



SZABO SCANDIC

Part of Europa Biosite

Produktinformation



Forschungsprodukte & Biochemikalien



Zellkultur & Verbrauchsmaterial



Diagnostik & molekulare Diagnostik



Laborgeräte & Service

Weitere Information auf den folgenden Seiten!
See the following pages for more information!



Lieferung & Zahlungsart

siehe unsere [Liefer- und Versandbedingungen](#)

Zuschläge

- Mindermengenzuschlag
- Trockeneiszuschlag
- Gefahrgutzuschlag
- Expressversand

SZABO-SCANDIC HandelsgmbH

Quellenstraße 110, A-1100 Wien

T. +43(0)1 489 3961-0

F. +43(0)1 489 3961-7

mail@szabo-scandic.com

www.szabo-scandic.com

[linkedin.com/company/szaboscandic](https://www.linkedin.com/company/szaboscandic) 



SZABO
SCANDIC

Immer für Sie da

Produktinformation



Diagnostik & molekulare Diagnostik



Laborgeräte & Service



Zellkultur & Verbrauchsmaterial



Forschungsprodukte & Biochemikalien

Weitere Information auf den folgenden Seiten!
See the following pages for more information!



Lieferung & Zahlungsart



Lieferung: frei Haus
Bestellung auf Rechnung



Lieferung: € 10,-
Erstbestellung Vorkassa

Zuschläge

- Mindermengenzuschlag
- Trockeneiszuschlag
- Gefahrgutzuschlag
- Expressversand

SZABO-SCANDIC
Handels GmbH & Co KG

Quellenstraße 110, A-1100 Wien

T. +43(0)1 489 3961-0

F. +43(0)1 489 3961-7

mail@szabo-scandic.com

www.szabo-scandic.com




[linkedin.com/company/szaboscandic](https://www.linkedin.com/company/szaboscandic) 

[facebook.com/szaboscandic](https://www.facebook.com/szaboscandic) 

Wantai SARS-CoV-2-Diagnose

WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA

Diagnoseset für die Ermittlung der Gesamtantikörper zu SARS-CoV-2 (ELISA)

REF WS-1096  V. 2020-02 [Eng.]  96 

Lesen Sie sich vor Durchführung der Untersuchung die Packungsbeilage sorgfältig und gründlich durch. Befolgen Sie die Anweisungen, und ändern Sie die beschriebene Vorgehensweise nicht. Nur durch die strikte Einhaltung dieser Anweisungen können fehlerhafte Ergebnisse vermieden und die optimale Leistung des WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA sichergestellt werden.

BESTIMMUNGSGEMÄSSE VERWENDUNG

Beim WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA handelt es sich um ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA*) für die qualitative Erfassung der Gesamtzahl an Antikörpern zum SARS-CoV-2-Virus in menschlichen Serum- oder Plasmaproben. Das Kit dient zur Untersuchung von Patienten, bei denen eine Infektion mit dem SARS-CoV-2-Virus vermutet wird, sowie als Unterstützung bei der Diagnose der Coronavirus-Erkrankung 2019 (COVID-19).

ZUSAMMENFASSUNG

Bei der Coronavirus-Erkrankung 2019 (COVID-19) handelt es sich um eine Atemwegserkrankung aufgrund einer Infektion mit dem SARS-CoV-2-Virus. Zu den häufigen Anzeichen für eine Infektion gehören Atemwegssymptome, Fieber, Husten, Kurzatmigkeit und Atemprobleme. In schweren Fällen kann die Infektion zu einer Lungenzündung, zu einem schweren akuten Atemwegssyndrom [engl.: *Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS*] sowie zu Nierenversagen und zum Tode führen.

Bei den Coronaviren (CoV) handelt es sich um eine große Virenfamilie, die von einer gewöhnlichen Erkältung bis hin zu schwerwiegenden Erkrankungen, wie zum *Middle East Respiratory Syndrome* (MERS-CoV) und dem schwerwiegenden akuten Atemwegssyndrom (*Severe Acute Respiratory Syndrome, SARS-CoV*), führen können. Das neuartige Coronavirus 2019, vormals auch 2019-nCoV genannt, das nun mit SARS-CoV-2 bezeichnet wird, ist ein neuer Stamm eines Coronavirus, das erstmals während der Pandemie 2019-2020 identifiziert wurde.

GRUNDSATZ DER UNTERSUCHUNG

Beim WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA handelt es sich um ein zweistufiges Inkubations-Antikörper-"Sandwich"-Kit für ein enzymatisches Immunassay-Verfahren, das Polystyren-Mikrotiterstreifen verwendet, die mit einem rekombinanten SARS-CoV-2-Antigen vorbeschichtet sind. Die Serum- oder Plasmaprobe des Patienten wird hinzugefügt. Bei der ersten Inkubation werden die spezifischen SARS-CoV-2-Antikörper, falls vorhanden, in den Vertiefungen gebunden. Die Mikrotiterplatten werden anschließend gewaschen, um nicht gebundene Serumproteine zu entfernen. Daraufhin wird das rekombinante SARS-CoV-2-Antigen hinzugefügt, das an das Enzym Meerrettich-Peroxidase (engl. *Horse radish Peroxidase, HRP*) konjugiert ist (HRP-Konjugat). Bei der zweiten Inkubation bindet sich das konjugierte Antigen an den erfassten Antikörper im Inneren der Vertiefungen der Mikrotiterplatte. Die Mikrotiterplatten werden anschließend gewaschen, um nicht gebundenes Konjugat zu entfernen, und es werden Chromogenlösungen in die Vertiefungen gegeben. In Vertiefungen, die den Antigen-Antikörper-Antigen-(HRP)-"Sandwich"-Immunkomplex enthalten, werden die farblosen Chromogene vom gebundenen HRP-Konjugat zu einem blauen Produkt hydrolysiert. Die blaue Farbe wird gelb, nachdem die Reaktion mit Schwefelsäure angehalten wurde. Die Farbintensität kann gemessen werden und ist proportional zur Menge an Antikörpern, die in den Vertiefungen gebunden werden, bzw. zur Probe. Vertiefungen, die Proben enthalten, welche für SARS-CoV-2-Antikörper negativ sind, bleiben farblos.

KOMPONENTEN

 Nur für die In-Vitro-Diagnose

Dieses Kit enthält Reagenzien, die ausreichend sind, um maximal 91 Proben in einem Testdurchlauf zu testen.

