

Využití testů avidity IgG protilátek v diagnostice cytomegalovirové infekce

Štěpánová V.¹, Plíšková L.², Kubišová M.³, Štěpánová E.⁴, Bolehovská R.², Boščíková V.⁵, Svobodová M.⁶

¹Ústav klinické mikrobiologie, NRL pro CMV, FN a LF UK Hradec Králové

²Ústav klinické biochemie a diagnostiky, FN a LF UK Hradec Králové

³Gerontometabolická klinika, 2. interní klinika, FN a LF UK, Hradec Králové

⁴2. interní klinika FN a LF UK, Hradec Králové

⁵Katedra epidemiologie a mikrobiologie Fakulty vojenského zdravotnictví Univerzity obrany, Hradec Králové

⁶Oddělení klinické mikrobiologie Nemocnice Pardubice

SOUHRN

Lidský cytomegalovirus (CMV) je nejčastějším etiologickým agens způsobujícím kongenitální infekce. Primoinfekce CMV může vést k těžkému onemocnění a komplikacím také u pacientů, u nichž probíhá imunosupresivní terapie nebo onemocnění charakterizované imunosupresí. Základní možností rozlišit primoinfekci od reaktive latentní infekce nebo reinfekce je stanovení avidity IgG protilátek. Cílem naší práce bylo stanovení indexu avidity CMV IgG metodikou ELISA s denaturací vazby IgG protilátek na antigen a metodou CMIA (chemiluminiscentní imunoesej na mikroparticulích) na analyzátoru Architect, Abbott.

Všechny testované metody prokázaly ve stanovení avidity CMV IgG srovnatelnou shodu. Test firmy Abbott vykázal v některých případech lepší reflexi vyzrání IgG protilátek v průběhu primoinfekce než metoda chemická používající rozrušení vazby antigenu a protilátky denaturačním činidlem na mikrodestičkách.

Klíčová slova: cytomegalovirus (CMV) – IgG protilátky – avidita – primoinfekce

SUMMARY

Štěpánová V., Plíšková L., Kubišová M., Štěpánová E., Bolehovská R., Boščíková V., Svobodová M.: The Use of IgG Antibody Avidity Assays in the Diagnosis of Cytomegalovirus Infection

Human cytomegalovirus (CMV) is the most common cause of congenital infection. Primary CMV infection can lead to severe disease and complications in patients immunocompromised as a result of disease or therapy. IgG antibody avidity assays make it possible to differentiate between primary infection and reactivation of latent infection or reinfection. The study objective was to determine CMV IgG avidity by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with denaturation of IgG antibody binding to the antigen and by chemiluminiscent microparticle immunoassay (CMIA) on an Abbott Architect analyzer.

Both methods yielded comparable CMV IgG avidity results. In some cases, the Abbott test was superior in reflecting IgG antibody maturation during primary infection to microplate ELISA using antigen-antibody complex dissociation by a denaturing agent.

Key words: cytomegalovirus (CMV) – IgG antibodies – avidity – primary infection

Úvod

Lidský CMV je nejčastějším etiologickým agens způsobujícím kongenitální infekce (0,2–2,5 % v rozvinutých zemích). Nejčastější formou je asymptomatická infekce (90 % případů). Klinická manifestace zahrnuje těžké poškození plodu až úmrtí plodu v nejtěžších případech, kdy k onemocnění dochází v prvním trimestru těhotenství.

Typickými symptomy jsou poškození centrálního nervového systému (CNS) plodu, hepatosplenomegalie, hemolytická anémie, hyperbilirubinémie, trombocytopenie, pneumonie, poškození sluchu – vrozená hluchota. U 10–15 % dětí, které jsou po porodu asymptomatické, se mohou vyvinout pozdní následky po několika měsících i letech, a to zvláště poruchy sluchu, mentální retardace nebo poruchy chování [1, 4, 6, 20, 21].

