

# SARS-CoV-2 UTAB FS\*

## Bestellinformation

Bestell-Nr.	Packungsgröße			
1 7508 99 10 935	R1 2 x 15 mL	+	R2	1 x 10 mL
1 7501 99 10 021	SARS-CoV-2-UTAB			6 x 25 mL
	Probenverdünnungsmatrix			

## Verwendungszweck

Immunturbidimetrisches Reagenz zur quantitativen in vitro Bestimmung von SARS-CoV-2 Gesamtantikörpern (IgG und IgM) in Serum an photometrischen Systemen. Der Test ist zur Charakterisierung einer Immunantwort nach Impfung und als Hilfsmittel zur Identifizierung von Personen mit einer adaptiven Immunantwort auf SARS-CoV-2 gedacht, die auf eine kürzlich erfolgte oder frühere Infektion, die mindestens 14 Tage zurück liegt, hinweist.

## Zusammenfassung

Im Jahr 2019 tauchte erstmals ein neuartiges Coronavirus in Wuhan, China, auf. Das schwere akute respiratorische Syndrom Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) verbreitete sich rasch über den Globus und verursachte eine Pandemie. SARS-CoV 2 wird hauptsächlich durch Tröpfchen und Aerosole übertragen. Symptomatische, aber auch präsymptomatische und asymptomatische SARS-CoV-2-Träger können potenzielle Quellen für eine Virusübertragung sein. Etwa 20 % der Patienten entwickeln eine schwere Erkrankung, die eine Behandlung auf der Intensivstation erfordert. Der derzeitige Goldstandard für die Diagnose von COVID-19 ist die Reverse Transkriptions-Polymerase-Kettenreaktion in Echtzeit (rRT-PCR). Probenmaterial aus dem Nasen-Rachenraum wie Nasopharynx und Oropharynx-abstriche werden üblicherweise für PCR-Tests verwendet. PCR-basierte Methoden geben Aufschluss über das Vorhandensein des Virus zum Zeitpunkt der Probenahme, sie liefern jedoch keine Informationen über frühere Infektionen oder das Vorhandensein antiviraler Antikörper. Seroprävalenzstudien sind von größter Bedeutung, um den Anteil einer Population zu ermitteln, der Antikörper gegen ein neues Virus entwickelt hat und daher potenziell einen immunologischen Schutz gegen eine nachfolgende Infektion aufweisen könnte. Sie liefern ein noch präziseres Bild über die weitere Entwicklung der Pandemie und helfen bei der Entwicklung neuer Impfstoffe. Auf Grundlage derzeit verfügbarer Daten entwickeln sich IgM- und IgG-Antikörper gegen SARS-CoV 2 mehrere Tage nach Ausbruch der Krankheit; IgM-Antikörper sind etwa 5-10 Tage nach Ausbruch der Krankheit nachweisbar und steigen rasch an. Die IgG-Antikörperkonzentrationen folgen dicht auf die IgM-Reaktion. Signifikante interindividuelle Unterschiede werden für den Zeitpunkt des Auftretens von Antikörpern und deren Konzentration beobachtet; die mediane Serokonversion für COVID 19 Immunglobulin G und M (IgG und IgM) liegt bei 14 Tage nach erfolgter Infektion. Es ist derzeit nicht bekannt, wie lange IgM- und IgG-Antikörper nach einer Infektion nachweisbar bleiben.

Coronaviren (CoVs) sind umhüllte Viren mit einem einsträngigen positiven RNA-Genom. Das Genom kodiert vier wichtige Strukturproteine, die zur Herstellung eines strukturell vollständigen Viruspartikels benötigt werden: das Spike-Protein (S), das Nukleokapsid-Protein (N), das Membran-Protein (M) und das Hüllprotein (E). Das S-Protein auf der Oberfläche des Virus ist die wichtigste strukturelle Komponente, da es an der Infektion beteiligt ist. Spike-Proteine sind große membranverankerte Proteine, die sich zu Trimeren auf der Oberfläche des Virus zusammenlagern (bilden das kronenartige Aussehen). Jedes Spike-Monomer enthält eine Rezeptorbindungsdomäne (RBD) in der N-terminalen S1 Untereinheit, die für die Bindung an den ACE2-Rezeptor (Angiotensin-konvertierendes Enzym 2) auf der Wirtszelle verantwortlich ist. Interaktionen zwischen der rezeptorbindenden Domäne (RBD) in der Untereinheit S1 und dem ACE2-Rezeptor führen zu einer groß angelegten strukturellen Umordnung des Spike-Proteins, die für den Viruseintritt essentiell ist. Es wird angenommen, dass neutralisierende Antikörper (nAB), die auf das S-Protein abzielen, eine schützende Immunität gegen virale Infektionen induzieren können. Die schützende Wirkung von neutralisierenden Antikörpern wird in erster Linie durch die