UUU PLATTE
Code 5 (1 x 96 Vertiefungen)
8x12/12x8-Vertiefungen pro
Platte

MIKROTITERPLATTE: Leere Mikrotiterstreifen, die auf einem weißen Streifenhalter angebracht sind. Die Platte ist in einem Aluminiumbeutel mit einem Trockenmittel luftdicht verschlossen. Jede Vertiefung enthält rekombinantes SARS-CoV-2-Antigen. Die Mikrotiterstreifen können zerteilt und separat verwendet werden. Geben Sie nicht verwendete Vertiefungen oder Mikrotiterstreifen zusammen mit dem Trockenmittel in den mitgelieferten, luftdicht verschließbaren Lagerbeutel aus Kunststoff, und lagern Sie diese bei 2-8°C. Nach dem Öffnen sind diese 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

KONTROLLE -
Code 8 (1x 0,5 ml pro Phiole)
preserv.0.1% ProCin™ 300

NEGATIVE KONTROLLE: Gelbliche Flüssigkeit in einer Phiole mit grünem Schraubverschluss. Protein-stabilisierter Puffer, der als nicht reaktiv für SARS-CoV-2-Antikörper getestet wurde. Wird im einsatzbereiten Zustand geliefert. Nach dem Öffnen 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

KONTROLLE +
Code 7 (1x 0,3 ml pro Phiole)
preserv.0.1% ProCin™ 300

POSITIVE KONTROLLE: Rote Flüssigkeit in einer Phiole mit rotem Schraubverschluss. SARS-CoV-2-positives Material, verdünnt in protein-stabilisiertem Puffer. Wird im einsatzbereiten Zustand geliefert. Nach dem Öffnen 4 Wochen bei 2-

8°C haltbar.

HRP CON
Code 6 (1x 12 ml pro Phiole)
preserv.0.1% ProCin™ 300

HRP-KONJUGAT: Rote Flüssigkeit in einer weißen Phiole mit rotem Schraubverschluss. HRP-konjugiertes, rekombinantes SARS-CoV-2-Antigen. Wird im einsatzbereiten Zustand geliefert. Nach dem Öffnen 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

WASH BUF 20X
Code 1 (1x 50 ml pro Flasche)
VOR DER VERWENDUNG
VERDÜNNEN!
detergent Tween-20

WASCHPUFFER: Farblose Flüssigkeit, die in eine weiße Flasche mit weißem Schraubverschluss gefüllt ist. Oberflächenaktive Pufferlösung. Das Konzentrat muss in einem Verhältnis von 1 zu 20 mit destilliertem/deionisiertem Wasser verdünnt werden, bevor es verwendet werden kann. Nach der Verdünnung ist es 1 Woche bei Raumtemperatur und 2 Wochen bei einer Lagerung bei 2-8°C haltbar.

CHROM SOL A
Code 2 (1x 6 ml pro Phiole)

CHROMOGEN-LÖSUNG A: Farblose Flüssigkeit, die in eine weiße Phiole mit grünem Schraubverschluss gefüllt ist. Urea-Peroxid-Lösung. Wird im einsatzbereiten Zustand geliefert. Nach dem Öffnen 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

CHROM SOL B
Code 3 (1x 6 ml pro Phiole)

CHROMOGEN-LÖSUNG B: Farblose Flüssigkeit, die in eine schwarze Phiole mit schwarzem Schraubverschluss gefüllt ist. TMB (Tetramethyl-Benzidin), N,N-Dimethylformamid. Wird im einsatzbereiten Zustand geliefert. Nach dem Öffnen 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

STOP SOL
Code 4 (1x 6 ml pro Phiole)

STOPP-LÖSUNG: Farblose Flüssigkeit in einer weißen Phiole mit gelbem Schraubverschluss. Verdünnte Schwefelsäurelösung (0,5M H₂SO₄). Wird im einsatzbereiten Zustand geliefert. Nach dem Öffnen 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

- **LUFTDICHT VERSCHLIESSBARER PLASTIKBEUTEL:** Zur luftdichten Aufbewahrung der nicht verwendeten Streifen 1 Stück
 - **P A C K U N G S B E I L A G E 1** Exemplar
 - **P L A T T E N A B D E C K U N G A U S P A P P E 2** Bögen
- Zur Abdeckung der Platten während der Inkubation und zur Verhinderung einer Evaporation oder Kontamination der Vertiefungen.

ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN SIND

Frisch destilliertes oder deionisiertes Wasser, Einmalhandschuhe und Timer, geeignete Abfallbehälter für potenziell kontaminierte Materialien, Dosiersystem bzw. Pipette, Einwegpipettenspitzen, absorbierender Stoff oder sauberes Handtuch, Trocken-Inkubator oder Wasserbad, 37±1°C, Plattenlesegerät, einfache Wellenlänge 450 nm oder doppelte Wellenlänge 450/600-650 nm, Absaug-/Waschsystem für Mikrotiterplatten.

PROBENTNAHME, TRANSPORT UND LAGERUNG

1. **Probentnahme:** Es ist keine besondere Vorbereitung am Patienten erforderlich. Entnehmen Sie die Probe gemäß dem gängigen Laborverfahren. Bei dieser Untersuchung können entweder frische Serum- oder Plasmaproben verwendet werden. Blut, das durch Venenpunktion entnommen wurde, sollte auf natürliche Weise und komplett gerinnen - das Serum/Plasma muss so früh wie möglich vom Gerinnsel getrennt werden, um eine Hämolyse der RBC zu verhindern. Es sollte besonders sorgsam vorgegangen werden, um sicherzustellen, dass die Serumproben klar sind und nicht durch Mikroorganismen kontaminiert werden. Jegliche sichtbare Feststoffteilchen in der Probe sind durch Zentrifugation bei 3000 U/min (Umdrehungen pro Minute) 20 Minuten lang bei Raumtemperatur oder durch Filtration zu entfernen.
2. **Plasmaproben, die in EDTA, Natriumzitrat oder Heparin genommen werden, können geprüft werden; hochgradig lipämische, ikterische oder hämolytische Proben sollten jedoch nicht verwendet werden,** da diese zu falschen Untersuchungsergebnissen führen können. **Inaktivierte Proben nicht erhitzen.** Dies kann zu einer Schädigung des Zielanalyts führen. Proben mit einer sichtbaren mikrobiischen Verunreinigung sollten nicht verwendet werden.
3. Der WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA ist NUR für das Testen von individuellen Serum- oder Plasmaproben vorgesehen. Verwenden Sie den Test nicht für die Untersuchung von Kadaverproben, Speichel, Urin oder anderen Körperflüssigkeiten oder Pooblutproben.
4. **Transport und Lagerung:** Lagern Sie die Proben bei 2-8°C. Proben, die nicht innerhalb von 1 Woche für die Untersuchung benötigt werden, sollten eingefroren werden (-20°C oder weniger). Ein mehrfaches Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden. Für den Transport sollten die Proben gemäß den bestehenden lokalen und internationalen Richtlinien für den Transport klinischer Proben und ethologischer Mittel verpackt und gekennzeichnet werden.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Die Komponenten des Kits bleiben bis zum Verfallsdatum, das auf dem Etikett und der Verpackung angegeben ist, haltbar, wenn diese bei 2-8°C gelagert werden. Sie dürfen nicht eingefroren werden. Um die maximale Leistung des WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA sicherzustellen, sind die Reagenzien während der Lagerung vor einer Kontamination mit Mikroorganismen oder Chemikalien zu schützen.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND SICHERHEIT

