



Instructions for Use

SARS-CoV-2 (RBD) IgG ELISA

IVD



REF EIA-6150

Σ 96



DRG Instruments GmbH, Germany
Frauenbergstraße 18, 35039 Marburg
Phone: +49 (0)6421-1700 0, Fax: +49 (0)6421-1700 50
Website: www.drg-diagnostics.de
E-mail: drg@drg-diagnostics.de

Distributed by:



DRG International, Inc., USA
841 Mountain Ave., Springfield, NJ 07081
Phone: (973) 564-7555, Fax: (973) 564-7556
Website: www.drg-international.com
E-mail: corp@drg-international.com

**Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit.
Verwenden Sie nur die jeweils gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung.
Si prega di usare la versione valida delle istruzioni per l'uso a disposizione con il kit.
Por favor, use sólo la versión válida de las instrucciones de uso que se suministran con el kit.
Utilisez seulement la version valide des Instructions d'utilisation fournies avec le kit.**

Table of Contents / Inhaltsverzeichnis / Tabella dei Contenuti / Tabla de Contenidos

1	INTENDED USE.....	2	1	FINALIDAD PREVISTA	26
2	PRINCIPLE OF THE TEST	2	2	FUNDAMENTO DEL ENSAYO	26
3	WARNINGS AND PRECAUTIONS	3	3	PRECAUCIONES	26
4	REAGENTS.....	4	4	COMPONENTES DEL KIT	27
5	SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION	5	5	MUESTRAS	28
6	ASSAY PROCEDURE.....	5	6	PROCEDIMIENTO DE ENSAYO	28
7	RESULTS	7	7	RESULTADOS.....	30
8	QUALITY CONTROL.....	7	8	CONTROL DE CALIDAD.....	30
9	PERFORMANCE CHARACTERISTICS	8	9	CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO	31
10	LIMITATIONS OF USE.....	10	10	LIMITACIONES DE USO.....	31
11	LEGAL ASPECTS	10	11	ASPECTOS LEGALES	32
1	ZWECKBESTIMMUNG	11	12	REFERENCES / LITERATURE.....	33
2	TESTPRINZIP	11			
3	VORSICHTSMAßNAHMEN	12			
4	BESTANDTEILE DES KITS	13			
5	PROBENVORBEREITUNG	14			
6	TESTDURCHFÜHRUNG	14			
7	ERGEBNISSE	16			
8	QUALITÄTSKONTROLLE.....	16			
9	ASSAY-CHARAKTERISTIKA.....	17			
10	GRENZEN DES TESTS.....	17			
11	RECHTLICHE GRUNDLAGEN	18			
				SYMBOLS USED	34
1	DESTINAZIONE D'USO.....	19			
2	PRINCIPIO DEL TEST	19			
3	PRECAUZIONI	19			
4	COMPONENTI DEL KIT.....	20			
5	CAMPIONI.....	21			
6	ATTUAZIONE DEL TEST.....	21			
7	RISULTATI	23			
8	CONTROLLO QUALITÀ.....	23			
9	CARATTERISTICHE DEL TEST.....	23			
10	LIMITAZIONE DEL TEST.....	24			
11	ASPETTI LEGALI	25			

1 INTENDED USE

The **DRG SARS-CoV-2 (RBD) IgG ELISA** is an enzyme immunoassay for the **quantitative *in vitro* diagnostic** measurement of IgG antibodies to SARS-CoV-2 in serum or plasma (EDTA, lithium heparin or citrate plasma)

The DRG SARS-CoV-2 (RBD) IgG ELISA is intended for use as an aid in identifying individuals with an adaptive immune response to SARS-CoV-2, indicating recent or prior infection. It can support the diagnosis of COVID-19 disease and supplement direct pathogen detection via real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) or pulmonary CT-Scans.

In addition, quantification of anti-SARS-CoV-2 RBD IgG antibodies can aid to monitor development of neutralizing antibodies after vaccination as well as support epidemiological studies on the disease prevalence.

1.1 Summary and Explanation

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is an infectious disease caused by the newly discovered Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2 (SARS-CoV-2), which was first identified during an outbreak of respiratory illness cases in Wuhan City, China in December 2019 and has been declared a global pandemic by the WHO in March 2020^{1,2}. SARS-CoV-2 is a positive-sense single-stranded RNA virus and belongs to the Betacoronavirus Genus, which also includes SARS-CoV (2003) and MERS (2012), but also other human coronaviruses like strains HKU1, OC43, NL63, and 229E which cause common cold with normally mild symptoms typically throughout winter month³.

SARS-CoV-2 is predominantly transmitted by droplet infection via coughing or sneezing and through close contact with infected patients. Smear infection through contaminated surfaces seem to play a minor role. Infection mainly occurs in the respiratory tract, but may also be caused through conjunctiva of the eyes. The incubation of COVID-19 ranges between 1-14 days, with the majority of cases manifesting within 4 to 6 days. The clinical manifestations of COVID-19 vary widely from asymptomatic courses to severe pneumonia with lung failure and death. However, in around 80% of cases the symptoms are mild to moderate including fever, cough, respiratory problems, fatigue or temporarily loss of taste. Reported fatality rates increase with age, comorbidities (such as diabetes, cardiovascular or pulmonary disease, chronic liver disease, cancer) and genetic predisposition⁴.

The coronavirus spike (S) glycoprotein forms a homo-trimeric class I viral fusion complex on the outer envelope of the virion that mediates the binding of the virus to its host cells. Subunit S1 of the spike protein contains a receptor binding domain (RBD) which interacts with the human ACE-2 receptor on the surface of the host cell and initiates the entry of the virus⁵⁻⁷. Antibodies which are directed against the RBD protein of SARS-CoV-2 are discussed to have neutralizing effects and to protect host cells from viral infection^{8,9}.

Antibody response to SARS-CoV-2 infection can be detected as early as 3 days after symptom onset and reaches a peak after 2-3 weeks. Seroconversion for IgG and IgM occurs simultaneously or sequentially^{10,11}. In consequence, the sensitivity of serological assay increases from the first week of symptom onset (< 40%) to 100% > 15 days after onset¹². Antibody titers have been shown to decrease slowly post-infection¹³.

Diagnosis of COVID-19 mainly relies on real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) testing of respiratory specimens. However, PCR can't identify people who went through an infection, recovered, and cleared the virus from their bodies. Furthermore, chest X-rays, pulmonary computed tomography (CT) scans, and lung ultrasounds are important tools in the early diagnosis of pneumonia in patients with COVID-19⁴.

2 PRINCIPLE OF THE TEST

The DRG SARS-CoV-2 (RBD) IgG ELISA is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Microtiter wells as a solid phase are coated with recombinant Receptor-Binding-Domain (RBD) of the Spike Protein S1 of SARS-CoV-2.

Diluted patient specimens and **ready-for-use Standards and Controls** are pipetted into these wells. During incubation, SARS-CoV-2 (RBD) specific antibodies of standards/controls and positive specimens are bound to the immobilized RBD antigen.

After a washing step to remove unbound sample and control material, Enzyme conjugate, which is horseradish peroxidase conjugated anti-human IgG antibodies is dispensed into the wells. During a second incubation, this anti-IgG conjugate binds specifically to human IgG antibodies resulting in the formation of enzyme-linked immune complexes.

After a washing step to remove all unbound substances, the solid phase is incubated with the substrate solution. The colorimetric reaction is stopped by addition of stop solution, and optical density (OD) of the resulting yellow product is measured. The intensity of color is proportional to the concentration of the analyte in the sample.

A standard curve is constructed by plotting OD values against concentrations of standards, and concentrations of unknown samples are determined using this standard curve.

3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. This kit is for in vitro diagnostic use only. For professional use only.
2. All reagents of this test kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by FDA approved procedures. All reagents, however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.
3. Before starting the assay, read the instructions completely and carefully. Use the valid version of instructions for use provided with the kit. Be sure that everything is understood.
4. The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 °C to 8 °C in the sealed foil pouch and used in the frame provided.
5. Pipetting of samples and reagents must be done as quickly as possible and in the same sequence for each step.
6. Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution coloured. Do not pour reagents back into vials as reagent contamination may occur.
7. Mix the contents of the microplate wells thoroughly to ensure good test results. Do not reuse microwells.
8. Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
9. Allow the reagents to reach room temperature (20 °C to 26 °C) before starting the test. Temperature will affect the optical density readings of the assay.
10. Never pipet by mouth and avoid contact of reagents and specimens with skin and mucous membranes.
11. Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.
12. Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents or specimens may give false results.
13. Handling should be done in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guideline or regulation.
14. Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
15. All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiter plate readers.
16. Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to exchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.
17. Avoid contact with Stop Solution containing 0.5 M H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.
18. Some reagents contain ProClin 300, BND and/or MIT as preservatives. In case of contact with eyes or skin, flush immediately with water.
19. TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Wash contaminated objects before reusing them. If inhaled, take the person to open air.
20. Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according to the national biohazard safety guideline or regulation.
21. For information on hazardous substances included in the kit please refer to Safety Data Sheets. Safety Data Sheets for this product are available upon request directly from DRG.

4 REAGENTS

4.1 Reagents provided

1. **Microtiterwells**, 12 x 8 (break apart) strips, 96 wells;
Wells coated with SARS-CoV-2 RBD antigen.
2. **Sample Diluent**, 1 vial, 100 mL, ready to use;
colored green
Contains non-mercury preservative.
3. **Standard (Standard 0 - 3)**, 4 vials, 1.0 mL each, ready to use;
Concentrations: 0 – 5 – 35 – 70 DU/mL
Conversion: 1 DU/mL = 5.15 IU/mL
The standards are calibrated against the following reference material: 1st WHO IS for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human) NIBSC code: 20/136
Contain non-mercury preservative.
4. **Pos. Control**; 1 vial, 1.0 mL each, ready to use;
For control values and ranges please refer to vial label or *Certificate of Analysis*.
Contain non-mercury preservative.
5. **Neg. Control**; 1 vial, 1.0 mL each, ready to use;
For control values and ranges please refer to vial label or *Certificate of Analysis*.
Contain non-mercury preservative.
6. **Enzyme Conjugate**, 1 vial, 14 mL, ready to use;
colored red,
antibody to human IgG conjugated to horseradish peroxidase;
Contains non-mercury preservative.
7. **Substrate Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use;
Tetramethylbenzidine (TMB).
8. **Stop Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use;
Contains 0.5 M H₂SO₄,
Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.
9. **Wash Solution**, 1 vial, 30 mL (40X concentrated);
See "Reagent Preparation".

4.2 Materials required but not provided

- A calibrated microtiter plate reader (450 nm, with reference wavelength at 620 nm to 630 nm)
- Calibrated variable precision micropipettes
- Incubator 37 °C
- Manual or automatic equipment for rinsing microtiter plates
- Absorbent paper
- Distilled water
- Timer
- Graph paper or software for data reduction

4.3 Storage Conditions

When stored at 2 °C to 8 °C unopened reagents will retain reactivity until expiration date. Do not use reagents beyond this date.

Opened reagents must be stored at 2 °C to 8 °C. Microtiter wells must be stored at 2 °C to 8 °C. Once the foil bag has been opened, care should be taken to close it tightly again.

Opened kits retain activity for 8 weeks if stored as described above.

4.4 Reagent Preparation

Bring all reagents and required number of strips to room temperature (20 °C to 26 °C) prior to use.

Wash Solution

Add distilled water to the 40X concentrated Wash Solution.

Dilute 30 mL of concentrated *Wash Solution* with 1170 mL distilled water to a final volume of 1200 mL.

The diluted Wash Solution is stable for 1 week at room temperature.

4.5 Disposal of the Kit

The disposal of the kit and all used materials/reagents must be performed according to the national regulations. Special information for this product is given in the Safety Data Sheet, Section 13.

4.6 Damaged Test Kits

In case of any damage to the test kit or components, DRG must be informed in writing, at the latest one week after receiving the kit. Damaged single components should not be used for a test run. They have to be stored until a final solution has been found. After this, they should be disposed of according to the official regulations.

5 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum or plasma (EDTA, lithium heparin or citrate plasma) can be used in this assay.

Note: Samples containing sodium azide should not be used in the assay.

In general, it should be avoided to use haemolytic, icteric, or lipaemic specimens. For further information refer to chapter "Interfering Substances".

5.1 Specimen Collection

Serum:

Collect blood by venipuncture (e.g. Sarstedt Monovette for serum), allow to clot, and separate serum by centrifugation at room temperature. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Patients receiving anticoagulant therapy may require increased clotting time.

Plasma:

Whole blood should be collected into centrifuge tubes containing anticoagulant (e.g. Sarstedt Monovette with the appropriate plasma preparation) and centrifuged immediately after collection.

5.2 Specimen Storage and Preparation

Specimens should be capped and may be stored for up to 7 days at 2 °C to 8 °C prior to performing the assay.

Specimens stored for a longer time (up to 6 months) should be frozen only once at -20 °C prior to assay. Thawed samples should be inverted several times prior to testing.

Diluted samples (1+100; see chapter 5.3) can be stored as well for up to 7 days at 2 °C to 8 °C.