Incidence primární infekce u těhotných žen je

udávána mezi 0,5–4 %. K sérokonverzi během těhotenství dochází u 0,4–2 % těhotných, podle séroprevalence v populaci (35–95 %) [22]. Riziko kongenitální infekce je mnohem vyšší během primoinfekce těhotné ženy, kdy je riziko přenosu infekce z matky na plod 30–40%, oproti riziku přenosu infekce během reaktivace nebo reinfekce (0,15–2,2 %), kdy se většina kongenitálně infikovaných dětí rodí asymptomatických [8]. U těhotné ženy je obtížné diagnostikovat primoinfekci CMV, zejména pokud nemá výrazné klinické příznaky, protože screeningové sérologické testování těhotných žen se neprovádí. Lékař, indikující toto vyšetření, musí mít na cytomegalovirový původ onemocnění podezření [8, 10, 16, 17].

CMV způsobuje těžké komplikace i u pacientů s nádorovým onemocněním, po transplantacích orgánů a tkání, u HIV+ pacientů i nemocných s imunopresivní terapií. CMV infekce u imunopresivovaných pacientů probíhá dlouhodobě, má značnou mortalitu. Zejména při primoinfekci dochází k těžkým klinickým projevům.

Přítomnost specifických IgG protilátek s nízkou aviditou je výrazem probíhající primoinfekce nebo infekce prodělané v nedávné době několika týdnů až měsíců. Přítomnost specifických IgG protilátek s vysokou aviditou primoinfekci vylučuje. Fyzikální vazba mezi jednotlivým vazebným místem na protilátce a specifickým antigenním epitopem je nazývána vazebnou afinitou protilátky. Čím vyšší je afinita, tím pevnější je spojení protilátky a antigenu, a tím pravděpodobněji zůstane antigen navázaný na vazebné místo protilátky. Afinita protilátky stoupá s opakovanou expozicí antigenu. B lymfocyty upravují vazebné místo BcR receptoru v přítomnosti antigenu procesem tzv. „somatické mutace“. Vznikají tak klony B lymfocytů s vyšší afinitou k antigenu, které se dále diferencují na plazmatické buňky, které produkují specifické protilátky charakteristické vysokou afinitou k danému antigenu. Avidita je funkcí afinity molekul multivalentní protilátky vázané na multivalentní antigen a upevňuje se opakovanou vazbou na identické epitopy antigenu. Čím více má molekula protilátky vazebných míst pro

antigen, tím vyšší je její avidita. Vazba dvou různých molekul protilátky na týž antigen, což je běžné u patogenů s mnoha stejnými epitopy, umožňuje aktivaci B lymfocytů i komplementu. Opakovaná infekce nebo reaktivace vede k rychlé produkci IgG protilátek s vysokou afinitou k danému antigenu, protože jsou tvořeny po expanzi paměťových buněk [9, 12].

Cílem naší práce bylo stanovení indexu avidity mikrodestičkovou metodou ELISA pomocí denaturace vazby nízkavidních CMV IgG protilátek na antigen roztokem močoviny, a to 3 různými mikrodestičkovými testy ELISA (Radim, Itálie; Test Line, ČR; Vidia, ČR). Výsledky byly porovnávány se stanovením avidity CMV IgG metodou CMIA (chemiluminiscenční imunoesej na mikroparticulích) na analyzátoru Architect, i2000, Abbott [7].

Materiál a metody

Stanovení avidity CMV IgG je možné klasickou nepřímou metodou, která je založena na vazbě IgG protilátek na antigen na pevné fázi. Denaturační činidlo, roztok močoviny, naruší vazbu protilátek s nízkou aviditou na antigen, navázaný na pevnou fázi, tj. na povrch jamky mikrotitrační destičky. Avidita je stanovena v procentech IgG, která zůstala navázaná na antigen po inkubaci s močovinou proti procentu IgG, které bylo prokázáno při normální inkubaci, tzv. indexem avidity. U většiny testů založených na tomto principu znamená index avidity nižší než 40% primoinfekci před méně než 18 týdny, index avidity ve střední hladině (40–60 %), znamená neurčitou hraniční aviditu, a vyšší než 60 % znamená aviditu vysokou, kdy k primoinfekci došlo před dobou delší než 18 týdnů [11, 14, 15]. V naší studii jsme použili následující soupravy ELISA: I. Radim, Itálie; II. Test Line, ČR; III. Vidia, ČR.

