUESTRAS Y ESTOS REACTIVOS DEBEN MANIPULARSE COMO SI FUERAN CAPACES DE TRANSMITIR UNA ENFERMEDAD INFECCIOSA. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"⁶⁻⁹ y las directrices del centro.

Advertencia: Los reactivos contienen azida sódica, la cual es sumamente tóxica en caso de inhalación, contacto con la piel e ingestión. Al contacto con ácidos libera gas altamente tóxico. En caso de contacto con la piel, lávese inmediatamente con abundante agua. La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre y producir azidas metálicas altamente explosivas. Al eliminar los reactivos, use bastante agua para evitar la acumulación de azida.

Tarjetas de análisis: Para permitir una reacción correcta, las tarjetas deben ser planas. En caso contrario, aplane la tarjeta curvándola hacia atrás en sentido opuesto al lado ondulado. Tenga cuidado de no tocar con los dedos las zonas de análisis, pues existe el peligro de dejar restos grasos que podrían alterar los resultados del mismo. Utilice cada tarjeta una sola vez y deséchela. Guarde las tarjetas en el envase original en un lugar seco y a temperatura ambiente.

Lectura de los resultados del análisis: Para facilitar la diferenciación entre una aglutinación débil y la ausencia de aglutinación, se debe girar brevemente la tarjeta con la mano una vez efectuada la rotación mecánica. Los resultados deben leerse inmediatamente bajo una luz incandescente de alta intensidad. Las lámparas fluorescentes son generalmente insuficientes para distinguir los casos de reacción débil. No se recomienda el uso de lupas para leer los resultados del análisis. El dejar de añadir suficiente muestra resulta en la incapacidad de extender la muestra para llenar el círculo, como requiere el procedimiento.

Rotación: La velocidad de rotación mecánica recomendada es de 100 ± 2 rpm, aunque una rotación de 95 a 110 rpm no altera significativamente los resultados obtenidos. El rotador debe circunscribir un círculo de aproximadamente dos centímetros de diámetro en el plano horizontal. Se debe usar una tapa humidificadora para evitar que las muestras se sequen durante la rotación.

Almacenamiento de los reactivos: Refrigerados a una temperatura de entre 2 y 8 °C. NO CONGELAR. Tape los reactivos nuevamente y colóquelos en el refrigerador cuando no los use.

RECOGIDA Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Se recoge sangre entera, con o sin EDTA, y se separa el suero o el plasma (EDTA). Las muestras de suero o de plasma (EDTA) pueden almacenarse hasta una semana a una temperatura de entre 2 y 8 °C para retrasar la contaminación bacteriana. Las muestras de suero pueden congelarse a una temperatura de -18 °C o más baja, si se desean almacenar durante más tiempo. Se pueden utilizar otras condiciones de almacenamiento, solamente previa comprobación mediante pruebas apropiadas de su equivalencia a las muestras frescas de suero o de plasma. Las muestras con señales obvias de contaminación microbiana o ictericia no deben analizarse siguiendo este método. La presencia de hemólisis o lipemia ligera no afecta el análisis.

No se requiere ninguna preparación especial del paciente antes de la recogida de la muestra.

Se pueden usar muestras de plasma que contengan heparina como anticoagulante para las pruebas cualitativas o cuantitativas mediante el mismo procedimiento utilizado para las muestras de suero. Las muestras de plasma que contienen CPDA-1, EDTA, CPD o CP₂D como anticoagulante también pueden usarse para las pruebas cualitativas o cuantitativas después de efectuar una dilución de 1:2 con la solución tampón de dilución. En lo referente a una explicación de la dilución 1:2, consulte "Análisis cuantitativo", paso 3.d. Los análisis de muestras de plasma CPDA-1 de grupos de plaquetas almacenadas a 22 °C durante cinco días y de grupos de eritrocitos almacenados entre 2 y 6 °C durante 14 días han tenido éxito. El calentar las muestras a 56 °C durante 30 min no tiene ningún efecto sobre el rendimiento cualitativo de la prueba.

PROCEDIMIENTOS

Vuelva a leer "Precauciones" y "Recogida y preparación de las muestras" antes de efectuar las pruebas. La zona en que se van a realizar las pruebas, los reactivos, las muestras y los componentes de la prueba deben encontrarse a temperatura ambiente (entre 23 y 29 °C) en el momento de usarse.

