

**VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA
(SARS-CoV-2 IgG ELISA)**

Bestell-Nr.: EC123G00

**VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA
(SARS-CoV-2 IgM ELISA)**

Bestell-Nr.: EC123M00

**VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA
(SARS-CoV-2 IgA ELISA)**

Bestell-Nr.: EC123A00

Farbcodierung: Keine

NUR ZUR IN VITRO DIAGNOSTIK

**VIROTECH Diagnostics GmbH
Löwenplatz 5
D- 65428 Rüsselsheim**

Tel.: +49-6142-6909-0

Fax: +49-6142-966613

<http://www.virotechdiagnostics.com>



Inhalt

1	Zweckbestimmung	3
2	Diagnostische Bedeutung	3
3	Testprinzip	4
4	Packungsinhalt	4
4.1	Kitinhalt ELISA	4
4.2	Zusätzlich benötigtes Produkt zur Abarbeitung des IgM Testkits.....	5
5	Zusätzlich benötigte Materialien, die nicht mitgeliefert werden	5
6	Lagerung und Haltbarkeit des Kits und der gebrauchsfertigen Komponenten	5
7	Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise	6
8	ELISA Prozessoren und Software	6
9	Testdurchführung	6
9.1	Untersuchungsmaterial: Serum- und Plasmaproben	6
9.2	Vorbereitung der Patientenproben und Reagenzien	6
9.3	Serum- und Plasmaproben	7
10	Testauswertung	7
10.1	Proben und Kontrollen	7
10.2	Testfunktionskontrolle	7
10.3	Berechnung der VIROTECH Einheiten (VE)	7
10.4	Auswertungsschema der Patientenproben für IgG, IgM und IgA	8
11	Grenzen des Tests	8
12	Leistungsdaten	9
12.1	Informationen zur Analyseleistung	9
12.2	Informationen zur klinischen Leistung	13
13	Literatur	17

1 Zweckbestimmung

Verwendungszweck	<p>Nachweis von IgG/IgM/IgA Antikörpern gegen SARS-CoV-2 (Schweres akutes Atemwegssyndrom Coronavirus 2 = severe acute respiratory syndrome coronavirus 2)</p> <p>Angeichts der aktuellen Situation des COVID-19-Ausbruchs kann die Prävalenz der zu testenden Bevölkerung sehr unterschiedlich sein. Um die prädiktiven Werte in jeder Situation zu optimieren, wurde der VIROTECH SARS-CoV-2 IgG-ELISA für zwei verschiedenen Cut off-Einstellungen validiert.</p> <p>Cut off für niedrige Prävalenz Vorgesehene Verwendung: Screening auf Antikörper in einer Bevölkerung mit niedriger SARS-CoV-2-Prävalenz, z.B. für epidemiologische Studien mit zufälliger Auswahl der zu testenden Personen.</p> <p>Cut off für hohe Prävalenz Vorgesehene Verwendung: Testen von Patienten innerhalb einer Population mit vermutlich höherer Prävalenz / mit einer höheren Wahrscheinlichkeit für ein positives Ergebnis vor dem Test</p> <ul style="list-style-type: none"> - Untersuchung von Patienten mit Verdacht auf eine frühere SARS-CoV-2-Infektion (COVID-19-bezogene Symptome, potenzieller Kontakt zu SARS-CoV-2-infizierten Patienten oder diagnostizierte SARS-COV-2-Infektion) - Testen in einer aktuellen Ausbruchssituation
Funktion	Infektionsnachweis, Diagnosehilfe
Art des Tests	Qualitativ
Art der Proben	Humanes Serum und Plasma (EDTA, Citrat, Heparin, CPD)
spezifische Informationen	
Physiologischer oder pathologischer Zustand	Der Test dient zum Nachweis von akuten Infektionen, zur Bestätigung eines Erregerkontakts und zur Abschätzung des Immunstatus.
Automatisiert	Automatisierte Abarbeitung möglich (siehe Kapitel 8)
Zielpopulation	Patienten mit Verdacht auf eine Infektion mit SARS-CoV-2 oder Personen mit Verdacht auf eine überstandene (asymptomatische) SARS-CoV-2 Infektion
Weitere Hinweise	
Auflistung der Antigene:	Rekombinantes Nukleokapsid-Protein aus SARS-CoV-2
vorgesehene Anwender	Fachpersonal in Laboratorien

2 Diagnostische Bedeutung

Die Coronavirus-Krankheit (COVID-19) ist eine neue Infektionskrankheit, die erstmals Ende 2019 in der Provinz Hubei, China, entdeckt wurde und nun von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) als Pandemie eingestuft wurde. Als Erreger wurde das schwere akute respiratorische Syndrom Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) identifiziert. Es hat die Fähigkeit zur raschen Ausbreitung bewiesen und zu tausenden von bestätigten Fällen von asymptomatischer Infektion, leichten Erkrankungen, schweren Erkrankungen und Todesfällen beim Menschen geführt.

Coronaviren sind umhüllte, positive einzelsträngige große RNA-Viren, die Menschen, aber auch eine Vielzahl von Tieren infizieren. Die weit verbreiteten humanen Coronaviren NL63, 229E, OC43 und HKU1 sind vor allem in den Wintermonaten weit verbreitet und für 5 bis 30% aller akuten Atemwegserkrankungen verantwortlich, typischerweise mit leichten Symptomen (Erkältung). Die Immunität gegen frühere Infektionen hält nur kurze Zeit an, und Reinfektionen mit dem gleichen Erreger sind bereits nach einem Jahr möglich. Besonderes Interesse weckten zwei neuartige Beta-Coronaviren, die schwere Atemwegssyndrome der unteren Atemwege verursachen: Das SARS-Coronavirus, das 2003 eine weltweite Epidemie auslöste, und das MERS-Coronavirus, das 2012 mehrere hundert Infektionen, vor allem im Nahen Osten, verursachte.

Es gibt vier Unterfamilien, nämlich Alpha-, Beta-, Gamma- und Delta-Coronaviren. Während Alpha- und Beta-Coronaviren typischerweise Säugetiere, insbesondere Fledermäuse als Wirtsorganismus haben, sind Gamma- und Delta-Coronaviren typischerweise in Schweinen, Vögeln und Wassertieren zu finden. Das neuartige Coronavirus SARS-CoV-2 gehört zur B-Linie der Beta-Coronaviren und ist eng mit dem SARS-CoV-Virus verwandt. SARS-CoV-2 gelang offenbar der Übergang vom Tier zum Menschen auf dem Huanan-Markt für Meeresfrüchte in Wuhan, China.

Das erste klinische Zeichen der mit SARS-CoV-2 zusammenhängenden Krankheit COVID-19, das die Erkennung des Falls ermöglichte, war eine Lungenentzündung. Es stellte sich jedoch heraus, dass der Krankheitsverlauf unspezifisch und vielfältig ist und stark variiert, von asymptomatischen Verläufen bis hin zu schwerer Lungenentzündung mit Lungenversagen und Tod. Nach heutigem Kenntnisstand sind etwa 80% der Erkrankungen leicht bis mittelschwer.

