

## INTRODUCCIÓN

Reagent POC PUUMALA IgM es un test rápido y simple de usar para la detección de la infección aguda por virus Puumala en suero, en plasma o en sangre de la yema del dedo. Antes de usar el test rápido POC PUUMALA IgM, es importante leer con atención las instrucciones de uso. El test es sólo para uso profesional.

El virus Puumala pertenece al género hantavirus y produce nefropatía epidémica (NE). El virus Puumala está presente en la mayoría de los países europeos y se transmite a los humanos por inhalación o contacto directo con excreciones contaminadas de roedores.

## PRINCIPIO DEL ENSAYO

El test rápido Reagent POC PUUMALA IgM detecta anticuerpos IgM reactivos a la proteína de nucleocápside del virus Puumala. Dado que únicamente los anticuerpos de clase IgM son reactivos, el test detecta la infección aguda. Los anticuerpos de clase IgG no interfieren con el resultado del ensayo.

## CONTENIDO DEL KIT

- 10 cassettes de ensayo *Reagent POC PUUMALA IgM*
- 1 buffer (solución tampón) de corrida *Reagent POC running buffer*
- 1 cassette de Control del Valor Límite *Reagent POC Cut-off control cassette*
- Instrucciones de uso

## MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Pipeta para 5 µl de volumen
- Equipamiento para la toma de muestra
- Tubos de ensayo (de vidrio o tubos Eppendorf) para el procedimiento 2
- Cronómetro

## CONSERVACIÓN

Conservar los tests sin abrir en el sobre de aluminio a +5 ... 25 °C y a 5 ... 50 % de humedad relativa hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta del kit. No usar productos vencidos.

## CONDICIONES DE ENSAYO

Realizar el ensayo a +15 ... 25 °C y a 5 ... 50 % de humedad relativa preferentemente en el laboratorio.

## MUESTRAS

Usar 5 µl de suero, plasma (tratado con heparina o EDTA) o sangre de la yema del dedo como muestra. Se recomienda utilizar muestras frescas (no congeladas). Las muestras congeladas pueden provocar resultados falsos positivos cuando se produce agregación. Si la muestra está agregada o si es de baja calidad por otro motivo, centrifugarla durante 5 minutos a 3000 x g antes de usar.

Manipular todos los materiales biológicos como potencialmente infecciosos. Desechar los tests usados y el material de muestreo según las regulaciones locales y federales.

## REACTIVIDAD CRUZADA

Reactividad cruzada muy probable con los virus Sin Nombre y Andes. Reactividad cruzada débil con los virus Hantaan, Dobrava y Seoul.

El test no es reactivo a las infecciones por virus Parvo, Chlamydia, Rubéola, Sarampión, Epstein Barr, Pogosta o Dengue.

Los niveles altos de factor reumatoide (FR) pueden causar interferencias.

## PERFORMANCE DEL ENSAYO

La especificidad y sensibilidad del test rápido Reagent POC PUUMALA IgM varió de 83 % a 100 % al ser comparado con los tests EIA comerciales (ver Bibliografía).

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO 1

1. Abrir el sobre de aluminio y colocar el cassette de ensayo sobre una superficie plana. No utilizar el cassette si el sobre está roto. Escribir la información del paciente sobre el cassette.
2. Colocar con pipeta **5 µl** de la muestra (suero, plasma o sangre de la yema del dedo) en el pocillo de muestra (S) del cassette de ensayo.



3. Agregar **3 gotas** del buffer de corrida con el frasco gotero en el pocillo de muestra del cassette de ensayo.



4. Esperar **5 minutos** y leer el resultado (ver Interpretación del Resultado). Si el color de fondo aún es rojo, esperar hasta que se vuelve blanco (máximo 15 minutos) y leer el resultado.



## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO 2

Este procedimiento **NO se recomienda para muestras de sangre de la yema del dedo.**

1. Abrir el sobre de aluminio y colocar el cassette de ensayo sobre una superficie plana. No utilizar el cassette si el sobre está roto. Escribir la información del paciente sobre el cassette.
2. Agregar **3 gotas** del buffer de corrida con el frasco gotero en el tubo de ensayo.



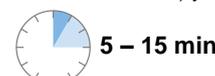
3. Agregar **5 µl** de muestra en el tubo de ensayo (suero o plasma) y mezclar bien.