5.3 Specimen Dilution

Prior to assaying, dilute each patient specimen **1 + 100** with *Sample Diluent* (mix well).

Example: 10 µL sample + 1 mL of Sample Diluent (mix well)

For patient samples with concentrations greater than Standard 3, a second 1:10 dilution of this 1 + 100 diluted patient sample should be performed.

Example: 20 µL of first sample dilution + 180 µL *Sample Diluent* (mix well).

For the calculation of the concentrations this second dilution factor has to be taken into account.

Note: Standards and Controls are ready to use and do not have to be diluted!

6 ASSAY PROCEDURE

6.1 General Remarks

- All reagents and specimens must be allowed to come to room temperature before use. All reagents must be mixed without foaming.
- Once the test has been started, all steps should be completed without interruption.
- Use new disposal plastic pipette tips for each standard, control or sample in order to avoid cross contamination.
- Optical density is a function of the incubation time and temperature. Before starting the assay, it is recommended that all reagents are ready, caps removed, all needed wells secured in holder, etc. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step without interruption.
- As a general rule the enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.
- Close reagent vials tightly immediately after use to avoid evaporation and microbial contamination.

6.2 Test Procedure

Each run must include a standard curve.

1. Secure the desired number of Microtiter wells in the frame holder.
2. Dispense **100 µL** of each **Standard, Control** and **pre-diluted sample** with new disposable tips into appropriate wells.
3. Incubate for **60 minutes at 37 °C**.
4. Rinse the wells **3 times** with **400 µL** diluted *Wash Solution* per well, if a plate washer is used.
- OR -
 Briskly shake out the contents of the wells.
 Rinse the wells **3 times** with **300 µL** diluted *Wash Solution* per well for manual washing. Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.
5. Dispense **100 µL Enzyme Conjugate** into each well.
6. Incubate for **30 minutes** at room temperature (20 °C to 26 °C).
7. Rinse the wells **3 times** with **400 µL** diluted *Wash Solution* per well, if a plate washer is used.
- OR -
 Briskly shake out the contents of the wells.
 Rinse the wells **3 times** with **300 µL** diluted *Wash Solution* per well for manual washing. Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.
Important note:
 The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!
8. Add **100 µL of Substrate Solution** to each well.
9. Incubate for **15 minutes** at room temperature.
10. Stop the enzymatic reaction by adding **50 µL of Stop Solution** to each well.
11. Determine the optical density of the solution in each well at **450 nm (reading) and at 620 nm to 630 nm (background subtraction, recommended)** with a microtiter plate reader.
 It is recommended that the wells be read **within 10 minutes** after adding the *Stop Solution*.

6.3 Calculation of Results

1. Calculate the average optical density (OD) values for each set of standards, controls and patient samples.
2. Automated method:
 The results in the Instructions for Use have been calculated automatically using a 4-Parameter curve fit. (4-Parameter Rodbard or 4-Parameter Marquardt are the preferred methods.) Other data reduction functions may give slightly different results.
3. If no automated method is available:
 Using linear or semi-logarithmic graph paper, construct a standard curve by plotting the mean OD obtained from each standard against its concentration with OD value on the vertical (Y) axis and concentration on the horizontal (X) axis. Using the mean OD value for each sample determine the corresponding concentration from the standard curve.
4. The concentration of the samples can be **read directly** from this standard curve.
 Samples with concentrations greater than that of the highest standard can be further diluted 1:10 or reported as > 70 DU/mL. For the calculation of the concentrations this additional dilution factor (x 10) has to be taken into account.

6.3.1 Example of Typical Standard Curve

The following data is for demonstration only and **cannot** be used in place of data generations at the time of assay.

Standard		Optical Density (450 nm)
Standard 0	(0 DU/mL)	0.014
Standard 1	(5 DU/mL)	0.314
Standard 2	(35 DU/mL)	1.460
Standard 3	(70 DU/mL)	2.348

7 RESULTS

7.1 Validation of the Test Run

The test run may be considered valid provided the control values and ranges given on the labels and the *Certificate of Analysis* are met.

7.2 Interpretation of Results

Normal value ranges for this ELISA should be established by each laboratory based on its own patient populations in the geographical areas.

The test results are given in DU/mL (**DRG Units**) and are calibrated against the 1st WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human), NIBSC code 20/136.

The **Cut-off value** is determined with 5.40 DU/mL.

The following values should be considered as a guideline:

Antibody Conc. (DU/mL)	Interpretation	
< 4.86	Negative	
4.86 – 5.94	Grey zone (equivocal)	For a test result in the grey zone, repeat the test after e.g. 2 weeks with a fresh patient sample. If result in the second test is again found in the grey zone, the sample is considered negative .
> 5.94	Positive	

8 QUALITY CONTROL

Good laboratory practice requires that controls be run with each standard curve. A statistically significant number of controls should be assayed to establish mean values and acceptable ranges to assure proper performance.

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day-to-day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels.

The controls and the corresponding results of the QC-Laboratory are stated in the QC certificate added to the kit. The values and ranges stated on the QC sheet always refer to the current kit lot and should be used for direct comparison of the results.

Employ appropriate statistical methods for analysing control values and trends. If the results of the assay do not fit to the established acceptable ranges of control materials patient results should be considered invalid.

In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods.

After checking the above mentioned items without finding any error contact your distributor or DRG directly.

9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

9.1 Assay Dynamic Range

The range of the assay is between 0.161 DU/mL - 70.0 DU/mL.

9.2 Specificity of Antigen (Cross-Reactivity)

The following substances were tested for cross-reactivity of the assay:

Sample positive to	n
Human Coronavirus NL63 Nucleoprotein*	5
Human Coronavirus 229E Nucleoprotein IgG*	9
MERS IgG*	3
Coronavirus HKU1 IgG*	13
Coronavirus OC43 IgG*	12
Human Coronavirus 229E/NL63 Nucleoprotein IgG*	5
Human Coronavirus NL63 Nucleoprotein and Parainfluenza 1/2/3 IgG*	1
Human Coronavirus 229E/NL63 Nucleoprotein IgG and Parainfluenza 1/2/3 IgG*	1
Adenovirus IgG	20
Bordetella pertussis IgG	16

Sample positive to	n
Chlamydia pneumonia IgG	9
Chlamydia trachomatis IgG	9
EBV IgG	16
Enterovirus IgA	5
Enterovirus IgG	6
Enterovirus IgM	2
Influenza A IgG	7
Influenza B IgG	7
Mycoplasma pneumonia IgG	15
Parainfluenza 1/2/3 IgG	16
RSV IgG	19

*marked samples were used as Coronavirus panel for evaluation of diagnostic specificity.

Sample positive to	n
Rheumatoid factor IgM	6
Rheumatoid factor IgA	4
different ANA	19

Sample	n
Pregnant	18

The antigen used for the DRG SARS-CoV-2 (RBD) IgG ELISA shows no cross-reactivity to the evaluated antibodies.

9.3 Sensitivity

The analytical sensitivity of the DRG ELISA was calculated by adding 2 standard deviations to the mean OD of 20 replicate analyses of *Standard 0* and was found to be 0.009 DU/mL.

The Limit of Blank (LoB) is 0.008 DU/mL.

The Limit of Detection (LoD) is 0.046 DU/mL.

The Limit of Quantification (LoQ) is 0.161 DU/mL.

9.4 Diagnostic Specificity, Sensitivity and Cut-Off

ROC-Analysis is used for the determination.

Using the Cut-Off 5.40 DU/mL, the following specificities were found.

Cohort	n	Non-reactive	Reactive	Specificity (%)
Diagnostic Routine panel	194	194	0	100.0
Blood Donors panel	128	128	0	100.0
Coronavirus panel*	49	49	0	100.0
Total	371	371	0	100.0

* See chapter 9.2 Specificity of Antigen

Using the Cut-Off 5.40 DU/mL, the following sensitivity was found.

Days post PCR confirmation	n	Non-reactive	Reactive	Sensitivity (%)
> 14	84	4	80	95.2

Please note that the sensitivity decreases for samples collected earlier than 14 days after infection with the coronavirus (9-12).

9.5 Reproducibility

9.5.1 Intra-Assay

The within-assay variability was determined by measuring each sample 10 times in one run (n = 10):

Sample	n	Mean (DU/mL)	CV (%)
1	10	3.6	7.4
2	10	13.9	5.7
3	10	23.2	5.4
4	10	40.7	5.6

9.5.2 Inter-Assay

The between-assay variability was determined by measuring each sample 10 times per run on 3 days (n = 30):

Sample	n	Mean (DU/mL)	CV (%)
1	30	3.9	13.4
2	30	13.6	7.4
3	30	24.0	7.0
4	30	42.2	11.2

9.5.3 Inter-Lot

The inter-assay (between-lots) variation was determined by measuring each sample 6 times with 3 different kit lots:

Sample	n	Mean (DU/mL)	CV (%)
1	18	7.9	8.0
2	18	9.6	3.9
3	18	24.9	8.1
4	18	60.9	6.9

9.6 Recovery

Samples have been spiked by adding solutions with known concentrations of analyte.

The recovery (%) was calculated by multiplying the ratio of measured and expected values with 100.

		Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
Concentration (DU/mL)		3.7	14.6	23.7	44.8
Average Recovery (%)		103.5	100.0	94.7	99.2
Range of Recovery (%)	from	98.4	88.0	87.6	92.8
	to	108.1	109.5	98.1	106.3

9.7 Linearity

Samples were measured undiluted and in serial dilutions with *Sample Diluent*. The recovery (%) was calculated by multiplying the ratio of expected and measured values with 100.

		Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
Concentration (DU/mL)		30.5	31.2	32.2	51.1
Average Recovery (%)		105.6	103.4	101.4	100.0
Range of Recovery (%)	from	101.8	102.6	98.7	93.8
	to	109.6	104.8	105.4	104.7

10 LIMITATIONS OF USE

Reliable and reproducible results will be obtained when the assay procedure is performed with a complete understanding of the package insert instruction and with adherence to good laboratory practice.

Any improper handling of samples or modification of this test might influence the results.

Bacterial or fungal contamination of patient samples or reagents, or cross-contamination between reagents may cause erroneous results.

This test is for quantitative detection of anti-SARS-CoV-2 IgG. Test results should not be the sole basis for clinical diagnosis and treatment.

The confirmation of infection with SARS-CoV-2 must be combined with the patient's clinical signs in conjunction to other tests.

In the first week of the onset of the infection with SARS-CoV-2, patient results may be negative for antibodies. The sensitivity increases over the first two weeks and reaches a plateau after two to three weeks.

In addition, false negative results for anti-SARS-CoV-2 antibodies may be obtained for patients with low immunity or other diseases that affect immune function, for patients with failure of important systemic organs, and for patients who use of drugs that suppress immune function.

10.1 Interfering Substances

Haemoglobin (up to 4 mg/mL), Bilirubin (up to 0.5 mg/mL) and Triglyceride (up to 7.5 mg/mL) have no influence on the assay results.

11 LEGAL ASPECTS

11.1 Reliability of Results

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover, the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable national standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. In case of any doubt or concern please contact DRG.

11.2 Therapeutic Consequences

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as stated under point 11.1. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of a patient.

Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient should therapeutic consequences be derived.

The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutic consequences.

11.3 Liability

Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement.

Claims submitted due to customer misinterpretation of laboratory results subject to point 11.2 are also invalid.

Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.

1 ZWECKBESTIMMUNG

Der **DRG SARS-CoV-2 (RBD) IgG ELISA** wird zur **quantitativen** Bestimmung von SARS-CoV-2 IgG-Antikörpern in Serum oder Plasma (EDTA-, Lithium-Heparin- oder Zitratplasma) eingesetzt.

Nur für *In-vitro* Diagnostik.

Der DRG-SARS-CoV-2 (RBD) IgG ELISA kann eingesetzt werden als Hilfsmittel zur Identifizierung von Personen mit einer adaptiven Immunantwort auf SARS-CoV-2, die auf eine kürzlich erfolgte oder frühere Infektion hinweisen. Er kann die Diagnose der COVID-19-Krankheit unterstützen und den direkten Nachweis von Krankheitserregern durch Echtzeit-Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) oder pulmonale CT-Scans ergänzen.

Darüber hinaus kann die Quantifizierung von anti-SARS-CoV-2 RBD IgG-Antikörpern dazu beitragen, die Entwicklung neutralisierender Antikörper nach der Impfung zu überwachen und epidemiologische Studien zur Prävalenz der Erkrankung zu unterstützen.

2 TESTPRINZIP

Der DRG SARS-CoV-2 (RBD) IgG ELISA ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay.

Die Wells der Mikrotiterplatten als feste Phase sind mit der rekombinanten Rezeptor-Bindungsdomäne (RBD) des Spike-Proteins S1 von SARS-CoV-2 beschichtet.

Verdünnte Patientenproben und **gebrauchsfertige Standards und Kontrollen** werden in diese Vertiefungen pipettiert. Während der Inkubation werden die SARS-CoV-2 (RBD)-spezifischen Antikörper von Standards/Kontrollen und positiven Proben an das immobilisierte RBD-Antigen gebunden.

