

# COVID-SeroIndex

## Kantaro Quantitative SARS-CoV-2 IgG Antibody IVD Kit

Powered by R&D Systems®

**REF** DSR200-CE

Für den quantitativen Nachweis von humanen IgG-Antikörpern gegen das SARS-CoV-2-Virus in Serum- und Plasmaproben (K<sub>2</sub>-EDTA/Li-Heparin).

Dieses Kit enthält ausreichend Materialien, um 360 Proben zu testen, vorausgesetzt, der Test wird wie in diesem Dokument beschrieben durchgeführt.



Wenn die äußere oder innere Verpackung Anzeichen einer Beschädigung aufweist, darf dieses Kit nicht verwendet werden. Wenden Sie sich unter 1-800-343-7475 oder [customerservice.na@bio-techne.com](mailto:customerservice.na@bio-techne.com) an den Bio-Techne-Kundendienst.

Diese Packungsbeilage muss vor dem Gebrauch dieses Produkts vollständig gelesen werden.  
*In-vitro-Diagnostikum.*

# INHALTSVERZEICHNIS

ABSCHNITT	SEITE
BESCHREIBUNG UND ANWENDUNGSBEREICH.....	1
GRENZEN DES VERFAHRENS.....	2
TESTPRINZIP .....	3
TECHNISCHE HINWEISE.....	4
MITGELIEFERTE MATERIALIEN UND LAGERUNGSBEDINGUNGEN.....	5
BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN).....	6
WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN.....	7
TABELLE DER SYMBOLE.....	7
ENTNAHME UND LAGERUNG DER PROBEN.....	8
VORBEREITUNG DER REAGENZIEN.....	8
PROBENVORBEREITUNG .....	9
RBD-ELISA-TESTVERFAHREN .....	10
SPIKE ELISA-TESTVERFAHREN .....	12
INTERPRETATION DER ERGEBNISSE.....	14
TYPISCHE DATEN .....	15
ANALYTISCHER MESSBEREICH.....	15
LABORPRÄZISION.....	16
PRÄZISION VON CHARGE ZU CHARGE.....	17
REPRODUZIERBARKEIT VON LABOR ZU LABOR.....	18
ANALYTISCHE SENSITIVITÄT.....	19
LINEARITÄT.....	19
KLINISCHE BEDEUTUNG.....	20
KALIBRIERUNG.....	21
KLASSENSPEZIFITÄT.....	21
SPEZIFITÄT.....	22
STÖRUNGEN.....	22
MIKRONEUTRALISIERUNG.....	23
UNTERSTÜTZUNG UND KUNDENDIENST .....	24

## BESCHREIBUNG UND ANWENDUNGSBEREICH



Das COVID-SeroIndex, Kantaro Quantitative SARS-CoV-2 IgG Antibody IVD Kit besteht aus zwei seriellen direkten Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISA) für den quantitativen Nachweis von humanen IgG-Antikörpern gegen das SARS-CoV-2-Virus in Serum- und Plasmaproben (Li-Heparin und K<sub>2</sub>-EDTA) von Personen, bei denen eine frühere Infektion mit dem SARS-CoV-2-Virus, das COVID-19 verursacht, vermutet wird.

Es wird zuerst ein qualitativer ELISA für die rekombinante rezeptorbindende Domäne von SARS-CoV-2 durchgeführt. Danach folgt für positive Proben ein quantitativer ELISA für das SARS-CoV-2-Spike-Protein in voller Länge. Der Test dient zur quantitativen Bestimmung von neutralisierenden Antikörpern, die bei Patienten mit Verdacht auf eine frühere SARS-CoV-2-Infektion auf eine adaptive Immunantwort gegen SARS-CoV-2 hinweisen, oder zum Nachweis der IgG-Serokonversion bei Patienten nach einer bekannten kürzlichen SARS-CoV-2-Infektion.

Die Bestimmung der Anzahl der Personen, die nachweislich spezifische Antikörper gegen SARS-CoV-2 entwickelt haben, hilft bei der Bestimmung der Seroprävalenz in einer beliebigen geografischen Region oder einer Gruppe von exponierten Personen und kann auf das potenzielle Risiko einer Reinfektion hinweisen. Die Ergebnisse des Tests korrelieren mit der Neutralisierung des SARS-CoV-2-Virus *in-vitro*.

Die Ergebnisse des COVID-SeroIndex, Kantaro Quantitative SARS-CoV-2 IgG Antibody IVD Kit sollten weder als alleinige Grundlage für die Diagnose und noch für die Diagnose von Patienten mit akuter COVID-19-Infektion verwendet werden.

Die Ergebnisse dienen zum Nachweis von SARS-CoV-2-IgG-Antikörpern. IgG-Antikörper gegen SARS-CoV-2 sind in der Regel ab 10–14 Tagen nach der Infektion nachweisbar, sie können jedoch auch später auftreten. Die Gegenwart von IgG-Antikörpern nach einem zuvor negativen Test steht definitionsgemäß für eine IgG-Antikörper-Serokonversion nach einer SARS-CoV-2-Infektion.

Negative Ergebnisse schließen eine akute SARS-CoV-2-Infektion nicht aus und sollten nicht als alleinige Grundlage für Entscheidungen zum Patientenmanagement verwendet werden. IgG-Antikörper sind u. U. nicht länger als zwei Wochen nach der Infektion vorhanden, und Patienten können während der akuten Infektion selbst in der Gegenwart von IgG-Antikörpern infektiös bleiben. Die Ergebnisse müssen mit klinischen Beobachtungen, der Krankengeschichte des Patienten und epidemiologischen Informationen kombiniert werden. Die Sensitivität des COVID-SeroIndex, Kantaro Quantitative SARS-CoV-2 IgG Antibody IVD Kit kurz nach der Infektion ist unbekannt.

Es können falsch positive Ergebnisse für IgG-Antikörper aufgrund von Kreuzreaktivität durch bereits vorhandene Antikörper oder aufgrund anderer möglicher Ursachen auftreten. Die Prävalenz der SARS-CoV-2-Infektion in dem Gebiet, in dem der Test durchgeführt wurde, sollte bei der Interpretation positiver Testergebnisse berücksichtigt werden.

Es ist derzeit nicht bekannt, wie lange SARS-CoV-2-IgG-Antikörper nach einer Infektion persistieren können.

## GRENZEN DES VERFAHRENS

### IVD

- *IN-VITRO*-DIAGNOSTIKUM.
- Nur zur professionellen Verwendung durch entsprechend geschultes Personal in Übereinstimmung mit ISO 15189, CLSI oder anderen geltenden regionalen oder einrichtungsspezifischen Anforderungen.
- Das Kit darf nach Ablauf des auf dem Kit angegebenen Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Die Reagenzien nicht mit Reagenzien anderer Chargen oder anderer Herkunft vermischen oder durch diese ersetzen.
- Änderungen in Bezug auf Verdünnungsmittel, Bediener, Pipettiertechnik, Waschtechnik, Inkubationszeit, Temperatur oder Kit-Alter können zu einem veränderten Bindungsverhalten führen.
- Variationen bei der Entnahme, Verarbeitung und Lagerung von Proben können Unterschiede im Ergebnis der Probe verursachen.
- Dieser Test ist so ausgelegt, dass Störungen durch andere in biologischen Proben vorhandene Faktoren ausgeschlossen werden. Solange nicht alle Faktoren des Immunoassays getestet worden sind, kann die Möglichkeit einer Störung nicht ausgeschlossen werden.
- Folgendes wurde nicht auf eine Störung dieses Tests untersucht:
  - a. Proben von schwangeren Frauen, insbesondere von Multipara (Frauen, die mehr als eine Schwangerschaft hatten)
  - b. Proben von Patienten, die zuvor mit den eng verwandten Virusstämmen SARS-CoV und MERS-CoV infiziert waren
  - c. Proben von Personen, die mit bestimmten Arzneimitteln behandelt wurden, so z. B.:
    - o Virostatika
    - o Antibiotika
    - o Acetylsalicylsäure
    - o Paracetamol
    - o Ibuprofen
    - o Antihypertensiva
    - o Antidiabetika
    - o Hydroxychloroquin

## TESTPRINZIP

Bei dem 2-phasigen Test handelt es sich um einen Antigen-Down-Enzymimmunoassay, bei dem das RBD-Antigen eines rekombinanten SARS-CoV-2-Spike-Proteins verwendet wird, mit dem in Phase 1 eine 96-Well-Mikrotiterplatte vorbeschichtet wird. Bei Zugabe der Probe binden die in der Probe befindlichen Antikörper, die das RBD-Antigen des SARS-CoV-2 erkennen, an die antigenbeschichtete Platte und werden in der Kavität zurückgehalten. Nach dem Auswaschen von ungebundenen Substanzen wird ein enzymgekoppelter monoklonaler Antikörper, der für humanes IgG spezifisch ist, in die Kavitäten gegeben. Nach einem Waschvorgang zum Entfernen von ungebundenen enzymgekoppelten Antikörpern wird ein Substrat in die Kavitäten gegeben und es bildet sich die Farbe im Verhältnis zur Menge der IgG-Antikörper in der Probe aus, die an das SARS-CoV-2-RBD-Antigen gebunden sind. Die Farbausbildung wird gestoppt, und die Intensität der Farbe wird gemessen. Proben mit einem Messwert über einem vorgegebenen Cutoff-Wert werden als positiv gewertet und im ELISA der 2. Phase getestet.