Firma Abbott vyvinula pro analyzátor Architect i2000 aviditní test postavený na principu kompetice, kdy jsou z vyšetřovaného séra specifické protilátky proti CMV ve třídě IgG s nízkou aviditou prokazovány přímo pomocí vychytávání protilátek s vysokou aviditou vazbou na antigen, kterým je virový lyzát CMV AD 169, přítomný v tzv. blokovacím roztoku (1. krok). Zbylé CMV IgG protilátky s nízkou aviditou jsou prokazovány po vazbě na antigen navázaný na paramagnetických particulích (2. krok). Výpočet indexu avidity je stanoven porovnáním avidity IgG v obou reakcích. U tohoto testu index

Tabulka 1. Příklad interpretace nálezů sérologických markerů CMV infekce a avidity CMV IgG ve vztahu ke kongenitální infekci [19]

Table 1. Model interpretation of results: serological markers of CMV infection and CMV IgG avidity in relation to congenital infection [19]

Anti-CMV IgG	Anti-CMV IgM	Avidita anti-CMV IgG	Interpretace
Nereaktivní	nereaktivní	–	dosud bez infekce
Reaktivní	nereaktivní	vysoká	dříve proběhlá infekce, nízké riziko přenosu CMV z matky na plod
Reaktivní	reaktivní	nízká	primoinfekce, vysoké riziko přenosu CMV z matky na plod
Reaktivní	reaktivní	vysoká	reaktivovaná infekce, nízké riziko přenosu CMV z matky

avidity menší než 50% značí nízkou aviditu, k primoinfekci CMV došlo před méně než 18 týdny. Index avidity 50–60% je hraniční, průkaz protilátek s indexem avidity více než 60% znamená latentní infekci a primoinfekci prodělanou před více než 18 týdny [2, 13, 18].

Vyšetřili jsme dvě skupiny sér. První čítala 25 sér od 25 pacientů. Jednalo se o jednorázové odběry od 10 dětí a 15 imunokompetentních dospělých, 12 mužů, 13 žen, věk 0–87 let. Mezi vyšetřenými bylo 5 novorozenců, 5 dětí do 15 let věku, 7 těhotných nebo matek novorozenců (věk 25–40 let) a 8 dospělých (20–87 let). Nejčastějšími diagnózami dětí i dospělých byly mononukleóza, trombocytopenie, lymfadenopatie, angína, dyspepsie.

Druhá skupina čítala 38 sér od 12 pacientů (10 z nich mělo imunosupresivní terapii po transplantaci ledviny, 2 byli imunokompetentní). V této skupině vyšetřených (7 mužů, 5 žen; věk 1 rok až 60 let) jsme porovnávali index avidity v jednoměsíčních časových intervalech, ve kterých byla séra od jednotlivých pacientů odebrána.

Výsledky

První skupina vyšetřených sér z jednorázových odběrů vykazovala následující výsledky, které jsou prezentovány v tabulce 2.

U všech 5 novorozenců jsme oběma typy metod stanovili vysokou aviditu, u některých testů byly výsledky v šedé zóně, jednalo se tedy o přenesené mateřské protilátky. Primoinfekce CMV u novorozenců ani kongenitální infekce prokázána nebyla. Ve skupině 5 dětí do 15 let jsme u 4 dětí, shodně ve všech testech, prokázali vysokou aviditu, a tedy infekci CMV staršího data. U 2letého chlapce s diagnózou angína jsme neshodně prokázali primoinfekci CMV, index avidity 39% metodou CMIA, zatímco všemi 3 mikrodestičkovými metodami ELISA vysokou aviditu CMV IgG 78–79%. U 7 těhotných žen nebo matek novorozenců jsme v 6 případech prokázali IgG s vysokou aviditou 72–94%. U 1 matky novorozence jsme v mikrodestičkových metodách ELISA s denaturačním činidlem prokázali v jednom testu vysokou aviditu, ve zbylých 2 aviditu ve střední hladině. Kompetitivní metodou CMIA na analyzátoru Architect jsme stanovili aviditu nízkou, 21%, která by svědčila pro primoinfekci matky. Klinická diagnóza byla B258, cytomegalovirová nemoc. Bohužel jsme neměli dostatek séra od novorozence, abychom jej mohli vyšetřit stejným způsobem

Tabulka 2. Porovnání výsledků vyšetření avidity CMV IgG získaných metodou denaturační na mikrodestičkách a kompetitivní na analyzátoru Architect, Abbott

Table 2. Comparison of CMV IgG avidity results obtained by microplate ELISA with denaturation and CMIA on an Abbott Architect analyzer