Nach einem Waschschrift zur Entfernung von ungebundenem Proben- und Kontrollmaterial wird Enzymkonjugat (mit Meerrettichperoxidase konjugierte anti-humane IgG-Antikörper) in die Vertiefungen gegeben. Während einer zweiten Inkubation bindet dieses Anti-IgG-Konjugat spezifisch an humane IgG-Antikörper, was zur Bildung von Enzym-gebundenen Immunkomplexen führt.

Nach einem Waschschrift, um alle ungebundenen Substanzen zu entfernen, wird die feste Phase mit der Substratlösung inkubiert. Die Farbreaktion wird durch die Zugabe der Stopplösung beendet und die optische Dichte (OD) des resultierenden gelben Produktes gemessen. Die Intensität der Farbe ist proportional zur Konzentration des Analyten in der Probe.

Durch Auftragen der OD-Werte gegen die Konzentrationen der Standards wird eine Standardkurve erstellt, und die Konzentrationen der unbekanntenen Proben werden anhand dieser Standardkurve bestimmt.

3 VORSICHTSMAßNAHMEN

1. Dieser Kit ist nur zum *in vitro* diagnostischen Gebrauch geeignet. Nur für den professionellen Gebrauch.
2. Alle Reagenzien dieses Testkits, die humanes Serum oder Plasma enthalten, wurden durch von der FDA zugelassene Verfahren auf HIV I/II, HBsAg und HCV getestet und als negativ bestätigt. Alle Reagenzien sollten jedoch im Gebrauch und bei der Entsorgung als potentielle biologische Gefahrenstoffe behandelt werden.
3. Vor Beginn des Tests ist die Gebrauchsanweisung vollständig und sorgfältig zu lesen. Verwenden Sie nur die gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung. Stellen Sie sicher, dass alles verstanden wurde.
4. Die Mikrotiterplatte besteht aus einzeln herausnehmbaren und abbrechbaren Streifen. Ungenutzte Vertiefungen müssen bei 2 °C bis 8 °C im verschlossenen Folienbeutel gelagert und im mitgelieferten Rahmen verwendet werden.
5. Das Pipettieren der Proben und Reagenzien muss so schnell wie möglich und für jeden Schritt in der gleichen Reihenfolge erfolgen.
6. Behältnisse jeweils nur für ein einziges Reagenz verwenden. Dies gilt insbesondere für die Substrat-Behälter. Die Verwendung eines Behälters zum Pipettieren der Substratlösung, der zuvor für die Konjugatlösung verwendet wurde, kann zu einer Verfärbung der Lösung führen. Gießen Sie keine Reagenzien zurück in die originalen Fläschchen, da es zu einer Kontamination der Reagenzien kommen kann.
7. Mischen Sie den Inhalt der Mikrotiterplatten-Vertiefungen gründlich, um gute Testergebnisse zu gewährleisten. Mikrotiterplatten-Vertiefungen nicht wiederverwenden.
8. Kavitäten während des Assays nicht trocknen lassen; Reagenzien unmittelbar nach Ende des Waschschritts hinzufügen.
9. Lassen Sie die Reagenzien vor Testbeginn Raumtemperatur (20 °C bis 26 °C) erreichen. Die Temperatur wirkt sich auf die Messungen der optischen Dichte des Assays aus.
10. Niemals mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Reagenzien und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
11. In Bereichen, in denen Proben oder Kit-Reagenzien verwendet werden, darf nicht geraucht, gegessen, getrunken oder Kosmetika aufgetragen werden.
12. Beim Umgang mit Proben und Reagenzien Einweg-Latexhandschuhe tragen. Eine mikrobielle Kontamination von Reagenzien oder Proben kann zu falschen Ergebnissen führen.
13. Die Handhabung sollte in Übereinstimmung mit den Verfahren erfolgen, die in einer entsprechenden nationalen Richtlinie oder Vorschrift zur Biogefährdung definiert sind.
14. Reagenzien nicht über das auf den Kit-Etiketten angegebene Verfallsdatum hinaus verwenden.
15. Alle im Kit-Protokoll angegebenen Volumina müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
16. Komponenten aus Kits mit unterschiedlichen Chargennummern dürfen nicht gemischt oder zusammen verwendet werden. Es wird empfohlen, keine Wells von verschiedenen Platten zusammen zu verwenden, auch nicht, wenn es sich um die gleiche Charge handelt. Die Kits können unter unterschiedlichen Bedingungen versandt oder gelagert worden sein, so dass die Bindungscharakteristik der Platten leicht unterschiedlich ausfällt.
17. Kontakt mit der Stopplösung (*Stop Solution*) sollte vermieden werden, da sie 0,5 M H₂SO₄ enthält. Schwefelsäure kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
18. Einige Reagenzien enthalten ProClin 300, BND und/oder MIT als Konservierungsmittel. Bei Kontakt mit Augen oder Haut sofort mit Wasser spülen.
19. TMB-Substrat hat eine reizende Wirkung auf Haut und Schleimhäute. Bei möglichem Kontakt Augen mit reichlich Wasser und Haut mit Seife und reichlich Wasser spülen. Kontaminierte Gegenstände vor der Wiederverwendung waschen. Falls eingeatmet, die Person an die frische Luft bringen.
20. Die Reagenzien des Kits sind als gesundheitsgefährdende Abfälle zu betrachten und gemäß den nationalen Vorschriften zu entsorgen
21. Informationen zu den im Kit enthaltenen gefährlichen Substanzen entnehmen Sie bitte dem Sicherheitsdatenblatt. Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage direkt von der Firma DRG Instruments GmbH erhältlich.

4 BESTANDTEILE DES KITS

4.1 Kitinhalt

1. **Microtiterwells**, 96 Wells, 12 x 8 Wells (einzeln brechbar);
Mit SARS-CoV-2 RBD-Antigen beschichtet.
2. **Sample Diluent** (Probenverdünnungsmedium), 1 Fläschchen, 100 mL, gebrauchsfertig;
grün gefärbt;
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
3. **Standard (Standard 0 - 3)**, 4 Fläschchen, je 1,0 mL, gebrauchsfertig;
Konzentrationen: 0 – 5 – 35 – 70 DU/mL;
Umrechnungsfaktor: 1 DU/mL = 5,15 IU/mL
Die Standards sind gegen das folgende Referenzmaterial kalibriert: 1st WHO IS for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human) NIBSC code: 20/136;
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
4. **Pos. Control** (Positive Kontrolle), 1 Fläschchen, je 1,0 mL, gebrauchsfertig;
Kontrollwerte und -bereiche entnehmen Sie bitte dem Fläschchenetikett oder dem „Certificate of Analysis“.
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
5. **Neg. Control** (Negative Kontrolle), 1 Fläschchen, je 1,0 mL, gebrauchsfertig;
Kontrollwerte und -bereiche entnehmen Sie bitte dem Fläschchenetikett oder dem „Certificate of Analysis“.
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
6. **Enzyme Conjugate** (Enzymkonjugat), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig;
rot gefärbt;
anti-humane IgG-Antikörper mit Meerrettichperoxidase konjugiert;
Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.
7. **Substrate Solution** (Substratlösung), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig;
Substratlösung TMB.
8. **Stop Solution** (Stopplösung), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig;
enthält 0,5 M H₂SO₄,
Kontakt mit der Stopplösung vermeiden! Kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
9. **Wash Solution** (Waschlösung), 1 Fläschchen, 30 mL, **40X** konzentriert;
Siehe „Vorbereitung der Reagenzien“.

4.2 Erforderliche aber nicht enthaltene Geräte und Materialien

- Kalibriertes Mikrotiterplattenlesegerät (450 nm, mit Referenzwellenlänge bei 620 nm bis 630 nm)
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipetten
- Inkubator für 37 °C
- Manuelle oder automatische Waschorruchtung für Mikrotiterplatten
- Saugfähiges Papier
- Destilliertes Wasser
- Laborwecker
- Millimeterpapier oder Software zur Datenauswertung

4.3 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Die ungeöffneten Reagenzien behalten bei Lagerung um 2 °C bis 8 °C ihre Reaktivität bis zum Verfallsdatum. Nach dem Verfallsdatum die Reagenzien nicht mehr verwenden.

Nach dem Öffnen sollten alle Reagenzien bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Die Mikrotiterwells sollten bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel sollte stets sehr sorgfältig wieder verschlossen werden.

Unter den beschriebenen Lagerbedingungen behalten geöffnete Kits 8 Wochen ihre Reaktivität.

4.4 Vorbereitung der Reagenzien

Alle Reagenzien sowie die benötigte Anzahl von Wells sollen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (20 °C bis 26 °C) gebracht werden.

Wash Solution

Die 40-fach konzentrierte *Wash Solution* (30 mL) mit 1170 mL destilliertem Wasser auf ein Gesamtvolumen von 1200 mL verdünnen. *Die verdünnte Waschlösung ist bei Raumtemperatur für 1 Woche stabil.*

4.5 Entsorgung des Kits

Die Entsorgung des Kits und aller verwendeten Materialien / Reagenzien muss gemäß den nationalen gesetzlichen Vorschriften erfolgen. Spezielle Informationen für dieses Produkt finden Sie im Sicherheitsdatenblatt, Abschnitt 13.

4.6 Beschädigte Testkits

Im Falle einer Beschädigung des Testkits oder der Komponenten muss die Firma DRG in schriftlicher Form spätestens eine Woche nach Erhalt des Kits informiert werden. Beschädigte Einzelkomponenten dürfen nicht für den Testlauf verwendet werden. Sie müssen aufbewahrt werden, bis eine endgültige Lösung gefunden wurde. Danach sollten Sie gemäß den offiziellen Richtlinien entsorgt werden.

5 PROBENVORBEREITUNG

Serum oder Plasma (EDTA-, Lithium-Heparin- oder Zitratplasma) kann in diesem Test als Probenmaterial eingesetzt werden.

Achtung: Proben, die Natriumazid enthalten, sollten nicht verwendet werden.

Generell sollte die Verwendung von hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben vermieden werden. Weitere Informationen finden Sie im Kapitel „*Interferenzen*“.

5.1 Probenentnahme

Serum: Blut durch Venenpunktion entnehmen (z.B. mit Sarstedt Monovette für Serum), gerinnen lassen und das Serum durch Zentrifugation bei Raumtemperatur abtrennen. Vor der Zentrifugation muss die Gerinnung vollständig abgeschlossen sein. Bei Patienten, die Antikoagulantien erhalten, kann die Gerinnungszeit länger dauern.

Plasma: Die Blutentnahme erfolgt mit Röhrchen, die ein Antikoagulant enthalten (z.B.: Sarstedt Monovette – mit entsprechender Plasma-Präparierung). Das Plasma wird als Überstand nach einer Zentrifugation gewonnen.

5.2 Probenaufbewahrung

Proben sollten stets gut verschlossen sein und können vor Testbeginn bis zu 7 Tage bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Für eine längere Aufbewahrung (bis zu 6 Monaten) sollten die Proben eingefroren bei -20 °C bis zum Testbeginn gelagert werden. Nur einmal einfrieren. Aufgetaute Proben sollten vor Testbeginn vorsichtig durchmischt werden, ohne Schaumbildung.

Verdünnte Proben (1+100; siehe Kapitel 5.3) können ebenfalls bis zu 7 Tage bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

5.3 Probenverdünnung

Vor der Durchführung des Tests muss jede Patientenprobe **1 + 100** mit *Sample Diluent* verdünnt werden, (gut mischen).

Beispiel: 10 µL Probe + 1 mL *Sample Diluent* (gut mischen)

Bei Patientenproben mit Konzentrationen größer als Standard 3 sollte eine zweite 1:10-Verdünnung dieser 1 + 100 verdünnten Patientenprobe durchgeführt werden.

Beispiel: 20 µL der ersten Probenverdünnung + 180 µL *Sample Diluent* (gut mischen).

Bei der Berechnung der Konzentrationen muss dieser zweite Verdünnungsfaktor berücksichtigt werden.

Hinweis: Standards und Kontrollen sind gebrauchsfertig und müssen nicht verdünnt werden!

6 TESTDURCHFÜHRUNG

6.1 Allgemeine Hinweise

- Alle Reagenzien und Proben müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht und gut durchmischt werden. Dabei sollte Schaumbildung vermieden werden.
- Wenn die Testdurchführung einmal begonnen wurde, muss sie ohne Unterbrechung zu Ende geführt werden.
- Für jeden Standard, jede Kontrolle oder Probe eine neue Plastikspitze verwenden, um Verschleppungen zu vermeiden.
- Die Optische Dichte ist abhängig von Inkubationszeit und Temperatur. Deshalb ist es notwendig, vor Beginn der Testdurchführung alle Reagenzien in einen arbeitsbereiten Zustand zu bringen, die Deckel der Fläschchen zu öffnen, alle benötigten Wells in den Halter zu setzen. Nur eine solche Vorbereitung garantiert gleiche Zeiten für jeden Pipettiervorgang ohne Pausen.
- Als generelle Regel gilt, dass die enzymatische Reaktion linear proportional zu Zeit und Temperatur ist.
- Reagenzgefäße unmittelbar nach Gebrauch dicht verschließen, um Verdunstung und mikrobielle Kontamination zu vermeiden.

