

RIDASCREEN® Hantavirus Puumala IgG, IgM

REF K9221
K9231



1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. Les tests RIDASCREEN® Hantavirus Puumala sont des tests immunoenzymatiques destinés à la détection quantitative des anticorps IgG ou IgM dirigés contre l'hantavirus Puumala dans le sérum humain.

Ils sont destinés à être utilisés uniquement en cas d'infection présumée par hantavirus.

2. Résumé et explication du test

Du point de vue taxinomique, l'hantavirus appartient à la famille des Bunyaviridae. Il s'agit d'un virus enveloppé à ARN. L'ARN se présente sous la forme d'un simple brin constitué de trois segments annulaires (1, 2). Les hantavirus sont répandus dans le monde entier. Les différentes espèces d'hantavirus présentent cependant des répartitions géographiques définies par la présence de réservoirs hôtes spécifiques à chaque sérotype. Les espèces Puumala et Dobrava-Belgrade, mais aussi Hantaan sont présentes en Eurasie (3). Le réservoir d'agents pathogènes est systématiquement et asymptomatiquement formé de rongeurs infectés, comme des souris, qui excrètent de grandes quantités d'agents pathogènes dans leur urine, leurs matières fécales et leur salive. Les agents pathogènes sont transmissibles à l'homme par contact ou par inhalation d'un aérosol contenant des matières fécales ou de l'urine contaminées. Outre les symptômes de type grippe, une infection par hantavirus peut provoquer une fièvre hémorragique avec syndrome rénal (*Nephropathia epidemica*, HFRS) ou une atteinte pulmonaire (syndrome pulmonaire à hantavirus [HPS]). Sa létalité dépend en grande partie de la souche virale et de la gravité de l'infection (4.5). La réponse immunitaire humorale cible principalement l'antigène de la nucléocapside de l'hantavirus. Lorsque les symptômes cliniques commencent à se manifester, les anticorps IgM peuvent être détectés avec des méthodes de détection sensibles. Il est généralement possible de détecter les anticorps IgG deux semaines après l'infection (5).

3. Principe du test

La protéine NEV-N recombinante de l'espèce hantavirus Puumala se lie à la surface des puits des barrettes de microtitrage. Les échantillons patient dilués ainsi que les contrôles sont pipetés dans ces puits et incubés à 37 °C. Les anticorps existants se lient aux antigènes immobilisés. Les éléments non fixés de l'échantillon sont éliminés par lavage.

Un anticorps (anti-IgG ou anti-IgM) humain conjugué à de la peroxydase est ensuite ajouté. Tout conjugué non fixé est éliminé par lavage. Le substrat (H₂O₂/TMB) est alors ajouté. Il génère une couleur bleue suite à la liaison de l'enzyme dans les échantillons positifs. Cette réaction est arrêtée en ajoutant un réactif stop. La couleur vire alors du bleu au jaune. La mesure finale est relevée à l'aide d'un photomètre à 450 nm (longueur d'onde de référence 620 nm) dans les 20 minutes qui suivent.

4. Contenu du paquet

Tableau 1 : Réactifs fournis (les réactifs fournis dans le kit permettent de faire 96 déterminations.)