Der VIROTECH Diagnostics SARS-CoV-2 IgG/IgM/IgA ELISA-Test dient dem qualitativen Nachweis von IgG-, IgM- und/oder IgA-Antikörpern gegen SARS-CoV-2 in humanem Serum zur Unterstützung der Diagnose von COVID-19 und ist in Verbindung mit klinischen Befunden zu bewerten.

Der Nutzen diagnostischer Tests hängt stark von der Prävalenz der betreffenden Krankheit in der Testpopulation ab, die zusammen mit der Sensitivität und Spezifität der verwendeten diagnostischen Tests die positiven und negativen Vorhersagewerte festlegt. Diese definieren die Wahrscheinlichkeit, dass ein Patient mit einem positiven/negativen Testergebnis wirklich antikörperpositiv/negativ ist. Die aktuelle SARS-CoV-2-Pandemie ist mit sehr unterschiedlichen Prävalenzen verbunden, die von der getesteten Population abhängen, z.B. kann die Prävalenz in wenig betroffenen Gebieten sehr niedrig sein (0-5%) oder deutlich höher bei einem aktuellen Ausbruch, in einem klinischen Umfeld oder bei Patienten mit einer bereits vorher vorhandenen höheren Wahrscheinlichkeit. Um das bestmögliche diagnostische Ergebnis in jeder Einstellung zu garantieren, wurde der VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA mit zwei verschiedenen Cut off-Werten validiert. Der Grenzwert für niedrige Prävalenz ist auf eine maximale Spezifität hin optimiert, die für einen hohen positiven Vorhersagewert in Testpopulationen mit einer niedrigen SARS-CoV-2-Prävalenz wichtig ist, z. B. bei epidemiologischen Studien oder Massentests an Personen ohne Verdacht auf eine vorherige SARS-CoV-2-Infektion. Der Grenzwert für hohe Prävalenz ist auf eine erhöhte Sensitivität hin optimiert, die wichtig ist für die Testung von Patienten mit einer bereits vorher vorhandenen höheren Wahrscheinlichkeit für ein positives Ergebnis, z.B. wegen eines Verdachts auf eine frühere SARS-CoV-2-Infektion aufgrund von Symptomen, diagnostischen Tests, Kontakt zu infizierten Patienten oder in einer aktuellen Ausbruchssituation mit einer signifikant höheren SARS-CoV-2-Prävalenz. Um das bestmögliche diagnostische Ergebnis zu erzielen, sollte der VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA mit der für die Testpopulation am besten geeigneten Cut off-Variante verwendet werden.

3 Testprinzip

Der ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ist ein immunologisches Nachweisverfahren, das sich die spezifische Interaktion zwischen Antikörpern und Antigenen zunutze macht. Dazu wird eine Mikrotiterplatte mit spezifischen Antigenen von einem Infektionserreger beschichtet. Wenn sich im dazugegebenen Humanserum/-plasma der passende Antikörper befindet, bildet dieser mit dem auf der Mikrotiterplatte fixierten Antigen einen Immunkomplex. Nicht gebundene Antikörper werden durch den folgenden Waschprozess entfernt. Anschließend bindet ein hinzugegebenes Enzym-Konjugat an den Komplex. Nicht gebundenes Konjugat wird durch den folgenden Waschprozess entfernt. Nach Zugabe des Substrats (TMB) entsteht durch Enzymaktivität (Peroxidase) ein blauer Farbstoff, der im letzten Schritt durch Zugabe der Stopplösung nach Gelb umschlägt.

4 Packungsinhalt

Folgende Komponenten sind parameter- und chargenübergreifend: PBS-Verdünnungspuffer, PBS-Waschlösung, TMB-Substrat, Citrat Stopplösung.

Folgende Komponenten sind parameter- und chargenspezifisch: positive Kontrolle, Calibrator Kontrolle, negative Kontrolle, Konjugate. Die passende Plattencharge steht im Qualitätskontrollzertifikat.

Zur Abarbeitung eines IgM Kit wird zusätzlich das Produkt VIROTECH RF-SorboTech benötigt (s. 4.2).

4.1 Kitinhalt ELISA

IgG Kit	IgM Kit	IgA Kit	Platte und gebrauchsfertige Kontrollen	Abkürzung
1	1	1	Mikrotiterplatte (MTP) 1x96 mit Antigen beschichtete, abbrechbare Kavitäten, lyophilisiert	MTP
1,3 ml	1,3 ml	1,3 ml	SARS-CoV-2 ELISA negative Kontrolle / neg. Ctrl, Humanserum/-plasma mit Protein stabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig	NEG
1,3 ml	1,3 ml	1,3 ml	SARS-CoV-2 ELISA Calibrator Kontrolle / Calibrator Ctrl, Humanserum/-plasma mit Protein stabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig	CAL
1,3 ml	1,3 ml	1,3 ml	SARS-CoV-2 ELISA positive Kontrolle / pos. Ctrl, Humanserum/-plasma mit Protein stabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig	POS

IgG Kit	IgM Kit	IgA Kit	Reagenzien	Abkürzung
2 x 50 ml	2 x 50 ml	2 x 50 ml	PBS-Verdünnungspuffer (blau), mit Konservierungsmittel und Tween 20, gebrauchsfertig / pH 7,2	DILBUF
50 ml	50 ml	50 ml	PBS-Waschlösung, 20x konzentriert, mit Konservierungsmittel und Tween 20 / pH 7,2	WASHBUF
11 ml	11 ml	11 ml	SARS-CoV-2 Konjugat / Conjugate (anti-human) ELISA, mit Protein stabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig	CONJ
11 ml	11 ml	11 ml	TMB-Substrat (3,3',5,5' Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig / pH 5-5,1	SUBS
6 ml	6 ml	6 ml	Citrat Stopplösung, enthält ein Säuregemisch, gebrauchsfertig / pH <1,2 (20°C)	STOP

IgG Kit	IgM Kit	IgA Kit	Unterlagen	Abkürzung
1	1	1	Papier: Gebrauchsanweisung, Gefahrenhinweise ELISA, Abarbeitungsschema Qualitätskontroll-Zertifikat mit Angaben des Zielwerts	N/A CERT ZW
1	1	1	Homepage (www.virotechdiagnostics.com): Sicherheitsdatenblatt	N/A SDB

Alle Komponenten sind gebrauchsfertig (RTU = ready-to-use) mit Ausnahme der PBS-Waschlösung.

4.2 Zusätzlich benötigtes Produkt zur Abarbeitung des IgM Testkits

RF-SorboTech (VIROTECH Absorptionsmittel)

Reagenz für die Vorabsorption von hohen IgG-Titern und IgM Rheumafaktoren in Serum-, Plasma- und Liquorproben.