Skupina pacientů	Číslo materiálu	Rok narození	Diagnóza	Avidita %			
				CMIA Architect	EIA TestLine	EIA Radim	EIA Vidia
Novorozenci	S1	2007	A09	77,50	73,10	98,30	44,60
	S5	2007	D509	85,00	43,70	40,90	63,20
	S6	2008	P599	70,00	77,60	99,60	75,90
	S7	2007	L040	85,20	68,80	80,00	60,30
	S8	2007	P599	97,70	76,70	94,20	66,20
Děti 5–15 let	S9	2001	L040	86,10	69,60	95,60	65,80
	S10	2002	G510	90,50	73,90	92,60	72,80
	S12	2003	B009	84,20	68,50	88,90	75,10
	S14	2003	Z008	94,10	58,40	93,30	51,60
	S15	2006	J039	39,30	79,00	78,70	78,30
Těhotné ženy	S17	1974	Z363	91,10	79,10	100,00	78,50
Matky novorozenců	S19	1983	Z359	96,70	77,90	96,70	74,60
	S21	1978	O268	81,50	79,20	93,70	73,70
	S22	1979	O031	72,20	66,70	89,60	66,70
	S23	1981	O268	92,50	78,00	98,80	83,50
	S24	1968	O244	94,80	67,50	88,30	67,40
	S4	1981	B258	21,49	56,10	79,90	50,80
Dospělí pacienti	S31	1970	K769	32,40	29,90	38,80	35,70
	S33	1982	A879	0,50	26,60	20,30	23,50
	S34	1970	B279	11,40	22,50	16,00	25,30
	S36	1973	R500	3,50	30,20	27,20	36,20
	S43	1922	R060	94,40	92,00	28,60	89,40
	S28	1988	Z018	24,50	46,90	71,50	49,70
	S52	1916	B258	86,70	80,00	98,80	68,30
	S58	1965	D649	90,60	74,10	82,80	64,20

Tabulka 3. Vývoj avidity CMV IgG a porovnání výsledků u jednotlivých pacientů pomocí metody denaturační na mikrodestičkách a kompetitivní na analyzátoru Architect, Abbott**Table 3.** Development of CMV IgG avidity and comparison of results obtained for different patients by microplate ELISA with denaturation and CMIA on an Abbott Architect analyzer

Číslo pacienta	Číslo materiálu	Rok narození	Diagnóza	Datum odběru	Avidita %			
					CMIA Architect	EIA TestLine	EIA Radim	EIA Vidia
P1	D1	1951	Z940	26.1.2009	ND	70,80	95,80	57,20
	D2		Z940	2.2.2009	67,80	70,40	95,20	57,80
P2	D3	1975	O020	24.1.2009	62,50	23,80	29,50	42,80
	D4		B259	4.2.2009	76,00	39,10	29,50	41,90
P3	D5	2007	G509	13.11.2008	51,20	20,20	25,20	31,10
	D6		E343	12.12.2008	79,10	42,20	60,90	43,20
	D7		R620	5.2.2009	51,10	58,60	95,30	56,00
P4	D8	1951	Z940	24.10.2008	ND	72,10	100,00	73,10
	D9		Z940	4.11.2008	60,90	74,00	98,40	60,90
P5	D10	1966	Z940	24.1.2009	IgG neg	IgG neg	58,70	67,70
	D11		Z940	2.2.2009	35,40	IgG neg	37,60	35,40
	D12		Z940	11.2.2009	41,40	29,40	29,20	31,10
P6	D13	1949	Z940	19.11.2008	9,70	59,30	67,40	43,00
	D14		Z940	26.11.2008	11,00	61,20	60,20	49,20
	D15		Z940	15.12.2008	10,50	66,50	51,80	44,90
P7	D16	1956	Z008	24.11.2008	nestanovena	89,50	95,50	95,30
	D17		Z940	15.12.2008	nestanovena	85,90	95,50	91,20
	D18		Z940	1.1.2009	nestanovena	89,10	95,40	89,50
	D19		Z940	9.2.2009	nestanovena	90,60	97,80	88,80
P8	D20	1972	Z940	4.11.2008	81,80	82,90	97,30	81,70
	D21		Z940	15.12.2008	86,50	87,20	100,00	84,10
	D22		Z940	12.1.2009	87,50	90,50	100,00	84,70
	D23		Z940	10.2.2009	82,30	88,10	95,80	84,80
P9	D24	1958	N188	3.11.2008	65,60	88,00	100,00	68,10
	D25		N188	2.2.2009	69,10	84,20	96,40	65,70
P10	D26	1974	Z940	13.10.2008	37,60	55,20	68,90	48,90
	D27		Z940	11.11.2008	58,80	55,90	74,40	48,50
	D28		Z940	8.12.2008	49,80	58,20	75,50	55,10
	D29		Z940	12.1.2009	43,80	60,10	74,30	53,60
P11	D30	1973	Z940	11.11.2008	3,00	21,70	21,70	20,40
	D31		Z940	9.12.2008	8,00	24,90	25,10	23,50
	D32		Z940	13.1.2009	23,00	29,80	26,60	26,70
	D33		Z940	10.2.2009	50,00	28,60	43,40	33,30
P12	D34	1977	Z940	21.10.2008	26,90	24,00	33,20	23,50
	D35		Z940	18.11.2008	36,60	23,00	28,20	19,80
	D36		Z940	19.12.2008	49,00	23,10	27,50	19,00
	D37		Z940	19.1.2009	72,40	19,60	32,30	18,2
	D38		Z940	9.2.2009	73,20	21,60	38,00	22,60