6.2 Testdurchführung

Jeder Lauf muss eine Standardkurve beinhalten.

1. Die benötigte Anzahl Wells in der Halterung befestigen.
2. **Je 100 µL Standard, Kontrolle und vorverdünnte Probe mit neuen Plastikspitzen** in die entsprechenden Wells geben.
3. **60 Minuten bei 37 °C** inkubieren.
4. Wells **3-mal** mit **400 µL** verdünnter *Wash Solution* waschen, falls ein Waschautomat verwendet wird.
- ODER -
Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln.
Wells **3-mal** mit **300 µL** verdünnter *Wash Solution* waschen bei manueller Durchführung.
Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Wells auf saugfähigem Papier entfernen.
5. **100 µL Enzyme Conjugate** in jedes Well geben.
6. **30 Minuten** bei Raumtemperatur (20 °C bis 26 °C) inkubieren.
7. Wells **3-mal** mit **400 µL** verdünnter *Wash Solution* waschen, falls ein Waschautomat verwendet wird.
- ODER -
Den Inhalt der Wells kräftig ausschütteln.
Wells **3-mal** mit **300 µL** verdünnter *Wash Solution* waschen bei manueller Durchführung.
Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Wells auf saugfähigem Papier entfernen.
Achtung: Die Sensitivität und Präzision dieses Assays wird erheblich beeinflusst von der korrekten Durchführung des Waschschrilles!
8. **100 µL Substrate Solution** in jedes Well geben.
9. **15 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
10. Die enzymatische Reaktion durch Zugabe von **50 µL Stop Solution** in jedes Well abstoppen.
11. Die Optische Dichte (OD) bei **450 nm (Messung) und 620 nm bis 630 nm (Abzug des Hintergrundes, empfohlen)** mit einem Mikrotiterplattenleser innerhalb von **10 Minuten** nach Zugabe der *Stop Solution* bestimmen.

6.3 Ergebnisermittlung

1. Die durchschnittlichen Werte der Optischen Dichte (OD) für jedes Set von Standards, Controls und Patientenproben bestimmen.
2. Automatische Methode:
Die in der Gebrauchsanweisung angegebenen Werte wurden automatisch mit Hilfe der 4-Parameter-Gleichung bestimmt. (4-Parameter-Rodbard oder 4-Parameter-Marquardt sind die bevorzugten Methoden.) Andere Auswertungsfunktionen können leicht abweichende Werte ergeben.
3. Falls keine automatische Auswertung möglich ist:
Eine Standardkurve ermitteln durch Auftragen der mittleren OD jedes Standards gegen die Konzentration, wobei der OD-Wert auf der vertikalen (Y) Achse und die Konzentration auf der horizontalen (X) Achse eingetragen wird. Unter Verwendung der mittleren OD wird für jede Probe die entsprechende Konzentration aus der Standardkurve ermittelt.
4. Die Konzentration der Proben kann **direkt** von der Standardkurve **abgelesen** werden.
Proben, die eine höhere Konzentration als der höchste Standard enthalten, können weiter 1:10 verdünnt oder mit > 70 DU/mL angegeben werden. Dieser zusätzliche Verdünnungsfaktor (x 10) muss bei der Berechnung der Konzentration beachtet werden.

6.3.1 Beispiel für eine Standardkurve

Nachfolgend wird ein typisches Beispiel für eine Standardkurve mit dem DRG ELISA gezeigt. Diese Werte sollten **nicht** zur Berechnung von Patientendaten verwendet werden.

Standard	Optische Dichte (450 nm)
Standard 0 (0 DU/mL)	0,014
Standard 1 (5 DU/mL)	0,314
Standard 2 (35 DU/mL)	1,460
Standard 3 (70 DU/mL)	2,348

7 ERGEBNISSE

7.1 Validierung des Testlaufs

Der Testlauf kann als gültig angesehen werden, sofern die auf den Etiketten und dem „Certificate of Analysis“ angegebenen Kontrollwerte und -bereiche eingehalten werden.

7.2 Interpretation der Ergebnisse

Die Normalwertbereiche für diesen ELISA sollten von jedem Labor auf der Grundlage seiner eigenen Patientenpopulationen in den geografischen Gebieten festgelegt werden.

Die Testergebnisse werden in DU/mL (DRG-Einheiten) angegeben und sind kalibriert gegen den 1. internationalen WHO-Standard für Anti-SARS-CoV-2-Immunglobulin (human), NIBSC-Code 20/136.

Der **Cut-off-Wert** ist mit 5,40 DU/mL festgelegt.

Die folgenden Werte sollten als Richtwerte betrachtet werden:

Antikörper-Konzentration (DU/mL)	Interpretation	
< 4,86	Negativ	
4,86 – 5,94	Grauzone (nicht eindeutig)	Bei einem Testergebnis in der Grauzone ist der Test nach z.B. 2 Wochen mit einer frischen Patientenprobe zu wiederholen. Wenn das Ergebnis im zweiten Test erneut in der Grauzone liegt, gilt die Probe als negativ .
> 5,94	Positiv	

8 QUALITÄTSKONTROLLE

Es wird empfohlen, die Kontrollproben gemäß den nationalen gesetzlichen Bestimmungen einzusetzen. Durch die Verwendung von Kontrollproben wird eine Tag-zu-Tag Überprüfung der Ergebnisse erzielt. Es sollten Kontrollen sowohl mit normalem als auch pathologischem Level eingesetzt werden.

Die Kontrollen mit den entsprechenden Ergebnissen des QC-Labors sind im QC-Zertifikat, das dem Kit beiliegt, aufgeführt. Die im QC-Blatt angegebenen Werte und Bereiche beziehen sich stets auf die aktuelle Kitcharge und sollten zum direkten Vergleich der Ergebnisse verwendet werden.

Es sollten geeignete statistische Methoden zur Analyse von Kontroll-Werten und Trends angewendet werden. Wenn die Ergebnisse des Assays nicht mit den angegebenen Akzeptanzbereichen des Kontrollmaterials übereinstimmen, sollten die Patientenergebnisse als ungültig eingestuft werden.

In diesem Fall überprüfen Sie bitte die folgenden Bereiche: Pipetten und Zeitnehmer, Photometer, Verfallsdatum der Reagenzien, Lagerungs- und Inkubationsbedingungen, Absaug- und Waschmethode.

Sollten Sie nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche keinen Fehler erkannt haben, setzen Sie sich bitte mit Ihrem Lieferanten oder direkt mit der Firma DRG in Verbindung.

9 ASSAY-CHARAKTERISTIKA

9.1 Messbereich

Der Messbereich des Testes liegt zwischen 0,161 DU/mL - 70,0 DU/mL.

9.2 Spezifität des Antigens (Kreuzreaktivität)

Das für den DRG-SARS-CoV-2 (RBD)-IgG ELISA verwendete Antigen zeigt keine Kreuzreaktivität mit den evaluierten Antikörpern.

Die ausführlichen Daten entnehmen Sie bitte der englischen Version der Gebrauchsanweisung.

9.3 Sensitivität

Die analytische Sensitivität, definiert als OD-Mittelwert des *Standard 0* zuzüglich der zweifachen Standardabweichung, (n = 20), beträgt 0,009 DU/mL.

Der „Limit of Blank“ (LoB) ist 0,008 DU/mL.

Die Nachweisgrenze (LoD) ist 0,046 DU/mL.

Die Quantifizierungsgrenze (LoQ) ist 0,161 DU/mL.

9.4 Diagnostische Spezifität, Sensitivität und Cut-Off

Zur Ermittlung wurde die ROC-Analyse verwendet.

Unter Verwendung des Cut-Off von 5,40 DU/mL wurde die folgende Spezifität gefunden.

Kohorte	n	Nicht-reaktiv	Reaktiv	Spezifität (%)
Diagnostisches Routinepanel	194	194	0	100,0
Blutspender-Panel	128	128	0	100,0
Coronavirus-Panel *	49	49	0	100,0
Total	371	371	0	100,0

* siehe Kapitel 9.2 Spezifität des Antigens

Unter Verwendung des Cut-Off von 5,40 DU/mL wurde die folgende Sensitivität gefunden.

Tage nach Bestätigung durch PCR	n	Nicht-reaktiv	Reaktiv	Sensitivität (%)
> 14	84	4	80	95,2 %

Die Daten zu:

9.5 Reproduzierbarkeit (Präzision)

9.6 Wiederfindung

9.7 Linearität

entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Version der Gebrauchsanweisung.

10 GRENZEN DES TESTS

Zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse werden erzielt, wenn das Testverfahren mit vollständigem Verständnis der Anweisungen in der Gebrauchsanleitung und unter Befolgung der GLP (Good Laboratory Practice)-Richtlinien durchgeführt wird.

Jede unsachgemäße Behandlung von Proben oder Modifikation dieses Tests können die Ergebnisse beeinflussen.

Eine bakterielle oder pilzliche Kontamination von Patientenproben oder Reagenzien oder eine Kreuzkontamination zwischen Reagenzien kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Dieser Test dient zum quantitativen Nachweis von SARS-CoV-2 IgG-Antikörpern. Testergebnisse sollten nicht die einzige Grundlage für die klinische Diagnose und Behandlung sein.

Die Bestätigung einer Infektion mit SARS-CoV-2 muss mit den klinischen Symptomen des Patienten, in Verbindung mit anderen Tests, kombiniert werden.

In der ersten Woche des Beginns der Infektion mit SARS-CoV-2-Patienten können die Ergebnisse für Antikörper negativ sein. Die Sensitivität nimmt in den ersten zwei Wochen zu und erreicht nach zwei bis drei Wochen ein Plateau.

Darüber hinaus können falsch negative Ergebnisse für SARS-CoV-2-Antikörpern auftreten bei Patienten mit geringer Immunität oder anderen Krankheiten, die die Immunfunktion beeinträchtigen, bei Patienten mit Versagen wichtiger systemischer Organe und bei Patienten, die Medikamente zur Unterdrückung der Immunfunktion einnehmen.

10.1 Interferenzen

Hämoglobin (bis zu 4 mg/mL), Bilirubin (bis zu 0,5 mg/mL) und Triglyceride (bis zu 7,5 mg/mL) haben keinen Einfluss auf das Testergebnis.

11 RECHTLICHE GRUNDLAGEN

11.1 Zuverlässigkeit der Ergebnisse

Der Test muss exakt gemäß der Testanleitung des Herstellers abgearbeitet werden. Darüber hinaus muss der Benutzer sich strikt an die Regeln der GLP (Good Laboratory Practice) oder andere eventuell anzuwendende Regeln oder nationale gesetzliche Vorgaben halten. Dies betrifft besonders den Gebrauch der Kontrollreagenzien. Es ist sehr wichtig, bei der Testdurchführung stets eine ausreichende Anzahl Kontrollen zur Überprüfung der Genauigkeit und Präzision mitlaufen zu lassen.

Die Testergebnisse sind nur gültig, wenn alle Kontrollen in den vorgegebenen Bereichen liegen, und wenn alle anderen Testparameter die vorgegebenen Spezifikationen für diesen Assay erfüllen. Wenn Sie bezüglich eines Ergebnisses Zweifel oder Bedenken haben, setzen Sie sich bitte mit der Firma DRG in Verbindung.

11.2 Therapeutische Konsequenzen

Therapeutische Konsequenzen sollten keinesfalls nur aufgrund von Laborergebnissen erfolgen, selbst dann nicht, wenn alle Testergebnisse mit den in 11.1 genannten Voraussetzungen übereinstimmen. Jedes Laborergebnis ist nur ein Teil des klinischen Gesamtbildes eines Patienten.

Nur in Fällen, in denen die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem allgemeinen klinischen Bild des Patienten stehen, sollten therapeutische Konsequenzen eingeleitet werden.

Das Testergebnis allein sollte niemals als alleinige Grundlage für die Einleitung therapeutischer Konsequenzen dienen.

11.3 Haftung

Jegliche Veränderungen des Testkits und/oder Austausch oder Vermischung von Komponenten unterschiedlicher Chargen von einem Testkit zu einem anderen, können die gewünschten Ergebnisse und die Gültigkeit des gesamten Tests negativ beeinflussen. Solche Veränderungen und/oder Austausch haben den Ausschluss jeglicher Ersatzansprüche zur Folge.

Reklamationen, die aufgrund von Falschinterpretation von Laborergebnissen durch den Kunden gemäß Punkt 11.2 erfolgen, sind ebenfalls abzuweisen. Im Falle jeglicher Reklamation ist die Haftung des Herstellers maximal auf den Wert des Testkits beschränkt. Jegliche Schäden, die während des Transports am Kit entstanden sind, unterliegen nicht der Haftung des Herstellers.