			K9221 IgG	K9231 IgM
Plate	96 tests	Plaque de microtitrage ; 12 barrettes de microtitrage (sécables) dans le support ; revêtues d'antigène d'hantavirus	X	X
SeroPP <i>Couvercle transparent</i>	110 ml	Tampon de dilution de l'échantillon, prêt à l'emploi ; solution saline tamponnée au phosphate, couleur jaune	X	X
SeroWP	100 ml	Solution tampon, concentrée 10 fois ; solution saline tamponnée au Tris	X	X
Control IgG + <i>Bouchon vert</i>	2,5 ml	Contrôle standard IgG, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué, couleur verte	X	
Control IgM + <i>Bouchon rouge</i>	2,5 ml	Contrôle standard IgM, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué, couleur rouge		X
Control IgG - <i>Couvercle transparent</i>	1,2 ml	Contrôle négatif IgG, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué	X	
Control IgM - <i>Couvercle transparent</i>	1,2 ml	Contrôle négatif IgM, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué		X
Control IgG A <i>Bouchon vert</i>	1,2 ml	Contrôle qualité IgG A, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué, couleur verte	X	
Control IgG B <i>Bouchon vert</i>	1,2 ml	Contrôle qualité IgG B, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué, couleur verte	X	
Control IgM A <i>Bouchon rouge</i>	1,2 ml	Contrôle qualité IgM A, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué, couleur rouge		X
Control IgM B <i>Bouchon rouge</i>	1,2 ml	Contrôle qualité IgM B, prêt à l'emploi ; sérum humain dilué, couleur rouge		X
SeroG LD <i>Bouchon vert</i>	12 ml	Conjugué anti-IgG humaine LD (chèvre), prêt à l'emploi ; anticorps conjugués à de la peroxydase dans une solution protéique stabilisée	X	
SeroM LD <i>Bouchon rouge</i>	12 ml	Conjugué anti-IgM humaine LD (chèvre), prêt à l'emploi ; anticorps conjugués à de la peroxydase dans une solution protéique stabilisée		X
SeroSC	12 ml	Substrat H ₂ O ₂ /tétraméthylbenzidine ; prêt à l'emploi	X	X
Stop	12 ml	Réactif stop acide sulfurique 1 N ; prêt à l'emploi	X	X

Les informations sur les substances dangereuses sont conformes aux exigences d'étiquetage. Des informations supplémentaires comme des fiches de données de sécurité (FDS) et des informations sur le produit sont disponibles sur www.r-biopharm.com.

5. Instructions de conservation des réactifs

Le kit de test peut être utilisé jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette s'il est conservé entre 2 et 8 °C. La durée de conservation de la solution tampon diluée est de quatre semaines si elle est conservée entre 2 et 8 °C et d'une semaine si elle est conservée à température ambiante

(20 à 25 °C). Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.

Ouvrir le sachet en aluminium contenant la plaque de microtitrage sans déchirer le joint d'étanchéité. Placer immédiatement toute barrette de microtitrage inutile dans le sachet en aluminium hermétique entre 2 et 8 °C.

Veiller à éviter toute contamination des réactifs et toute exposition du substrat incolore à la lumière directe.

6. Réactifs requis, mais non fournis

6.1. Réactifs

- Eau distillée ou déionisée
- RF-Absorbens pour les déterminations d'IgM (par ex., RIDA[®]RF-Absorbens, réf. Z0202)

6.2. Accessoires

- Flacons d'échantillon
- Incubateur 37 °C
- Agitateur-mélangeur vortex
- Micropipettes de 10 - 100 µl et 100 - 1 000 µl de volume
- Éprouvette graduée (1000 ml)
- Appareil de lavage pour plaques de microtitrage ou pipettes multicanaux
- Photomètre pour plaques de microtitrage (450 nm, filtre de référence ≥ 620 nm)
- Papier filtre (lingettes de laboratoire)
- Conteneur de déchets avec une solution d'hypochlorite à 0,5 %

7. Mesures de précaution

Uniquement pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test doit uniquement être réalisé par un personnel de laboratoire formé. Respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Les instructions d'exécution du test doivent être rigoureusement appliquées. Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche. Éviter tout contact avec les plaies ou les membranes muqueuses. Lors de la manipulation des réactifs et des échantillons, porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, blouse, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons sont manipulés.

Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) sur www.r-biopharm.com.

Après utilisation, les utilisateurs sont responsables de la mise au rebut appropriée de tous les réactifs et matériaux. Respecter les réglementations nationales applicables en matière d'élimination.

Les sérums de contrôle du kit (contrôle standard, contrôle négatif, contrôles qualité A et B) ont été testés négatifs pour les anticorps du VIH et du VHC, ainsi que pour l'antigène HBs. Ils doivent cependant être traités comme s'ils étaient potentiellement infectieux, et manipulés conformément aux règlements nationaux applicables en matière de sécurité, tout comme les échantillons de patients et tous les matériaux touchés.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Ce test a été développé dans le but d'examiner des échantillons de sérum humain. Après prélèvement du sang, le sérum doit être séparé du caillot dès que possible pour éviter l'hémolyse. Les échantillons doivent être conservés au frais ou congelés jusqu'à leur analyse. Éviter de congeler et décongeler les échantillons plusieurs fois et éviter toute contamination microbienne. L'utilisation d'échantillons inactivés par la chaleur, lipémiques, hémolytiques, ictériques ou troubles risque de donner lieu à des résultats erronés.