ND – nevyšetřeno pro nedostatek séra, nestanoveno – hladina CMV IgG > 2500 AU/ml

ND = not determined because of the lack of serum, Not determined – CMV IgG level of > 2500 AU/ml

všemi metodami. Z 8 vyšetřených dospělých jsme prokázali ve 4 případech shodně nízkou aviditu, která značila primoinfekci CMV. Jednalo se o následující klinické obrazy: mononukleóza, nemoci slinných žláz, horečka, infekce CNS. Ze zbývajících 4 pacientů jsme ve 2 případech určili vysokou aviditu všemi testy. V jednom případě jsme prokázali vysokou aviditu metodou CMIA (94%) i 2 mikrodestičkovými metodami (89 a 92%), zatímco v jednom mikrodestičkovém testu byla stanovena avidita nízká, 28%. Protože se jednalo o pacientku ve věku 86 let, je latentní infekce pravděpodobnější. U 20leté ženy metoda CMIA zjistila nízkou aviditu 24%, 2 mikrodestičkové testy aviditu ve střední hladině 46% a 49% a 1 mikrodestičkový test stanovil vysokou aviditu 71%.

Druhá skupina 12 pacientů, která zahrnovala 38 sér odebraných od jednotlivých pacientů v časových intervalech přibližně jednoměsíčních, nám dovolila sledovat dynamiku vyzrávání avidity CMV IgG protilátek – tabulka 3.

Průkaz primoinfekce se potvrdil u 5 pacientů, u nichž byly v prvních odběrech prokázány IgG protilátky s nízkou aviditou. U 1 pacienta jsme prokázali kompetitivním testem avidity firmy Abbott sérokonverzi v IgG protilátkách, když první odběr byl negativní, a diagnostikovali tak začátek primoinfekce CMV. V tomto případě ve shodě s jedním mikrodestičkovým testem. U dalšího pacienta byla hladina CMV IgG velmi vysoká, vyšší než 2500 AU/ml, analyzátor Architect v tomto případě aviditu nestanoví. V mikrodestičkových testech používajících denaturační metodu byly u tohoto pacienta shodně prokázány IgG protilátky s vysokou aviditou, což potvrdilo, i vzhledem k výši jejich hladiny, booster při aktivaci latentní infekce. U 4 vyšetřených pacientů jsme shodně všemi testy prokázali vysokou aviditu CMV IgG ve všech vzorcích.

Kompetitivní metoda stanovení avidity CMV IgG vyvinutá firmou Abbott ve 3 z 5 prokázaných případech primoinfekce CMV názorně ukázala vyzrávání IgG protilátek postupným zvyšováním jejich avidity, což je dokumentováno v tabulce 3. U pacienta č. 3 bylo naopak vyzrávání avidity CMV IgG lépe prezentováno u mikrodestičkových testů.