NUR VON QUALIFIZIERTEN PERSONEN ZU VERWENDEN

Die ELISA-Tests sind zeit- und temperaturempfindlich. Um falsche Ergebnisse zu vermeiden, **müssen die Schritte des Testverfahrens strikt eingehalten und dürfen nicht verändert werden.**

1. Tauschen Sie Reagenzien aus verschiedenen Chargen nicht aus bzw. verwenden Sie keine Reagenzien aus anderen kommerziell erhältlichen Kits. Die Komponenten des Kits sind präzise abgestimmt, um eine optimale Leistung der Tests zu erzielen.
2. Stellen Sie sicher, dass alle Reagenzien in dem Gültigkeitszeitraum liegen, der auf der Schachtel des Kits angegeben ist, und aus derselben Charge stammen. Verwenden Sie keine Reagenzien nach ihrem Verfallsdatum, das auf den Etiketten oder der Verpackung angegeben ist.
3. **ACHTUNG - KRITISCHER SCHRITT:** Lassen Sie die Reagenzien und Proben Raumtemperatur (18-30°C)

4. erreichen, bevor Sie diese verwenden. Schütteln Sie diese leicht vor der Verwendung. Lagern Sie diese sofort nach der Verwendung wieder bei 2-8°C ein.
5. Nutzen Sie nur ein ausreichendes Probenvolumen, das in den Verfahrensschritten angegeben ist. Andernfalls kann es zu einer geringen Empfindlichkeit der Tests kommen.
6. Berühren Sie nicht die äußere Unterseite der Vertiefungen nicht: Fingerabdrücke oder Kratzer können die Ablesung stören. Beim Ablesen der Ergebnisse ist sicherzustellen, dass der Boden der Platte trocken ist und in den Vertiefungen keine Blasen vorhanden sind.
7. Lassen Sie die Vertiefungen der Mikrotiterplatten nach dem Schritt des Waschens nicht trocknen. Fahren Sie umgehend mit dem nächsten Schritt fort. Vermeiden Sie die Bildung von Luftblasen, wenn Sie die Reagenzien hinzugeben.
8. Vermeiden Sie lange andauernde Unterbrechungen bei den Untersuchungsschritten. Stellen Sie sicher, dass alle Vertiefungen denselben Arbeitsbedingungen unterliegen.
9. Kalibrieren Sie die Pipette häufig, um die Genauigkeit der Proben-/Reagenzdosierung sicherzustellen. Verwenden Sie neue Einweg-Pipettenspitzen für jede Probe und Reagenz, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
10. Stellen Sie sicher, dass die Inkubationstemperatur im Inneren des Inkubators 37°C beträgt.
11. Berühren Sie die Unterseite der Vertiefung nicht mit der Pipettenspitze, wenn Sie Proben hinzugeben. Bestimmen Sie die Absorption bei 450 nm oder 450/600-650 nm bei der Messung mit einem Plattenlesegerät.
12. Die enzymatische Aktivität des HRP-Konjugats kann von Staub und anderen reaktiven Chemikalien und Substanzen, wie Natriumhypochlorit, Säuren, Basen, usw. beeinträchtigt werden. Führen Sie die Untersuchung nicht durch, wenn diese Stoffe vorhanden sind.
13. Bei der Verwendung von vollautomatischen Geräten dürfen die Platten während der Inkubation nicht mit der Plattenabdeckung abgedeckt werden. Nach dem Waschen müssen auch keine Rückstände im Inneren der Platte herausgeklippt werden.
14. Alle Proben menschlichen Ursprungs sind als potenziell infektiös anzusehen. Die strenge Einhaltung der Richtlinien der *Good Laboratory Practice* (gute Laborpraxis) kann die persönliche Sicherheit sicherstellen.
15. **ACHTUNG:** Bei der Herstellung der negativen Kontrolle des Kits wurden möglicherweise Materialien menschlichen Ursprungs verwendet. Diese Materialien wurden mit den Testkits mit akzeptierter Leistung geprüft und für HBSAg und Antikörper zu HIV 1/2, HCV, TP für negativ befunden. Es gibt jedoch kein analytisches Verfahren, das sicherstellen kann, dass absolut keine Infektionserreger in den Proben oder Reagenzien vorhanden sind. Daher sollten Sie Reagenzien und Proben mit äußerster Vorsicht handhaben, so als ob diese Infektionskrankheiten übertragen könnten. Rinderseren wurden für die Stabilisierung der positiven und negativen Kontrollen verwendet. Rinderserumalbumin (*Bovine Serum Albumin, BSA*) und fetales Kalberserum (*Fetal Calf Serum, FCS*) werden von Tieren aus BSE/TSE-freien geographischen Regionen gewonnen.
16. In den Untersuchungslaboren sind Essen, Trinken, Rauchen oder das Auftragen von Kosmetikartikeln untersagt. Pipettieren Sie Lösungen nicht mit dem Mund.
17. Chemikalien dürfen nur gemäß der aktuellen *GLP* (*Good Laboratory Practice, gute Laborpraxis*) und den lokalen oder nationalen Richtlinien gehandhabt und entsorgt werden.
18. Die Pipettenspitzen, Phiole, Streifen und Probenbehälter sind zu sammeln und mindestens 2 Stunden bei 121°C zu autoklavieren oder mit 10%-Natriumhypochlorit 30 Minuten lang zu behandeln, um diese zu dekontaminieren, bevor weitere Entsorgungsschritte eingeleitet werden. Lösungen, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen NIEMALS autoklaviert werden. Material Sicherheitsdatenblätter (MSDB) sind auf Anfrage erhältlich.
19. Einige Reagenzien können als Rohstoffe eine Toxizität, Reizung oder Verbrennungen verursachen oder krebserregend sein. Unter anderem – jedoch nicht ausschließlich – bei den folgenden Reagenzien ist ein Kontakt mit der Haut und den Schleimhäuten unbedingt zu vermeiden: Stopp-Lösung, Chromogene und Waschpuffer.
20. Bei der Stopp-Lösung 0,5M H₂SO₄ handelt es sich um eine Säure. Verwenden Sie diese mit der entsprechenden Vorsicht. Wischen Sie verschüttete Lösung sofort auf, und spülen Sie Ihre Haut oder Augen mit Wasser, wenn diese mit der Lösung in Kontakt kommen.
21. Als Konservierungsmittel kann ProCin™ 300 0,1% eine Hautreizung verursachen. Wischen Sie verschüttete Mittel sofort auf bzw. spülen Sie Ihre Haut oder Augen mit Wasser, wenn diese mit der Lösung in Kontakt kommen.