Positive Proben aus der 1. Phase werden mit einem zweiten orthogonalen ELISA untersucht, um den Gehalt an IgG-Antikörpern gegen das SARS-CoV-2-Spike-Protein zu quantifizieren. Für diesen Test wird ein rekombinantes SARS-CoV-2-Spike-Protein auf eine 96-Well-Mikrotiterplatte vorbeschichtet und zur Bindung von Antikörpern aus der Probe verwendet. Bei Zugabe der Probe binden die in der Probe befindlichen Antikörper, die das SARS-CoV-2-Spike-Protein erkennen, an die mit Antigen beschichtete Platte und werden in der Kavität zurückgehalten. Nach dem Auswaschen von ungebundenen Substanzen wird ein enzymgekoppelter monoklonaler Antikörper, der für humanes IgG spezifisch ist, in die Kavitäten gegeben. Nach einem Waschvorgang zum Entfernen von ungebundenen enzymgekoppelten Antikörpern wird ein Substrat in die Kavitäten gegeben und es bildet sich die Farbe im Verhältnis zur Menge der IgG-Antikörper in der Probe aus, die an das SARS-CoV-2-Spike-Protein gebunden sind. Die Farbausbildung wird gestoppt, und die Intensität der Farbe wird gemessen. Das Signal von unbekanntem Proben wird mit einer Kalibrationskurve verglichen, um ein Endergebnis in willkürlichen Einheiten pro Milliliter (AU/ml) zu erhalten.

## TECHNISCHE HINWEISE

- **Um optimale Leistung zu erzielen, darf die Pipettenspitze beim Laden von Kalibratoren, Kontrollen, Proben oder Blindproben nicht die Innenseite der Kavitäten berühren.**
- Bei der Arbeit mit Proteinlösungen ist stets Schaumbildung zu vermeiden.
- Um Kreuzkontaminationen zu vermeiden, die Pipettenspitzen zwischen den Zugaben der verschiedenen Kalibratoren, Proben oder Reagenzien auswechseln. Außerdem für jedes Reagenz gesonderte Gefäße verwenden.
- Bei Verwendung eines automatisierten Plattenwaschgeräts kann das Hinzufügen einer 30-sekündigen Einweichzeit nach der Zugabe des Waschpuffers und/oder das Drehen der Platte um 180° zwischen den Waschschrritten die Präzision des Tests verbessern.
- Die Substratlösung muss bis zur Zugabe zur Platte farblos bleiben. Die Substratlösung vor Licht geschützt aufbewahren. Die Substratlösung sollte von farblos zu einem Blauton umschlagen.
- Die Stopplösung sollte in der gleichen Reihenfolge wie die Substratlösung zur Platte zugegeben werden. Die in den Kavitäten ausgebildete Farbe ändert sich bei der Zugabe von Stopplösung von blau nach gelb. Grün gefärbte Kavitäten zeigen an, dass die Stopplösung nicht gründlich mit der Substratlösung vermischt wurde.

## MITGELIEFERTE MATERIALIEN UND LAGERUNGSBEDINGUNGEN

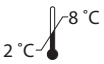


Bei 2-8 °C lagern. Kit nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

ARTIKEL	ARTIKEL-NR.	MENGE	BESCHREIBUNG	LAGERUNG DES GEÖFFNETEN MATERIALS
RBD Antigen Microplate (RBD-Antigen-Mikrotiterplatte)	899281	4 Platten	96-Well-Mikrotiterplatte aus Polystyrol beschichtet mit RBD-Antigen des rekombinanten SARS-CoV-2-Spike-Proteins, IVD.	Für jeden Test eine neue Platte verwenden. Nach dem Gebrauch entsorgen.
Spike Protein Microplate (Spike-Protein-Mikrotiterplatte)	899282	5 Platten	96-Well-Mikrotiterplatte aus Polystyrol beschichtet mit rekombinantem SARS-CoV-2-Spike-Protein voller Länge, IVD.	
RBD Conjugate Concentrate - IgG ELISA (RBD-Konjugatkonzentrat - IgG-ELISA)	899283	1 Fläschchen	125 µl eines 1000-fach konzentrierten monoklonalen Antikörpers, spezifisch für humanes IgG, konjugiert mit Meerrettichperoxidase, IVD.	Kann bei 2-8 °C bis zu 1 Monat lang gelagert werden.* Verdünte Lösungen nach Gebrauch entsorgen.
Spike Conjugate Concentrate - IgG ELISA (Spike-Konjugatkonzentrat - IgG-ELISA)	899284	1 Fläschchen	125 µl eines 1000-fach konzentrierten monoklonalen Antikörpers, spezifisch für humanes IgG, konjugiert mit Meerrettichperoxidase, IVD.	
Conjugate Buffer - IgG ELISA (Konjugatpuffer - IgG-ELISA)	896967	1 Flasche	120 ml einer gepufferten Proteinbasis mit Konservierungsmitteln, IVD.	
Sample Buffer - IgG ELISA (Probenpuffer - IgG-ELISA)	896968	3 Flaschen	91 ml einer gepufferten Proteinbasis mit Konservierungsmitteln, IVD.	
TMB Substrate - IgG ELISA (TMB-Substrat - IgG-ELISA)	895276	1 Flasche	116 ml stabilisiertes Wasserstoffperoxid und Chromogen (Tetramethylbenzidin), IVD.	
Stop Solution - IgG ELISA (Stopplösung - IgG-ELISA)	895277	1 Flasche	116 ml saure Lösung, IVD.	
Wash Buffer - IgG ELISA (Waschpuffer - IgG-ELISA)	895278	2 Flaschen	101 ml einer 25-fach konzentrierten Lösung von gepuffertem Tensid mit Konservierungsmitteln, IVD.	

\* Vorausgesetzt, das Verfallsdatum des Kits wird nicht überschritten.

## MITGELIEFERTE MATERIALIEN UND LAGERUNGSBEDINGUNGEN FORTSETZUNG

ARTIKEL	ARTIKEL-NR.	MENGE	BESCHREIBUNG	LAGERUNG DES GEÖFFNETEN MATERIALS
RBD Positive Control (RBD-Positivkontrolle)	83700	1 Fläschchen	1,0 ml monoklonaler Antikörper in einer gepufferten Proteinbasis mit Konservierungsmitteln, IVD.	<p>Bei 2-8 °C lagern. Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett des Fläschchens angegeben.* Verdünnte Lösungen nach Gebrauch entsorgen.</p> 
RBD Negative Control (RBD-Negativkontrolle)	83701	1 Fläschchen	1,0 ml einer gepufferten Proteinbasis mit Konservierungsmitteln, IVD.	
Spike Low Control (Niedrige Spike-Kontrolle)	83702	1 Fläschchen	1,0 ml monoklonaler Antikörper in einer gepufferten Proteinbasis mit Konservierungsmitteln, IVD.	
Spike Mid Control (Mittlere Spike-Kontrolle)	83703	1 Fläschchen	1,0 ml monoklonaler Antikörper in einer gepufferten Proteinbasis mit Konservierungsmitteln, IVD.	
Spike High Control (Hohe Spike-Kontrolle)	83704	1 Fläschchen	1,0 ml monoklonaler Antikörper in einer gepufferten Proteinbasis mit Konservierungsmitteln, IVD.	
Spike Calibrator 1 (Spike-Kalibrator 1) (0 AU/ml)	83705	1 Fläschchen	1,25 ml eines monoklonalen Antikörpers in einer gepufferten Basis mit Konservierungsmitteln, IVD.	
Spike Calibrator 2 (Spike-Kalibrator 2) (0,82 AU/ml)	83706	1 Fläschchen	1,25 ml eines monoklonalen Antikörpers in einer gepufferten Basis mit Konservierungsmitteln, IVD.	
Spike Calibrator 3 (Spike-Kalibrator 3) (2,47 AU/ml)	83707	1 Fläschchen	1,25 ml eines monoklonalen Antikörpers in einer gepufferten Basis mit Konservierungsmitteln, IVD.	
Spike Calibrator 4 (Spike-Kalibrator 4) (7,41 AU/ml)	83708	1 Fläschchen	1,25 ml eines monoklonalen Antikörpers in einer gepufferten Basis mit Konservierungsmitteln, IVD.	
Spike Calibrator 5 (Spike-Kalibrator 5) (22,2 AU/ml)	83709	1 Fläschchen	1,25 ml eines monoklonalen Antikörpers in einer gepufferten Basis mit Konservierungsmitteln, IVD.	
Spike Calibrator 6 (Spike-Kalibrator 6) (66,7 AU/ml)	83710	1 Fläschchen	1,25 ml eines monoklonalen Antikörpers in einer gepufferten Basis mit Konservierungsmitteln, IVD.	
Spike Calibrator 7 (Spike-Kalibrator 7) (200 AU/ml)	83711	1 Fläschchen	1,25 ml eines monoklonalen Antikörpers in einer gepufferten Basis mit Konservierungsmitteln, IVD.	

## BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)

- Heizblock oder Wasserbad
- Mikrotiterplatten-Lesegerät, das für die Messung der Extinktion bei 450 nm geeignet ist und über eine Korrekturwellenlänge verfügt, die auf 540 nm oder 570 nm eingestellt ist.
- Pipetten und Pipettenspitzen
- Demineralisiertes oder destilliertes Wasser
- Spritzflasche, Mehrkanal-Pipette/-Dispenser oder automatisiertes Mikrotiterplatten-Waschgerät
- Messzylinder, 25 ml und 500 ml
- **Polypropylen**-Reagenzgläser zur Verdünnung der Proben
- Plattenversiegelungen (R&D Systems®, Katalog-Nr. DY992) (optional)



## WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN



- Einige Komponenten in diesem Kit enthalten Materialien menschlichen Ursprungs und wurden negativ auf Antikörper gegen HIV 1 und 2, Hepatitis C und Hepatitis-B-Oberflächenantigen getestet. Da keine Testmethode eine vollständige Sicherheit bieten kann, dass keine Infektionserreger vorhanden sind, ist das Material als potenziell infektiös zu handhaben, wobei die Vorsichtsmaßnahmen gemäß der OSHA Bloodborne Pathogen Rule (29 CFR Part 1910, 1030) oder andere vergleichbare Vorschriften zur Biosicherheit zu beachten sind.
- Bei der Stopplösung im Kit handelt es sich um eine saure Lösung.
- Einige Komponenten in diesem Kit enthalten ein Konservierungsmittel, das eine allergische Hautreaktion hervorrufen kann. Das Einatmen von Nebel ist zu vermeiden.
- Das Substrat kann Reizungen der Haut, Augen und Atemwege verursachen. Das Einatmen von Dämpfen ist zu vermeiden.
- Schutzhandschuhe, Schutzkleidung, Augen- und Gesichtsschutz tragen. Nach der Handhabung die Hände gründlich waschen. Vor der Verwendung das Sicherheitsdatenblatt auf unserer Website einsehen.
- Alle Abfälle müssen entsprechend den örtlichen Vorschriften entsorgt werden.

## TABELLE DER SYMBOLE

SYMBOL	BEDEUTUNG
	Katalogbezeichnung oder -nummer des Herstellers
	Verwendbar bis
	Chargennummer
	CE-Kennzeichnung gemäß der Europäischen Medizinprodukte-Richtlinie
	Bevollmächtigter der Europäischen Union
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Vorsichtshinweis oder Warnung
	Gesundheitsgefahren
	Hersteller
	Biologische Risiken
	Korrosiv
	Vor Sonnenlicht geschützt aufbewahren
	Trocken aufbewahren
	Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist und das Produkt im Inneren beschädigt erscheint.
	Temperaturbegrenzung (Beispielgrenzwerte dargestellt)
	Einmalige Produktkennung
	Packungsinhalt
	Verschreibungspflichtig Achtung: Nach Bundesrecht (USA) darf dieses Produkt nur von einem Arzt oder auf dessen Anordnung verkauft werden.
	Anwendungsbereich

## ENTNAHME UND LAGERUNG DER PROBEN

**Beim Einfrieren von Proben wiederholte Gefrier-Auftau-Zyklen vermeiden. Die Proben nicht häufiger als 3 Mal einfrieren.**

**Serum** - Ein Serumentrennröhrchen (SST) verwenden und die Proben 30 Minuten lang bei Raumtemperatur gerinnen lassen, bevor sie 15 Minuten lang bei 1000 g zentrifugiert werden. Das Serum entfernen und sofort testen oder die Proben aliquotieren und bis zu 7 Tage bei 4 °C lagern.

**Plasma** - Plasma in K<sub>2</sub>-EDTA oder Li-Heparin als Antikoagulans sammeln. Innerhalb von 30 Minuten nach der Entnahme 15 Minuten lang bei 1000 g zentrifugieren. Sofort testen oder aliquotieren und bis zu 7 Tage bei 4 °C lagern.

**Hinweis:** Citratplasma wurde nicht für die Verwendung in diesem Test validiert.

## VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

**1X RBD-Konjugat** - Für jede Platte 11 µl RBD Conjugate Concentrate (RBD-Konjugatkonzentrat) (1000-fach) (Artikel-Nr. 899283) zu 11 ml Conjugate Buffer (Konjugatpuffer) (Artikel-Nr. 896967) zugeben. Gründlich mischen.

**1X Spike-Konjugat** - Für jede Platte 11 µl Spike Conjugate Concentrate (Spike-Konjugatkonzentrat) (1000-fach) (Artikel-Nr. 899284) zu 11 ml Conjugate Buffer (Konjugatpuffer) (Artikel-Nr. 896967) zugeben. Gründlich mischen.

**Waschpuffer** - Wenn sich im Konzentrat Kristalle gebildet haben, auf Raumtemperatur bringen und vorsichtig mischen, bis sich die Kristalle vollständig aufgelöst haben. Für eine Platte 20 ml Wash Buffer Concentrate (Waschpuffer-Konzentrat) (Artikel-Nr. 895278) in demineralisiertem oder destilliertem Wasser verdünnen, um 500 ml Waschpuffer herzustellen.

**Herstellung der Kontrollen** - Jede Kontrolle unmittelbar vor dem Gebrauch 5-fach verdünnen, indem 0,4 ml Sample Buffer (Probenpuffer) (Artikel-Nr. 896968) in ein Röhrchen pipettiert wird. 0,1 ml Kontrolle zugeben. Für alle 5 Kontrollen wiederholen (RBD-Positivkontrolle, RBD-Negativkontrolle, niedrige Spike-Kontrolle, mittlere Spike-Kontrolle und hohe Spike-Kontrolle). Für jede Platte frisch herstellen.

**Kalibratoren** - Keine Vorbereitung erforderlich; die Kalibratoren werden gebrauchsfertig geliefert.

## PROBENVORBEREITUNG

**Hinweis:** Die Proben müssen vor der Verwendung in diesem Test hitzeinaktiviert werden.

### Hitzeinaktivierung:

1. Die Proben mit Hilfe eines Wasserbads oder Hitzeblocks bei 56 °C 1 Stunde lang hitzeinaktivieren.

**Hinweis:** Die Proben nicht länger als 1 Stunde bei 56 °C stehen lassen.

2. Die Proben aliquotieren und bei 4 °C für bis zu 7 Tage nach der Entnahme lagern.

### RBD-Test:

1. Die hitzeinaktivierten Proben in Mikrozentrifugenröhrchen 5-fach verdünnen, indem 10 µl der Probe zu 40 µl des Probenpuffers zugegeben werden.
2. Die Proben weiter 20-fach verdünnen (endgültige Verdünnung: 100-fach), indem 10 µl der verdünnten Probe aus Schritt 1 (5-fach verdünnt) zu 190 µl des Probenpuffers zugegeben werden.

### Spike-Test:

1. Die hitzeinaktivierten Proben in Mikrozentrifugenröhrchen 5-fach verdünnen, indem 10 µl der Probe zu 40 µl des Probenpuffers zugegeben werden.
2. Die Proben weiter 40-fach verdünnen (endgültige Verdünnung: 200-fach), indem 10 µl der verdünnten Probe aus Schritt 1 (5-fach verdünnt) zu 390 µl des Probenpuffers zugegeben werden.

## RBD-ELISA-TESTVERFAHREN

**Alle Reagenzien und Proben vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur bringen.**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blindprobe	S6	S14	S22	S30	S38	S46	S54	S62	S70	S78	S86
B	Positivkontr.	S7	S15	S23	S31	S39	S47	S55	S63	S71	S79	S87
C	Negativkontr.	S8	S16	S24	S32	S40	S48	S56	S64	S72	S80	S88
D	S1	S9	S17	S25	S33	S41	S49	S57	S65	S73	S81	S89
E	S2	S10	S18	S26	S34	S42	S50	S58	S66	S74	S82	S90
F	S3	S11	S19	S27	S35	S43	S51	S59	S67	S75	S83	Blindprobe
G	S4	S12	S20	S28	S36	S44	S52	S60	S68	S76	S84	Positivkontr.
H	S5	S13	S21	S29	S37	S45	S53	S61	S69	S77	S85	Negativkontr.