Komponente gebrauchsfertig	Volumen	Inhalt	Artikelnummer	Abkürzung
RF-SorboTech – (40 Ansätze)	2,0 ml	Anti-human IgG Reagenz	161101	RFSORBO
RF-SorboTech - (80 Ansätze)	2 x 2,0 ml 50 ml	Anti-human IgG Reagenz PBS-Verdünnungspuffer (blau)	B/300.00	RFSORBO WASHBUF
RF-SorboTech - (200 Ansätze)	10,0 ml	Anti-human IgG Reagenz	161102	RFSORBO
Gebrauchsanweisung				N/A

5 Zusätzlich benötigte Materialien, die nicht mitgeliefert werden

1.	Aqua dest. / demin. Wasser	10.	ELISA Handwaschgerät bzw. automatisches Waschgerät für Mikrotiterplatten
2.	Mehrkanalpipetten (50µl, 100µl)	11.	Spektralphotometer für Mikrotiterplatten (450/620nm Filter, Referenzwellenlänge 620-690nm)
3.	Mikropipetten (10µl, 100µl,1000µl)	12.	Brutschrank 37°C
4.	Einweg-Pipettenspitzen	13.	Stoppuhr
5.	Reagenzgläser und Reagenzglasständer	14.	Einweg-Schutzhandschuhe (gemäß DIN EN 455)
6.	Zellstofftücher	15.	Schutzbrille (gemäß DIN EN166)
7.	Abdeckung für ELISA Platten	16.	ELISA-Prozessor (optional)
8.	Abfallbehälter für infektiöses Material	17.	Auswertesoftware (optional)
9.	Geeignete Reaktionsgefäße z.B. aus HDPE (High Density Polyethylen), LLDPE (Linear Low Density Polyethylen), LDPE (Low Density Polyethylen), PP (Polypropylen), High-Purity Polypropylen		

6 Lagerung und Haltbarkeit des Kits und der gebrauchsfertigen Komponenten

- Alle Komponenten bei 2-8°C lagern.
- Die Haltbarkeit der einzelnen Komponenten steht auf dem jeweiligen Etikett.
- Die Haltbarkeit des Kits steht auf der Kitbox und auf dem Qualitätskontroll-Zertifikat.
- Die Komponenten des Kits nicht einfrieren und während der Lagerung vor übermäßiger Hitze schützen.
- Die benötigten Einzelkavitäten/Streifen entnehmen und den Rest im verschlossenen Beutel mit Trockenmittel bei 2-8°C lagern.
- Alle Reagenzien sofort nach Gebrauch wieder bei 2-8°C lagern.
- Das gebrauchsfertige Konjugat und das TMB Substrat im Dunkeln aufbewahren.
- Bei Farbentwicklung des Substrats, dieses verwerfen.
- Von dem gebrauchsfertigen Konjugat und dem TMB Substrat nur die für den Ansatz benötigte Menge entnehmen.
- Zu viel entnommenes Konjugat oder TMB Substrat darf nicht zurückgeführt werden, sondern muss verworfen werden.

Komponente	Zustand	Lagerung	Haltbarkeit
Kontrollen	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3 Monate
Standards	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3 Monate
Mikrotiterplatte	nach Öffnen	+2 bis +8°C (im mitgelieferten Beutel mit Trockenmittel lagern)	3 Monate
PBS-Verdünnungspuffer (blau)	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3 Monate
PBS-Verdünnungspuffer (grün)	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3 Monate
RF-SorboTech	unverdünnt, nach Öffnen	+2 bis +8°C	3 Monate
	verdünnt	+2 bis +8°C	1 Woche
Konjugate	nach Öffnen	+2 bis +8°C (lichtgeschützt)	3 Monate
TMB-Substrat	nach Öffnen	+2 bis +8°C (lichtgeschützt)	3 Monate
Citrat Stopplösung	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3 Monate
PBS-Waschlösung	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3 Monate
	endverdünnt (gebrauchsfertig)	+2 bis +25°C	4 Wochen

7 Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

1. Als Kontrollseren/-plasma werden nur Proben verwendet, die negativ auf HIV1-AK, HIV2-AK, HCV-AK und Hepatitis-B-SURFACE-Antigen getestet und befundet wurden. Dennoch sind alle Materialien als potentiell infektiöses Material zu betrachten und sollten dementsprechend behandelt werden.
2. Es muss sichergestellt werden, dass die aktuellen Laborrichtlinien BGI/GUV-I 850-0: „Sicheres Arbeiten in Laboratorien – Grundlagen und Handlungshilfen“ eingehalten werden.
3. Bei der Durchführung des VIROTECH Diagnostics ELISA sind die etablierten Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Gefahren zu beachten und Standardverfahren für die ordnungsgemäße Entsorgung von Proben zu befolgen.
4. Die Reagenzien dürfen nicht mit denen anderer Hersteller gemischt oder ausgetauscht werden.
5. Die Komponenten dürfen nicht nach Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatums verwendet werden.
6. Reagenzien vor Gebrauch vorsichtig schütteln.
7. Ein sorgfältiger Waschprozess ist Voraussetzung für die Genauigkeit des Tests. Darauf achten, dass alle Waschschriffe gemäß den Vorschriften ausgeführt werden.
8. Um mikrobielle Kontaminationen zu vermeiden, darf nur die benötigte Reagenzien Menge entnommen und nach der Testdurchführung darf kein Rest in die Originalflasche zurückgefüllt werden.
9. Für alle Komponenten dieses ELISA sind Sicherheitsdatenblätter (SDB) verfügbar. Vor der Durchführung sollten die relevanten SDB eingesehen werden. Die entsprechenden SDB sind auf der VIROTECH Diagnostics Homepage unter www.virotechdiagnostics.com zu finden.
10. Bei der Durchführung des ELISA Tests und dem Umgang mit Patientenproben und ELISA Komponenten wird das Tragen von Laborkittel, Einweghandschuhen (gemäß DIN EN 455) und Schutzbrille (gemäß DIN EN 166) empfohlen. Der Kontakt zwischen Händen und Augen bzw. mit den Schleimhäuten ist zu vermeiden. Falls es trotz empfohlener Schutzmaßnahmen zum Kontakt kommt, wegen der angemessenen Behandlung das entsprechende SDB zu Rate ziehen.
11. Die Entsorgung der verwendeten Materialien sollte nach den jeweiligen spezifischen Richtlinien des Landes erfolgen

8 ELISA Prozessoren und Software

Alle VIROTECH Diagnostics ELISA können mit Hilfe von ELISA-Prozessoren abgearbeitet werden. Für die Evaluierung des Tests auf dem jeweiligen Gerät ist der Anwender selbst verantwortlich. Der Anwender ist verpflichtet eine regelmäßige Geräteüberprüfung und Wartung durchzuführen.

EMPFEHLUNGEN:

1. Bei Gerätestellung oder größeren Reparaturen des ELISA Prozessors ist die Wartung des Gerätes gemäß den Vorgaben des Geräteherstellers vorzunehmen und anschließend der ELISA Prozessor mit dem VIROTECH Validierung/Validation ELISA zu überprüfen; Bestellnummer: EC250.00.
2. Die Überprüfung mit dem VIROTECH Validierung/Validation ELISA sollte generell einmal pro Halbjahr durchgeführt werden.

Bei jedem Testlauf müssen die Freigabekriterien des chargenspezifischen Qualitätskontrollzertifikates zum Produkt erfüllt werden.

Diese Vorgehensweise gewährleistet die einwandfreie Funktion des ELISA Prozessors in Kombination mit den VIROTECH ELISA und dient darüber hinaus der Qualitätssicherung des Labors.