INDIKATIONEN FÜR EINE INSTABILITÄT ODER SCHÄDIGUNG DER REAGENZ: Werte der positiven oder negativen Kontrollen, die außerhalb des angegebenen Bereichs der Qualitätskontrolle liegen, sind Indikatoren für eine mögliche Schädigung der Reagenzien und/oder Betreiber- oder Ausrüstungsfehler. In solch einem Fall sind die Ergebnisse als ungültig anzusehen, und die Proben müssen erneut getestet werden. Bei konstant fehlerhaften Ergebnissen und einer nachgewiesenen Schädigung oder Instabilität der Reagenzien müssen die Reagenzien sofort durch neue ausgetauscht werden; alternativ können Sie den technischen Support von Wantai kontaktieren und um weitere Unterstützung bitten.



Achtung:
H317, H412, P273, P280,
P333+P313, P363
ProCin™ 300



Gefahr:
H360D, P201, P280, P308+P313
N,N-Dimethylformamid

VERFAHREN

Vorbereitung der Reagenzien: Warten Sie, bis die Reagenzien und Proben Raumtemperatur (18-30°C) erreicht haben. Prüfen Sie das Waschpufferkonzentrat auf das Vorhandensein von Salzkristallen. Wenn sich solche Kristalle gebildet haben, lösen Sie das Konzentrat wieder auf, indem Sie es bei 37°C erhitzen, bis sich die Kristalle auflösen. Verdünnen Sie den Waschpuffer (20X), wie in den Anweisungen für das Waschen angegeben. Verwenden Sie destilliertes oder deionisiertes Wasser und ausschließlich saubere Gefäße, um den Puffer zu verdünnen. Alle anderen Reagenzien sind **BEI LIEFERUNG SOFORT EINSATZFÄHIG**.

- Schritt 1 Vorbereitung:** Kennzeichnen Sie drei Vertiefungen als negative Kontrolle (z. B. B1, C1, D1), zwei Vertiefungen als positive Kontrolle (z. B. E1, F1) und eine leere Vertiefung (z. B. A1, wobei weder die Probe noch das HRP-Konjugat in die leere Vertiefung gegeben werden sollten). Wenn die Ergebnisse durch die Verwendung doppelter Wellenlängen-Plattenlesegeräte bestimmt werden, wird keine leere Vertiefung benötigt. Verwenden Sie nur die Anzahl an Streifen, die für den Test erforderlich sind.
- Schritt 2 Hinzufügen von Kontrollen und Probe:** Geben Sie 50 µl der positiven Kontrolle, negativen Kontrolle, sowie 100 µl der Probe in die entsprechenden Vertiefungen, mit Ausnahme der leeren Vertiefung. **Hinweis: Verwenden Sie eine separate Einweg-Pipettenspitze für jede Probe,**

- negative Kontrolle sowie positive Kontrolle, um eine Kreuzkontamination zu verhindern.** Mischen Sie dies durch sanftes Klopfen der Platte.
- Schritt 3 Inkubation:** Decken Sie die Platte mit der Plattenabdeckung ab und inkubieren Sie diese **30 Minuten lang bei 37°C.**
- Schritt 4 Waschen:** Nehmen Sie am Ende der Inkubation die Plattenabdeckung ab und entsorgen Sie diese. Waschen Sie jede Vertiefung 5 Mal mit verdünntem Waschpuffer. Lassen Sie den Waschpuffer jedes Mal **30 - 60 Sekunden** lang in den Vertiefungen einwirken. Legen Sie die Platte nach dem letzten Waschzyklus auf Löschpapier oder einem sauberen Handtuch ab und klopfen Sie diese ab, um jegliche Rückstände zu entfernen.
- Schritt 5 Hinzufügen des HRP-Konjugats:** Geben Sie **100µl** des HRP-Konjugats in jede Vertiefung, mit Ausnahme der leeren Vertiefung.
- Schritt 6 Inkubation:** Decken Sie die Platte mit der Plattenabdeckung ab und inkubieren Sie diese **30 Minuten lang bei 37°C.**
- Schritt 7 Waschen:** Nehmen Sie am Ende der Inkubation die Plattenabdeckung ab und entsorgen Sie diese. Waschen Sie jede Vertiefung 5 Mal mit verdünntem Waschpuffer. Lassen Sie den Waschpuffer jedes Mal **30 - 60 Sekunden** lang in den Vertiefungen einwirken. Legen Sie die Platte nach dem letzten Waschzyklus auf Löschpapier oder einem sauberen Handtuch ab und klopfen Sie diese ab, um jegliche Rückstände zu entfernen.
- Schritt 8 Färbung:** Geben Sie **50µl** der Chromogen-Lösung A und anschließend **50µl** der Chromogen-Lösung B in jede Vertiefung, einschließlich der leeren Vertiefung, und mischen Sie diese vorsichtig. Inkubieren Sie die Platte **15 Minuten lang bei 37°C, unter Vermeidung von Lichteinstrahlung.** Die enzymatische Reaktion zwischen den Chromogen-Lösungen und dem HRP-Konjugat produziert eine blaue Farbe in der positiven Kontrolle und in den SARS-CoV-2-Antikörper-positiven Vertiefungen.
- Schritt 9 Stoppreaktion:** Geben Sie mit einer Multikanal-Pipette oder manuell **50µl** Stopp-Lösung in jede Vertiefung und mischen Sie diese vorsichtig. In der positiven Kontrolle und in den SARS-CoV-2-Antikörper-positiven Probenvertiefungen bildet sich eine intensive gelbe Farbe.
- Schritt 10 Messung der Absorption:** Kalibrieren Sie das Plattenlesegerät mit der leeren Vertiefung und lesen Sie anschließend die Absorption bei **450 nm** ab. Wenn ein duales Filterinstrument verwendet wird, stellen Sie die Referenzwellenlänge auf **600-650 nm** ein. Berechnen Sie den Grenzwert und bewerten Sie die Ergebnisse. (**Hinweis:** Lesen Sie die Absorption innerhalb von 10 Minuten nach dem Anhalten der Reaktion ab).