1. Pro Kavität 100 µl der Kontrolle (5-fach verdünnt), der hitzeinaktivierten Probe (100-fach verdünnt, Test in Einzelbestimmungen) oder des Probenpuffers (Blindprobe) zugeben. 2 Stunden lang bei Raumtemperatur auf dem Labortisch inkubieren. Bei Bedarf mit einem selbstklebenden Streifen abdecken.
2. Jede Kavität absaugen und waschen; den Vorgang zweimal wiederholen (insgesamt drei Waschvorgänge). Waschen, indem jede Kavität mit einer Spritzflasche, einer Mehrkanal-Pipette oder einem automatischen Waschgerät mit Waschpuffer (400 µl) gefüllt wird. Die vollständige Entfernung der Flüssigkeit in jedem Schritt ist für eine gute Leistung unerlässlich. Verbleibenden Waschpuffer nach dem letzten Waschvorgang durch Absaugen oder Dekantieren entfernen. Die Platte umdrehen und auf sauberen Papiertüchern ausklopfen.
3. 100 µl 1X RBD-Konjugat in jede Kavität geben. Eine Stunde lang bei Raumtemperatur inkubieren. Bei Bedarf mit einem selbstklebenden Streifen abdecken.
4. Den Absaug-/Waschvorgang wie in Schritt 2 beschrieben wiederholen.
5. 100 µl Substratlösung in jede Kavität geben. 20 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren. Vor Licht geschützt aufbewahren.
6. 100 µl Stopplösung in jede Kavität geben. Die Farbe in der Kavität sollte sich von blau nach gelb ändern. Wenn die Kavität nicht grün oder die Farbänderung nicht gleichmäßig ist, vorsichtig gegen die Platte klopfen, um eine gründliche Mischung zu gewährleisten.
7. Innerhalb von 30 Minuten (mindestens 0 Minuten, maximal 30 Minuten) die optische Dichte jeder Kavität mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät bestimmen, das auf 450 nm eingestellt ist. Wenn Wellenlängenkorrektur verfügbar ist, diese auf 540 nm oder 570 nm einstellen. Wenn keine Wellenlängenkorrektur verfügbar ist, die Messwerte bei 540 nm oder 570 nm von den Messwerten bei 450 nm subtrahieren. Durch diese Subtraktion werden optische Fehler in der Platte korrigiert. Direkt bei 450 nm durchgeführte Messungen ohne Korrektur sind u. U. höher und weniger genau.

## RBD-ELISA-TESTVERFAHREN *FORTSETZUNG*

### **Berechnung der RBD-ELISA-Ergebnisse:**

Die RBD Positive Control (RBD-Positivkontrolle) (5-fach verdünnt), Artikel-Nr. 83700, wird zur Normalisierung verwendet. Die korrigierten OD-Werte der Probe (siehe RBD-ELISA, Schritt 7) werden durch den korrigierten OD-Wert der RBD-Positivkontrolle (5-fach verdünnt) geteilt, um einen Cutoff-Index-Wert (CI-Wert) zu berechnen.

$$\frac{\text{Korrigierter OD-Wert der Probe}}{\text{Mittelwert des korrigierten OD-Werts der RBD-Positivkontrolle}} = \text{Cutoff-Index (CI)}$$

Wenn der berechnete CI-Wert  $\geq 0,70$  ist, gilt die Probe als RBD-positiv und erfordert eine Bestätigung mit dem Spike-ELISA. Wenn der CI-Wert  $< 0,7$  ist, ist die Probe negativ und enthält keine nachweisbaren Konzentrationen von Antikörpern gegen das RBD-Proteinfragment des SARS-CoV-2-Spike-Proteins.

### **RBD-Qualitätskontrolle:**

Jedes Testlabor sollte ein Qualitätskontrollprogramm einrichten, um die Leistung des COVID-SerolIndex-Immunoassays zu überwachen. Im Rahmen dieses Programms sollten in jedem Test Kontrollen mit bekannten Anti-SARS-CoV-2-IgG-Konzentrationen (im Lieferumfang enthalten) getestet werden. Eine zufriedenstellende Leistung wird erreicht, wenn die Kontrollen innerhalb der im Analysezertifikat angegebenen Bereiche oder innerhalb des Intervalls liegen, das mit einem geeigneten internen Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors bestimmt wurde. Die Qualitätskontrollverfahren des eigenen Labors befolgen; wenn die erzielten Ergebnisse nicht innerhalb der akzeptablen Grenzwerte liegen, können die Testergebnisse ungünstig sein.

Der korrigierte OD-Wert der Blindprobe sollte  $< 0,03$  OD sein.

## SPIKE ELISA-TESTVERFAHREN

Alle Reagenzien und Proben vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur bringen.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Kal 1	Kal 1	S3	S11	S19	S27	S35	S43	S51	S59	S67	S72
B	Kal 2	Kal 2	S4	S12	S20	S28	S36	S44	S52	S60	S68	S73
C	Kal 3	Kal 3	S5	S13	S21	S29	S37	S45	S53	S61	S69	S74
D	Kal 4	Kal 4	S6	S14	S22	S30	S38	S46	S54	S62	S70	S75
E	Kal 5	Kal 5	S7	S15	S23	S31	S39	S47	S55	S63	S71	S76
F	Kal 6	Kal 6	S8	S16	S24	S32	S40	S48	S56	S64	Niedrig	Niedrig
G	Kal 7	Kal 7	S9	S17	S25	S33	S41	S49	S57	S65	Mittel	Mittel
H	S1	S2	S10	S18	S26	S34	S42	S50	S58	S66	Hoch	Hoch

1. Pro Kavität 100 µl der Kontrolle (5-fach verdünnt), des Kalibrators (unverdünnt) oder der RBD-positiven hitzeinaktivierten Probe (200-fach verdünnt, Test in Einfachbestimmungen) zugeben. 2 Stunden lang bei Raumtemperatur auf dem Labortisch inkubieren. Bei Bedarf mit einem selbstklebenden Streifen abdecken.
2. Jede Kavität absaugen und waschen; den Vorgang zweimal wiederholen (insgesamt drei Waschvorgänge). Waschen, indem jede Kavität mit einer Spritzflasche, einer Mehrkanal-Pipette oder einem automatischen Waschgerät mit Waschpuffer (400 µl) gefüllt wird. Die vollständige Entfernung der Flüssigkeit in jedem Schritt ist für eine gute Leistung unerlässlich. Verbleibenden Waschpuffer nach dem letzten Waschvorgang durch Absaugen oder Dekantieren entfernen. Die Platte umdrehen und auf sauberen Papiertüchern ausklopfen.
3. 100 µl 1X Spike-Konjugat in jede Kavität geben. Eine Stunde lang bei Raumtemperatur inkubieren. Bei Bedarf mit einem selbstklebenden Streifen abdecken.
4. Den Absaug-/Waschvorgang wie in Schritt 2 beschrieben wiederholen.
5. 100 µl Substratlösung in jede Kavität geben. 20 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren. Vor Licht geschützt aufbewahren.
6. 100 µl Stopplösung in jede Kavität geben. Die Farbe in der Kavität sollte sich von blau nach gelb ändern. Wenn die Kavität nicht grün oder die Farbänderung nicht gleichmäßig ist, vorsichtig gegen die Platte klopfen, um eine gründliche Mischung zu gewährleisten.
7. Innerhalb von 30 Minuten (mindestens 0 Minuten, maximal 30 Minuten) die optische Dichte jeder Kavität mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät bestimmen, das auf 450 nm eingestellt ist. Wenn Wellenlängenkorrektur verfügbar ist, diese auf 540 nm oder 570 nm einstellen. Wenn keine Wellenlängenkorrektur verfügbar ist, die Messwerte bei 540 nm oder 570 nm von den Messwerten bei 450 nm subtrahieren. Durch diese Subtraktion werden optische Fehler in der Platte korrigiert. Direkt bei 450 nm durchgeführte Messungen ohne Korrektur sind u. U. höher und weniger genau.

## **SPIKE-ELISA-TESTVERFAHREN** FORTSETZUNG

### **Berechnung der Spike-ELISA-Ergebnisse:**

Die Extinktion jeder Kavität mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät bei 450 nm als Primärwellenlänge und 540 nm oder 570 nm als Referenzwellenlänge ablesen. Den Mittelwert der doppelten Messwerte für jeden Kalibrator und jede Kontrolle berechnen.