1 DESTINAZIONE D'USO

Il test immuno-enzimatico **DRG SARS-CoV-2 (RBD) IgG ELISA** contiene materiale per la determinazione **quantitativa** degli anticorpi IgG anti SARS-CoV-2 nel siero o nel plasma (EDTA, eparina di litio o plasma di citrato).

Solo per uso diagnostico *in vitro*.

Il DRG-SARS-CoV-2 (RBD) IgG ELISA può essere utilizzato come strumento per identificare individui con una risposta immunitaria adattiva alla SARS-CoV-2 che indica un'infezione recente o precedente.

Può supportare la diagnosi della malattia COVID-19 e integrare la rilevazione diretta del patogeno attraverso la reazione a catena della polimerasi trascrizionale inversa in tempo reale (*real-time RT-PCR*) o la TC-Scans polmonare.

Inoltre, la quantificazione degli anticorpi anti-SARS-CoV-2 RBD IgG può aiutare a monitorare lo sviluppo di anticorpi neutralizzanti dopo la vaccinazione e sostenere gli studi epidemiologici sulla prevalenza della malattia.

2 PRINCIPIO DEL TEST

Il DRG SARS-CoV-2 (RBD) IgG ELISA è un test immunoenzimatico in fase solida.

I micropozzetti come fase solida sono ricoperti con il dominio di legame del recettore (in inglese: RBD) ricombinante della proteina di Spike S1 di SARS-CoV-2.

Campioni di pazienti diluiti e standard e controlli pronti all'uso vengono pipettati in questi micropozzetti.

Durante l'incubazione gli anticorpi specifici per SARS-CoV-2 (RBD) degli standard/controlli e dei campioni positivi si legano all'antigene RBD immobilizzato.

Dopo i passaggi di lavaggio per rimuovere materiali dei campioni e controlli non legati, viene aggiunto ai pozzetti l'enzima coniugato (anticorpi IgG anti-umani coniugati con perossidasi di rafano). Durante una seconda incubazione questo coniugato anti-IgG si legano in maniera specifica agli anticorpi IgG umani, risultando nella formazione di immunocomplessi enzimatici.

Dopo una fase di lavaggio per rimuovere tutte le sostanze non legate, la fase solida viene incubata con la soluzione di substrato. La reazione colorimetrica viene bruscamente interrotta con l'aggiunta di soluzione di arresto e viene misurata la densità ottica (DO) del prodotto giallo risultante. L'intensità del colore è proporzionale alla concentrazione dell'analita nel campione.

Una curva standard viene costruita tracciando i valori di DO rispetto alle concentrazioni di standard, e le concentrazioni di campioni sconosciuti vengono determinate usando questa curva standard.

3 PRECAUZIONI

- Questo kit è adatto soltanto per l'uso diagnostico *in vitro*. Solo per l'uso professionale.
- Si prega di usare la versione valida dell'insero del pacco a disposizione con il kit.
- Informazioni su sostanze pericolose contenute nel kit sono riportate nel regolamento di sicurezza.
- Tutti i componenti del kit che contengono siero o plasma umano sono controllati e confermati negativi per la presenza di HIV I/II, HbsAg e HCV con metodi conformi alle norme FDA. Ciononostante tutti i componenti dovrebbero essere trattati come potenziali sostanze nocive nella manutenzione e nello smaltimento.
- Il contatto con la *Stop Solution* dovrebbe essere evitato perché contiene 0,5 M H₂SO₄. L'acido solforico può provocare irritazioni cutanee e ustioni.
- Non pipettare con la bocca ed evitare il contatto con componenti del kit con la pelle o con le mucose.
- Nelle aree in cui il test viene utilizzato non fumare, mangiare, bere o fare uso di prodotti cosmetici.
- Nella manutenzione dei campioni o reagenti del kit portare guanti di latex monouso. La contaminazione dei reagenti o dei campioni con microbi può dare risultati falsi.
- L'utilizzo dovrebbe avvenire secondo regole che seguono le rispettive norme di sicurezza nazionali sulle sostanze nocive.
- Non utilizzare i reagenti dopo la scadenza indicata sul kit.
- Ogni indicazione sulla quantità indicata del protocollo del kit deve essere accuratamente seguito. Risultati ottimali possono essere ottenuti soltanto con l'uso di pipette calibrate e spettrofotometro calibrato.
- Componenti del kit con numeri di lotto diversi non devono essere combinati. È consigliabile di non utilizzare pozzetti di piastre diversi, anche se si tratta dello stesso lotto. I kit potrebbero essere stati immagazzinati o spediti a condizioni diverse, cosicché le caratteristiche di legame potrebbero divergere leggermente.
- I componenti chimici e reagenti preparati o già utilizzati devono essere trattati e smaltiti secondo le norme di sicurezza nazionali sulle sostanze nocive.
- I regolamenti di sicurezza di questo prodotto possono essere richiesti direttamente dalla ditta DRG Instruments GmbH.

4 COMPONENTI DEL KIT

4.1 Contenuto del kit

1. **Microtiterwells** (Piastrine per microtitolazione), 12 x 8 file (separatamente staccabili), 96 pozzetti; Pozzetti ricoperti con antigene SARS-CoV-2 RBD
2. **Sample Diluent** (Diluente dei campioni), 1 flacone, 100 mL, pronto all'uso; colore verde
Contiene conservante senza mercurio.
3. **Standard (Standard 0 - 3)**, 4 flaconi, 1,0 mL ognuno, pronto all'uso;
Concentrazione: 0 – 5 – 35 – 70 DU/mL;
Conversione 1 DU/mL = 5,15 IU/mL;
Gli standard sono standardizzati contro il seguente materiale di riferimento: 1st WHO IS for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human) NIBSC code: 20/136.
Contiene conservante senza mercurio.
4. **Pos. Control** (Controllo positivo), 1 flaconi, 1,0 mL ognuno, pronto all'uso;
Per i valori e gli intervalli di controllo si prega di fare riferimento all'etichetta della fiala o al "Certificate of Analysis".
Contiene conservante senza mercurio.
5. **Neg. Control** (Controllo negativo), 1 flaconi, 1,0 mL ognuno, pronto all'uso;
Per i valori e gli intervalli di controllo si prega di fare riferimento all'etichetta della fiala o al "Certificate of Analysis".
Contiene conservante senza mercurio.
6. **Enzyme Conjugate** (Tracciante enzimatico), 1 flacone, 14 mL, pronto all'uso; colore rosso
anticorpo delle IgG umane coniugato alla perossidasi di rafano;
Contiene conservante senza mercurio.
7. **Substrate Solution** (Soluzione di substrato), 1 flacone, 14 mL, pronto all'uso;
TMB (benzidine tetrametilico).
8. **Stop Solution** (Soluzione d'arresto), 1 flacone, 14 mL, pronto all'uso;
Contiene 0,5 M H₂SO₄.
Evitare il contatto con la soluzione d'arresto. Può causare irritazioni cutanee e ustioni.
9. **Wash Solution** (Soluzione di lavaggio), 1 flacone, 30 mL (concentrata 40X);
Vedi „Preparazione dei reagenti“.

4.2 Materiali richiesti ma non contenuti nel kit

- Lettore di piastre di microtitolazione calibrato (450 nm, con lunghezza d'onda di riferimento a 620 nm a 630 nm)
- Micropipette calibrate di precisione a volume variabile
- Incubatore 37 °C
- Lavatore, manuale o automatico, di piastre di microtitolazione
- Carta assorbente
- Acqua distillata
- Timer
- Carta millimetrata o software per il calcolo dei dati

4.3 Magazzinaggio e stabilità del kit

A 2 °C a 8 °C i reagenti non aperti rimangono reattivi fino alla data di scadenza indicata. Non usare reagenti oltre questa data. Tutti i reagenti aperti devono essere magazzinati a 2 °C a 8 °C. I micropozzetti devono essere magazzinati a 2 °C a 8 °C. Una volta aperti i pacchi, questi devono essere richiusi accuratamente.

Test kits aperti rimangono attivi per 8 settimane se magazzinati alle condizioni sopra descritte.

4.4 Preparazione dei reagenti

Prima dell'uso portare tutti i reagenti e il numero necessario di pozzetti a temperatura ambiente (20 °C a 26 °C).

Wash Solution

Diluire 30 mL *Wash Solution* concentrata con 1170 mL di acqua distillata fino ad un volume finale di 1200 mL.

La soluzione di lavaggio diluita è stabile per 1 settimana a temperatura ambiente.

4.5 Smaltimento del kit

La discarica del kit e di tutti i materiali/reagenti usati devono avvenire secondo i regolamenti nazionali. Informazioni aggiuntive per questo prodotto si trovano nella scheda di dati di sicurezza, sezione 13.

4.6 Test kits danneggiati

In caso di alcun danno al test kit o ai suoi componenti, DRG deve essere informato per iscritto, al Massimo una settimana dopo la ricezione del kit. Componenti singoli danneggiati non devono essere usati per un saggio. Questi devono essere conservati fino ad aver trovato una soluzione finale. Dopo, questi componenti devono essere scaricati secondo i regolamenti ufficiali.

5 CAMPIONI

Siero o plasma (EDTA, litio eparina o plasma citrato) può essere usato per questo test.

Attenzione: Se i campioni contengono sodio azide non devono essere utilizzati per questo test.

In generale si dovrebbe evitare l'uso di campioni emolitici, itterici o lipemici. Per ulteriori informazioni consultare il capitolo "Sostanze interferenti".

5.1 Collezione dei campioni

Siero:

Collezionare sangue tramite puntura venale (p.es. Sarstedt Monovette per siero), far coagulare e separare il siero centrifugando a temperatura ambiente.

Non centrifugare prima che la coagulazione sia completata. Campioni di pazienti con una terapia anticoagulante possono richiedere più tempo per la coagulazione.

Plasma:

Il sangue dovrebbe essere collezionato in tubetti da centrifuga contenenti un anticoagulante (p. es. Sarstedt Monovette con un'adeguata preparazione per il plasma) e centrifugando immediatamente dopo la puntura.

5.2 Magazzinaggio dei campioni

I campioni dovrebbero essere magazzinati ben chiusi fino a 7 giorni a 2 °C a 8 °C.

Campioni magazzinati per un periodo più lungo (fino a 6 mesi) dovrebbero essere congelati solo una volta a -20 °C prima dell'analisi. Congelare soltanto una volta. Invertire campioni scongelati alcune volte prima dell'uso.

Anche i campioni diluiti (1+100; vedi capitolo 5.3) possono essere conservati fino a 7 giorni a 2 °C - 8 °C.

5.3 Diluizione dei campioni

Prima del dosaggio, diluire ogni campione di paziente **1 + 100** con il *Sample Diluent* (miscelare bene).

Esempio: 10 µL di campione + 1 mL di *Sample Diluent* (miscelare bene)

Per campioni di pazienti con concentrazioni superiori allo Standard 3, deve essere eseguita una seconda diluizione 1:10 di questo campione di paziente diluito 1 + 100.

Esempio: 20 µL di prima diluizione del campione + 180 µL di *Sample Diluent* (miscelare bene).

Per il calcolo delle concentrazioni si deve tener conto di questo secondo fattore di diluizione.

Nota: Standard e Controlli sono pronti all'uso e non devono essere diluiti!

6 ATTUAZIONE DEL TEST

6.1 Indicazioni generali

- Tutti i reagenti e i campioni devono essere portati a temperatura ambiente e ben mescolati prima dell'uso. Evitare la formazione di schiume.
- Una volta iniziato il procedimento del test, questo deve essere portato alla fine senza interruzione.
- Per ogni componente, standard, controllo o campione è necessario utilizzare una nuova punta monouso per evitare reazioni incrociate.
- La densità ottica dipende dal tempo d'incubazione e dalla temperatura. Perciò si rende necessario di preparare tutti i reagenti, di aprire i tappi dei flaconi e di appostare tutti i pozzetti nelle appropriate posizioni. Soltanto una tale preparazione garantisce gli stessi tempi per ogni processo di pipettamento.
- Come regola generale vale che la reazione enzimatica si svolge linearmente proporzionale con il tempo e con la temperatura.
- Le fiale di reagente devono essere chiuse ermeticamente subito dopo l'uso per evitare l'evaporazione e la contaminazione microbica.

6.2 Esecuzione del test

Ogni analisi deve includere una curva standard.