ANWEISUNGEN FÜR DAS WASCHEN

- Ein gutes Waschverfahren ist essentiell, um korrekte und präzise analytische Daten zu erhalten. Es wird daher empfohlen, ein qualitativ hochwertiges ELISA-Mikroplatten-Waschgerät zu verwenden, das die höchstmögliche Waschleistung bietet. Allgemein sind nicht weniger als **5 automatische Waschzyklen** mit **350-400µl/Vertiefung** ausreichend, um falsch positive Reaktionen und einen hohen Hintergrund zu vermeiden.
- Um Kreuzkontaminationen der Platte mit Proben oder HRP-Konjugat zu vermeiden, darf der Inhalt der Vertiefungen nicht entsorgt werden; es muss ermöglicht werden, dass das Plattenwaschgerät diese automatisch absaugt.
- Stellen Sie sicher, dass die Dosierkanäle für die Mikroplatten-Waschflüssigkeit nicht verstopft oder kontaminiert sind und dass jedes Mal eine ausreichende Menge an Waschpuffer in die Vertiefungen abgegeben wird.
- Bei einer manuellen Wäsche empfehlen wir die Durchführung von **5 Waschzyklen**, das Dispensieren von **350-400 µl/Vertiefung** sowie die **5-malige** Absaugung der Flüssigkeit. Wenn schlechte Ergebnisse (hoher Hintergrund) festgestellt werden, sind die Waschzyklen oder die Einwirkzeit pro Vertiefung zu steigern.
- In jedem Fall sollte die Flüssigkeit, die aus den Streifen abgesaugt wird, mit einer Natrium-Hypochloridlösung bei einer finalen Konzentration von 2,5% 24 Stunden lang behandelt werden, bevor diese auf angemessene Weise entsorgt werden.
- Der konzentrierte Waschpuffer sollte vor der Verwendung in einem Verhältnis von **1:20** verdünnt werden. Wenn weniger als eine ganze Platte verwendet wird, ist das proportionale Volumen der Lösung vorzubereiten.

QUALITÄTSKONTROLLE UND BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Jede Mikroplatte sollte separat berücksichtigt werden, wenn die Ergebnisse der Untersuchung berechnet und ausgelegt werden, ungeachtet der Anzahl an aktuell verarbeiteten Platten. Die Ergebnisse werden berechnet, indem jeder Probenabsorptionswert (A) auf den Grenzwert (Cut-Off Value, CO) der Platte bezogen wird. Wenn die Grenzwertablesung auf einem einzelnen Filterplattenlesegerät basiert, sind die Ergebnisse zu berechnen, indem der A-Wert der leeren Vertiefung von den Druckberichtwerten der Proben und Kontrollen abgezogen wird. Wenn die Ablesung auf dem dualen Filterplattenlesegerät basiert, darf der A-Wert der leeren Vertiefung nicht von den Druckberichtwerten der Proben und Kontrollen abgezogen werden.

Berechnung des Grenzwerts (C.O.) = $Nc + 0,16$
(**Nc** = der durchschnittliche Absorptionswert von drei negativen Kontrollen). **Wenn $Nc < 0,03$ ist, ist dieser als 0,03 anzusehen.**

Qualitätskontrolle (Validierung der Untersuchung): Die Testergebnisse sind gültig, wenn die Kriterien der Qualitätskontrolle erfüllt wurden. Es wird empfohlen, dass jedes Labor entsprechende Qualitätskontrollsysteme erstellt, die Qualitätskontrollmaterialien umfassen, die ähnlich den oder identisch mit den analysierten Patientenproben sind.

- Der A-Wert der leeren Vertiefung, die nur Chromogen und Stopp-Lösung enthält, ist $< 0,080$ bei 450 nm.
- Die A-Werte der positiven Kontrollen müssen sich auf $\geq 0,190$ bei 450/600-650 nm oder bei 450 nm nach dem Leeren belaufen.
- Die A-Werte der negativen Kontrollen müssen sich auf $\leq 0,100$ bei 450/600-650 nm oder bei 450 nm nach dem Leeren belaufen.

Wenn einer der A-Werte der negativen Kontrolle die Kriterien für die Qualitätskontrolle nicht erfüllt, ist dieser zu verwerfen, und der Durchschnittswert ist erneut anhand der verbleibenden beiden Werte zu berechnen. Wenn mehr als ein A-Wert der negativen Kontrolle die Spezifikationen hinsichtlich des Qualitätskontrollbereichs nicht erfüllt, ist der Test ungültig und muss wiederholt werden.

Beispiel:
1. Qualitätskontrolle

Wert A der leeren Vertiefung (Leerwert, Blank): $A1 = 0,025$ bei 450 nm (Hinweis: ein Leerwert (Blank) ist nur erforderlich, wenn mit einem einzelnen Filter bei 450nm abgelesen wird)

Vertiefung Nr.: B1 C1 D1
Negative Kontrolle, A-Werte nach der 0,020 0,012 0,016
Leerwert-Messung (blinking):
Vertiefung Nr.: E1 F1
Positive Kontrolle, A-Werte nach der 2,421 2,369
Leerwert-Messung (blinking):
Alle Kontrollwerte liegen im angegebenen Qualitätskontrollbereich

2. Berechnung von Nc: $= (0,020+0,012+0,016) = 0,016$. Nc ist $< 0,03$, daher wird im nächsten Schritt der Wert 0,03 verwendet.

3. Berechnung des Grenzwerts: $(C.O.) = 0,03 + 0,16 = 0,190$

ERGEBNISAUSLLEGUNG

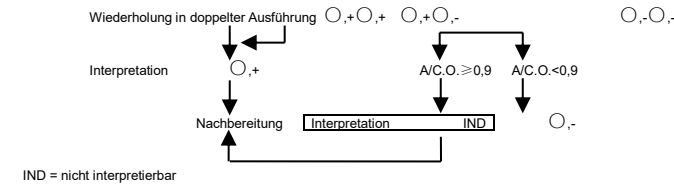
Negative Ergebnisse ($A / C.O. < 1$): Proben, die Absorptionswerte geben, die unter dem Grenzwert liegen, sind für diese Untersuchung negativ, was darauf hindeutet, dass keine SARS-CoV-2-Antikörper mit dem WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA erfasst wurden; daher gibt es keine serologischen Anzeichen für eine aktuelle oder vergangene COVID-19-Erkrankung.