Eine Standardkurve erstellen, indem die Kalibratorwerte mit einer Computersoftware reduziert werden, die eine logistische Kurvenanpassung mit vier Parametern (4-PL) erzeugen kann.

Proben, die unter die Bestimmungsgrenze (LoQ) von 3,20 AU/ml fallen, werden als negativ betrachtet. Werte oberhalb des analytischen Messbereichs sollten als > 160 AU/ml angegeben werden.

### **Spike-Qualitätskontrolle:**

Jedes Testlabor sollte ein Qualitätskontrollprogramm einrichten, um die Leistung des COVID-SeroIndex-Immunoassays zu überwachen. Im Rahmen dieses Programms sollten in jedem Test Kontrollen mit bekannten Anti-SARS-CoV-2-IgG-Konzentrationen (im Lieferumfang enthalten) getestet werden. Eine zufriedenstellende Leistung wird erreicht, wenn die Kontrollen innerhalb der im Analysezertifikat angegebenen Bereiche oder innerhalb des Intervalls liegen, das mit einem geeigneten internen Qualitätskontrollverfahren Ihres Labors bestimmt wurde. Die Qualitätskontrollverfahren des eigenen Labors befolgen; wenn die erzielten Ergebnisse nicht innerhalb der akzeptablen Grenzwerte liegen, können die Testergebnisse ungültig sein.

## INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die Bewertung der Ergebnisse des COVID-SerolIndex Kits sollte erfolgen, nachdem die Positiv- und Negativkontrollen untersucht und für gültig und akzeptabel befunden wurden. Wenn die Kontrollen ungültig sind, können die Ergebnisse des Patienten nicht interpretiert werden.

**NEGATIVES Ergebnis des RBD-Screenings:** Zeigt an, dass eine 100-fache Verdünnung der getesteten Probe keine nachweisbaren Konzentrationen von spezifischen Antikörpern gegen das RBD-Proteinfragment des SARS-CoV-2-Spike-Proteins enthielt und keine Hinweise auf ein nachweisbares Maß an Immunantwort auf das SARS-CoV-2-Virus vorliegen. Es wird angenommen, dass der Patient, dem die Probe entnommen wurde, zum Zeitpunkt der Probenentnahme nicht mit dem SARS-CoV-2-Virus infiziert war. Ein negatives Ergebnis schließt die Möglichkeit einer sehr frühen Immunantwort nicht aus, bei der noch keine nachweisbaren Konzentrationen von antigenspezifischen IgG-Antikörpern produziert werden.

**MUTMASSLICH POSITIVES Ergebnis des RBD-Screenings:** Die 100-fache Verdünnung der Probe ergab eine positive Reaktion auf das RBD-Proteinfragment des SARS-CoV-2-Spike-Proteins. Dies muss durch Testen der Reaktivität gegen das Spike-Protein des Virus in voller Länge bestätigt werden, um eine angemessene Konzentration von zirkulierenden Antikörpern in der getesteten Probe zu bestätigen.

**ANTIKÖRPER-Konzentration:** Mit dem quantitativen ELISA-Test können die Konzentrationen von SARS-CoV-2-IgG-Antikörpern reproduzierbar gemessen werden, und die Ergebnisse werden in willkürlichen Einheiten pro Milliliter Testprobe angegeben. Es wurde experimentell gezeigt, dass diese Zahlenwerte mit der viralen Neutralisierungsaktivität *in vitro* korrelieren. Der experimentell ermittelte Messbereich beträgt 3,2–160 AU/ml.

Die zirkulierenden Konzentrationen in AU/ml von IgG-Antikörpern, die für das Spike-Protein des SARS-CoV-2-Virus spezifisch sind, können in klinisch relevante Konzentrationen unterteilt werden, die mit der neutralisierenden Aktivität von SARS-CoV-2 *in vitro* korrelieren.

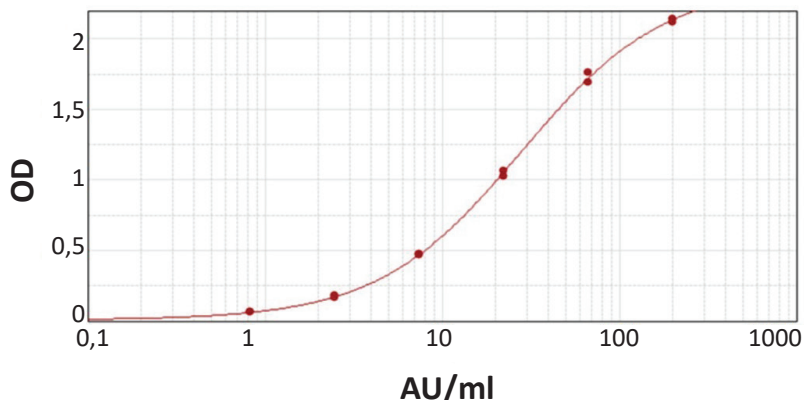
Die Verwendung von AU/ml ist eine akzeptierte Methode der Quantifizierung zur exakten Messung der Substanz von analytischem Interesse in Abwesenheit eines rückverfolgbaren Standards. Diese Einheiten stehen in einem direkt proportionalen Verhältnis zueinander, um das Verhältnis der Menge des Analyten zu einem vorab festgelegten Referenzmaterial anzuzeigen.

ANTIKÖRPERKONZENTRATION (AU/ml)	KLINISCHE INTERPRETATION
< 3,2 AU/ml (LoQ)	Negativ. Keine oder eine sehr frühe Immunantwort. Unbestimmter Immunstatus in Bezug auf SARS-CoV-2. Wenn klinisch angezeigt, in 3 Wochen wiederholen.
3,2–10 AU/ml	Niedrig positiv. Wahrscheinlich eine sehr frühe Immunantwort. Wenn klinisch angezeigt, in 3 Wochen wiederholen.
10–25 AU/ml	Mäßige Antikörperkonzentration. Es wurde nachgewiesen, dass mehr als 90 % der Personen mit dieser für SARS-CoV-2 spezifischen IgG-Konzentration <i>in vitro</i> eine virale Neutralisierungsaktivität aufweisen.
> 25 AU/ml	Hohe Antikörperkonzentration. Zeigt eine deutlich erhöhte Serumkonzentration an, möglicherweise einen starken Immunstatus. Es wurde nachgewiesen, dass 90–100 % der Personen mit dieser für SARS-CoV-2 spezifischen IgG-Konzentration <i>in vitro</i> eine virale Neutralisierungsaktivität aufweisen.



## TYPISCHE DATEN

Diese Standardkurve dient lediglich zur Veranschaulichung. Es sollte eine Standardkurve für jede Spike-Platte erstellt werden.



Kalibrator	AU/ml	Mittlerer OD-Wert
1	0	0,003
2	0,82	0,062
3	2,47	0,175
4	7,41	0,471
5	22,2	1,048
6	66,7	1,726
7	200	2,132

## ANALYTISCHER MESSBEREICH

Der RBD-ELISA ist ein qualitativer ELISA und es gibt keinen definierten analytischen Messbereich (AMR). Das Ergebnis des Produkts wird in CI-Werten angegeben. CI-Werte werden berechnet, indem der korrigierte OD-Wert für unbekannte Proben durch den korrigierten OD-Wert für den Mittelwert der RBD-Positivkontrolle dividiert wird. Beim RBD-ELISA werden unbekannte Proben mit einem  $CI \geq 0,70$  als positiv und unbekannte Proben mit einem  $CI < 0,70$  als negativ betrachtet. Unbekannte Proben, die mit dem RBD-ELISA positiv getestet werden, werden anschließend mit dem Spike-ELISA getestet. Dagegen werden unbekannte Proben, die mit dem RBD-ELISA negativ getestet werden, endgültig als negativ eingestuft.

Der analytische Messbereich für den Spike-Protein-ELISA wurde anhand der Ergebnisse der unten beschriebenen analytischen Validierungsstudien bestimmt. Dieser Bereich basiert auf der Bestimmungsgrenze für die untere Grenze des Messintervalls, der in der Linearitätsstudie beschriebenen Bestimmung des linearen Bereichs und dem hohen Kalibrator, der auf 200 AU/ml eingestellt ist. Die unten beschriebenen Studien belegen die Präzision und Linearität über den analytischen Messbereich. Die Ergebnisse des quantitativen Spike-ELISA werden in AU/ml angegeben. Der angegebene analytische Messbereich beträgt 3,2–160 AU/ml.

## LABORPRÄZISION

**RBD-ELISA** - Die Wiederholpräzision innerhalb des Labors wurde durch Messung von vier Serumproben in zwei Tests pro Tag, drei Replikaten pro Test über drei Tage bestimmt. Positiv- und Negativkontrollen wurden ebenfalls mit zwei Replikaten pro Test in zwei Tests pro Tag über drei Tage gemessen.