1. Fissare i pozzetti necessari sul supporto.
2. Pipettare **100 µL** ciascuno di **Standard, Control** e **campione pre-diluito** nei pozzetti appropriati, cambiando ogni volta la punta monouso.
3. Incubare per **60 minuti** a **37 °C**.
4. Lavare i pozzetti **3 volte** con **400 µL Wash Solution** diluita in ogni pozzetto, se si utilizza una lavatore di piastra - **OPPURE** -
Rovesciare la piastra per vuotare i pozzetti.
Lavare i pozzetti **3 volte** con **300 µL Wash Solution** diluita in ogni pozzetto per il lavaggio manuale.
5. Pipettare **100 µL Enzyme Conjugate** in ogni pozzetto.
Agitare bene per 10 secondi. È molto importante raggiungere un completo mescolamento.
6. Incubare per **30 minuti** a temperatura ambiente (20 °C to 26 °C).
7. Lavare i pozzetti **3 volte** con **400 µL Wash Solution** diluita in ogni pozzetto, se si utilizza una lavatore di piastra - **OPPURE** -
Rovesciare la piastra per vuotare i pozzetti.
Lavare i pozzetti **3 volte** con **300 µL Wash Solution** diluita in ogni pozzetto per il lavaggio manuale.
Rimuovere le gocce d'acqua rimanenti rivoltando la piastra su carta assorbente.
Importante:
La sensibilità e la precisazione di questo kit sono fortemente influenzate dal corretto esecuzione del lavaggio!
8. Aggiungere **100 µL** della **Substrate Solution** ad ogni pozzetto.
9. Incubare per **15 minuti** a temperatura ambiente.
10. Fermare la reazione enzimatica aggiungendo **50 µL** della **Stop Solution** ad ogni pozzetto.
11. Determinare la densità ottica (DO) della soluzione in ogni pozzetto **a 450 nm (lettura) e a 620 nm a 630 nm (sottrazione dello sfondo, raccomandata)** con un lettore di piastre di microtitolazione.
Si raccomanda di leggere i pozzetti entro **10 minuti** dall'aggiunta della **Stop Solution**.

6.3 Rilevamento dei risultati

1. Determinare i valori medi della densità ottica (DO) per ogni set di standard, controlli e campioni.
2. Metodo automatico:
I valori riportati in queste istruzioni per l'uso sono stati determinati tramite l'equazione a 4-parametri. (I metodi preferiti sono 4-Parameter Rodbard oppure 4-Parameter Marquardt.) Altri funzioni usati per l'elaborazione dei dati possono dare risultati leggermente differenti.
3. Se non è disponibile un metodo automatico:
Utilizzando carta millimetrata lineare o semi-logaritmica, costruire una curva standard: riportare i valori medi della densità ottica (DO) di ogni standard contro la rispettiva concentrazione dove i valori delle DO si devono trovare sull'asse verticale (Y) e le concentrazioni sull'asse orizzontale (X). Utilizzando il valore medio delle DO per ogni campione si determina la rispettiva concentrazione dalla curva standard.
4. La concentrazione dei campioni può essere determinata **direttamente** dalla curva standard.
I campioni con concentrazioni superiori allo standard più elevato possono essere ulteriormente diluiti 1:10 o riportati come > 70 DU/mL. Per il calcolo delle concentrazioni si deve tener conto di questo fattore di diluizione aggiuntivo (x 10).

6.3.1 Esempio di una curva standard tipica

I seguenti dati sono a scopo dimostrativo soltanto e **non possono** sostituire i dati generati dall'esecuzione del test.

	Standard	Densità ottiche (450 nm)
Standard 0	(0 DU/mL)	0,014
Standard 1	(5 DU/mL)	0,314
Standard 2	(35 DU/mL)	1,460
Standard 3	(70 DU/mL)	2,348

7 RISULTATI

7.1 Validazione del test

Il test può essere considerato valido a condizione che siano rispettati i valori di controllo e gli intervalli indicati sulle etichette e sul "Certificate of Analysis".

7.2 Interpretazione dei risultati

Gli intervalli di valori normali per questo ELISA devono essere stabiliti da ciascun laboratorio in base alle proprie popolazioni di pazienti nelle aree geografiche.

I risultati del test sono riportati in DU/mL (unità DRG) e sono calibrati rispetto al 1° standard internazionale dell'OMS per l'immunoglobulina anti-SARS-CoV-2 (umana), codice NIBSC 20/136.

Il **valore di Cut-off** viene determinato con 5,40 DU/mL.

I seguenti valori devono essere considerati come linea guida:

Conc. di anticorpi (DU/mL)	Interpretazione	
< 4,86	Negativo	
4,86 – 5,94	Zona grigia (equivoca)	Per un risultato del test nella zona grigia, ripetere il test dopo ad esempio 2 settimane con un campione fresco del paziente. Se il risultato del secondo test viene nuovamente trovato nella zona grigia, il campione è considerato negativo .
> 5,94	Positivo	

8 CONTROLLO QUALITÀ

È consigliabile utilizzare i campioni controllo secondo le norme di legge. Attraverso l'utilizzo dei campioni controllo si può raggiungere una verifica dei risultati giorno per giorno. Dovrebbero essere adoperati campioni controllo sia con un livello normale sia con uno patologico.

Le referenze con i rispettivi risultati del laboratorio QC sono elencati nel QC certificato, che è allegato al kit. I valori riportati nel QC certificato si riferiscono al lotto del kit attuale e dovrebbero essere utilizzati per un raffronto dei risultati.

Appropriati metodi statistici per l'analisi dei valori controllo e delle rappresentazioni grafici dovrebbero essere adoperati. Nel caso che i risultati del test non combaciano con il campo di accettazione indicato dal materiale di controllo, i risultati dei pazienti devono essere considerati invalidi. In questo caso si prega di controllare i seguenti fattori d'errore: pipette, cronometri, fotometro, data di scadenza dei reagenti, condizione di magazzinaggio e d'incubazione, metodi di aspirazione e di lavaggio.

Se dopo il controllo dei suddetti fattori non è rilevabile alcun errore, si prega di contattare il fornitore o direttamente la ditta DRG.

9 CARATTERISTICHE DEL TEST

9.1 Assay Dynamic Range

Le concentrazioni determinabili con questo test stanno tra 0,161 DU/mL - 70,0 DU/mL.

9.2 Specificità dell'antigene (reazioni ad incrocio)

L'antigene utilizzato per il DRG SARS-CoV-2 (RBD) IgG ELISA non mostra alcuna reattività crociata con gli anticorpi testati.

Per dettagli più precisi consultare la metodica in inglese.

9.3 Sensitività

La sensitività analitica è stata calcolata dai valori medi, più due volte la deviazione standard, di venti (20) repliche dello *Standard 0* ed erano 0,009 DU/mL.

Il limite del bianco (LoB) è 0,008 DU/mL.

Il limite di rilevabilità (LoD) è 0,046 DU/mL.

Il limite di quantificazione (LoQ) è 0,161 DU/mL.

9.4 Specificità diagnostica, sensibilità e Cut-Off

Per la determinazione è stata utilizzata l'analisi ROC.

Utilizzando il Cut-off di 5,40 DU/mL è stata trovata la seguente specificità.

Coorte	n	Non reattivo	Reattivo	Specificità (%)
Panel diagnostico di routine	194	194	0	100,0
Panel donatori di sangue	128	128	0	100,0
Panel Coronavirus *	49	49	0	100,0
Totale	371	371	0	100,0

* vedi capitolo 9.2 Specificità dell'antigene

Utilizzando il Cut-off di 5,40 DU/mL è stata trovata la seguente sensibilità.

Giorni dopo la conferma di PCR	n	Non reattivo	Reattivo	Sensibilità (%)
> 14	84	4	80	95,2 %

Dati dettagliati su

9.5 Precisione

9.6 Recupero

9.7 Linearità

si prega di consultare le dettagliate istruzioni per l'uso in inglese.

10 LIMITAZIONE DEL TEST

Risultati affidabili e riproducibili saranno ottenuti quando il procedimento del test è seguito con una comprensione completa delle istruzioni all'uso e seguendo una buona pratica di laboratorio (GLP).

Ogni manutenzione impropria dei campioni o modificazione al saggio può influenzare i risultati.

La contaminazione batterica o fungina dei campioni dei pazienti o dei reagenti, o la contaminazione incrociata tra i reagenti può causare risultati errati.

Questo test è per la rilevazione quantitativa di anti SARS-CoV-2 IgG. I risultati del test non dovrebbero essere l'unica base per la diagnosi clinica e il trattamento.

La conferma dell'infezione da SARS-CoV-2 deve essere combinata con i segni clinici del paziente in combinazione con altri test.

Nella prima settimana di insorgenza dell'infezione da SARS-CoV-2, i risultati dei pazienti possono essere negativi per gli anticorpi. La sensibilità aumenta nelle prime due settimane e raggiunge un plateau dopo due o tre settimane.

Inoltre, risultati falsi negativi per gli anticorpi anti-SARS-CoV-2 possono essere ottenuti per i pazienti con bassa immunità o altre malattie che influenzano la funzione immunitaria, per i pazienti con insufficienza di importanti organi sistemici e per i pazienti che fanno uso di farmaci che sopprimono la funzione immunitaria.

10.1 Sostanze interferenti

Emoglobina (fino a 4 mg/mL), bilirubina (fino a 0,5 mg/mL) e trigliceridi (fino a 7,5 mg/mL) non influenzano i risultati di questo test.

11 ASPETTI LEGALI

11.1 Affidabilità dei risultati

Il test deve essere eseguito esattamente secondo il protocollo dato dal produttore. Inoltre l'utente deve seguire le regole del GLP (Good Laboratory Practice) o eventualmente altre regole comportamentali o disposizioni legali. Questo vale soprattutto per l'uso delle referenze. È molto importante utilizzare un numero appropriato di referenze in parallelo ai campioni test per poter controllare l'esattezza e la precisione del test.

I risultati del test sono validi soltanto se tutte le referenze cadono nei margini prestabiliti e se tutti gli altri parametri del test soddisfano la specificazione per questo test. Se esistono dubbi o domande su questi risultati, si prega di contattare la ditta DRG.

11.2 Conseguenze terapeutiche

Soltanto sulla base dei risultati dei laboratori non dovrebbero essere intraprese delle conseguenze terapeutiche di alcun tipo, anche se i risultati del test sono d'accordo con gli aspetti articolati nel punto 11.1. Ogni risultato di laboratorio è soltanto una parte di un quadro clinico completo di un paziente.

Soltanto in casi in cui i risultati di un test del laboratorio si accordano con il quadro clinico dell'ammalato, si possono intraprendere delle conseguenze terapeutiche.

Il risultato del test da solo non è base sufficiente per lo stabilimento di una terapia.

11.3 Responsabilità legali

Ogni cambiamento del protocollo del test e/o lo scambio o il mescolamento di componenti provenienti da cariche diverse possono influenzare negativamente i risultati e compromettere la validità del test. Questi cambiamenti e/o scambi annullano ogni diritto al risarcimento.

Si respingano inoltre tutti i richiami risultanti da interpretazioni sbagliate da parte dell'utente secondo il paragrafo 11.2.

Nel caso di reclamazione, la garanzia del produttore è limitata al valore massimo del test kit. Ogni danno provocato durante il trasporto del kit non sottostà alla responsabilità del produttore.

1 FINALIDAD PREVISTA

El kit de inmunoensayo enzimático **DRG SARS-CoV-2 (RBD) IgG ELISA** proporciona los materiales necesarios para la determinación **cuantitativa** de anticuerpos IgG del SARS-CoV-2 en suero o plasma (EDTA, heparina de litio o plasma citrado).

Este ensayo está diseñado solo para **diagnóstico *in vitro***.

El DRG SARS-CoV-2 (RBD) IgG ELISA puede utilizarse como medida para identificar a los individuos con una respuesta inmunológica adaptativa al SARS-CoV-2 que indique una infección reciente o pasada. Puede apoyar el diagnóstico de la enfermedad COVID-19 y complementar la detección de patógenos directos mediante la reacción en cadena de la polimerasa de transcriptasa inversa (RT-PCR) en tiempo real o las tomografías computarizadas pulmonares.

Además, la cuantificación de los anticuerpos IgG anti-SARS-CoV-2 RBD puede ayudar a vigilar el desarrollo de los anticuerpos neutralizantes después de la vacunación y apoyar los estudios epidemiológicos sobre la prevalencia de la enfermedad.

2 FUNDAMENTO DEL ENSAYO

El Kit DRG SARS-CoV-2 (RBD) IgG ELISA es un ensayo en fase sólida de inmunoabsorción unido a enzimas (ELISA). Los pocillos de las placas de microtitulación como fase sólida están recubiertos con el dominio de unión de receptores (en inglés *Receptor-Binding-Domain* (RBD)) recombinantes de la proteína de punta S1 del SARS-CoV-2.

Las **muestras diluidas de los pacientes** y los **estándares y controles listos para usar** se pipetea en estos pocillos. Durante la incubación, los anticuerpos específicos del SARS-CoV-2 (RBD) de los estándares/controles y las muestras positivas se unirán al antígeno RBD inmovilizado.

Después de un proceso de lavado para eliminar material de muestras y de control no enlazada, se añade a los pocillos el conjugado de enzimas (anticuerpos IgG antihumanos conjugados con peroxidasa de rábano). Durante una segunda incubación, este conjugado anti-IgG se une específicamente a los anticuerpos IgG humanos, resultando en la formación de complejos inmunes unidos a las enzimas.

Después de un paso de lavado para eliminar todas las sustancias no ligadas, la fase sólida se incuba con la solución de sustrato. La reacción colorimétrica se detiene mediante la adición de la solución de parada, y se mide la densidad óptica (OD) del producto amarillo resultante. La intensidad del color es proporcional a la concentración del analito en la muestra.