Positive Ergebnisse ($A / C.O. \geq 1$): Proben, die einen Absorptionswert geben, der gleich oder größer als der Grenzwert ist, gelten anfänglich als reaktiv, was darauf hindeutet, dass wahrscheinlich SARS-CoV-2-Antikörper mit WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA entdeckt wurden. Alle anfänglich reaktiven Proben sollten vor Auslegung der endgültigen Untersuchungsergebnisse anhand des WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA in doppelter Ausführung erneut getestet werden. Wiederholt reaktive Proben können als auf Antikörper zu SARS-CoV-2 positiv angesehen werden; daher gibt es serologische Indikationen für eine aktuelle oder vergangene COVID-19-Erkrankung.

Grenzwert ($A / C.O. = 0,9-1,1$): Proben mit einer Absorption im Grenzwertbereich zwischen 0,9 und 1,1 gelten als grenzwertig, und eine erneute Prüfung dieser Proben in doppelter Ausführung ist erforderlich, um die anfänglichen Ergebnisse zu bestätigen.

Eine Nachbereitung, Bestätigung sowie ergänzende Tests aller positiven Proben mit einem anderen analytischen System (z. B. PCR) sind erforderlich. Klinische Diagnosen sollten nicht basierend auf nur einem einzigen Testergebnis erstellt werden. Diese sollten klinische oder andere laboratorische Daten und Ergebnisse beinhalten.

INTERPREATION DER ERSTEN ERGEBNISSE UND NACHBEREITUNG ALLE ANFÄNGLICH REAKTIVEN ODER GRENZWERT-PROBEN



- Wenn, nach der erneuten Prüfung der anfänglich reaktiven Proben, beide Vertiefungen ein negatives Ergebnis liefern ($A/C.O. < 0,9$), gelten diese Proben als nicht wiederholbar positiv (oder falsch positiv) und sind als negativ zu bewerten und einzutragen. Wie mit zahlreichen weiteren, extrem empfindlichen ELISA-Untersuchungen auch, können falsch positive Ergebnisse aus mehreren Gründen auftreten, von denen die meisten, jedoch nicht alle, mit einem unzureichenden Waschen verbunden sind. Weitere Informationen finden Sie in der Anleitung zur Fehlerbehebung des Wantai ELISA.
- Wenn nach einer doppelten Prüfung eine oder beide Vertiefungen positive Ergebnisse haben, sollte das Endergebnis von diesem ELISA-Test als wiederholt reaktiv bewertet werden. Wiederholt reaktive Proben könnten für Antikörper zu SARS-CoV-2 als positiv gelten; daher ist der Patient wahrscheinlich mit dem Virus infiziert.
- Nach einer erneuten doppelten Prüfung sind Proben mit Werten, die nahe am Grenzwert liegen, mit Vorsicht auszuwerten und gelten als „Grenzwertbereichsprobe“ oder für den Zeitpunkt der Prüfung als nicht auslegbar.

LEISTUNGSMERKMALE

Empfindlichkeit und Spezifität: Eine klinische Validierungsstudie für den WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA wurde 2020 in Beijing, Shenzhen, Zhejiang in China durchgeführt. Es wurden 266 Proben von bestätigten COVID-19-Fällen sowie 306 Proben von ausgeschlossenen COVID-19-Fällen und gesunden Personen getestet. Der Test zeigte eine Empfindlichkeit von 94,36% (251/266) und eine Spezifität von 100% (306/306).

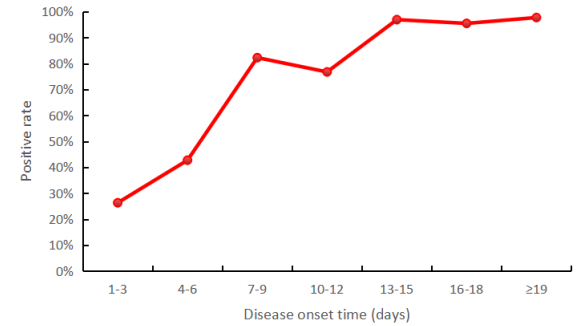
WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA Bewertungszentren			
Klinisches Institut	Bestätigt (Fälle)	Ausgeschlossen (Fälle)	Gesamt
Akademie der militärmedizinischen Wissenschaften	12	0	12
Krankenhaus von Shenzhen	173	33	206
Krankenhaus, medizinische Fakultät, Universität von Zhejiang	81	273	354
Gesamt	266	306	572

Zusammenfassung der klinischen Bewertungsergebnisse		
Fälle	Bestätigte/ausgeschlossene SARS-CoV-2-Ergebnisse	Gesamt

		Bestätigt	Ausgeschlossen	
WANTAI	Positiv	251	0	251
	Negativ	15	306	321
Gesamt		266	306	572

Zusammenfassung der klinischen Leistung		
Leistung	Ergebnisse	95% CI
Empfindlichkeit	94,36%	90,87%-96,81%
Spezifität	100,00%	98,80%-100,00%
Ges. Übereinstimmung	97,38%	95,71%-98,53%

Es wurden Proben von bestätigten COVID-19-Fällen genommen, die klinische Symptome, laboratorische Anomalitäten oder pulmonale Manifestationen bei der Bildgebung aufwiesen. Es wurden keine Tests von Proben durchgeführt, die latente Infektionen aufwiesen oder von Patienten im Inkubationszeitraum stammten. Es wurde festgestellt, dass die Erkennungsrate des Kits eng mit dem Zeitpunkt des Eintretens der Krankheit verbunden war, wobei das Kit eine höhere positive Erkennungsrate in Proben aufwies, die von Patienten mit einem verzögerten Krankheitsbeginn stammten. Daher sollte die Auslegung der Testergebnisse den Zeitpunkt der Probenentnahme berücksichtigen.



EINSCHRÄNKUNGEN

- Positive Ergebnisse müssen mit anderen verfügbaren Verfahren bestätigt und in Verbindung mit den klinischen Informationen zum Patienten ausgelegt werden.
- Antikörper können während der frühen Phasen der Erkrankung sowie in immunsupprimierten Personen nicht erkennbar sein. Daher sind negative Ergebnisse, die mit dem WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA erhalten werden, nur eine Indikation, dass die Probe keine nachweisbare Spur an Antikörpern enthält, und jegliche negativen Ergebnisse sollten nicht als beweiskräftiger Nachweis angesehen werden, dass die Person nicht mit dem Virus infiziert ist.
- Wenn nach einer erneuten Prüfung der anfänglich reaktiven Proben die Untersuchungsergebnisse negativ sind, sollten diese Proben als nicht wiederholbar (falsch positiv) angesehen und als negativ ausgelegt werden. Wie mit zahlreichen weiteren, extrem empfindlichen ELISA-Untersuchungen auch, können falsch positive Ergebnisse aus mehreren Gründen auftreten, von denen die meisten, jedoch nicht alle, mit einem unzureichenden Auswaschen verbunden sind. Weitere Informationen finden Sie in der Anleitung zur Fehlerbehebung des Wantai ELISA; alternativ können Sie den technischen Support von Wantai kontaktieren, wenn Sie weitere Hilfe benötigen.
- Die häufigsten Fehler bei einer Untersuchung sind: die Verwendung von Kits nach dem Ablaufdatum, mangelhaftes Waschverfahren, kontaminierte Reagenzien, falsche Untersuchungsverfahrensschritte, unzureichende Absaugung beim Waschen, Säumnis, Proben oder Reagenzien hinzuzufügen, falsche Verwendung der Laborausüstung, Fehler bei der Zeitplanung, Verwendung von hochgradig hämolytierten Proben oder von fibrinhalten Proben, nicht vollständig geronnene Serumproben.
- Die Prävalenz des Markers wirkt sich auf die prädiagnostischen Werte der Untersuchung aus.
- Der Test kann nicht verwendet werden, um gepooltes (gemischtes) Serum oder Plasma zu testen. Das Kit wurde nur mit individuellen Serum- oder Plasmaproben bewertet.
- Beim WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA handelt es sich um einen qualitativen Test, und die Ergebnisse können nicht verwendet werden, um die Antikörperkonzentration zu messen.