Rozdílné výsledky jsme v této skupině pacientů zjistili ve 2 případech. Jednalo se o pacientku č. 2, matku po porodu, která shodně ve 2 mikrodestičkových testech vykazovala nízkou aviditu svědčící pro primoinfekci CMV, zatímco třetí test ELISA stanovil aviditu ve střední hladině a test CMIA na analyzátoru Architect vykazoval aviditu vysokou. V tomto případě je nutné k rozhodnutí použít další testy. Naopak u pacienta č. 6 byla metodou CMIA určena avidita nízká,

zatímco 2 mikrodestičkovými testy vysoká a třetím ve střední hladině. Také v tomto případě bude nutné nález dále konfirmovat.

Diskuse

Všechny testované metody prokázaly ve stanovení avidity CMV IgG srovnatelné výsledky. Neshody ve výsledcích mezi mikrodestičkovými metodami a metodou CMIA na analyzátoru Architect, Abbott by měly být dořešeny konfirmačním vyšetřením metodou western blot, dalším kontrolním odběrem v přiměřeném časovém intervalu a vyšetřením dalších markerů infekce. Při podezření na primoinfekci CMV u těhotné ženy musí následovat další vyšetření, a to virémie a průkaz CMV DNA v plodové vodě [3, 17]. V případě primoinfekce u imunosuprimovaného nemocného je to rovněž vyšetření virémie a přímý průkaz CMV DNA z materiálu odpovídajícího klinickému obrazu pacienta.

Výhodou testů Abbott je jejich plně automatizované provedení. Je rovněž možné nainstalovat program algoritmu vyšetření CMV IgG, CMV IgM i avidity CMV IgG. [19]. Výhodou je provedení všech uvedených vyšetření stejným typem testu v jednom běhu, což je umožněno jak metodikou CMIA na analyzátoru Architect, tak u výše uvedených mikrodestičkových testů ELISA. Test firmy Abbott vykázal v některých případech lepší reflexi v postupném vyzrávání IgG protilátek v průběhu primoinfekce CMV, ale v dalším prezentovaném případě bylo postupné zvyšování avidity dokumentováno i metodami chemickými používajícími rozrušení vazby antigenu a protilátky denaturačním činidlem na mikrodestičkách. Nevýhodou metodiky průkazu avidity na analyzátoru Architect oproti mikrodestičkovým je poměrně vyšší spotřeba vyšetřovaného séra.

Závěr

Uvedením nové metodiky CMIA na analyzátoru Architect, Abbott pro stanovení avidity CMV IgG se rozšířila možnost testování avidity CMV IgG. Po klasické chemické metodě, využívající pro stanovení avidity IgG protilátek na mikrodestičkách rozrušení vazby antigenu a protilátky denaturačním činidlem a následnou detekci metodou ELISA, je k dispozici automatizovaný test vyvinutý na principu kompetice vysoko a nízkoavidních IgG protilátek. Průkaz nízké avidity IgG protilátek má zásadní význam pro diagnostiku

primoinfekce CMV a v některých zemích je toto vyšetření již součástí diagnostických postupů CMV infekce u těhotných žen i u ostatních nemocných [15, 17].