9 Testdurchführung

Die exakte Einhaltung der VIROTECH Diagnostics Testdurchführung ist Voraussetzung für das Erzielen korrekter Ergebnisse.

9.1 Untersuchungsmaterial: Serum- und Plasmaproben

Als Untersuchungsmaterial kann Serum oder Plasma (EDTA, Heparin, CPD, Citrat) eingesetzt werden.

EMPFEHLUNGEN:

1. Patientenprobe nicht länger als 7 Tage bei 2-8°C aufbewahren. Für eine längere Lagerung die Proben bei -20°C oder tiefer einfrieren; mehrmaliges Auftauen vermeiden.
2. Patientenproben-Verdünnungen frisch ansetzen; Haltbarkeit maximal 6h bei 2-8°C.
3. Inaktivierte, ikterische, hämolytische, lipämische oder trübe Proben nicht verwenden, da sie zu falsch positiven bzw. falsch negativen Ergebnissen führen können.

9.2 Vorbereitung der Patientenproben und Reagenzien

ALLGEMEINE VORBEREITUNGEN

1. Brutschrank auf 37°C einstellen; vor Inkubationsbeginn das Erreichen der Temperatur überprüfen.
2. Photometer auf eine Extinktion von 450/620nm (Referenzwellenlänge 620-690nm) einstellen. Das Photometer so einstellen, dass der gemessene Leerwert von allen anderen Extinktionen abgezogen wird.
3. Reagenzien auf Raumtemperatur bringen, dann Verpackung der Mikrotiterplatte öffnen und benötigte Anzahl an Kavitäten entnehmen, ggf. den Testrahmen entnehmen. Verpackung mit den übrigen Kavitäten wieder verschließen.
4. Flüssigkomponenten vor Gebrauch gut durchmischen.
5. PBS-Waschlösungskonzentrat (50ml) auf 1 l mit Aqua dest./demin. auf die Endverdünnung von 1:20 (1+19) auffüllen. Bei eventueller Kristallbildung des Konzentrates, dieses vor dem Verdünnen auf Raumtemperatur bringen und erst dann verdünnen. Die gebrauchsfertige Waschlösung vor Gebrauch gut durchmischen.

VORBEREITUNG DER SERUM- UND PLASMAPROBEN

6. Arbeitsverdünnung der Patientenproben IgG/IgA: 1:101 (1+100); z.B. 10µl Probe + 1ml Verdünnungspuffer

Nur für IgM Kit:

Hohe IgG-Titer oder Rheumafaktoren können den spezifischen Nachweis von IgM-Antikörpern stören und zu falsch positiven bzw. falsch negativen Ergebnissen führen. Für einen korrekten IgM-Nachweis ist es daher erforderlich, die Patientenproben mit RF-SorboTech vorzubehandeln (VIROTECH Produkt zur Vorabsorption, siehe 4.2). Bei den gebrauchsfertigen Kontrollen/Standards entfällt die Vorabsorption.

Arbeitsverdünnung der Patientenproben IgM: RF-SorboTech 1:10 (1+9) in einem geeigneten Reaktionsgefäß (s. Kapitel 5) mit PBS-Verdünnungspuffer (VP) verdünnen. Mit diesem Verdünnungs-Ansatz die Patientenprobe 1:101 (1+100) verdünnen. Dies entspricht der Arbeitsverdünnung.
15 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren.

Beispiel: 1 Tropfen RF-SorboTech (ca. 50µl) + 450µl VP 1:10 (1+9) pipettieren. Zu diesem RF-SorboTech-VP-Ansatz (500µl) werden 5µl Serum zugegeben; dies entspricht einer 1:101 (1+100) Serumverdünnung. 15 min bei Raumtemperatur inkubieren.

VIROTECH ELISA TESTDURCHFÜHRUNG (s. Testablaufschema, separates Dokument)

9.3 Serum- und Plasmaproben

1. Erforderliche Anzahl an Kavitäten für die Patientenproben, den Leerwert und alle Kontrollen in den Testrahmen einsetzen.
2. Für jeden Testansatz 100µl des gebrauchsfertigen Verdünnungspuffers als Leerwert, 100µl der Kontrollen und 100µl der verdünnten Patientenproben pipettieren.
3. Empfohlen wird ein Doppelansatz für Leerwert, Kontrollen und Patientenproben.
Bei der Calibrator Kontrolle ist ein Doppelansatz zwingend erforderlich.
4. Nach dem Pipettieren der Patientenproben erfolgt eine Inkubation mit Abdeckung für 30 min. bei 37°C.
5. Die Inkubation wird durch 4 x Waschen mit je 350-400µl gebrauchsfertiger Waschlösung (siehe 9.2.5) pro Kavität beendet. Dabei wird die gebrauchsfertige Waschlösung in die Kavitäten mit einer Pipette oder einem Waschgerät eingefüllt und wieder entleert. Nach der Entleerung beim letzten Waschschrift werden die Reste der gebrauchsfertigen Waschlösung nicht in den Kavitäten stengelassen, sondern letzte Flüssigkeitsreste durch Ausklopfen auf einer Zellstoffunterlage entfernt.
6. Pipettieren von 100µl des gebrauchsfertigen Konjugats in alle Kavitäten.
7. Inkubation des Konjugats mit Abdeckung für 30 min. bei 37°C.
8. Beenden der Inkubation durch 4 x Waschen (siehe 5.).
9. Pipettieren von 100µl des gebrauchsfertigen TMB-Substrats in jede Kavität.
10. Inkubation des TMB-Substrats mit Abdeckung 30 min. bei 37°C. Die Platte dazu dunkel stellen.
11. Abstoppen der Substratreaktion durch hinzu Pipettieren von je 50µl Citrat Stopplösung in alle Kavitäten. Anschließend die Platte vorsichtig und sorgfältig antippen bis sich die Flüssigkeiten vollständig durchmischt haben und eine einheitliche gelbe Farbe sichtbar wird.
12. Extinktionen bei 450/620nm (Referenzwellenlänge 620-690nm) messen. Die photometrische Messung sollte innerhalb 1h nach Zugabe der Citrat Stopplösung durchgeführt werden.

10 Testauswertung

10.1 Proben und Kontrollen

Bei Mehrfachbestimmung einer Kontrolle oder einer Probe wird der Mittelwert der OD-Werte (OD = Optische Dichte) berechnet und weiterverwendet.

10.2 Testfunktionskontrolle

Die OD-Werte von Leerwert, negativer, positiver und Calibrator Kontrolle müssen jeweils die Vorgaben im Qualitätskontroll-Zertifikat erfüllen. Der Wert der berechneten VIROTECH Einheiten (s. 10.3) der positiven Kontrolle muss innerhalb des im Qualitätskontroll-Zertifikat angegebenen Bereichs liegen.

Wird eine der oben genannten Anforderungen an die OD-Werte oder die VE-Werte nicht erfüllt, so ist der Test zu wiederholen.

10.3 Berechnung der VIROTECH Einheiten (VE)

Der OD-Wert des Leerwerts (LW) muss vor der Berechnung von allen anderen OD-Werten abgezogen werden.