Materiales suministrados:	(30 pruebas)	(100 pruebas)	(500 pruebas)
Reactivo A, CMVscan antígeno con látex,	0,5 mL	1,6 mL	5 x 1,6 mL
Reactivo B, CMVscan solución tampón de dilución para tarjeta,	5,0 mL	20,0 mL	20,0 mL
Control + +, CMVscan control de reactividad alta (suero humano),	1,0 mL	1,0 mL	3 x 1,0 mL
Control +, CMVscan control de reactividad baja (suero humano),	1,0 mL	1,0 mL	3 x 1,0 mL
Control -, CMVscan control no reactivo (suero humano),	1,0 mL	1,0 mL	2 x 1,0 mL
Tarjetas de prueba,	4	5	20
Agitadores de plástico	33	120	600

Materiales necesarios pero no suministrados: Agitador rotativo con tapa humidificadora, micropipeta de 50 µL, centrífuga, lámpara incandescente de alta intensidad y agitador vórtex.

También se necesitan los aparatos de laboratorio apropiados para la preparación, el almacenamiento y la manipulación de muestras serológicas.

Realización de las pruebas para anticuerpos frente al CMV:

1. Agite en el agitador vórtex el **Reactivo A** durante 5 a 10 s (en los agitadores de velocidad variable, use la velocidad más alta). Es necesario utilizar el agitador vórtex al comienzo de la prueba de cada grupo de muestras, aunque se analice más de un grupo por día.
2. Marque la tarjeta para identificar los controles y todas las muestras a analizar.

Análisis cualitativo

3. Con una micropipeta, dispense 50 µL de los controles (vea "Control de calidad") o 50 µL de la muestra del paciente sobre el círculo apropiado, usando una punta nueva cada vez.

4. Con ayuda de un agitador de plástico nuevo para cada círculo, extienda el suero hasta que cubra el círculo completo.

5. Invierta suavemente el frasco dispensador de **Reactivo A** varias veces para mezclar bien el reactivo. Antes de destapar el frasco, golpee la base ligeramente contra el mostrador para asegurarse de que no quede reactivo en la punta.

Análisis cuantitativo

3. Dilución de los controles y muestras:
 - a. Con una micropipeta, agregue 50 µL del **Control -** sobre el círculo 1 en la fila marcada "Control no reactivo". No hay necesidad de diluciones en serie de este control.
 - b. Pase a una nueva fila. Con una micropipeta, coloque 50 µL del **Reactivo B** en los círculos 2 a 7, dejando vacío el círculo 1.
 - c. Con una micropipeta, coloque 50 µL del **Control + +** en el círculo 1.
 - d. Utilizando la misma micropipeta y la misma punta, agregue 50 µL adicionales del **Control + +** directamente en la solución tampón del círculo 2 y proceda a su mezcla aspirando y dispensando siete veces. El suero en el círculo 2 se encuentra ahora diluido a 1:2.
 - e. Utilizando la misma micropipeta y la misma punta, transfiera 50 µL de la dilución 1:2 directamente a la solución tampón del círculo 3; proceda a su mezcla, igual que antes, y continúe esta preparación de diluciones dobles en serie hasta el círculo 7. aspire 50 µL del círculo 7 y deséchelos. La dilución en el círculo 7 es ahora de 1:64.
(Si se necesitan diluciones adicionales, continúe los procedimientos descritos en los pasos "a" - "e" inclusive sobre la siguiente fila de círculos. En vez de desechar el exceso de 50 µL de muestra diluida en el círculo 7, deseche dicha cantidad del último círculo de la fila siguiente).
 - f. Repita los pasos "b" a "e" inclusive para el **Control +** y para cada muestra a analizar.
4. Utilizando un nuevo agitador de plástico para cada control y para cada muestra a analizar, comience por el último círculo y extienda la dilución de suero hasta llenarlo enteramente. Pase a la dilución sucesiva (menor) hasta haber esparcido el líquido uniformemente sobre cada círculo de la fila de muestras.

6. Manteniendo el frasco en posición vertical invertida, vierta una gota de **Reactivo A** (aproximadamente 15 µL) haciéndola caer libremente sobre cada círculo que contenga suero.
7. Gire manualmente la tarjeta tres o cuatro veces con un movimiento de vaivén para distribuir el antígeno de látex en cada círculo. Evite la intercontaminación de las áreas de prueba en los círculos adyacentes.
8. Coloque la tarjeta en un rotador y hágala girar durante 8 min bajo la tapa humidificadora.
9. Inmediatamente después de la rotación mecánica, lea la tarjeta macroscópicamente y en estado húmedo bajo una lámpara incandescente de alta intensidad. Gire suavemente la tarjeta (tres o cuatro movimientos de vaivén) para facilitar la diferenciación entre una aglutinación débil y la ausencia de aglutinación.