Tableau 2 : Conservation des échantillons

Sérum non dilué		Sérum dilué
2 à 8 °C	-20 °C	2 à 8 °C
1 semaine	> 1 semaine	7 heures

9. Réalisation du test

9.1. Informations générales

Avant utilisation, tous les réactifs et barrettes de microtitrage doivent être amenés à température ambiante (20 à 25 °C). Sortir les barrettes de microtitrage du sachet en aluminium une fois qu'elles ont atteint la température ambiante. Bien mélanger les réactifs juste avant utilisation. Après utilisation, entreposer rapidement le kit à une température comprise entre 2 et 8 °C.

Prélever uniquement la quantité de réactifs nécessaire à la réalisation du test. Les excédents de réactifs ne doivent pas être remis dans le contenant pour éviter tout risque de contamination.

Les barrettes de microtitrage ne doivent être utilisées qu'une seule fois. Ne pas utiliser les réactifs ou les barrettes de microtitrage si l'emballage est endommagé ou si les contenants fuient.

Certains des réactifs du kit ne sont pas spécifiques au test. Les réactifs portant la mention Sero (par ex., SeroPP) peuvent aussi être utilisés pour d'autres tests RIDASCREEN® Sero ELISA avec les réactifs correspondants.

Les sérums de contrôle sont spécifiques à chaque lot. Les sérums de contrôle d'un kit ne doivent pas être utilisés dans un autre kit dont le numéro de lot est différent.

Les contrôles qualité RIDASCREEN® Sero ELISA A et B sont fournis en tant qu'échantillons de contrôle spécifiques supplémentaires dans le kit de test RIDASCREEN® Sero ELISA correspondant. Il s'agit d'échantillons de contrôle qui permettent d'approfondir l'assurance qualité qui peuvent être utilisés en option. Ils contiennent du sérum de contrôle humain ayant diverses concentrations en anticorps.

9.2. Préparation du tampon de lavage

Mélanger 1 volume de concentré de solution tampon SeroWP avec 9 volumes d'eau distillée. Pour cette étape, verser 100 ml de concentré dans une éprouvette de 1 000 ml, puis compléter le volume avec de l'eau distillée jusqu'à 1 000 ml. Les cristaux éventuellement présents dans le concentré doivent être préalablement dissous à chaud (bain-marie à 37 °C). La durée de conservation de la solution tampon diluée est de quatre semaines à une température comprise entre 2 et 8 °C et de cinq jours à température ambiante (20 à 25 °C).

9.3. Préparation de l'échantillon

Avant de démarrer le test, diluer les échantillons de sérum avec le tampon de dilution de l'échantillon **SeroPP**. À noter que les dilutions sont différentes pour IgG et IgM.

IgG : dilution à 1/200 des échantillons de sérum

Par exemple : 10 µl de sérum + 1 990 µl de **SeroPP**

IgM : dilution à 1/100 des échantillons de sérum

Par exemple : 10 µl de sérum + 990 µl de **SeroPP**

Pour les déterminations d'IgM, il est recommandé de réaliser avant le test une absorption IgG sérique (par ex., avec RIDA[®] RF-Absorbens, réf. Z0202).

Attention !

Le contrôle négatif, le contrôle standard et les contrôles qualités A et B sont prêts à l'emploi et ne doivent pas être dilués ni absorbés.

9.4. Première incubation

Après avoir placé un nombre suffisant de puits dans la plaque, pipeter 100 µl de chaque sérum dilué et de chaque contrôle prêt à l'emploi dans les puits appropriés ; la position A1 (valeur du blanc substrat) reste vide. Ajouter le contrôle négatif **Control IgG | -** ou **Control IgM | -** une fois, et le contrôle positif **Control IgG | +** ou **Control IgM | +** en double.