Korrekturfaktor: Zur Unterscheidung von positiven und negativen Proben wurde von VIROTECH Diagnostics ein Cut off-Wert festgelegt. Dieser Cut off Wert ist über einen Korrekturfaktor mit der Calibrator Kontrolle korreliert. Der Korrekturfaktor wird spezifisch für jede Charge bestimmt und ist dem Qualitätskontroll-Zertifikat zu entnehmen.

Für den VIROTECH SARS-CoV-2 IgG-ELISA werden zwei verschiedene Cut off-Werte validiert, um den bestmöglichen prädiktiven Wert in Abhängigkeit von der beabsichtigten Verwendung des Assays zu gewährleisten. In Kapitel 1 "Zweckbestimmung" finden Sie eine Beschreibung, welcher Cut off-Wert mit zugehörigem Korrekturfaktor in welcher Situation verwendet werden sollte. Für jeden Cut off-Wert wird ein separates Qualitätskontroll-Zertifikat zur Verfügung gestellt.

Die OD-Werte werden wie folgt in VIROTECH Einheiten (VE) umgerechnet.

1. Berechnung des Cut off-Werts

Cut off-Wert = Mittelwert OD Calibrator Kontrolle x Korrekturfaktor

2. Berechnung der VIROTECH Einheiten (VE)

$$\text{VE (positive Kontrolle)} = \frac{\text{OD (positive Kontrolle)}}{\text{OD (Cut off-Wert)}} \times 10$$

$$\text{VE (Patientenserum)} = \frac{\text{OD (Patientenserum)}}{\text{OD (Cut off-Wert)}} \times 10$$

Die VIROTECH Einheiten (VE) des Calibrators sind wie im Zertifikat angegeben vordefiniert. Die VE des Calibrators lassen sich mit folgender Formel berechnen: VE Calibrator = 10 / Korrekturfaktor

10.4 Auswertungsschema der Patientenproben für IgG, IgM und IgA

Ergebnis (VE)	Beurteilung
< 9,0	negativ
9,0 - 11,0	grenzwertig
> 11,0	positiv

1. Liegt der Wert der VE der Probe unterhalb des grenzwertigen Bereichs, wird die Probe als negativ bewertet.
2. Liegt der Wert der VE der Probe innerhalb des grenzwertigen Bereichs, wird die Probe als grenzwertig bewertet.
3. Liegt der Wert der VE der Probe oberhalb des grenzwertigen Bereichs, wird die Probe als positiv bewertet.

11 Grenzen des Tests

1. Der Test hilft bei der Diagnose und ist in Verbindung mit klinischen Befunden anzuwenden. Die Ergebnisse sollten nicht als alleinige Grundlage für die Diagnose oder den Ausschluss einer SARS-CoV-2-Infektion oder zur Information über den Infektionsstatus verwendet werden. Die Interpretation sollte immer das klinische Bild, epidemiologische Daten und eventuell weitere zur Verfügung stehende Laborbefunde mit einbeziehen.
2. Negative Ergebnisse schließen eine SARS-CoV-2-Infektion nicht aus, insbesondere bei Personen, die mit dem Virus in Kontakt gekommen sind. Weiterführende Tests z.B. zum direkten Erregernachweis sollten in Betracht gezogen werden, um eine Infektion bei diesen Personen auszuschließen. Serologische Beweise werden am besten durch das Testen von gepaarten Proben in der Akut- und der Rekonvaleszenz-Phase erhalten, die im Abstand von mehreren Wochen entnommen wurden.
3. Hyperlipämische, hämolytische, mikrobiell kontaminierte und trübe Seren können zu fehlerhaften Ergebnissen führen und sollten nicht verwendet werden.

12 Leistungsdaten

12.1 Informationen zur Analyseleistung

12.1.1 Probenotypen

Als Untersuchungsmaterial kann Serum und Plasma (EDTA, Heparin, CPD, Citrat) eingesetzt werden. Informationen zu Probenotypen, deren Stabilität und Lagerbedingungen befinden sich im Kapitel 8.

12.1.2 Genauigkeit

a) Richtigkeit

Für den VIROTECH SARS-CoV-2 IgG/IgM/IgA ELISA gibt es keinen WHO-Standard oder vergleichbaren Referenzwert, anhand dessen die Richtigkeit bestimmt werden könnte.

b) Präzision

Ein Präzisionsprobenpanel, bestehend aus einer negativen Probe, einer stark negativen Probe, einer schwach positiven Probe und einer mäßig positiven Probe, wurde in insgesamt 11 unabhängigen Durchläufen über einen Zeitraum von 4 Tagen getestet. Die Tests wurden individuell von drei verschiedenen Personen durchgeführt. Wiederholbarkeit (Intra-Assay-Variationskoeffizient) und Reproduzierbarkeit (Inter-Assay-Variationskoeffizient) wurden berechnet.

Schlussfolgerung

Wiederholbarkeit: Innerhalb des diagnostisch signifikanten Testbereichs um den Cut off liegt die Wiederholbarkeit unter 10%. Bei schwach negativen Proben liegt die Standardabweichung (SD) unter 0,2 VE.

Reproduzierbarkeit: Innerhalb des diagnostisch signifikanten Testbereichs um den Cut off liegt die Reproduzierbarkeit unter 15%. Bei schwach negativen Proben liegt die Standardabweichung unter 0,2 VE.

1. VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA

	Mittelwert VE	Wiederholbarkeit		Reproduzierbarkeit	
		SD	% VK	SD	% VK
Probe 1	0,5	0,1	17,8	0,11	21,6
Probe 2	9,3	0,5	5,9	0,5	5,7
Probe 3	16,1	0,8	5,2	0,6	3,5
Probe 4	23,1	1,4	5,9	0,7	3,1

2. VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA

	Mittelwert VE	Wiederholbarkeit		Reproduzierbarkeit	
		SD	% VK	SD	% VK
Probe 1	0,9	0,1	14,1	0,17	20,0
Probe 2	5,0	0,5	9,5	0,6	13,0
Probe 3	16,9	1,0	5,9	1,5	8,5
Probe 4	25,3	1,2	4,8	1,7	6,8

3. VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA

	Mittelwert VE	Wiederholbarkeit		Reproduzierbarkeit	
		SD	% VK	SD	% VK
Probe 1	0,3	0,1	44,7	0,15	50,6
Probe 2	4,3	0,3	7,3	0,5	10,4
Probe 3	11,6	0,7	6,0	1,4	12,4
Probe 4	16,9	1,0	5,7	1,8	10,4

12.1.3 Analytische Sensitivität

N/A

12.1.4 Analytische Spezifität

a) Interferenzen

Der VIROTECH SARS-CoV-2 IgG/IgM/IgA ELISA wurde gemäß der Richtlinie EP07-A3 ("Interference Testing in Clinical Chemistry" vom Clinical and Laboratory Standards Institute) auf Interferenzen untersucht. Drei Proben, eine negative, eine schwach positive und eine mäßig positive, wurden mit hohen Konzentrationen von interferenten Substanzen versetzt und zusammen mit Serum ohne interferente Substanzen getestet. Die folgende Tabelle zeigt die getesteten Substanzen, die den Patientenproben in den angegebenen Konzentrationen zugesetzt wurden. Diese entsprechen den Empfehlungen in der CLSI-Richtlinie zur Darstellung pathologisch erhöhter Konzentrationen in Patientenproben.