Se construye una curva estándar trazando los valores de DO frente a las concentraciones de los estándares, y las concentraciones de las muestras desconocidas se determinan utilizando esta curva estándar.

3 PRECAUCIONES

- Este kit es solamente para diagnóstico *in vitro*. Solo para uso profesional.
- Por favor, se usa solo la versión válida de la metodología técnica incluido aquí en el kit.
- Para obtener información de las sustancias peligrosas incluidas en el kit por favor mirar las hojas de los datos de seguridad del material.
- Todos los reactivos en este kit de ensayo que contienen suero o plasma humano se han ensayado y confirmado ser negativos para HIV I/II, HBsAg y HCV mediante procedimientos aprobados por la FDA. Sin embargo, todos los reactivos deben ser tratados tanto en su uso como dispensación como potencialmente biopeligrosos.
- Evitar contacto con *Stop Solution* que contiene H₂SO₄ 0,5 M. Puede provocar irritación y quemaduras en la piel.
- Nunca pipetear con la boca y evitar el contacto de los reactivos y las muestras con la piel y con membranas mucosas.
- No fumar, comer, beber o usar cosméticos en áreas donde las muestras o los reactivos del kit están siendo usados.
- Usar guantes de látex cuando se utilicen las muestras y los reactivos. La contaminación microbiana de los reactivos o las muestras puede dar resultados erróneos.
- El manejo debe realizarse de acuerdo a los procedimientos definidos por las guías o regulación nacionales de seguridad de sustancias biopeligrosas.
- No utilizar los reactivos después de su fecha de caducidad que aparece en las etiquetas del kit.
- Todos los volúmenes indicados han de ser realizados de acuerdo con el protocolo. Los resultados óptimos del ensayo se obtienen solo cuando se utilizan pipetas y lectores de microplacas calibrados.
- No mezclar o usar componentes de kits con distinto número de lote. Se recomienda no intercambiar pocillos de distintas placas incluso si son del mismo lote. Los kits pueden haber sido enviados o almacenados bajo diferentes condiciones y las características de unión de las placas pueden resultar diferentes.
- Los compuestos químicos y los reactivos preparados o utilizados han de tratarse como residuos peligrosos de acuerdo con las guías o regulación nacionales de seguridad de sustancias biopeligrosas.
- Las hojas de los datos de seguridad de este producto están disponibles bajo pedido directamente a DRG Instruments GmbH.

4 COMPONENTES DEL KIT

4.1 Componentes del Kit

1. **Microtiterwells** (Placas multipocillo), 12 x 8 tiras separables, 96 pocillos; Pocillos recubiertos con el antígeno del SARS-CoV-2 RBD
2. **Sample Diluent** (Solución para dilución de la muestra), 1 vial, 100 mL, listo para usar; de color verde.
Contiene conservante sin mercurio.
3. **Standard (Standard 0 - 3)**, (Estándar), 4 viales, 1,0 mL cada, listos para usar;
Concentraciones: 0 – 5 – 35 – 70 DU/mL;
Conversión: 1 DU/mL = 5,15 IU/mL
Los estándares están calibrado contra el siguiente material de referencia: 1st WHO IS for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human) NIBSC code: 20/136
Contiene conservante sin mercurio.
4. **Pos. Control** (Control positivo), 1 vial, 1,0 mL cada, listos para usar;
Para los valores y rangos de control, por favor consulte la etiqueta del frasco o el “Certificate of Analysis”.
Contiene conservante sin mercurio.
5. **Neg. Control** (Control negativo), 1 vial, 1,0 mL cada, listos para usar;
Para los valores y rangos de control, por favor consulte la etiqueta del frasco o el “Certificate of Analysis”.
Contiene conservante sin mercurio.
6. **Enzyme Conjugate** (Conjugado enzimático), 1 vial, 14 mL, listo para usar;
de color rojo;
Anticuerpo contra IgG humana conjugado con la peroxidasa de rábano;
Contiene conservante sin mercurio.
7. **Substrate Solution** (Solución de sustrato), 1 vial, 14 mL, listo para usar;
Tetrametilbencidina (TMB).
8. **Stop Solution** (Solución de parada), 1 vial, 14 mL, listo para usar;
Contiene 0.5 M H₂SO₄,
Evitar el contacto con la Solución de parada. Puede causar irritación y quemaduras en la piel.
9. **Wash Solution** (Solución de lavado), 1 vial, 30 mL (concentrado 40X);
Ver “Preparación de los Reactivos”.

4.2 Equipamiento y material requerido pero no provisto

- Lector de microplacas calibrado (450 nm, con longitud de onda de referencia a 620 nm a 630 nm)
- Micropipetas de precisión variable calibradas
- Incubadora 37 ° C
- Equipo manual o automático para el lavado de placas de microtitulación
- Papel absorbente
- Agua destilada
- Temporizador
- Papel cuadriculado o software para el cálculo de datos

4.3 Almacenamiento y estabilidad del kit

Cuando se almacena a 2 °C a 8 °C, los reactivos sin abrir mantienen su reactividad hasta la fecha de caducidad. No utilizar los reactivos más allá de esta fecha.

Los reactivos abiertos han de almacenarse a 2 °C a 8 °C. Las placas multipocillo han de almacenarse a 2 °C a 8 °C. Una vez se ha abierto la bolsa hay que tener cuidado y cerrarla de nuevo.

Los kits abiertos conservan su actividad durante 8 semanas si se almacenan como se ha descrito arriba.

4.4 Preparación de los Reactivos

Dejar que todos los reactivos y el número requerido de tiras alcancen la temperatura ambiente (20 °C a 26 °C) antes de usarse.

Wash Solution

Mezclar 30 mL de *Wash Solution* concentrada con 1170 mL de agua destilada hasta un volumen final de 1200 mL.

La solución del lavado diluida es estable durante 1 semana a temperatura ambiente.

4.5 Eliminación del Kit

El desecho del kit y de los materiales/reactivos usados ha de realizarse conforme a la regulación nacional en vigor. Información adicional sobre este producto se ofrece en las hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheet), sección 13).

4.6 Kits de ensayo dañados

En caso de cualquier daño severo en el kit o en sus componentes, DRG ha de ser informada por escrito una semana después de recibir el kit como fecha límite. Componentes individuales que hayan sufrido daños importantes no deberían usarse para realizar el test. Han de ser almacenados hasta que se haya encontrado una solución final al problema. Después de encontrarse una solución, pueden ser desechados en concordancia con las reglas oficiales en vigor.

5 MUESTRAS

En este ensayo pueden usarse suero o plasma (EDTA, heparina de litio o plasma de citrato).

Tener en cuenta: No deben usarse muestras que contengan acida sódica.

En general, se debe evitar el uso de muestras hemolíticas, ictericas o lipémicas. Para más información consulte el capítulo "*Sustancias que pueden interferir*".

5.1 Toma de muestras

Suero: Recoger la sangre por punción en la vena (ej. Sarstedt Monovette para el suero), permitir coagulación, y separar el suero por centrifugación a temperatura ambiente. No centrifugar antes de la coagulación completa. Las muestras de pacientes que reciben terapia anticoagulante requieren más tiempo para coagular.

Plasma: Toda la sangre ha de recogerse en tubos de centrífuga que contengan anticoagulante (Ej. Sarstedt Monovette con una preparación adecuada para el plasma) y centrifugar inmediatamente tras la recogida.

5.2 Almacenamiento de las muestras

Las muestras deben ser tapadas y pueden ser almacenadas hasta 7 días a 2 °C a 8 °C antes del ensayo.

Las muestras almacenadas por un período de tiempo mas largo (hasta 6 meses) han de congelarse sólo una vez a -20 °C antes del ensayo. Las muestras descongeladas deben invertirse varias veces antes del ensayo.

Las muestras diluidas (1+100; véase el capítulo 5.3) también pueden almacenarse hasta 7 días a una temperatura de 2 °C a 8 °C.

5.3 Dilución de las muestras

Antes del ensayo, diluya la muestra de cada paciente **1 + 100** con *Sample Diluent* (mezcle bien).

Ejemplo: 10 µL de muestra + 1 mL de *Sample Diluent* (mezclar bien)

Para las muestras de pacientes con concentraciones superiores al Estándar 3, se debe realizar una segunda dilución 1:10 de esta muestra de paciente diluida 1 + 100.

Ejemplo: 20 µL de la primera dilución de la muestra + 180 µL de *Sample Diluent* (mezclar bien).

Para el cálculo de las concentraciones hay que tener en cuenta este segundo factor de dilución.

Nota: ¡Los Estándares y Controles están listos para ser usados y no tienen que ser diluidos!

6 PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

6.1 Consideraciones generales

- Todos los reactivos y muestras han de estar a temperatura ambiente antes de su uso. Todos los reactivos deben mezclarse sin formar espuma.
- Una vez se ha comenzado el ensayo deben completarse todos los pasos sin interrupción.
- Utilizar puntas de pipeta de plástico nuevas para cada estándar, control o muestra para evitar combinaciones cruzadas.
- La densidad óptica es función del tiempo de incubación y la temperatura. Antes de comenzar el ensayo, se recomienda que todos los reactivos estén preparados, tapas removidas, todos los pocillos que se necesiten asegurados en recipiente, etc. Esto asegurará un tiempo similar para cada paso de pipeteo sin que haya interrupciones.
- Como regla general, la reacción enzimática es linealmente proporcional al tiempo y a la temperatura.
- Cierre bien los frascos de reactivos inmediatamente después de su uso para evitar la evaporación y la contaminación microbiana.

6.2 Procedimiento de ensayo

Cada uno debe incluir una curva de estándares.

1. Asegurar el número deseado de pocillos en el recipiente.
2. Dispensar **100 µL** de cada **Standard, Control y muestras prediluida** con puntas nuevas en los pocillos adecuados.
3. Incubar durante **30 minutos** a **37 °C**.
4. Lavar los pocillos **3 veces** con **400 µL Wash Solution** diluida por pocillo, si se utiliza un lavador de placas.
- O -
Sacudir enérgicamente el contenido de los pocillos.
Lavar los pocillos **3 veces** con **300 µL Wash Solution** diluida por pocillo para el lavado manual.
Realizar un golpe seco de los pocillos contra el papel absorbente para eliminar las gotas residuales.
5. Dispensar **100 µL** de **Enzyme Conjugate** a cada pocillo.
6. Incubar durante **30 minutos** a temperatura ambiente (20 °C to 26 °C).
7. Lavar los pocillos **3 veces** con **400 µL Wash Solution** diluida por pocillo, si se utiliza un lavador de placas.
- O -
Sacudir enérgicamente el contenido de los pocillos.
Lavar los pocillos **3 veces** con **300 µL Wash Solution** diluida por pocillo para el lavado manual.
Realizar un golpe seco de los pocillos contra el papel absorbente para eliminar las gotas residuales.
Nota importante:
La sensibilidad y la precisión de este ensayo se ve marcadamente influenciada por la realización correcta del proceso de lavado!
8. Adicionar **100 µL** de **Substrate Solution** a cada pocillo.
9. Incubar durante **15 minutos** a temperatura ambiente.
10. Parar la reacción enzimática mediante la adición de **50 µL** de **Stop Solution** a cada pocillo.
11. Determinar la densidad óptica (DO) de la solución en cada pocillo a **450 nm (lectura) y a 620 nm a 630 nm (se recomienda la sustracción de fondo)** con un lector de microplacas. Se recomienda que los pocillos se lean dentro de los **10 minutos** siguientes a la adición de la solución de parada (*Stop Solution*).

6.3 Cálculo de los Resultados

1. Calcular los valores de densidad óptica (DO) promedio para cada conjunto de estándares, controles y muestras de pacientes.
2. Método automatizado:
Los resultados en las instrucciones de uso se han calculado automáticamente usando una curva de regresión 4-Parámetros. (4-Parámetros Rodbard o 4-Parámetros Marquardt son los métodos preferidos.) Otras funciones de regresión darán lugar a resultados sensiblemente diferentes.
3. Si no se dispone de un método automatizado:
Utilizando papel milimetrado lineal o semilogarítmico, construya una curva estándar mediante la representación de la densidad óptica media obtenida para cada estándar frente a su concentración con el valor de DO en el eje vertical (Y) y la concentración en el eje horizontal (X).
Usando el valor de la DO media de cada muestra determinar la concentración correspondiente a partir de la curva estándar.
4. La concentración de las muestras puede leerse **directamente** de la curva de estándares.
Las muestras con concentraciones superiores al mayor estándar han de diluirse aún más 1:10 o especificarse como > 70 DU/mL. Para el cálculo de las concentraciones hay que tener en cuenta este factor de dilución adicional (x 10).

6.3.1 Ejemplo de una Curva Estándar Típica

Los siguientes datos son solamente para la explicación y **no** pueden ser utilizados en lugar de los datos generados en el momento del ensayo.