Blockierung der Interaktion zwischen dem Virus und seiner Wirtszelle vermittelt, wodurch der Eintritt des Virus in die Zelle gehemmt und eine virale Infektion verhindert wird. Das Nukleokapsid-Protein (N-Protein) ist das am häufigsten vorkommende Protein in SARS-CoV-2, aber die Antikörper gegen das virale N-Protein nehmen schneller ab als die Antikörper gegen die Rezeptor-Bindungsdomäne oder gegen das gesamte Spike-Protein und können daher den Anteil der SARS-CoV-2 exponierten Personen erheblich unterschätzen. [1-11]

## Methode

Partikelverstärkter immunturbidimetrischer Test.

Bestimmung der SARS-CoV-2 Gesamtantikörper-Konzentration in der Probe durch photometrische Messung der Antigen-Antikörper Reaktion zwischen humanen SARS-CoV-2 Gesamtantikörpern und der Rezeptor Bindungs Domäne (RBD) des SARS-CoV-2 im Spike-Protein S1.

## Reagenzien

### Bestandteile und Konzentrationen

<b>R1:</b>	TRIS	pH 6,5	0,1 mol/L
<b>R2:</b>	TRIS	pH 9,0	0,1 mol/L
	SARS-CoV-2 Protein S-RBD rekombinant, kovalent an Polystyrolpartikel gebunden.		

## Lagerung und Haltbarkeit

Die Reagenzien sind bei 2 – 8 °C bis zum auf dem Kit angegebenen Verfallsdatum verwendbar, wenn Kontamination vermieden wird. Reagenzien nicht einfrieren und lichtgeschützt aufbewahren.

## Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Das Reagenz enthält Natriumazid (0,9 g/L) als Konservierungsmittel. Nicht verschlucken! Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- Reagenz 2 enthält tierisches Material. Behandeln Sie das Produkt als potentiell infektiös gemäß allgemein anerkannter Vorsichtsmaßnahmen und guter Laborpraxis.
- In sehr seltenen Fällen kann es bei Proben von Patienten mit Gammopathien zu verfälschten Ergebnissen kommen [12].
- Nach unserem Kenntnisstand sind alle derzeit erhältlichen Impfstoffe darauf ausgelegt, eine spezifische Immunantwort durch das Spike-Protein bzw. die Rezeptorbindungsdomäne zu induzieren. Bitte beachten, dass wir nicht für alle diese Impfstoffe die Immunantwort getestet haben. Sollte jedoch ein anderes virales Protein für die Impfstoffentwicklung verwendet worden sein, wird unser Test nicht entsprechend reagieren!
- Beachten Sie bitte die Sicherheitsdatenblätter und die notwendigen Vorsichtsmaßnahmen für den Gebrauch von Laborreagenzien. Für diagnostische Zwecke sind die Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Patientenvorgeschichte, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.
- Nur für professionelle Anwendung.

## Entsorgung

Beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

## Reagenzvorbereitung

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig.

## Benötigte Materialien

Übliche Laborausrüstung

## Probenmaterial

Serum

Haltbarkeit:

3 Tage	at	15 – 25 °C
42 Tage [13]	at	4 °C
3 Monate	at	-20 °C

Nur einmal einfrieren. Kontaminierte Proben verwerfen.

## Testschema

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

Basisparameter für BioMajesty® JCA-BM 6010/C

Wellenlänge	658 nm
Temperatur	37 °C
Messung	2-Punkt Test
Probe/Kalibrator	10 µL
Reagenz 1	90 µL
Reagenz 2	30 µL
Zusatz Reagenz 2	Zyklus 21 (~300 s)
Extinktion 1	Zyklus 25-24 (~350 s)
Extinktion 2	Zyklus 42-41 (~600 s)
Kalibration	Spline

**Anmerkung:** Bei angepassten Verfahren sind die Volumina von Probe, Kalibrator und Reagenzien entsprechend zu berechnen und der Zeitplan genau einzuhalten.