Interferente Substanz	Testkonzentration
Albumin	60 mg/ml
Bilirubin	0,4 mg/ml
Cholesterol	4 mg/ml
Hemoglobin	10 mg/ml
Triglycerides	15 mg/ml

Für alle getesteten Substanzen wurde im VIROTECH SARS-CoV-2 IgG/IgM/IgA ELISA kein klinisch signifikanter Störeffekt gefunden.

b) Kreuzreaktivität

1. VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA

Cut off-Wert bei niedriger Prävalenz

145 Proben wurden mit dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgG-ELISA getestet, um die Kreuzreaktivität des Assays zu bewerten. Jede Probe war durch ein legal vermarktetes Produkt positiv auf einen der jeweiligen Marker getestet worden.

Probe positiv für	n	VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA		
		Positiv	Grenzwertig	Negativ
Adenovirus	10	0	0	10
Parainfluenza	9	0	0	9
Candida albicans	10	0	0	10
Bordetella pertussis	10	0	0	10
Influenza A	10	0	0	10
Influenza B	10	0	0	10
Enterovirus	10	0	0	10
Respiratory-Syncytial-Virus	10	1	0	9
Chlamydia pneumoniae	10	0	0	10
Legionella pneumophila	14	0	0	14
Mycoplasma pneumoniae	10	0	0	10
Haemophilus influenza	10	0	0	10
Picornavirus	12	0	0	12
Streptococcus pneumoniae	10	0	0	10

Um die Kreuzreaktivität auf andere humane Coronaviren als SARS-CoV-2 zu bewerten, wurden Proben mit Antikörpern gegen verschiedene humane Coronaviren auf dem GSD SARS-CoV-2 IgG ELISA getestet.

Nr.	Probe positiv für	VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA	
		VE	Ergebnis
1	HCoV-OC43	1,7	Neg
2	HCoV-OC43	1,6	Neg
3	HCoV-NL63	1,9	Neg
4	HCoV-NL63	1,8	Neg
5	HCoV-229E	2,3	Neg
6	HCoV-229E	2,1	Neg
7	HCoV-OC43 and HCoV 229E	2,3	Neg
8	HCoV-OC43/HCoV-HKU1	2,2	Neg

Cut off-Wert bei hoher Prävalenz

145 Proben wurden mit dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgG-ELISA getestet, um die Kreuzreaktivität des Assays zu bewerten. Jede Probe war durch ein legal vermarktetes Produkt positiv auf einen der jeweiligen Marker getestet worden.

Probe positiv für	n	VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA		
		Positiv	Grenzwertig	Negativ
Adenovirus	10	0	0	10
Parainfluenza	9	0	0	9
Candida albicans	10	0	0	10
Bordetella pertussis	10	0	0	10
Influenza A	10	0	0	10
Influenza B	10	0	0	10
Enterovirus	10	0	0	10
Respiratory-Syncytial-Virus	10	1	0	9
Chlamydia pneumoniae	10	1	0	9
Legionella pneumophila	14	0	0	14
Mycoplasma pneumoniae	10	0	0	10
Haemophilus influenza	10	0	0	10
Picornavirus	12	0	1	11
Streptococcus pneumoniae	10	0	1	9

Um die Kreuzreaktivität auf andere humane Coronaviren als SARS-CoV-2 zu bewerten, wurden Proben mit Antikörpern gegen verschiedene humane Coronaviren auf dem GSD SARS-CoV-2 IgG ELISA getestet.

Nr.	Probe positiv für	VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA	
		VE	Ergebnis
1	HCoV-OC43	2,6	Neg
2	HCoV-OC43	2,5	Neg
3	HCoV-NL63	3	Neg
4	HCoV-NL63	2,7	Neg
5	HCoV-229E	3,6	Neg
6	HCoV-229E	3,2	Neg
7	HCoV-OC43 and HCoV 229E	3,6	Neg
8	HCoV-OC43/HCoV-HKU1	3,4	Neg

2. VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA

145 Proben wurden mit dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgM-ELISA getestet, um die Kreuzreaktivität des Assays zu bewerten. Jede Probe war durch ein legal vermarktetes Produkt positiv auf einen der jeweiligen Marker getestet worden.

Probe positiv für	n	VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA		
		Positiv	Grenzwertig	Negativ
Adenovirus	10	0	0	10
Parainfluenza	9	0	0	9
Candida albicans	10	0	0	10
Bordetella pertussis	10	0	0	10
Influenza A	10	0	0	10
Influenza B	10	1	1	8
Enterovirus	10	0	0	10
Respiratory-Syncytial-Virus	10	4	1	5
Chlamydia pneumoniae	10	0	0	10
Legionella pneumophila	14	0	0	14
Mycoplasma pneumoniae	10	0	1	9
Haemophilus influenza	10	1	0	9
Picornavirus	12	0	0	12
Streptococcus pneumoniae	10	0	0	10

Um die Kreuzreaktivität auf andere humane Coronaviren als SARS-CoV-2 zu bewerten, wurden Proben mit Antikörpern gegen verschiedene humane Coronaviren auf dem GSD SARS-CoV-2 IgM ELISA getestet.

VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA

Nr.	Probe positiv für	VE	Ergebnis
1	HCoV-OC43	1,4	Neg
2	HCoV-OC43	1,7	Neg
3	HCoV-NL63	1,5	Neg
4	HCoV-NL63	1,4	Neg
5	HCoV-229E	1,5	Neg
6	HCoV-229E	0,9	Neg
7	HCoV-OC43 and HCoV 229E	1,3	Neg
8	HCoV-OC43/HCoV-HKU1	1,4	Neg

3. VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA

145 Proben wurden mit dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgA-ELISA getestet, um die Kreuzreaktivität des Assays zu bewerten. Jede Probe war durch ein legal vermarktetes Produkt positiv auf einen der jeweiligen Marker getestet worden.

Probe positiv für	n	VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA		
		Positiv	Grenzwertig	Negativ
Adenovirus	10	0	0	10
Parainfluenza	9	0	0	9
Candida albicans	10	0	0	10
Bordetella pertussis	10	0	0	10
Influenza A	10	0	0	10
Influenza B	10	0	0	10
Enterovirus	10	0	0	10
Respiratory-Syncytial-Virus	10	0	0	10
Chlamydia pneumoniae	10	0	0	10
Legionella pneumophila	14	0	0	14
Mycoplasma pneumoniae	10	0	0	10
Haemophilus influenza	10	0	0	10
Picornavirus	12	0	0	12
Streptococcus pneumoniae	10	0	0	10

Um die Kreuzreaktivität auf andere humane Coronaviren als SARS-CoV-2 zu bewerten, wurden Proben mit Antikörpern gegen verschiedene humane Coronaviren auf dem GSD SARS-CoV-2 IgA ELISA getestet.