Ajouter les contrôles qualité **Control IgG | A** et **Control IgG | B** ou les contrôles qualité **Control IgM | A** et **Control IgM | B** une fois. La plaque doit ensuite être placée dans un incubateur à 37 °C pendant 30 minutes. Le fond des puits ne doit pas être en contact avec des matériaux conduisant facilement la chaleur. Couvrir la plaque de microtitrage pendant l'incubation.

Utiliser les contrôles appropriés (IgG ou IgM).

A1	Valeur du blanc réactif
B1	Contrôle négatif
C1	Contrôle standard
D1	Contrôle standard
E1	Contrôle qualité A
F1	Contrôle qualité B
G1	Sérum patient dilué

Attention !

Ne pas placer la plaque de microtitrage dans un récipient d'incubation froid qui sera ensuite amené à 37 °C pendant l'incubation. Le récipient doit être préalablement amené à 37 °C.

9.5. Lavage

Vider les puits dans un conteneur de déchets contenant une solution d'hypochlorite à des fins de désinfection. Ensuite, tapoter la plaque sur du papier absorbant pour éliminer l'humidité restante. Laver ensuite la plaque 4 fois systématiquement avec 300 µl de solution tampon. Après chaque lavage, tapoter la plaque sur une partie sèche du papier absorbant afin de la vider complètement.

Lorsqu'un laveur de microplaques est utilisé, vérifier qu'il est correctement réglé sur le type de plaque utilisé. Après lavage, tapoter la plaque sur un papier absorbant propre pour éliminer l'humidité résiduelle.

9.6. Seconde incubation

Ajouter 100 µl du conjugué anti-IgG humaine LD SeroG LD ou du conjugué anti-IgM humaine LD SeroM LD dans les puits correspondants (y compris A1). Ensuite, incuber la plaque dans un incubateur à 37 °C pendant 30 minutes (voir paragraphe 9.4).

9.7. Lavage

Laver quatre fois en procédant comme indiqué au paragraphe 9.5.

9.8. Troisième incubation

Ajouter 100 µl de substrat SeroSC dans chaque puits. Ensuite, incuber la plaque dans un incubateur à 37 °C pendant 30 minutes. Ajouter ensuite 100 µl de réactif Stop dans chaque puits pour arrêter la réaction. Après avoir soigneusement mélangé la plaque (en tapotant doucement sur le bord de la plaque), mesurer l'extinction à l'aide d'un photomètre à plaques à 450 nm (longueur d'onde de référence ≥ 620 nm). Relever la mesure dans les 20 minutes qui suivent l'arrêt. L'ajustement de la valeur du blanc est effectué par rapport à la valeur du blanc réactif (position A1).

10. Contrôle qualité - signes d'instabilité ou de péremption des réactifs

À des fins de contrôle qualité, il est nécessaire d'inclure le contrôle standard (en double) et le contrôle négatif chaque fois que le test est réalisé. Le test doit être correctement réalisé lorsque la moyenne d'extinction du contrôle standard à 450/620 nm se trouve dans la plage indiquée dans le certificat de qualité fourni pour le lot donné. Si deux mesures s'écartent de plus de 20 % de la moyenne, il est nécessaire de recommencer le test. Le contrôle négatif doit présenter une valeur d'extinction $< 0,3$ à 450/620 nm.

Les contrôles qualité RIDASCREEN[®] Sero ELISA A et B sont des échantillons de contrôle supplémentaires pour approfondir l'assurance qualité ; ils peuvent être utilisés en option. La plage cible est inscrite dans le certificat de qualité fourni pour le lot donné. Les valeurs (U/ml, IU/ml ou mIU/ml) sont des valeurs de référence pour l'utilisateur à des fins d'assurance qualité interne au laboratoire.

Tout écart par rapport aux valeurs attendues, ainsi que toute turbidité ou coloration bleue du substrat avant remplissage des puits peut indiquer une dénaturation des réactifs.

Si les valeurs spécifiées ne sont pas obtenues, vérifier les points suivants avant de renouveler le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Performances fonctionnelles de l'équipement utilisé (par ex. étalonnage)
- Procédure de test correcte
- Inspection visuelle des composants du kit à la recherche d'une contamination ou de fuites ; une solution de substrat devenue bleue ne doit pas être utilisée.