Estándar	Densidad óptica (450 nm)
Standard 0 (0 DU/mL)	0,014
Standard 1 (5 DU/mL)	0,314
Standard 2 (35 DU/mL)	1,460
Standard 3 (70 DU/mL)	2,348

7 RESULTADOS

7.1 Validación del prueba

La prueba puede considerarse válida siempre que se respeten los valores y rangos de control indicados en las etiquetas y el "Certificate of Analysis".

7.2 Interpretación de los resultados

Los rangos de valores normales para este ELISA deberían ser determinados en cada laboratorio basándose en sus propias poblaciones de pacientes en las zonas geográficas.

Los resultados de las pruebas se dan en DU/mL (Unidades DRG) y están calibrados con respecto al 1° estándar internacional de la OMS para la inmunoglobulina anti-SARS-CoV-2 (humana), código NIBSC 20/136.

El **valor de corte** se determina con 5,40 DU/mL.

Los siguientes valores deben considerarse como una guía:

Conc. de anticuerpos (DU/mL)	Interpretación	
< 4,86	Negativa	
4,86 – 5,94	Zona gris (equivoco)	Para un resultado de prueba en la zona gris, repita la prueba después de, por ejemplo, 2 semanas con una muestra fresca del paciente. Si el resultado de la segunda prueba se encuentra de nuevo en la zona gris, la muestra se considera negativa .
> 5,94	Positiva	

8 CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda usar muestras control de acuerdo con las leyes estatales y federales. El uso de muestras control se recomienda para asegurar la validez diaria de los resultados. Usar controles tanto a niveles normal como patológico.

Los controles y los correspondientes resultados del Laboratorio de control de calidad están fijados en el certificado de control de calidad que acompañan al kit. Los valores y los rangos fijados en la hoja del control de calidad se refieren siempre al kit actual y deben usarse para la comparación directa de los resultados.

Utilizar métodos estadísticos apropiados para el análisis de los valores y tendencia de los controles. Si los resultados del ensayo no se ajustan a los rangos aceptables establecidos en los controles, los resultados obtenidos de los pacientes han de considerarse inválidos.

En este caso, por favor comprobar las siguientes áreas técnicas: Pipeteo y tiempo empleado, fotómetro, fecha de caducidad de los reactivos, condiciones de almacenamiento e incubación, métodos de aspiración y lavado.

Después de comprobar los asuntos arriba mencionado sin encontrar ningún error, contactar con su distribuidor o con DRG directamente.

9 CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

9.1 Rango dinámico del ensayo

El rango del ensayo se encuentra entre 0,161 DU/mL - 70,0 DU/mL.

9.2 Especificidad de los Anticuerpos (Reactividad Cruzada)

El antígeno utilizado para el DRG-SARS-CoV-2 (RBD)-IgG-ELISA no muestra una reacción cruzada con los anticuerpos evaluados.

Para obtener datos detallados, por favor consulte la versión en inglés de las Instrucciones de Uso.

9.3 Sensibilidad

La sensibilidad analítica se calculó a partir de la media mas dos veces la desviación estándar de veinte (20) réplicas del *Standard 0* y resultó ser 0,009 DU/mL.

El límite del blanco (LoB) es 0,008 DU/mL.

El Límite de Detección (LoD) es 0,046 DU/mL.

El Límite de Cuantificación (LoQ) es 0,161 DU/mL.

9.4 Especificidad diagnóstica, Sensibilidad de diagnóstico y valor de corte (Cut-off)

El análisis ROC fue usado para determinar esto.

Para obtener datos detallados, por favor consulte la versión en inglés de las Instrucciones de Uso.

Para información sobre

9.5 Precisión

9.6 Recuperación

9.7 Linealidad

por favor consulte la versión detallada en inglés de las Instrucciones de Uso.

10 LIMITACIONES DE USO

Únicamente se obtendrán resultados fiables y reproducibles, cuando el procedimiento del ensayo se realice entendiendo las instrucciones de uso correctamente y desarrollando buenas prácticas de laboratorio.

Cualquier manejo impropio de las muestras o modificación del test puede influenciar los resultados.

La contaminación bacteriana o fúngica de los muestras de pacientes o reactivos, o la contaminación cruzada entre reactivos puede causar resultados erróneos.

Esta prueba es para la detección cuantitativa de anticuerpos IgG del SARS-CoV-2. Los resultados de las pruebas no deben ser la única base para el diagnóstico clínico y el tratamiento.

La confirmación de una infección por el SARS-CoV-2 debe combinarse con los síntomas clínicos del paciente, junto con otras pruebas.

En la primera semana del inicio de la infección de los pacientes con SARS-CoV-2, los resultados de los anticuerpos pueden ser negativos. La sensibilidad aumenta en las primeras dos semanas y llega a una meseta después de dos o tres semanas.

Además, pueden producirse resultados falsos negativos para los anticuerpos del SARS-CoV-2 en pacientes con baja inmunidad u otras enfermedades que afecten a la función inmunológica, en pacientes con insuficiencia de los principales órganos sistémicos y en pacientes que tomen medicamentos para suprimir la función inmunológica.

10.1 Sustancias que pueden interferir

Hemoglobina (hasta 4 mg/mL), Bilirrubina (hasta 0,5 mg/mL) y Triglicéridos (hasta 7,5 mg/mL) no influyen los resultados del ensayo.

11 ASPECTOS LEGALES

11.1 Fiabilidad de los Resultados

El ensayo debe realizarse exactamente de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Mas aún, el usuario debe ajustarse estrictamente a las reglas BPL (Buenas Prácticas de Laboratorio) o a otros estándares y/o leyes nacionales aplicables. Esto es especialmente relevante para el uso de reactivos control. Es importante incluir siempre, dentro del procedimiento de ensayo, un número suficiente de controles para validar la exactitud y la precisión del ensayo.

Los resultados del ensayo son válidos sólo si todos los controles se encuentran dentro de los rangos especificados y si todos los otros parámetros del ensayo se encuentran dentro de las especificaciones dadas para el ensayo. En caso de alguna duda o inquietud, por favor, contactar con DRG.

11.2 Consecuencias Terapéuticas

Las consecuencias terapéuticas nunca deben basarse sólo en los resultados de laboratorio incluso si todos los resultados del ensayo están de acuerdo con los asuntos fijados en el punto 11.1. Cualquier resultado de laboratorio es solamente una parte del cuadro clínico de un paciente.

Solamente en los casos donde los resultados de laboratorio están en acuerdo con todo el cuadro clínico de un paciente, se pueden derivar consecuencias terapéuticas.

Nunca deben derivarse consecuencias terapéuticas a partir de solamente el resultado obtenido en el ensayo

11.3 Responsabilidad













Cualquier modificación del kit y/o cambio o mezcla de cualquier componente procedentes de kits de lotes diferentes puede afectar negativamente a los resultados esperados y en la validez de todo el test. Esas modificaciones y/o cambios invalidan cualquier reclamación de reposición.

Las reclamaciones emitidas debidas a una mala interpretación de los resultados de laboratorio por parte del comprador referidos al punto 11.2 son también inválidas. A pesar de todo, en el caso de cualquier reclamación, la responsabilidad del fabricante no excede el valor del kit. Cualquier daño provocado al kit durante su transporte no está sujeto a la responsabilidad del fabricante.

12 REFERENCES / LITERATURE

1. Ji T. et al. Detection of Covid-19: A review of the current literature and future perspectives. *Biosensors and Bioelectronics*. 2020 166; 112455.
2. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) situation report-85, Data as received by WHO from national authorities by 10:00 CET, 14 April 2020. Accessed April 14, 2020. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200414-sitrep-85-covid-19>.
3. Zhong N et al. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong People's Republic of China in February 2003. *Lancet*. 2003 362:1353-1358
4. da Silva SJR et al. Clinical and laboratory diagnosis of SARS-CoV-2, the virus causing COVID-19. *ACS Inf Dis*. August 2020; <https://dx.doi.org/10.1021/acsinfectdis.Oc00274>.
5. Brielle ES, Schneidman-Duhovny D, and Linial M. The SARS-CoV-2 exerts a distinctive strategy for interacting with the ACE2 human receptor. *Viruses*. 2020 12(5):497.
6. Gui M et al. Cryo-electron microscopy structures of the SARS-CoV spike glycoprotein reveal a prerequisite conformational state for receptor binding. *Cell Research*. 2017 27:119-129.
7. Turonova B et al. In situ structural analysis of SARS-CoV-2 spike reveals flexibility mediated by three hinges. *Science*. 2020 10.1126/science.abd.5223.
8. Premkumar L et al. The receptor binding domain of the viral spike protein is an immunodominant and highly specific target of antibodies in SARS-CoV-2 patients. *Science Immunology* 2020 10.1126/sciimmunol.abc8413.
9. Robbiani DF et al. Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent individuals. *Nature*. 2020 584:437-456.
10. Kontou PI et al. Antibody tests in detecting SARS-CoV-2 infections: a meta-analysis. *Diagnostics*. 2020 10:319-34.
11. Long QX et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nature Medicine*. 2020 26:845-848.
12. Zhao J et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Inf Dis*. 2020 Accepted manuscript doi:10.1093/cid/ciaa344.
13. Ward, H., Cooke, G., Atchison, C. J., Whitaker, M., Elliott, J., Moshe, M., ... & Ashby, D. (2020). Declining prevalence of antibody positivity to SARS-CoV-2: a community study of 365,000 adults. medRxiv.

SYMBOLS USED

Symbol	English	Deutsch	Italiano	Español	Français
	European Conformity	CE-Konformitäts-kennzeichnung	Conformità europea	Conformidad europea	Conformité normes européennes
	Consult instructions for use *	Gebrauchsanweisung beachten *	Consultare le istruzioni per l'uso	Consulte las instrucciones de uso	Consulter les instructions d'utilisation
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device *	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum *	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Catalogue number *	Artikelnummer *	No. di Cat.	No de catálogo	Référence
	Batch code *	Fertigungslosnummer, Charge *	Lotto no	Número de lote	No. de lot
	Contains sufficient for <n> tests *	Ausreichend für <n> Prüfungen *	Contenuto sufficiente per "n" saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenu suffisant pour "n" tests
	Temperature limit *	Temperaturbegrenzung *	Temperatura di conservazione	Temperatura de conservación	Température de conservation
	Use-by date *	Verwendbar bis *	Data di scadenza	Fecha de caducidad	Date limite d'utilisation
	Manufacturer *	Hersteller *	Fabbricante	Fabricante	Fabricant
	Biological risks *	Biologische Risiken *	Rischi biologici	Riesgos biológicos	Risques biologiques
	Caution *	Achtung *	Attenzione	Precaución	Attention
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Solo a scopo di ricerca	Sólo para uso en investigación	Seulement dans le cadre de recherches
<i>Distributed by</i>	Distributed by	Vertreiber	Distributore	Distribuidor	Distributeur
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenuto	Contenido	Conditionnement
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen / Anzahl	Volume / Quantità	Volumen / Número	Volume / Quantité
<i>Microtiterwells</i>	Microtiterwells	Mikrotiterwells	Micropozzetti	Placas multipocillo	Microplaques
<i>Antiserum</i>	Antiserum	Antiserum	Antisiero	Antisuero	Antisérum
<i>Enzyme Conjugate</i>	Enzyme Conjugate	Enzymkonjugat	Tracciante enzimatico	Conjugado enzimático	Conjugué enzymatique
<i>Enzyme Complex</i>	Enzyme Complex	Enzymkomplex	Complesso enzimatico	Complejo enzimático	Complexe enzymatique
<i>Substrate Solution</i>	Substrate Solution	Substratlösung	Soluzione di substrato	Solución de sustrato	Solution substrat
<i>Stop Solution</i>	Stop Solution	Stopplösung	Soluzione d'arresto	Solución de parada	Solution d'arrêt
<i>Zero Standard</i>	Zero Standard	Nullstandard	Standard zero	Estándar cero	Zero Standard
<i>Standard</i>	Standard	Standard	Standard	Estándar	Standard
<i>Control</i>	Control	Kontrolle	Controllo	Control	Contrôle
<i>Assay Buffer</i>	Assay Buffer	Assaypuffer	Tampone del test	Tampón de ensayo	Tampon d'essai
<i>Wash Solution</i>	Wash Solution	Waschlösung	Soluzione di lavaggio	Solución de lavado	Solution de lavage
<i>1N NaOH</i>	1N NaOH	1N NaOH	1N NaOH (idrossido di sodio 1N)	1N NaOH	1N NaOH
<i>1 N HCl</i>	1 N HCl	1 N HCl	1 N HCl	1 N HCl	1N HCl
<i>Sample Diluent</i>	Sample Diluent	Probenverdünnungs-medium	Diluyente dei campioni	Solución para dilución de la muestra	Solution pour dilution de l'échantillon
<i>Conjugate Diluent</i>	Conjugate Diluent	Konjugatverdünnungs-medium	Diluyente del tracciante	Solución para dilución del conjugado	Solution pour dilution du conjugué
<i>Pos. Control</i>	Positive control	Positive Kontrolle	Controllo positivo	Control positivo	Contrôle positif
<i>Neg. Control</i>	Negative control	Negative Kontrolle	Controllo negativo	Control negativo	Contrôle négatif