Nr.	Probe positiv für	VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA	
		VE	Ergebnis
1	HCoV-OC43	1,2	Neg
2	HCoV-OC43	1,2	Neg
3	HCoV-NL63	1,5	Neg
4	HCoV-NL63	0,6	Neg
5	HCoV-229E	0,6	Neg
6	HCoV-229E	2	Neg
7	HCoV-OC43 and HCoV 229E	2	Neg
8	HCoV-OC43/HCoV-HKU1	0,6	Neg

c) Spezifität der Immunglobulinklassen

1. VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA

Proben, die mit dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgG-ELISA positiv auf IgG-Antikörper getestet worden waren, wurden mit RF-SorboTech behandelt, um Antikörper der Klasse IgG zu entfernen. Behandelte Proben wurden zusammen mit unbehandelten Proben gemessen, um die Klassenspezifität nachzuweisen.

Probe	Unbehandelt		Behandelt		Unterschied
	VE	Ergebnis	VE	Ergebnis	
1	22,2	Pos	0	Neg	-100%
2	25,7	Pos	0	Neg	-100%
3	25,6	Pos	0,4	Neg	-98%
4	48,1	Pos	0,7	Neg	-99%

2. VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA

Proben, die mit dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgM-ELISA positiv oder grenzwertig (gw) auf IgM-Antikörper getestet worden waren, wurden mit Dithiothreitol behandelt, um Antikörper der IgM-Klasse zu inaktivieren. Behandelte Proben wurden zusammen mit unbehandelten Proben gemessen, um die Klassenspezifität nachzuweisen.

Probe	Unbehandelt		Behandelt		Unterschied
	VE	Ergebnis	VE	Ergebnis	
1	10,9	gw	0	Neg	-100%
2	58,6	Pos	2	Neg	-97%
3	70,7	Pos	1,4	Neg	-98%
4	34,5	Pos	4,6	Neg	-87%

3. VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA

Proben, die mit dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgM- oder IgG-ELISA positiv auf IgM- oder IgG-Antikörper getestet worden waren, wurden mit dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgA-ELISA getestet. Negative IgA-Ergebnisse zeigen die Klassenspezifität

Probe	VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA		VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA		VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA	
	VE	Ergebnis	VE	Ergebnis	VE	Ergebnis
1	9,8	gw	0,4	Neg	2,8	Neg
2	9,5	gw	0,9	Neg	4,2	Neg
3	30,7	Pos	15,7	Pos	6,6	Neg
4	32,9	Pos	6,3	Neg	8,3	Neg
5	15,7	Pos	42,3	Pos	6,7	Neg
6	21,9	Pos	14,9	Pos	4,3	Neg
7	16,2	Pos	8	Neg	8,5	Neg
8	15,5	Pos	3,8	Neg	0,4	Neg
9	2,2	Neg	9,2	gw	3,3	Neg
10	13	Pos	31,7	Pos	2,6	Neg
11	2,2	Neg	14,2	Pos	1,3	Neg
12	2,4	Neg	35	Pos	2,2	Neg
13	3	Neg	10,4	gw	1	Neg
14	1,7	Neg	9,3	gw	1,3	Neg
15	3,4	Neg	18,5	Pos	1,3	Neg
16	1,9	Neg	37,3	Pos	1	Neg
17	0,4	Neg	51,2	Pos	0,3	Neg
18	3	Neg	24,1	Pos	2,1	Neg

12.1.5 Metrologische Rückführbarkeit

Für den VIROTECH SARS-CoV-2 IgG/IgM/IgA ELISA gibt es keinen WHO-Standard oder vergleichbaren Referenzwert.

12.1.6 Definition der Testgrenzwerte (Cut off)

Mehr als 250 Proben aus der gesunden Bevölkerung, Patienten, die mittels RT-PCR positiv auf SARS-CoV-2 getestet worden waren, und Patienten, die positiv auf andere Krankheiten getestet worden waren, die mit COVID-19 verwechselt werden könnten, wurden mit dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgG/IgM/IgA ELISA getestet. Der Cut off des Tests wurde angepasst, um den optimalen Kompromiss zwischen Sensitivität und Spezifität zu erzielen.

12.2 Informationen zur klinischen Leistung

12.2.1 Diagnostische Sensitivität

1. VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA

A) Stationäre Patienten (Klinik)

Es wurde mit dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA eine Sensitivitätsstudie mit 61 Blutproben von 42 Krankenhaus-Patienten durchgeführt, die wegen COVID-19-assoziierten Symptomen ins Krankenhaus eingeliefert und mittels RT-PCR-Test positiv auf SARS-CoV-2 getestet worden waren. Um die diagnostische Sensitivität zu bestimmen, wurden die Proben nach dem Zeitpunkt nach Symptombeginn sortiert.

Cut off-Wert bei niedriger Prävalenz

Tage nach Symptombeginn	n	VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA			Sensitivität*
		Positiv	Grenzwertig	Negativ	
Tag 0-5	13	1	0	12	7,7%
Tag 6-8	14	4	1	9	28,6%
Tag 9-11	17	8	2	7	47,1%
Tag >=12	17	17	0	0	100,0%

*Grenzwertig wurde als negativ gewertet

Cut off-Wert bei hoher Prävalenz

Tage nach Symptombeginn	n	VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA			Sensitivität*
		Positiv	Grenzwertig	Negativ	
Tag 0-5	13	1	0	12	7,7%
Tag 6-8	14	5	1	8	35,7%
Tag 9-11	17	10	0	7	58,8%
Tag >=12	17	17	0	0	100,0%

*Grenzwertig wurde als negativ gewertet

B) Asymptomatische Patienten und Patienten mit leichten Symptomen

Es wurde mit dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA eine Sensitivitätsstudie durchgeführt, bei der 70 Blutproben von Patienten, die ambulant behandelt und nur leichte bis keine Symptome zeigten, aber mittels RT-PCR positiv auf SARS-CoV-2 getestet worden waren, untersucht wurden. Alle Proben wurden mindestens 18 Tage nach einem positiven PCR-Ergebnis entnommen.

Cut off-Wert bei niedriger Prävalenz

Probenanzahl	VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA			Sensitivität*
	Positiv	Grenzwertig	Negativ	
70	54	4	12	77,1%

*Grenzwertig wurde als negativ gewertet

Cut off-Wert bei hoher Prävalenz

Probenanzahl	VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA			Sensitivität*
	Positiv	Grenzwertig	Negativ	
70	64	1	5	91,4%

*Grenzwertig wurde als negativ gewertet

2. VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA

Es wurde mit dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA eine Sensitivitätsstudie mit 61 Blutproben von 42 Patienten durchgeführt, die wegen COVID-19-assoziierten Symptomen ins Krankenhaus eingeliefert und mittels RT-PCR-Test positiv auf SARS-CoV-2 getestet worden waren. Um die diagnostische Sensitivität zu bestimmen, wurden die Proben nach dem Zeitpunkt nach Symptombeginn sortiert.

Tage nach Symptombeginn	n	VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA			Sensitivität*
		Positiv	Grenzwertig	Negativ	
Tag 0-5	13	0	0	13	0,0%
Tag 6-8	14	6	1	7	42,9%
Tag 9-11	17	7	1	9	41,2%
Tag >=12	17	12	2	3	70,6%

*Grenzwertig wurde als negativ gewertet

3. VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA

Es wurde mit dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA eine Sensitivitätsstudie mit 61 Blutproben von 42 Patienten durchgeführt, die wegen COVID-19-assoziierten Symptomen ins Krankenhaus eingeliefert und mittels RT-PCR-Test positiv auf SARS-CoV-2 getestet worden waren. Um die diagnostische Sensitivität zu bestimmen, wurden die Proben nach dem Zeitpunkt nach Symptombeginn sortiert.