## Auswertung der Ergebnisse

Die SARS-CoV-2 Gesamtantikörperkonzentration unbekannter Proben wird über eine Kalibrationskurve unter Verwendung eines geeigneten mathematischen Modells wie spline berechnet. Die Kalibrationskurve wird mit vier Kalibratoren verschiedener Konzentration, inklusive eines Matrix-basierten Nullwertes, erstellt.

Stabilität der Kalibration: 2 Wochen

## Kalibratoren und Kontrollen

DiaSys TruCal SARS-CoV-2 zur Kalibration verwenden. TruCal SARS-CoV-2 Kalibratorwerte wurden in einem Methodenvergleich von SARS-CoV-2 UTAB FS zu einem kommerziell erhältlichen Test am BioMajesty® JCA-BM6010/C rückführbar gemacht. TruLab SARS-CoV-2 zur internen Qualitätskontrolle verwenden. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall einer Abweichung bei der Kontrollwiederfindung festlegen.

	Bestell-Nr.	Packungsgröße
TruCal SARS-CoV-2	1 7500 99 10 058	4 x 1 mL
TruLab SARS-CoV-2 Level 1	5 1750 99 10 046	3 x 1 mL
TruLab SARS-CoV-2 Level 2	5 1760 99 10 046	3 x 1 mL

## Leistungsmerkmale

Die unten genannten exemplarischen Daten können bei unterschiedlichen Messbedingungen leicht abweichen.

Messbereich von 1,5 bis 150 AU/mL. Im Fall einer Immunantwort nach Impfung können Antikörper-Titer zu extrem hohen Konzentrationen ansteigen. Proben nach Impfung 1 + 20 mit SARS-CoV-2 UTAB Probenverdünnungsmatrix verdünnen und das Ergebnis mit 21 multiplizieren. Wenn das Ergebnis <150 AU/mL ist, muss die Probe unverdünnt gemessen werden.	
Nachweisgrenze	1,5 AU/mL
Kein Prozoneneffekt bis 1000 AU/mL.	

Störende Substanz	Interferenzen ≤ 20 % bis
Bilirubin (konjugiert)	60 mg/dL
Bilirubin (unkonjugiert)	60 mg/dL
Hämoglobin	1000 mg/dL
Lipämie (Triglyceride)	1000 mg/dL
Rheumafaktor	1000 IU/mL

Kreuzreaktionen
DiaSys SARS-CoV-2 UTAB FS wurde anhand von Proben, die Antikörper gegen andere Krankheitserreger und andere Krankheiten/Krankheitszustände enthielten, auf potenzielle Kreuzreaktivität getestet. Es wurden keine falsch positiven Ergebnisse mit potentiellen Kreuzreaktanten beobachtet.
Chlamydienpneumonie
Epstein Barr Virus (EBV)
Respiratorisches Synzytial-Virus (RSV)
Influenza A
Menschliches Coronavirus OC43 (HCoV-OC43)
Menschliches Coronavirus NL63 (HCoV-NL63)
Menschliches Coronavirus HKU1 (HCoV-HKU1)
Masern
Varizella Zoster Virus (VZV)
Zytomegalie-Virus IgG (CMV G)
Zytomegalie-Virus (CMV)
Herpes Simplex Virus IgG (HSV)
EBV-Virales-Capsid-Antigen (VCA)
Epstein-Barr-Virus-spezifische IgG Antikörper (EBNA)
Hepatitis E IgG (HEV)
Toxoplasma gondii

Präzision		
In der Serie (n=20)	Probe 1	Probe 2
Mittelwert [AU/mL]	31,3	50,2
CV [%]	1,60	3,20
Von Tag zu Tag (n=20)	Probe 1	Probe 2
Mittelwert [AU/mL]	40,1	48,6
CV [%]	5	4