4. Transferir **todo el líquido** del tubo de ensayo al pocillo de muestra (S) del cassette de ensayo.



5. Esperar **5 minutos** y leer el resultado (ver Interpretación del Resultado). Si el color de fondo aún es rojo, esperar hasta que se vuelve blanco (máximo 15 minutos) y leer el resultado.

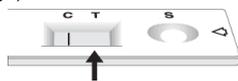


## INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO

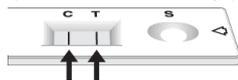
En primer lugar, verificar la aparición de la línea roja en la **Posición Control** de la ventana del cassette (C, ver la ilustración abajo). Esto significa que el ensayo se realizó correctamente. Si la línea roja no aparece, el resultado del ensayo no es válido y es necesario repetirlo.



Luego observar la **Posición Ensayo** (T) de la ventana del cassette. Si la línea roja no aparece en la posición T, el ensayo es **negativo** (ver la ilustración abajo).



Si la línea roja aparece en la posición T de la ventana del cassette, el ensayo es **positivo** (ver la ilustración abajo).



El ensayo generalmente resulta positivo el mismo día en que aparecen los primeros síntomas típicos de la NE. Si la extracción de la muestra se realiza en una etapa muy temprana de la enfermedad, el resultado puede ser negativo. Si se tienen dudas acerca del resultado obtenido, tomar una nueva muestra luego de un par de días y repetir el análisis.

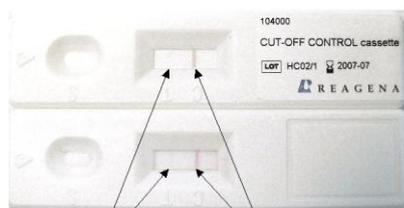
## CONTROL DEL VALOR LÍMITE

El cassette de Control del Valor Límite (Reagena POC Cut-off control cassette) se utiliza como testigo de la línea fantasma débil que a veces se observa en el test rápido de flujo lateral. La línea fantasma se puede interpretar erróneamente como una señal positiva, y se puede deber a varios factores relacionados con el suero, tales como anticuerpos de reactividad cruzada o agregados proteicos.

El cassette de Control del Valor Límite se fabrica imprimiendo en forma permanente la línea control (C) y la línea de ensayo (T) en el cassette. La visualización de la línea correspondiente a la señal del valor límite en un cassette de Control del Valor Límite ayuda a los usuarios a diferenciar las señales verdaderamente positivas de las líneas fantasma, y por lo tanto reduce la variación relacionada con el usuario.

## Uso del cassette de Control del Valor Límite

Colocar el cassette de Control del Valor Límite al lado del cassette de ensayo. Comparar la línea de ensayo del cassette de ensayo con la línea de ensayo en el cassette de Control del Valor Límite.



Línea de ensayo (T)      Línea control (C)

Si la línea de ensayo del cassette de ensayo es **más intensa** que la línea de ensayo en el cassette de Control del Valor Límite, el resultado del ensayo es **positivo**; de lo contrario, el ensayo es **negativo**.

Si aún se tienen dudas acerca del resultado, tomar una nueva muestra luego de algunos días y repetir el ensayo. Nótese que la intensidad de la línea control puede ser diferente en el cassette de Control del Valor Límite y en el cassette de ensayo.

No usar el cassette de Control del Valor Límite para el análisis de muestras. No colocar muestras o cualquier otro líquido en él.

## RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

1. **Volumen de muestra demasiado pequeño.** Si no se dispone de un volumen suficiente de muestra (5 µl) el resultado no puede ser considerado confiable. Esto no ocurre normalmente con las muestras de suero y plasma.
2. **Volumen incorrecto del buffer de corrida.** El volumen correcto para el ensayo es tres gotas de buffer y 5 µl de muestra.  
Si el volumen del buffer de corrida es demasiado pequeño, el líquido no comenzará a fluir por la membrana del test. Esto puede suceder si se agregaron sólo una o dos gotas de buffer de corrida. Si pasados 5 minutos no se observa el flujo en el cassette de ensayo, agregar una gota de buffer de corrida en el pocillo de muestra (S).  
Si el volumen del buffer de corrida es demasiado grande, el test no funcionará en forma adecuada debido al exceso de líquido. Esto puede ocurrir si se agregaron más de tres gotas de buffer de corrida en el cassette de ensayo.
3. **No interpretar el ensayo como positivo** si la línea de ensayo se ve diferente de lo habitual (por ejemplo, borrosa y poco clara, inusualmente ancha o múltiple y difusa).
4. Si el **color de fondo es rojo aún después de 15 minutos**, el resultado no es confiable. Repetir el análisis con un nuevo cassette de ensayo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Hujakka H, Koistinen V, Eerikäinen P, Kuronen I, Mononen I, Parviainen M, Lundkvist Å, Vaheeri A, Närvänen A, Vapalahti O. 2001. New immunochromatographic rapid test for diagnosis of acute Puumala virus infection. *J. Clin. Microbiol.* 39(6):2146-2150.
- Hujakka H, Koistinen V, Eerikäinen P, Kuronen I, Laatikainen A, Kauppinen J, Vaheeri A, Vapalahti O, Närvänen A. 2001. Comparison of a new immunochromatographic rapid test with a commercial EIA for the detection of Puumala virus specific IgM antibodies. *J. Clin. Virol.* 23 (1-2):79-85.
- Hujakka H, Koistinen V, Kuronen I, Eerikäinen P, Parviainen M, Lundkvist Å, Vaheeri A, Vapalahti O, Närvänen A. 2003. Diagnostic rapid tests for acute hantavirus infections: Specific tests for Hantaan, Dobrava and Puumala viruses versus a hantavirus combination test. *J. Virol. Methods* 108(1):117-122.
- Hujakka H., Koistinen V., Eerikäinen P., Kuronen I., Vaheeri A., Lundkvist Å., Vapalahti O. and Närvänen A. A new immunochromatographic rapid test for detection of Puumala virus IgM antibodies. Abstract in The Fifth International Conference on Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome (HFRS), Hantavirus Pulmonary Syndrome (HPS), and Hantaviruses, 13-16 June 2001.
- Hujakka H., Koistinen V., Eerikäinen P., Kuronen I., Lundkvist Å., Vaheeri A., Vapalahti O. and Närvänen A. Serological rapid tests for detection of hantavirus IgM antibodies. Abstract in XIIIth International Congress of Virology, Paris 27th July – 1st August, 2002.
- Vapalahti O., Lundkvist Å., Plyusnin A., Kallio-Kokko H., Koistinen V., Hänninen T., Hujakka H., Närvänen A., Kuronen I. and Vaheeri A. European Hantaviruses: Diagnostic aspects. Abstract in The Fifth International Conference on Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome (HFRS), Hantavirus Pulmonary Syndrome (HPS), and Hantaviruses, 13-16 June 2001.
- Lindegren G., Vene S., Hujakka H., Kuronen I., Vapalahti O., Vaheeri A., Närvänen A. and Lundkvist Å. Comparison of a new immunochromatographic rapid test, POC PUUMALA (ERILAB LTD), with a commercial EIA for the detection of Puumala virus-specific IgM antibodies. Abstract in the European meeting on Viral Zoonoses, 13-16 October 2001
- Klempa B., et al. 2004. First molecular identification of human Dobrava virus infection in central Europe. *J Clin Microb* 42(3): pp 1322-1325.
- Sirola H. 2003. Serological rapid tests for detection of human and rodent hantavirus infections. Doctoral dissertation. Kuopio University Publications C. Natural and Environmental Sciences 155. ISBN 951-781-253-1. ISSN 1235-0486.
- Navarrete M., et al. 2007. Rapid immunochromatographic test for hantavirus andes contrasted with capture-IgM ELISA for detection of Andes-specific IgM antibodies. *J. Med. Virol. Jan*;79(1):41-4.
- Rode O., Turk N., Markotić A. Evaluation of commercial tests for the detection of acute hantavirus infection. Poster in The 8<sup>th</sup> International Conference on HFRS, HPS and Hantaviruses, 20-22 May 2010.

## FABRICANTE

### Reagena International Oy Ltd

Takojantie 18, 70900 Toivala, FINLANDIA  
Tel: +358 17 368 8500  
Fax: +358 17 368 8530  
www.reagena.fi  
info@reagena.fi