Version: V. 2020-02 [Eng.]
Veröffentlichungsdatum: 27. März 2020
Revisionsnummer: Revision 1

ZUSAMMENFASSUNG DER HAUPTKOMPONENTEN DES KITS:

Verwenden Sie diese Zusammenfassung nur als Referenz; besorgen Sie stets das Informationsblatt über das entsprechende Verfahren, wenn Sie den Test durchführen. Hinweis: Die Komponenten der einzelnen Kits sind nicht untereinander austauschbar.

ZUSAMMENFASSUNG DES TESTVERFAHRENS:

Verwenden Sie diese Zusammenfassung nur als Referenz; befolgen Sie stets das Informationsblatt über das entsprechende Verfahren, wenn Sie den Test durchführen.

Kontrollen hinzufügen	50µl
Probe hinzufügen	100µl
Inkubieren	30 Minuten
Waschen	5 Mal
HRP-Konjugat hinzufügen	100µl
Inkubieren	30 Minuten
Waschen	5 Mal
Färben	50µl A + 50µl B
Inkubieren	15 Minuten
Reaktion stoppen	50µl Stopp-Lösung
Absorption ablesen	450 nm oder 450/600-650 nm

BEISPIELSCHEMA FÜR DIE ABGABE VON KONTROLLEN/PROBEN:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Leer	S3										
B	Neg.	...										
C	Neg.	...										
D	Neg.											
E	Pos.											
F	Pos.											
G	S1											
H	S2											

SYMBOLE DER CE-KENNZEICHNUNG:

Medizinisches Gerät für die In-Vitro-

Diagnose



+2°C-+8°C Lagerungsbedingungen



Verwendbar bis



Charge



Inhalt für <n> Tests ausreichend



Gebrauchsanweisungen



CE-Kennzeichnung – IVDD 98/79/EC



Bevollmächtigter EU-Vertreter



Katalognummer



Hersteller



Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co., Ltd.
No.31 Kexueyuan Road, Changping District, Beijing 102206, China
Tel: +86-10-59528888, Fax: +86-10-89705849
Website: www.ystwt.com
E-Mail: wtexport@ystwt.com



Qarad b.v.b.a.
Cipalstraat 3, B-2440 Geel, Belgien
E-Mail: qarad@qarad.com






1. Mikrotiterplatte	Code 5	eine
2. Negative Kontrolle	Code 8	1x 0,5 ml
3. Positive Kontrolle	Code 7	1x 0,3 ml
4. HRP-Konjugat	Code 6	1x 12 ml
5. Waschpuffer	Code 1	1x 50 ml
6. Chromogenlösung A	Code 2	1x 6 ml
7. Chromogenlösung B	Code 3	1x 6 ml
8. Stopp-Lösung	Code 4	1x 6 ml

Wantai SARS-CoV-2 Diagnostics

WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA

Diagnostic Kit for Total Antibody to SARS-CoV-2 (ELISA)

REF WS-1096  V. 2020-02 [Eng.]  96 

Read the package insert carefully and completely before performing the assay. Follow the instructions and do not modify them. Only by strict adherence to these instructions, the erroneous results can be avoided and the optimal performance of WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA achieved.

INTENDED USE

WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA is an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for qualitative detection of total antibodies to SARS-CoV-2 virus in human serum or plasma specimens. The kit is intended for screening of patients suspected for infection with SARS-CoV-2 virus, and as an aid in the diagnosis of the coronavirus disease 2019 (COVID-19).

SUMMARY

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) is a respiratory disease caused by infection with the SARS-CoV-2 virus. Common signs of infection include respiratory symptoms, fever, cough, shortness of breath and breathing difficulties. In severe cases, infection can cause pneumonia, severe acute respiratory syndrome (SARS), kidney failure and death.

Coronaviruses (CoV) are a large family of viruses that cause illness ranging from the common cold to more severe diseases such as Middle East Respiratory Syndrome (MERS-CoV) and Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS-CoV). The 2019 Novel Coronavirus, formerly known as 2019-nCoV and now known as SARS-CoV-2, is a new strain of coronavirus that was first identified during 2019-2020 pandemic.

PRINCIPLE OF THE TEST

WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA is a two step incubation antigen "sandwich" enzyme immunoassay kit, which uses polystyrene microwell strips pre-coated with recombinant SARS-CoV-2 antigen. Patient's serum or plasma specimen is added, and during the first incubation, the specific SARS-CoV-2 antibodies will be captured inside the wells if present. The microwells are then washed to remove unbound serum proteins. Second recombinant SARS-CoV-2 antigen conjugated to the enzyme Horseradish Peroxidase (HRP-Conjugate) is added, and during the second incubation, the conjugated antigen will bind to the captured antibody inside the wells. The microwells are then washed to remove unbound conjugate, and Chromogen solutions are added into the wells. In wells containing the antigen-antibody-antigen(HRP) "sandwich" immuno-complex, the colorless Chromogens are hydrolyzed by the bound HRP conjugate to a blue colored product. The blue color turns yellow after the reaction is stopped with sulfuric acid. The amount of color intensity can be measured and it is proportional to the amount of antibody captured inside the wells, and to the specimen respectively. Wells containing specimens negative for SARS-CoV-2 antibodies remain colorless.

COMPONENTS

IVD In Vitro Diagnostic Use Only

This kit contains reagents sufficient for testing of maximum of 91 specimens in a test run.