Probe	n	Mittelwert (CI)	Wiederholpräzision		Gesamt-Laborpräzision	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)
Negativkontrolle	12	0,040	0,004	11,0	0,005	12,3
Positivkontrolle	12	1,00	0,035	3,5	0,035	3,5
Probe 1	18	0,153	0,005	3,0	0,012	7,9
Probe 2	18	0,756	0,031	4,1	0,077	10,2
Probe 3	18	1,06	0,073	6,9	0,093	8,7
Probe 4	18	1,88	0,062	3,3	0,116	6,2

**Spike-ELISA** - Die Wiederholpräzision innerhalb des Labors wurde durch Messung von drei Serumproben in zwei Tests pro Tag, drei Replikaten pro Test über drei Tage bestimmt. Die niedrigen, mittleren und hohen Kontrollen wurden ebenfalls mit zwei Replikaten pro Test in zwei Tests pro Tag über drei Tage gemessen.

Probe	n	Mittelwert (AU/ml)	Wiederholpräzision		Gesamt-Laborpräzision	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)
Niedrige Kontrolle	30	2,29	0,150	6,6	0,170	7,5
Mittlere Kontrolle	30	9,68	0,590	6,1	0,640	6,6
Hohe Kontrolle	30	38,1	2,57	6,8	3,30	8,7
Probe 1	18	3,47	0,090	2,5	0,100	2,9
Probe 2	18	4,34	0,120	2,7	0,190	4,4
Probe 3	18	41,8	2,30	5,5	3,49	8,4
Probe 4	18	127	13,6	10,7	16,9	13,3

## PRÄZISION VON CHARGE ZU CHARGE

**RBD-ELISA** - Die Präzision von Charge zu Charge wurde durch Messung von vier Serumproben in zwei Tests pro Tag, drei Replikaten pro Test über drei Tage unter Verwendung von zwei verschiedenen Reagenzchargen bestimmt. Positiv- und Negativkontrollen wurden ebenfalls mit zwei Replikaten pro Test in zwei Tests pro Tag über drei Tage mit zwei Reagenzchargen gemessen.

Probe	n	Mittelwert (CI)	In der Serie		Von Serie zu Serie		Von Tag zu Tag		Von Charge zu Charge		Gesamt	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
Negativkontrolle	24	0,041	0	9,4	0	8,1	0	0	0	0	0,010	12,4
Positivkontrolle	24	1,00	0,040	3,9	0	0	0	0	0	0	0,040	3,9
Probe 1	36	0,143	0,010	4,4	0,010	4,20	0,010	4,4	0,010	9,5	0,020	12,1
Probe 2	36	0,686	0,030	4,7	0,040	6,50	0,030	4,4	0,100	13,9	0,110	16,7
Probe 3	36	0,963	0,050	5,4	0,030	3,10	0,040	4,1	0,140	14,4	0,160	16,2
Probe 4	36	1,70	0,060	3,5	0,100	6,00	0,030	1,7	0,240	14,1	0,270	15,8

**Spike-ELISA** - Die Präzision von Charge zu Charge wurde durch Messung von drei Serumproben in zwei Tests pro Tag, drei Replikaten pro Test über drei Tage unter Verwendung von zwei verschiedenen Reagenzchargen bestimmt. Die niedrigen, mittleren und hohen Kontrollen wurden ebenfalls mit zwei Replikaten pro Test in zwei Tests pro Tag über drei Tage mit zwei Reagenzchargen gemessen.

Probe	n	Mittelwert (AU/ml)	In der Serie		Von Serie zu Serie		Von Tag zu Tag		Von Charge zu Charge		Gesamt	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
Niedrige Kontrolle	66	2,23	0,140	6,2	0,080	3,4	0	0	0,060	2,8	0,170	7,6
Mittlere Kontrolle	66	9,80	0,510	5,2	0,300	3,0	0	0	0,100	1,0	0,600	6,1
Hohe Kontrolle	66	38,3	3,13	8,2	0,790	2,1	1,50	3,9	0	0	3,56	9,3
Probe 1	36	3,46	0,130	3,6	0,120	3,5	0	0	0	0	0,170	5,0
Probe 2	36	4,29	0,130	3,0	0,130	3,0	0,020	0,5	0,050	1,1	0,190	4,4
Probe 3	36	41,8	3,07	7,3	1,09	2,6	3,41	8,1	0	0	4,71	11,3
Probe 4	36	122	12,6	10,4	8,64	7,1	7,58	6,2	2,77	2,3	17,3	14,2

## REPRODUZIERBARKEIT VON LABOR ZU LABOR

**RBD-ELISA** - Die Reproduzierbarkeit von Labor zu Labor wurde durch Messung von vier Serumproben in zwei Tests pro Tag, drei Replikaten pro Test über drei Tage in zwei verschiedenen Laboren bestimmt. Positiv- und Negativkontrollen wurden ebenfalls mit zwei Replikaten pro Test in zwei Tests pro Tag über drei Tage in zwei Laboren gemessen.

Probe	n	Mittelwert (CI)	In der Serie		Von Serie zu Serie		Von Tag zu Tag		Von Labor zu Labor		Gesamt	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
Negativkontrolle	24	0,092	0,010	5,7	0,010	7,2	0	0	0,070	79,0	0,070	79,5
Positivkontrolle	24	1,00	0,030	3,3	0	0	0	0	0	0	0,030	3,3
Probe 1	36	0,228	0,010	5,2	0,020	10,9	0	0	0,110	46,2	0,110	47,8
Probe 2	36	0,718	0,030	4,2	0,070	10,2	0	0	0,050	6,4	0,090	12,8
Probe 3	36	1,04	0,060	6,2	0,050	5,0	0,080	7,6	0	0	0,110	11,0
Probe 4	36	1,81	0,100	5,6	0,060	3,2	0,060	3,5	0,080	4,4	0,160	8,6

**Spike-ELISA** - Die Reproduzierbarkeit von Labor zu Labor wurde durch Messung von drei Serumproben in zwei Tests pro Tag, drei Replikaten pro Test über drei Tage in zwei verschiedenen Laboren bestimmt. Die niedrigen, mittleren und hohen Kontrollen wurden ebenfalls mit zwei Replikaten pro Test in zwei Tests pro Tag über drei Tage in zwei Laboren gemessen.

Probe	n	Mittelwert (AU/ml)	In der Serie		Von Serie zu Serie		Von Tag zu Tag		Von Labor zu Labor		Gesamt	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
Niedrige Kontrolle	42	2,23	0,150	6,9	0,080	3,8	0	0	0,15	6,7	0,230	10,4
Mittlere Kontrolle	42	9,54	0,550	5,7	0,350	3,7	0	0	0,310	3,2	0,720	7,5
Hohe Kontrolle	42	38,8	3,86	10,0	0,720	1,8	1,23	3,2	1,36	3,5	4,33	11,2
Probe 1	36	3,54	0,160	4,6	0,270	7,6	0	0	0	0,0	0,310	8,9
Probe 2	36	4,52	0,150	3,4	0,450	9,9	0	0	0,190	4,1	0,510	11,3
Probe 3	33	42,5	2,54	6,0	1,28	3,0	2,04	4,8	0	0	3,50	8,2
Probe 4	35	138	13,58	9,9	15,1	11,0	0	0	15,12	11,0	25,31	18,4

## ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Die analytische Sensitivität – darunter Leerwertgrenze (LoB, Limit of Blank), Nachweisgrenze (LoD, Limit of Detection) und Bestimmungsgrenze (LoQ, Limit of Quantitation) – wurde gemäß den Empfehlungen der CLSI-Richtlinie EP17-A2 festgelegt. Die zusammengefassten Daten für RBD-ELISA und Spike-ELISA sind unten dargestellt.

Sensitivität	RBD-ELISA (CI)	Spike-ELISA (AU/ml)
LoB	0,70	1,98
LoD	0,82	2,61
LoQ	—	3,20

## LINEARITÄT

Die Linearität wurde gemäß den Empfehlungen der CLSI-Richtlinie EP06-A bestimmt. Dazu wurden drei einzelne Proben im proportionalen Verhältnis mit negativen Serumproben verdünnt. Die negativen Serumproben, die zur Herstellung der Verdünnungen verwendet wurden, waren Prä-COVID-19-Proben, die vor September 2019 gewonnen wurden.

Der lineare Bereich beträgt 3,1–160 AU/ml und der analytische Messbereich (AMR) 3,2–160 AU/ml.