Control de calidad:

Análisis de diagnóstico: El Control + y Control – de la prueba **CMVscan** deben analizarse cada día que el procedimiento cualitativo sea utilizado para el control de calidad. Al utilizar el procedimiento cuantitativo, se debe determinar el título del Control ++ y del Control + con cada grupo de muestras de pacientes.^{1,2}

Análisis de muestras de donantes (utilizando en procedimiento cualitativo): El Control – y una dilución 1:4 del Control + de la prueba **CMVscan** deben analizarse con cada grupo de muestras de pacientes. Refiérase a los siguientes procedimientos para preparar una dilución 1:4:

Opción 1 – (Para utilizarse al analizar un grupo de muestras al día)

1. Con una micropipeta, dispense 50 µL del Reactivo B sobre los círculos A1 y A2.
2. Utilizando la misma punta, añada 50 µL del Control + sobre el círculo A1 y mezcle aspirando y dispensando con la micropipeta siete veces.
3. Utilizando la misma micropipeta y la misma punta, transfiera 50 µL del círculo A1 al círculo A2 y mezcle como antes. aspire 50 µL del círculo A2 y deséchelos.
4. La dilución en el círculo es ahora una dilución de 1:4 del Control + y debe analizarse inmediatamente utilizando el procedimiento de análisis cualitativo.

Opción 2 – (Para utilizarse al analizar más de un grupo de muestras al día)

1. Con una micropipeta, dispense 150 µL del Reactivo B en un tubo de ensayo limpio y seco.
2. Con una micropipeta, añada 50 µL del Control + en el tubo de ensayo.
3. Mezcle bien con un vórtex o mediante agitación.
4. La dilución en el tubo es ahora una dilución de 1:4 del Control+ y puede utilizarse por un máximo de 24 h para realizar el control de calidad utilizando el procedimiento cualitativo.

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de NCCLS y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS DEL ANALISIS

Análisis cualitativo: Los controles reactivos deben mostrar aglutinación, mientras que el no reactivo debe mostrar una falta de aglutinación (vea la Figura 1).

Considere como positivo:

Reactivo-----Manifestando cualquier aglutinación del antígeno con látex **CMVscan (Reactivo A)**.

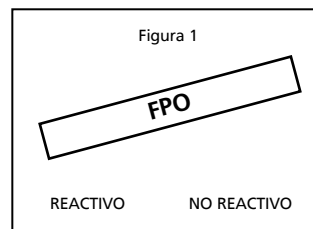
Considere como negativo:

No reactivo-----La suspensión permanece uniformemente dispersada, sin señales de aglutinación del antígeno con látex **CMVscan (Reactivo A)**.

La presencia de anticuerpos frente al CMV es una indicación de exposición previa al virus, pero no indica inmunidad a reinfecciones subsiguientes. Pueden producirse infecciones recurrentes; sin embargo, la severidad clínica puede ser menor de la infección primaria.² La ausencia de anticuerpos frente al CMV es una indicación de que no ha habido ninguna exposición al virus.

Análisis cuantitativo: Considere la reactividad en términos de la dilución más alta que muestre aglutinación del reactivo del látex **CMVscan**. Las muestras que no muestran aglutinación en ninguna de las diluciones deben considerarse no reactivas.

La presencia de seroconversión o de un aumento de cuatro o más veces del título de anticuerpos en muestras adecuadamente pareadas puede ser indicativa de infección reciente.¹⁰



Controles: Los controles reactivos han sido formulados para producir una aglutinación bien definida dentro de las diluciones marcadas. No deben considerarse como "reactivos" los resultados de los controles, a menos de haberse observado una aglutinación definida que asegure que el sistema antígeno-anticuerpo esté funcionando correctamente dentro del ambiente del análisis. El control no reactivo no debe mostrar aglutinación alguna. Si los controles no producen una respuesta apropiada, el análisis no es válido.

Refiérase al ejemplo siguiente.	1:1 Sin diluir	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
Control de reactividad alta ++	R	R	R	R	R	R	R
Control de reactividad baja +	R	R	R	R	N	N	N
Control no reactivo -	N						
Muestra N° 1	R	R	R	N	N	N	N
Muestra N° 2	R	R	R	R	R	R	N

R = Reactivo N = No reactivo

Considere: Control de reactividad alta - Reactivo, dilución $\geq 1:64$ Muestra N° 1 - Reactivo, dilución 1:4
Control de reactividad baja - Reactivo, dilución 1:8 Muestra N° 2 - Reactivo, dilución 1:32
Control no reactivo - No reactivo

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El uso de componentes o procedimientos que no sean los que se recomiendan en este folleto puede conducir a resultados erróneos.