Si les conditions ne sont toujours pas satisfaites après avoir recommencé le test, contacter le fabricant.

11. Évaluation et interprétation

Les tests peuvent être interprétés de trois manières différentes :

1. À l'aide de la courbe standard fournie
2. À l'aide du tableau des valeurs (voir fiche technique fournie)
3. Mathématiquement, avec la méthode des 4 paramètres ou la méthode α .

La valeur du blanc réactif doit être soustraite de toutes les valeurs d'extinction avant l'évaluation.

11.1. Évaluation avec la courbe standard

Dans le cas d'une évaluation avec la courbe standard, la fluctuation journalière doit être corrigée en prenant la moyenne du contrôle standard. Le facteur de correction F est calculé en utilisant la valeur cible pour le contrôle standard et la valeur du contrôle réellement mesurée. Noter la valeur cible du lot dans le certificat de qualité fourni.

$$F = \frac{\text{Valeur cible du contrôle standard}}{\text{Moyenne d'extinction du contrôle standard}}$$

Multiplier toutes les valeurs de DO de l'échantillon par le facteur F. La valeur U/ml correspondante est obtenue à partir de la courbe standard avec ces valeurs corrigées.

11.2. Évaluation avec le tableau de valeurs

Dans le tableau de valeurs, la moyenne d'extinction pour le contrôle standard détermine la colonne avec la plage de valeurs qui s'applique à la mesure actuelle. Dans cette colonne, la valeur d'extinction mesurée de l'échantillon est associée à la plage d'extinction adéquate, et la concentration correspondante en U/ml est obtenue dans la deuxième colonne en partant de la gauche.

Par exemple, la moyenne d'extinction pour le contrôle standard mesuré est de 0,91. Dans ce cas, on utilise la colonne comportant la plage 0,89 à 0,94 dans le tableau pour obtenir le résultat. Un échantillon de patient avec une valeur d'extinction de 0,61 se trouve alors dans une plage de concentrations de 2,01 à 35,0 unités/ml. (Les valeurs ci-dessus sont des exemples qui peuvent être différents des valeurs présentes dans la fiche technique.)

L'évaluation du résultat - positif (+), négatif (-) ou limite (?) déterminé - se trouve dans la première colonne du tableau de valeurs.

	U/ml	Plage des valeurs pour le contrôle standard			
				0,89 à 0,94	
-	< 16,0			< 0,49	
?	16,0 à 20,0			0,49 à 0,56	
+	20,1 à 35,0			0,57 à 0,85	
	35,1 à 60,0			0,86 à 1,20	
	60,1 à 100,0			1,21 à 1,55	
	100,1 à 150,0			1,56 à 1,81	
	150,1 à 400,0			1,82 à 2,39	
	> 400,0			> 2,39	

Figure 1 : Exemple d'une détermination d'IgG (tiré d'une fiche technique spécifique à un lot)

11.3. Évaluation mathématique

Les valeurs nécessaires pour une évaluation mathématique selon la méthode des 4 paramètres ou de la méthode α sont inscrites dans la fiche technique fournie.

11.4. Évaluation et interprétation

Tableau 3 : Évaluation des unités déterminées

	Négatif	Limite	Positif
IgG	< 16	16 à 20	> 20
IgM	< 16	16 à 20	> 20

12. Limites de la méthode

Le test RIDASCREEN® Hantavirus Puumala détecte des anticorps IgG ou IgM dirigés contre l'hantavirus Puumala. Il est destiné à être utilisé uniquement en cas d'infection présumée par hantavirus. Les résultats des tests doivent toujours être interprétés au vu du tableau clinique et d'autres résultats diagnostiques. Le développement d'anticorps peut varier d'un patient à l'autre en termes de durée et de concentration. Un résultat négatif n'exclut pas l'infection par hantavirus, car le stade de l'infection peut être précoce ou les sous-espèces peuvent être différentes. Si la suspicion clinique persiste, il faut recommencer le test quelques jours après. En fonction de l'origine géographique du patient, il est recommandé de tester en même temps une souche d'hantavirus différente, par ex., Dobrava/Hantaan. Un résultat de test positif n'exclut pas la présence d'autres agents pathogènes infectieux.