Probe	Anz. Verdünnungsstufen im linearen Bereich	Linearer Bereich (AU/ml)
1	11	8,2–145
2	11	4,2–161
3	10	3,1–72,1

## KLINISCHE BEDEUTUNG

Um die positive prozentuale Übereinstimmung (PPA) und die negative prozentuale Übereinstimmung (NPA) des COVID-SeroIndex, Kantaro Quantitative SARS-CoV-2 IgG Antibody IVD Kit zu evaluieren, wurden 92 positive Proben und 284 negative Proben getestet. Diese Proben wurden alle gemäß der Gebrauchsanweisung des Produkts getestet. Wenn die Proben mit dem RBD-ELISA negativ waren, wurden sie nicht mit dem Spike-ELISA getestet. Wenn sie mit dem RBD-ELISA positiv getestet wurden, wurden sie anschließend mit dem Spike-ELISA getestet.

### Positive prozentuale Übereinstimmung:

Für die positiven Proben, die mit einem anerkannten molekularen Test mit EUA-Zulassung bestätigt wurden, betrug die PPA 97,8 %. Es ist zu beachten, dass zwei Proben, die mit dem COVID-SeroIndex Kantaro Quantitative SARS-CoV-2 IgG Antibody IVD Kit negativ getestet wurden, auch mit einem bestehenden Serologietest mit EUA-Zulassung negativ getestet wurden. Dies deutet darauf hin, dass es sich tatsächlich um negative Proben handelt.

Tage zwischen positiver PCR und Probenentnahme	Proben Gesamt	Anzahl nicht reaktiv	Anzahl positiv	PPA
≤ 7	0	0	0	k. A.
8-14	1	0	1	100 %
≥ 15	91	2	89	97,8 %
Gesamt	92	2	90	97,8 %

### Negative prozentuale Übereinstimmung:

Die NPA betrug für die negativen Proben 99,6 %. Es gab 14 Proben, die mit dem RBD-ELISA positiv getestet wurden (siehe unten). Von diesen Proben wurden 13 anschließend mit dem Spike-ELISA negativ getestet. Daher betrug die Anzahl der negativen Proben 281 von 282.

	Proben Gesamt	Anzahl negativ	Anzahl positiv	NPA
Prä-Covid-19	272	271	1	99,6 %
HIV-positiv	10	10	0	100,0 %
Gesamt	282	281	1	99,6 %

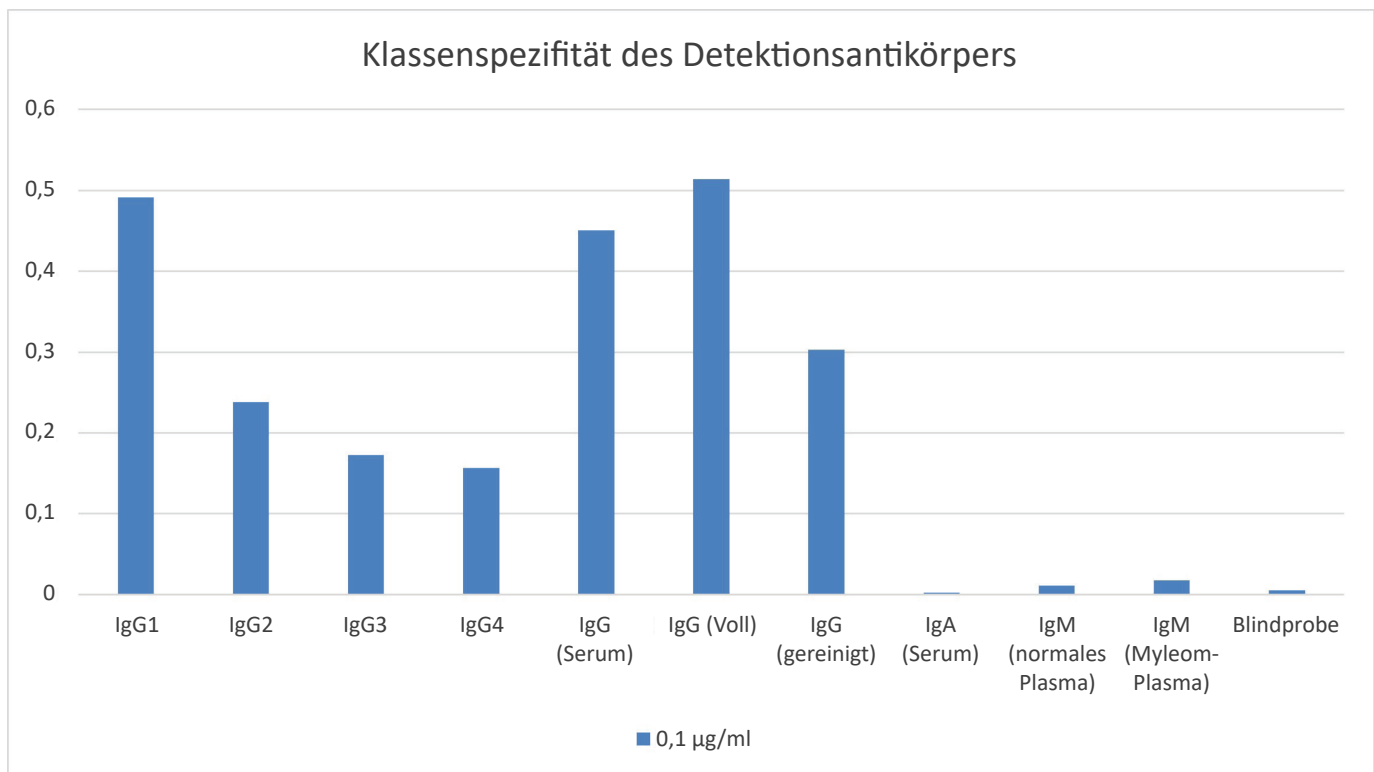
## KALIBRIERUNG

Als Kalibrator wird ein monoklonaler Antikörper mit scheinbar virusneutralisierenden Eigenschaften verwendet, der für die SARS-CoV-2-RBD des Spike-Proteins spezifisch ist. Dies dient zur Erstellung einer Standardkurve, um im Spike-ELISA OD-Einheiten in willkürliche Einheiten pro Milliliter (AU/ml) umzurechnen.

Näherungswert (U) des NIBSC Anti-SARS-CoV-2 Diagnostic Calibrant (20/162) = 0,007 x Kantaro ELISA-Wert (AU/ml).

## KLASSENSPEZIFITÄT

Die Klassenspezifität des monoklonalen Detektionsantikörpers wurde in einer Antigen-Down-ELISA-Studie untersucht. Dazu wurden zehn Antigene, darunter sieben verschiedene humane IgG-Proben, auf 25 ng/ml oder 100 ng/ml verdünnt (nicht dargestellt) und auf eine Platte aufgetragen. Eine Verdünnungsreihe des monoklonalen Detektionsantikörpers wurde vor dem Nachweis auf der Platte inkubiert. Die zusammenfassenden Daten machen deutlich, dass der monoklonale Detektionsantikörper den Nachweis der humanen IgG-Isotypen ermöglicht und humanes IgA oder IgM, das sich mit der Titration der Konzentration der Blindprobe nähert, minimal detektiert.



## SPEZIFITÄT

In dieser Untersuchung der Kreuzreaktivität wurden Proben zum Krankheitszustand getestet, die vor August 2019 entnommen wurden. Es wurde keine Kreuzreaktivität beobachtet.

### Krankheitszustand:

Antinukleärer Antikörper	Herpes-simplex-Virus
Coronavirus HKU1	HIV
Coronavirus NL63	Humane Anti-Maus-Antikörper
Coronavirus OC43	Influenzavirus
Coronavirus 229E	Lupus
Cytomegalievirus	Rheumatoide Arthritis
Epstein-Barr-Virus	Rheumafaktor
Hepatitis-B-Virus	Rubella
Hepatitis-C-Virus	Varizella-Zoster-Virus

## STÖRUNGEN

### RBD-ELISA:

Die Tests auf Störungen wurden gemäß den Empfehlungen der CLSI-Richtlinie EP07-A3 durchgeführt. Es wurden vier Serumproben verwendet, um mögliche endogene Störsubstanzen zu bewerten. Die Daten wurden quantitativ ausgewertet, indem die prozentuale Differenz zwischen dem mittleren CI-Wert der nicht versetzten Probe und dem mittleren CI-Wert der versetzten Proben verglichen wurde. Alle Proben wiesen bei der quantitativen Analyse an der angegebenen Konzentration einen Unterschied von  $\leq 15\%$  auf.