Como en todo análisis serológico, es posible que los pacientes con infecciones agudas no tengan anticuerpos detectables.

Además, los resultados de los análisis en recién nacidos deben interpretarse con cautela, puesto que la presencia de anticuerpos frente al CMV se debe generalmente a la transferencia pasiva de la madre al feto. El resultado negativo de un análisis puede servir para excluir la posibilidad de infección, pero para diagnosticar una infección de CMV activa puede que haya necesidad de un cultivo vírico.

No se han analizado muestras con niveles de anticuerpos anormalmente altos frente a los agentes infecciosos que no sean CMV.

VALORES PREVISTOS

La incidencia de infección por CMV depende de factores geográficos, socioeconómicos y de la edad. Los estudios serológicos indican que los anticuerpos del CMV están en el 25 - 50% de los americanos a los 15 años.¹¹ En la población adulta, la incidencia de anticuerpos frente al CMV se ha demostrado en el 15 - 70% de los casos.¹²

Un total de 1095 muestras recogidas al azar en cuatro centros clínicos fueron evaluadas con el **CMVscan**. Las muestras se recogieron de una población predominantemente adulta. En dos de los centros, las muestras provenían exclusivamente de donantes de bancos de sangre. Los otros dos centros representaban una mezcla de donantes de sangre, donantes y receptores de órganos, y otros casos en que el título de anticuerpos frente al CMV se requería rutinariamente. Todos los centros estaban situados en la costa atlántica de la zona central y en la zona sureste de los Estados Unidos. El 53% de muestras proveniente de una población mixta de pacientes y el 34% de muestras proveniente sólo de donantes de sangre dieron resultados positivos en cuanto a anticuerpos frente al CMV.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Rendimiento cualitativo: El rendimiento cualitativo de la prueba **CMVscan** en tarjeta se determinó mediante un estudio de prospecto de muestras de suero recolectadas en dos centros clínicos y dos bancos de sangre.

En cada centro clínico, las muestras fueron analizadas mediante tres métodos. En ambos centros, se utilizaron la prueba **CMVscan** en tarjeta y una prueba de hemaglutinación indirecta (IHA) disponible comercialmente. El tercer método en la Sede 1 fue un inmunoensayo de fluorescencia en fase sólida (FIA) disponible comercialmente. El tercer método en la Sede 2 fue un ensayo inmunoenzimático (ELISA) disponible comercialmente. A cada muestra de suero se le asignó un resultado concordante reactivo o no reactivo en cuanto a anticuerpos frente al CMV, basándose en la concordancia de dos o más de los tres métodos de análisis. Los resultados se entregan en las Tablas 1 y 2 y se resumen en la Tabla 3.

Tabla 1
Rendimiento de la prueba
CMVscan en tarjeta con una
población de pacientes. Sede 1

Resultado de la prueba CMVscan en tarjeta	Resultado concordante ^a		Sensibilidad = 100 % (182/182) (95 % I.C. = 98,0 - 100,0) Especificidad = 96 % (96/100) (95 % I.C. = 90,1 - 98,9)
	+	-	
+	182	4	
-	0	96	
TOTAL	182	100	

Tabla 2
Rendimiento de la prueba
CMVscan en tarjeta con una
población de pacientes. Sede 2

Resultado de la prueba CMVscan en tarjeta	Resultado concordante ^a		Sensibilidad = 98 % (119/121) (95 % I.C. = 94,2 - 99,8) Especificidad = 98 % (165/169) (95 % I.C. = 94,1 - 99,4)
	+	-	
+	119	4	
-	2	165	
TOTAL	121	169	

Tabla 3
Rendimiento de la prueba **CMVscan** en tarjeta con una población de pacientes. Sedes combinadas

		Resultado concordante ^a		
		+	-	
Resultado de la prueba CMVscan en tarjeta	+	301	8	Sensibilidad = 99 % (301/303) (95 % I.C. = 97,6 – 99,9)
	-	2	261	
TOTAL		303	269	

^aConcordancia de dos de las tres pruebas

El banco de sangre 1 analizó las muestras con la prueba **CMVscan** en tarjeta, una prueba IHA disponible comercialmente y una prueba ELISA del laboratorio individual. El banco de sangre 2 analizó las muestras con la prueba **CMVscan** en tarjeta, una prueba IHA disponible comercialmente, un inmunoensayo de fluorescencia en fase sólida (FIA) disponible comercialmente, dos pruebas ELISA disponibles comercialmente y una prueba de fluorescencia indirecta disponible comercialmente. A cada muestra de suero se le asignó un resultado concordante reactivo o no reactivo en cuanto a anticuerpos frente al CMV, basándose en la concordancia de la mayoría de los métodos de análisis. Los resultados se muestran en las Tablas 4 y 5 y se resumen en la Tabla 6.