Literatura

1. **Boppana, S. B., Rivera, L. B., Fowler, K. B., Mach, M., Britt, W. J.** Intrauterine transmission of cytomegalovirus to infants of women with pre-conceptual immunity. *The New Engl. J. Med.*, 2001, 344, 18, p. 1366–1371.
2. **Curdt, I., Praast, G., Sickinger, E., Schultess, J., Herold, I. 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, p. 603–613.
3. **De Paschale, M., Agrappi, C., Manco, M. T., Paganini, A., Clerici, P.** Incidence and risk of cytomegalovirus infection during pregnancy in an urban area of Northern Italy. *Infect. Dis. Obstet. Gynecol.*, 2009, Epub 2009 Jul 26.
4. **Fowler, K. B., Stagno, S., Pass, R. F., Britt, W. J., Boll, T. J., Alford, C. A.** The outcome of congenital cytomegalovirus infection in relation to maternal antibody status. *The New Engl. J. Med.*, 1992, 326, 10, p. 663–667.
5. **Fowler, K. B., McCollister, F. P. E., Dahle, A. J. P., Boppana, S. B., Britt, W. J. M. D., Pass, R. F.** Progressive and fluctuating sensorineural hearing loss in children with asymptomatic congenital cytomegalovirus infection. *J. Pediatr.*, 1997, 130, p. 624–630.
6. **Fowler, K. B., Stagno, S., Pass, R. F.** Maternal immunity and prevention of congenital cytomegalovirus infection. *JAMA*, 2003, 289, 8, p. 1008–1011.
7. **Gentile, M., Galli, C., Pagnotti, P., Di Marco, P., Tzantzoglou, S. et al.** Measurement of the sensitivity of different commercial assays in the diagnosis of CMV infection in pregnancy. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2009, 28, 8, p. 977–9781.
8. **Grangeot-Keros, L., Mayaux, M. J., Lebon, P., Freymuth, F., Eugene, G. et al.** Value of cytomegalovirus (CMV) IgG avidity index for the diagnosis of primary CMV infection in pregnant women. *J. Infect. Dis.*, 1997, 175, p. 944–946.
9. **Griswold, W. R.** A Quantitative Relationship Between Antibody Affinity and Antibody Avidity. *Immunol. Investigations*, 1987, 16, 2, p. 97–106.
10. **Guerra, B., Lazzarotto, T., Quarta, S., Lanari, M. et al.** Prenatal diagnosis of symptomatic congenital cytomegalovirus infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2000, 183, p. 476–482.
11. **Huzly, D., Neumann-Haefelin** Measurement of CMV IgG avidity improves the diagnosis of congenital CMV infection. *Eurovirology* 2007, Evropský virologický kongres, Norimberk.
12. **Krejsek, J., Kopecký, O.** B lymfocyty a protilátková imunita. In *Klinická imunologie*. Nucleus: Hradec Králové 2004, s. 241–270.
13. **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, p. 1695–1699.
14. **Lazzarotto, T., Guerra, B., Lanari, M., Gabrielli, L., Landini, M. P.** New advances in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection. *J. Clin. Virol.*, 2008, 41, 3, p. 92–97.
15. **Munro, S. C., Hall, B., Whybin, L. R., Leader, L., Robertson, P. et al.** Diagnosis of and Screening for Cytomegalovirus Infection in Pregnant Women. *J. Clin. Microbiol.*, 2005, 43, 9, p. 4713–4718.
16. **Picone, O., Vauloup-Fellous, C., Cordier, A. G., Parent Du Châtelet, I., Senat, M. V. et al.** 2-year study on cytomegalovirus infection during pregnancy in a French hospital. *Internat. J. Obstet. Gynaecol.*, 2009, 116, 6, p. 818–823.
17. **Revello, M. G., Gerna, G.** Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2002, 15, p. 680–715.
18. **Sickinger, E., Gay-Andrieu, F., Jonas, G., Schultess, J., Stieler, M. et al.** Performance characteristics of the new Architect Toxo IgG and Toxo IgG Avidity assay. *Diagn. Microbiol. Infectious. Dis.*, 2008, 62, p. 235–244.
19. Special Instruction for Architect CMV IgG Avidity Assay. Příbalový leták. Abbott Diagnostics Division 2007.
20. **Stagno, S., Pass, R. F., Dworsky, M. E.** Congenital cytomegalovirus infection. The relative importance of primary and recurrent maternal infection. *The New Engl. J. Med.*, 1982, 306, 16, p. 945–949.
21. **Stagno, S., Whitley, R. J.** Herpesvirus infections of pregnancy – part I: cytomegalovirus and Epstein-Barr virus infections. *The New Engl. J. Med.*, 1985, 313, 20, p. 1270–1274.
22. **Staras, S. A., Flanders, W. D., Dollard, S. C., Pass, R. F., McGowan, J. E. Jr., Cannon, M. J.** Cytomegalovirus seroprevalence and childhood sources of infection: A population-based study among preadolescents in the United States. *J. Clin. Virol.*, 2008, 43, 3, p. 266–271.

Poděkování: Děkuji laborantkám, slečně Šárce Čupajové a paní Gabriele Provazníkové, za spolupráci při sběru vhodných sér a při provedení všech uvedených testů. Děkuji prof. RNDr. Janu Krejskovi, CSc., za konzultace a cenné rady při přípravě tohoto článku.

Adresa pro korespondenci:
Prim. MUDr. Vlasta Štěpánová, Ph.D.
ÚKM FN
Sokolská 581
500 05 Hradec Králové
e-mail: stepanova@fnhk.cz