13. Performances

Tableau 5 : Variation inter-essais (n = 30)

Variation inter-essais	IgG		IgM	
	U/ml	CV	U/ml	CV
Sérum 1	81,71	13,6 %	75,84	13,1 %
Sérum 2	43,03	25,9 %	49,04	12,8 %
Sérum 3	64,43	17,7 %	101,67	19,5 %
Sérum 4	5,87	s/o	1,52	s/o

Tableau 6 : Variation intra-essai (n = 23)

Variation intra-essai	IgG		IgM	
	U/ml	CV	U/ml	CV
Sérum 1	98,57	11,6 %	74,64	5,2 %
Sérum 2	25,30	6,8 %	42,62	10,3 %
Sérum 3	34,68	6,5 %	75,87	13,6 %
Sérum 4	4,48	s/o	1,35	s/o

Tableaux 7 et 8 : Performance clinique comparée à celle d'autres tests ELISA du commerce

IgG		Concurrence			
		Positif	Limite	Négatif	Total
R-Biopharm	Positif	10	3	0	13
	Limite	2	1	0	3
	Négatif	8*	15	43	66
	Total	20	19	43	82

Corrélation positive : 55,6 %*

Corrélation négative : 100 %

*L'incohérence des résultats (positif avec la méthode de la concurrence et négatif avec R-Biopharm) a été vérifiée à l'aide d'un test de référence (LineBlot) qui a produit des résultats négatifs.

IgM		Concurrence			
		Positif	Limite	Négatif	Total
R-Biopharm	Positif	10	2	6	18
	Limite	0	1	6	7
	Négatif	0	3	54	57
	Total	10	6	66	82

Corrélation positive : 100 %

Corrélation négative : 90 %

Tableaux 9 : Résultats obtenus auprès de 200 donneurs examinés dans un centre de don du sang en Allemagne

Sérums de 200 donneurs de sang	IgG	IgM
Négatif	99,0 %	96,5 %
Limite	0,5 %	1,0 %
Positif	0,5 %	2,5 %

14. Historique des versions

Numéro de version	Section et nom
2018-02-01	Version pour la publication

15. Signification des symboles

Symboles généraux

	Diagnostic <i>in vitro</i>
	Respecter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Date de péremption
	Température de conservation
	Référence
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

Symboles spécifiques au test

Plate	Plaque de microtitrage
SeroPP	Tampon de dilution d'échantillon
SeroWP	Tampon de lavage 10x
Control IgG +	Contrôle IgG standard
Control IgM +	Contrôle IgM standard
Control IgG -	Contrôle IgG négatif
Control IgM -	Contrôle IgM négatif
Control IgG A	Contrôle qualité IgG A
Control IgM A	Contrôle qualité IgM A
Control IgG B	Contrôle qualité IgG B
Control IgM B	Contrôle qualité IgM B
SeroG LD	Conjugué anti-IgG humaine
SeroM LD	Conjugué anti-IgM humaine
SeroSC	Substrat TMB
Stop	Réactif stop

16. Bibliographie

1. *Ulrich R, Meisel H, Schütt M, Schmidt J, Kunz A, Klempa B, u. a.* Verbreitung von Hantavirusinfektionen in Deutschland. Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz [Internet]. Juli 2004 [zitiert 23. Mai 2017];47(7). Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/s00103-004-0858-8>
2. *Hahn H, Kaufmann SH, Schulz TF, Suerbaum S, Adler K, Schad D, u. a.* Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. Springer-Verlag; 2009.
3. *Jonsson CB, Figueiredo LTM, Vapalahti O.* A global perspective on hantavirus ecology, epi-demiology, and disease. Clin Microbiol Rev. 2010;23(2):412–41.
4. *Peters MD, Simpson MD, Levy MD.* Spectrum of hantavirus infection: hemorrhagic fever with renal syndrome and hantavirus pulmonary syndrome. Annu Rev Med. 1999;50(1):531–45.
5. *Martens H.* Serologische Untersuchungen zur Prävalenz und zum Verlauf von Hantavirus-Infektionen in Mecklenburg-Vorpommern. Gesundheitswesen. 2000;62(02):71–7.