**Spezifität = 98,7 % (CI 95 %, 95,3 – 99,8 %)**

**Sensitivität = 98,0 % (CI 95 %, 89,6 – 100 %)**

Klinische Leistungsmerkmale
<b>Negativer prädiktiver Wert (NPV):</b> Insgesamt 151 Proben, die vor dem Ausbruch von COVID-19 gewonnen wurden, wurden in die Studie aufgenommen. 2 falsch positive Proben wurden erkannt. Der resultierende negative prädiktive Gesamtwert (NPV) in der internen Studie betrug 99,3 % (CI 95 %, 95,5 - 99,9 %).
<b>Positiver prädiktiver Wert (PPV):</b> Insgesamt wurden 51 Proben von Patienten, die positiv auf SARS-CoV-2 getestet wurden, mit dem SARS-CoV-2 UTAB FS Assay gemessen. 1 falsch negative Probe wurde erkannt. Der resultierende positive prädiktive Gesamtwert (PPV) in der internen Studie betrug 96,2 % (CI 95 %, 86,3 - 99,0 %).

## Referenzbereiche

≤30 AU/mL negativ für Anti- SARS- CoV- 2 Antikörper

>30 AU/mL positiv für Anti- SARS- CoV- 2 Antikörper

Ein negatives Testergebnis schließt die Möglichkeit einer Infektion mit SARS-CoV-2 nicht vollständig aus. Ein positives Antikörper-Testergebnis zeigt an, dass sich eine Person mit SARS-CoV-2 infiziert hat [12], beweist jedoch nicht unbedingt eine Immunität. Serumproben aus der sehr frühen Phase, der sogenannten Prä-Serokonversionsphase, können negative Ergebnisse liefern. Aus diesem Grund kann der Test nicht zur Diagnose einer akuten Infektion eingesetzt werden. Außerdem kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Titer im Laufe der Zeit abnehmen und schließlich zu einem negativen Ergebnis führen. Die Ergebnisse sollten immer in Verbindung mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Befunden des Patienten bewertet werden.

## Literatur

1. Jayaweera, Mahesh et al. "Transmission of COVID-19 virus by droplets and aerosols: A critical review on the unresolved dichotomy." *Environmental research* vol. 188 (2020): 109819. doi:10.1016/j.envres.2020.109819
2. Lai et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 55:3; 2020.
3. Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Gutiérrez-Ocampo E, Villamizar-Peña R, Holguin-Rivera Y, Escalera-Antezana JP, et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel Med Infect Dis*. 2020;34:101623.
4. IFCC Information Guide on COVID-19 (<https://www.ifcc.org/ifcc-news/2020-03-26-ifcc-information-guide-on-covid-19/>)
5. To KK et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2020; 20: 565-574.
6. Zhao J, Yuan Q, Wang H, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis* 2020 Mar 28.
7. Lai M.M.C., Cavanagh D. The molecular biology of coronaviruses. *Adv. Virus Res*. 1997;48:1–100.
8. Belouzard S., Millet J.K., Licitra B.N., Whittaker G.R. Mechanism of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein. *Viruses*. 2012;4:1011–1033.
9. Yuan Huang et al., Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. *Acta Pharmacologica Sinica* volume 41, pages1141–1149(2020).
10. Antibody responses to viral infections: a structural perspective across three different enveloped viruses, C D Murin, et al, *Nat Microbiol*. 2019 May; 4(5): 734–747. doi:10.1038/s41564-019-0392-y.
11. Craig Fenwick C. et al. Changes in SARS-CoV-2 Antibody Responses Impact the Estimates of Infections in Population-Based 1 Seroprevalence Studies, medRxiv 2020.07.14.20153536; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.07.14.20153536>
12. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. *ClinChemLabMed* 2007; 45(9): 1240-1243.
13. Stadlbauer, D., Baine, I., Amanat, F., Jiang, K., Lally, K., Krammer, F., Jhang, J. S., & Arinsburg, S. A. (2020). Anti-SARS-CoV-2 spike antibodies are stable in convalescent plasma when stored at 4° Celsius for at least 6 weeks. *Transfusion*, 60(10). <https://doi.org/10.1111/trf.16047>



DiaSys Diagnostic Systems GmbH  
Alte Straße 9 65558 Holzheim Deutschland  
[www.diasys-diagnostics.com](http://www.diasys-diagnostics.com)

\* Flüssig Stabil