Tage nach Symptombeginn	n	VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA			Sensitivität*
		Positiv	Grenzwertig	Negativ	

Tag 0-5	13	1	0	12	7,7%
Tag 6-8	14	7	0	7	50,0%
Tag 9-11	17	11	0	6	64,7%
Tag >=12	17	13	0	4	76,5%

*Grenzwertig wurde als negativ gewertet

4. VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA + VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA

Es wurde mit dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA und dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA eine Sensitivitätsstudie durchgeführt, bei der 42 Blutproben von 26 Krankenhaus-Patienten, die mittels RT-PCR-Test positiv auf SARS-CoV-2 getestet worden waren, untersucht wurden. Um die diagnostische Sensitivität zu bestimmen, wurden die Proben nach dem Zeitpunkt Tage nach Beginn der Symptome sortiert.

Die Ergebnisse bei Verwendung des niedrigen und des hohen Cut off-Werts waren identisch (IgG ELISA)

		VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA + VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA			
Tage nach Symptombeginn	n	Positiv	Grenzwertig	Negativ	Sensitivität*
Tag 0-5	13	1	0	12	7,7%
Tag 6-8	14	7	0	7	50,0%
Tag 9-11	17	12	0	5	70,6%
Tag >=12	17	17	0	0	100,0%

*Grenzwertig wurde als negativ gewertet

5. VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA + VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA

Es wurde mit dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA und dem VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA eine Sensitivitätsstudie durchgeführt, bei der 42 Blutproben von 26 Krankenhaus-Patienten, die mittels RT-PCR-Test positiv auf SARS-CoV-2 getestet worden waren, untersucht wurden. Um die diagnostische Sensitivität zu bestimmen, wurden die Proben nach dem Zeitpunkt Tage nach Beginn der Symptome sortiert.

Die Ergebnisse bei Verwendung des niedrigen und des hohen Cut off-Werts waren identisch (IgG ELISA).

		VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA + VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA			
Tage nach Symptombeginn	n	Positiv	Grenzwertig	Negativ	Sensitivität*
Tag 0-5	13	1	0	12	7,7%
Tag 6-8	14	8	0	6	57,1%
Tag 9-11	17	10	0	7	58,8%
Tag >=12	17	17	0	0	100,0%

*Grenzwertig wurde als negativ gewertet

12.2.2 Diagnostische Spezifität

1. VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA

Die diagnostische Spezifität des VIROTECH SARS-CoV-2 IgG-ELISA wurde durch die Untersuchung von 399 Proben asymptomatischer Personen ohne die Vorgeschichte einer SARS-CoV-2-Infektion bestimmt, die entweder durch ein negatives PCR-Ergebnis bestätigt wurde oder auf dem Zeitpunkt der Probenahme vor dem Auftreten von SARS-CoV-2 basierte. Darüber hinaus wurden 41 Proben von Personen ohne Symptome oder Vorgeschichte einer SARS-CoV-2-Infektion getestet, denen im Mai 2020 in Deutschland eine Probe entnommen worden war.

Cut off-Wert bei niedriger Prävalenz

Probenpanel	n	Positiv im VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA	Spezifität*			
Blutspender USA (Probe vor 2019)	138	0	100%			
Blutspender Deutschland (Probe vor 2019)	118	0	100%			
Bestätigte SARS-CoV-2 PCR-negative Patienten, medizinische Routineuntersuchung (Probe nach März 2020)	93	0	100%			
Kinder (Deutschland, Probe vor 2019, gastrointestinale Beschwerden)	50	0	100%			
Gesunde Patienten, Routineuntersuchung (Mai 2020)	41	0	100%			
Gesamt	440	0	100%	99,1%	to	100%

*Grenzwertig wurde als negativ gewertet

Cut off-Wert bei hoher Prävalenz

Probenpanel	n	Positiv im VIROTECH SARS-CoV-2 IgG ELISA	Spezifität*			
Blutspender USA (Probe vor 2019)	138	8	94,2%			
Blutspender Deutschland (Probe vor 2019)	118	1	99,2%			
Bestätigte SARS-CoV-2 PCR-negative Patienten, medizinische Routineuntersuchung (Probe nach März 2020)	93	0	100,0%			
Kinder (Deutschland, Probe vor 2019, gastrointestinale Beschwerden)	50	0	100,0%			
Gesunde Patienten, Routineuntersuchung (Mai 2020)	41	0	100,0%			
Gesamt	440	9	98,0%	96,2%	to	98,9%
Gesamt (ohne USA)	302	1	99,7%	98%	to	100%

*Grenzwertig wurde als negativ gewertet

2. VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA

Die diagnostische Spezifität des VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA wurde durch die Untersuchung von 125 Proben asymptomatischer Personen aus den USA und Deutschland bestimmt. Die Proben waren vor dem Auftreten von SARS-CoV-2 entnommen worden.

Probenpanel	n	Positiv im VIROTECH SARS-CoV-2 IgM ELISA	Spezifität*			
Blutspender USA (vor 2019)	50	0	100%			
Blutspender Deutschland (vor 2019)	75	0	100%			
Gesamt	125	0	100%	97%	bis	100%

*Grenzwertig wurde als negativ gewertet

3. VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA

Die diagnostische Spezifität des VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA wurde durch die Untersuchung von 125 Proben asymptomatischer Personen aus den USA und Deutschland bestimmt. Die Proben waren vor dem Auftreten von SARS-CoV-2 entnommen worden.

Probenpanel	n	Positiv im VIROTECH SARS-CoV-2 IgA ELISA	Spezifität*			
Blutspender US (vor 2019)	50	0	100%			
Blutspender Deutschland (vor 2019)	75	0	100%			
Gesamt	125	0	100%	97%	bis	100%

*Grenzwertig wurde als negativ gewertet

12.2.3 Methodenvergleich

N/A

12.2.4 Prävalenz

Genauere Informationen über die Prävalenz von SARS-CoV-2 sind in der gegenwärtigen Situation nicht möglich und schwanken rasch im Laufe der Zeit und von Region zu Region.

13 Literatur

1. Velavan TP, Meyer CG (2020) The COVID-19 epidemic, *Trop Med Int Health*, 25:278–280
2. Robert Koch Institut; SARS-CoV-2 Steckbrief zur Coronavirus-Krankheit-2019 (COVID-19); https://www.rki.de/DE/Content/InfAZ/N/Neuartiges_Coronavirus/Steckbrief.html; Stand: 10.4.2020
3. Zhou et al. (2020) A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin, *Nature*, 579: 270-273
4. Xiao et al. (2020) Evolving status of the 2019 novel coronavirus infection: Proposal of conventional serologic assays for disease diagnosis and infection monitoring, *Journal of Medical Virology*, 92:464–467.
5. Okba et al. (2020) SARS-CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients, medRxiv 2020.03.18.20038059; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.18.20038059>