### Spike-ELISA:

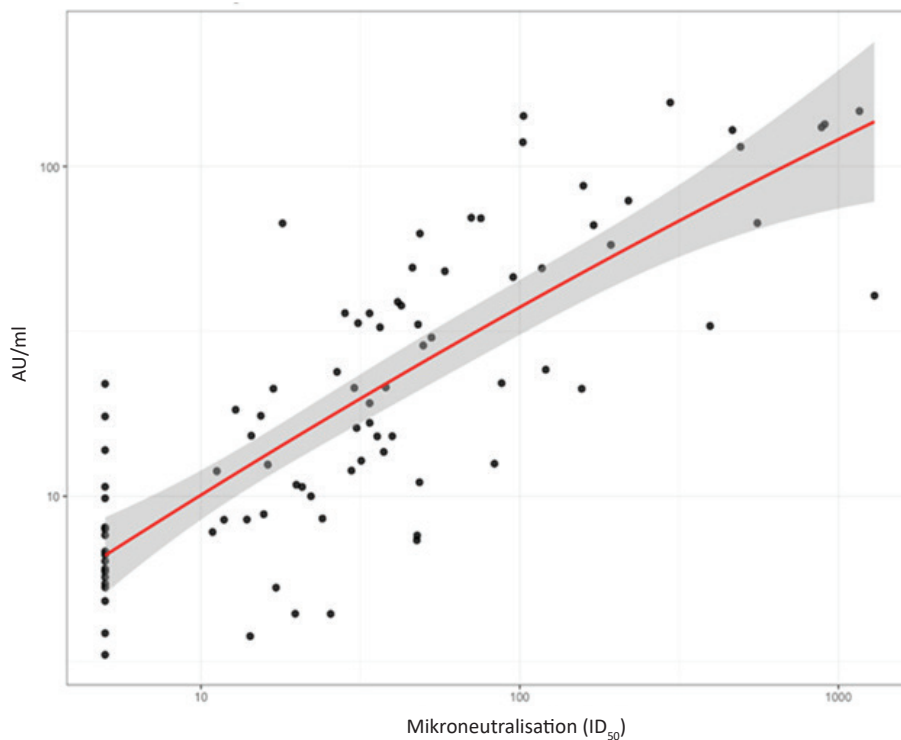
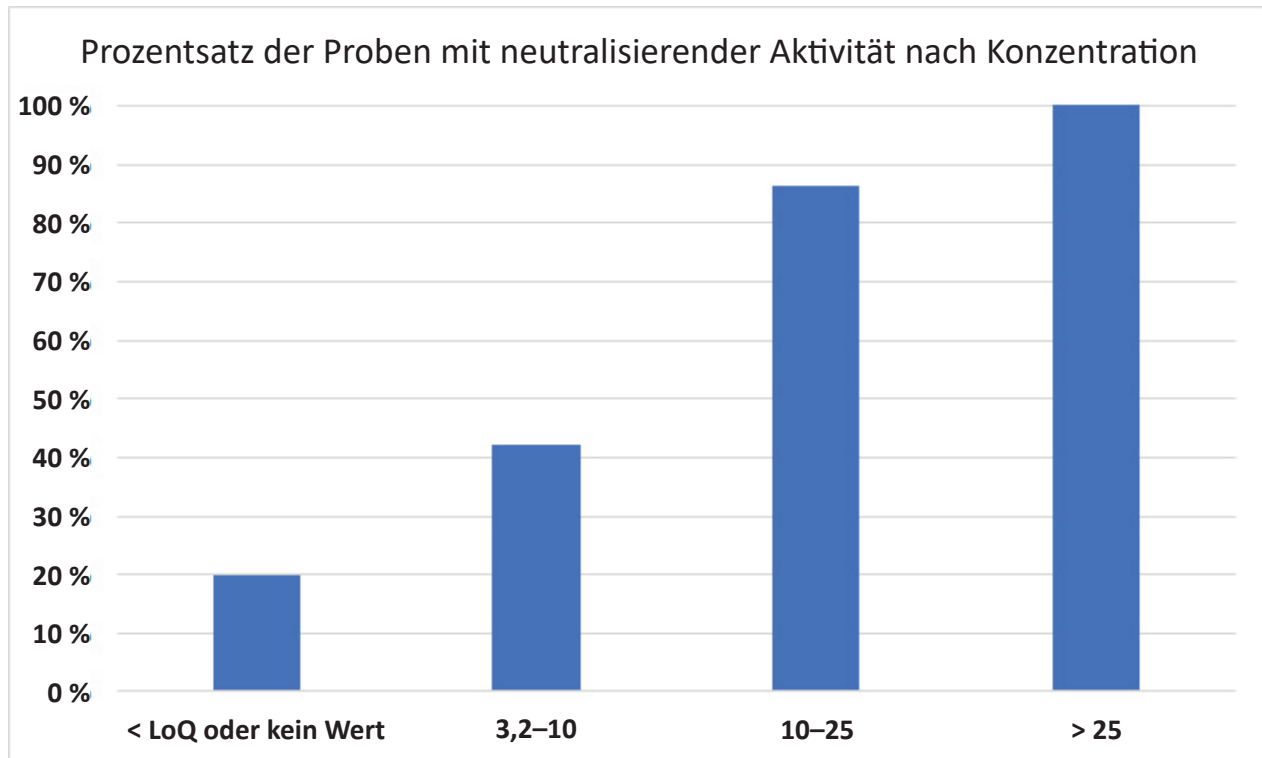
Die Tests auf Störungen wurden gemäß den Empfehlungen der CLSI-Richtlinie EP07-A3 durchgeführt. Es wurden zwei Serumproben verwendet, um potenzielle endogene Störsubstanzen für den Spike-ELISA zu evaluieren: eine mit ca. 5,0 AU/ml und eine mit ca. 50 AU/ml. Die Daten wurden quantitativ ausgewertet, indem die prozentuale Differenz zwischen dem mittleren AU/ml-Wert der nicht versetzten Probe und dem mittleren AU/ml-Wert der versetzten Proben verglichen wurde. Alle Proben wiesen bei der quantitativen Analyse an der angegebenen Konzentration einen Unterschied von  $\leq 15\%$  auf.

Störsubstanzen	Höchste Konzentration
Konjugiertes Bilirubin	104 mg/dl
Unkonjugiertes Bilirubin	96,6 mg/dl
Hämoglobin	10,6 g/dl
Gesamtprotein	8,6 g/dl
Cholesterin	315 mg/dl
Triglyceride	6710 mg/dl



## MIKRONEUTRALISIERUNG

Es wurde eine Studie durchgeführt, um die quantitativen Konzentrationen von IgG-Antikörpern gegen das Spike-Protein mit der Virusneutralisierung in einem Mikroneutralisationstest (MN-Test) zu korrelieren. Dazu wurden 120 Patientenproben mit Antikörperkonzentrationen über den analytischen Messbereich des Tests in einem MN-Test ausgewertet. Die unten angegebenen Werte wurden nicht mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert. Informationen über das Format und die Interpretation des MN-Tests sind der folgenden Referenz zu entnehmen: Amanat, F., *et al.*, "A Serological Assay to Detect SARS-CoV-2 Seroconversion in Humans"; Nature Medicine. 2020 May 12. PMID: 32398876.



## UNTERSTÜTZUNG UND KUNDENDIENST

Wenn Sie eine Bestellung aufgeben möchten oder technische Unterstützung benötigen, wenden Sie sich bitte unter 1-800-343-7475 (in den USA) an einen Vertreter von Bio-Techne.

Für E-Mail-Support wenden Sie sich bitte an [info@bio-techne.com](mailto:info@bio-techne.com) oder [techsupport@bio-techne.com](mailto:techsupport@bio-techne.com).

Für Serviceleistungen außerhalb der USA wenden Sie sich bitte an Ihren Vertriebspartner vor Ort. Weitere Informationen über Kantaro Bioscience LLC, unsere Produkte und unsere Vertriebspartner finden Sie auf unserer Website [kantario.com](http://kantario.com).

COVID-SeroIndex  
Kantaro Quantitative SARS-CoV-2 IgG Antibody IVD Kit  
Powered by R&D Systems®

Katalognummer DSR200-CE

### HERGESTELLT FÜR:



**USA, Kantaro, Inc.**  
1460 Broadway, New York, NY 10036  
TEL.: +1 800-343-7475 0  
E-MAIL: [info@kantario.com](mailto:info@kantario.com)  
WEBSITE: [KantarioBio.com](http://KantarioBio.com)



### HERSTELLUNG UND VERTRIEB:

**bio-techne®**

**USA R&D Systems, Inc.**  
614 McKinley Place NE, Minneapolis, MN 55413, USA  
TEL.: +1 800 343 7475 +1 612 379 2956  
EU: +44 (0)1235 529449  
E-MAIL: [info@bio-techne.com](mailto:info@bio-techne.com)



**Emergo Europe B. V.**  
Prinsessegracht 20  
2514 AP, The Hague  
NIEDERLANDE

*Patent angemeldet*

*Alle Marken und eingetragenen Marken sind Eigentum der jeweiligen Inhaber.*

©2021 R&D Systems®, Inc.