Tabla 4
Rendimiento de la prueba **CMVscan** en tarjeta con una población de donantes de sangre. Sede 3

		Resultado concordante ^a		
		+	-	
Resultado de la prueba CMVscan en tarjeta	+	117	5	Sensibilidad = 97 % (117/121) (95 % I.C. = 94,2 – 99,8)
	-	4	188	
TOTAL		121	193	

Tabla 5
Rendimiento de la prueba **CMVscan** en tarjeta con una población de donantes de sangre. Sede 4¹³

		Resultado concordante ^b		
		+	-	
Resultado de la prueba CMVscan en tarjeta	+	58	2	Sensibilidad = 100 % (58/58) (95 % I.C. = 93,8 – 100,0)
	-	0	149	
TOTAL		58	151	

Tabla 6
Rendimiento de la prueba **CMVscan** en tarjeta con una población de donantes de sangre. Sedes combinadas

		Resultado concordante ^a		
		+	-	
Resultado de la prueba CMVscan en tarjeta	+	175	7	Sensibilidad = 98 % (175/179) (95 % I.C. = 94,4 – 99,4)
	-	4	337	
TOTAL		179	344	

^aConcordancia de dos de las tres pruebas

^bConcordancia de cuatro de las seis pruebas

No se observaron fenómenos de prozona en los análisis clínicos ni en los estudios de laboratorio. Los títulos de las muestras de 1:1024 o inferiores se evaluaron con el equipo **CMVscan**.

Reproducibilidad: La capacidad de la prueba **CMVscan** en tarjeta de cuantificar de modo reproducible los anticuerpos frente al CMV en el suero se demostró analizando una serie codificada de 50 pares de sueros. La reproducibilidad, definida como la capacidad de obtener los mismos resultados con una diferencia no mayor de una dilución en los duplicados, se ha demostrado que es del 98%.

Interferencias: Para analizar la posible interferencia de anticuerpos frente a otros agentes con el rendimiento del reactivo del látex **CMVscan**, un grupo especial de sueros se sometió a análisis de anticuerpos frente al CMV mediante la aglutinación de látex y el ensayo de hemaglutinación indirecta. Muchas muestras positivas al factor reumatoide, a la rubéola, al herpes simplex, al virus de Epstein-Barr, al varicela zóster y/o al *Toxoplasma gondii* y a los anticuerpos antinucleares resultaron no reactivos en cuanto a anticuerpos frente al CMV, lo que sugiere ausencia de reacción cruzada o interferencia.

Resumen de resultados		
Concordancia de los duplicados	CMVscan Látex	
	Nº	%
Ambos del mismo título	32	64
Una dilución de diferencia	17	34
Dos diluciones de diferencia	1	2
Nº total de pares	50	
Reproducibilidad	49/50 = 98%	

DISPONIBILIDAD

Nº ref.	Descripción
255126	CMVscan Equipo de 30 pruebas (<i>cuantitativas</i>).
255001	CMVscan Equipo de 100 pruebas (<i>cuantitativas</i>).
255205	CMVscan Equipo de 500 pruebas (<i>cuantitativas</i>).

REFERENCIAS: Ver "References" en el texto en inglés.



Manufacturer / Fabricant / Fabricante



Use by / A utiliser avant / Usar antes de /
YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month) /
AAAA-MM-JJ / AAAA-MM (MM = fin du mois) /
aaaa-mm-dd / aaaa-mm (mm = fin del mes) /



Catalog number / Numéro catalogue / Número de catálogo



Authorized Representative in the European Community / Représentant agréé pour la C.E.E. /
Representante autorizado en la Comunidad Europea



In Vitro Diagnostic Medical Device / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico
de diagnóstico in vitro



Temperature limitation / Température limite / Limitación de temperatura




Batch Code (Lot) / Code de lot (Lot) / Código de lote (Lote)



Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour <n> tests / Contenido suficiente para
<n> pruebas



 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 USA
800-638-8663

BD, BD Logo and CMVscan are trademarks of Becton, Dickinson and Company. © 2005 BD.