UWU PLATE

Code 5 (1x96wells)
8X12/12X8-well per plate

CONTROL I -

Code 8 (1x0.5ml per vial)
preserv.0.1% ProClin™ 300

CONTROL +

Code 7 (1x0.3ml per vial)
preserv.0.1% ProClin™ 300

HRP CON

Code 6 (1x12ml per vial)
preserv.0.1% ProClin™ 300

WASH BUF 20X

Code 1 (1x50ml per bottle)
DILUTE BEFORE USE!
detergent Tween-20

CHROM SOL A

Code 2 (1x6ml per vial)

CHROM SOL B

Code 3 (1x6ml per vial)

MICROWELL PLATE: Blank microwell strips fixed on white strip holder. The plate is sealed in aluminum pouch with desiccant. Each well contains recombinant SARS-CoV-2 antigen. The microwell strips can be broken to be used separately. Place unused wells or strips in the provided plastic sealable storage bag together with the desiccant and return to 2-8°C. Once opened, stable for 4 weeks at 2-8°C.

NEGATIVE CONTROL: Yellowish liquid filled in a vial with green screw cap. Protein-stabilized buffer tested non-reactive for SARS-CoV-2 antibodies. Ready to use as supplied. Once opened, stable for 4 weeks at 2-8°C.

POSITIVE CONTROL: Red-colored liquid filled in a vial with red screw cap. SARS-CoV-2 positive material diluted in protein-stabilized buffer. Ready to use as supplied. Once opened, stable for 4 weeks at 2-8°C.

HRP-CONJUGATE: Red-colored liquid in a white vial with red screw cap. Horseradish peroxidase-conjugated recombinant SARS-CoV-2 antigen. Ready to use as supplied. Once opened, stable for 4 weeks at 2-8°C.

WASH BUFFER: Colorless liquid filled in a white bottle with white screw cap. Buffer solution containing surfactant. The concentrate must be diluted 1 to 20 with distilled/ deionized water before use. Once diluted, stable for 1 week at room temperature, or for 2 weeks when stored at 2-8°C.

CHROMOGEN SOLUTION A: Colorless liquid filled in a white vial with green screw cap. Urea peroxide solution. Ready to use as supplied. Once opened, stable for 4 weeks at 2-8°C.

CHROMOGEN SOLUTION B: Colorless liquid filled in a black vial with black screw cap. TMB (Tetramethyl benzidine), N,N-dimethylformamide. Ready to use as supplied. Once opened, stable for 4 weeks at 2-8°C.

STOP SOL
Code 4 (1x6ml per vial)

STOP SOLUTION: Colorless liquid in a white vial with yellow screw cap. Diluted sulfuric acid solution (0.5M H₂SO₄). Ready to use as supplied. Once opened, stable for 4 weeks at 2-8°C.

- PLASTIC SEALABLE BAG: For enclosing the strips not in use 1 unit
 - PACKAGE INSERT 1 copy
 - CARDBOARD PLATE COVER 2 sheets
- To cover the plates during incubation and prevent evaporation or contamination of the wells.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Freshly distilled or deionized water, disposable gloves and timer, appropriate waste containers for potentially contaminated materials, dispensing system and/or pipette, disposable pipette tips, absorbent tissue or clean towel, dry incubator or water bath, 37±1°C, plate reader, single wavelength 450nm or dual wavelength 450/600-650nm, microwell aspiration/wash system.

SPECIMEN COLLECTION, TRANSPORTATION AND STORAGE

1. **Specimen Collection:** No special patient's preparation required. Collect the specimen in accordance with the normal laboratory practice. Either fresh serum or plasma specimens can be used with this assay. Blood collected by venipuncture should be allowed to clot naturally and completely – the serum/plasma must be separated from the clot as early as possible as to avoid haemolysis of the RBC. Care should be taken to ensure that the serum specimens are clear and not contaminated by microorganisms. Any visible particulate matters in the specimen should be removed by centrifugation at 3000 RPM (round per minutes) for 20 minutes at room temperature or by filtration.
2. Plasma specimens collected into EDTA, sodium citrate or heparin can be tested, but **highly lipaemic, icteric, or hemolytic specimens should not be used** as they can give false results in the assay. **Do not heat inactivate specimens.** This can cause deterioration of the target analyte. Specimens with visible microbial contamination should never be used.
3. WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA is intended ONLY for testing of individual serum or plasma specimens. Do not use the assay for testing of cadaver specimens, saliva, urine or other body fluids, or pooled (mixed) blood.
4. **Transportation and Storage:** Store specimens at 2-8°C. Specimens not required for assaying within 1 week should be stored frozen (-20°C or lower). Multiple freeze-thaw cycles should be avoided. For shipment, specimens should be packaged and labeled in accordance with the existing local and international regulations for transportation of clinical specimens and ethological agents.

STORAGE AND STABILITY

The components of the kit will remain stable through the expiration date indicated on the label and package when stored between 2-8°C, do not freeze. To assure maximum performance of WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA, during storage, protect the reagents from contamination with microorganism or chemicals.

PRECAUTIONS AND SAFETY

TO BE USED ONLY BY QUALIFIED PROFESSIONALS

The ELISA assays are time and temperature sensitive. To avoid incorrect result, **strictly follow the test procedure steps and do not modify them.**

1. Do not exchange reagents from different lots or use reagents from other commercially available kits. The components of the kit are precisely matched for optimal performance of the tests.
2. Make sure that all reagents are within the validity indicated on the kit box and of the same lot. Never use reagents beyond their expiry date stated on labels or boxes.
3. **CAUTION - CRITICAL STEP:** Allow the reagents and specimens to reach room temperature (18-30°C) before use. Shake reagent gently before use. Return at 2-8°C immediately after use.
4. Use only sufficient volume of specimen as indicated in the procedure steps. Failure to do so, may cause low sensitivity of the assay.
5. Do not touch the exterior bottom of the wells; fingerprints or scratches may interfere with the reading. When reading the results, ensure that the plate bottom is dry and there are no air bubbles inside the wells. Never allow the microplate wells to dry after the washing step. Immediately proceed to the next step. Avoid the formation of air bubbles when adding the reagents.
7. Avoid long time interruptions of assay steps. Assure same working conditions for all wells.
8. Calibrate the pipette frequently to assure the accuracy of specimens/reagents dispensing. Use different disposal pipette tips for each specimen and reagents in order to avoid cross-contaminations.
9. Assure that the incubation temperature is 37°C inside the incubator.
10. When adding specimens, do not touch the well's bottom with the pipette tip.
11. When measuring with a plate reader, determine the absorbance at 450nm or at 450/600-650nm.
12. The enzymatic activity of the HRP-conjugate might be affected from dust and reactive chemical and substances like sodium hypochlorite, acids, alkalis etc. Do not perform the assay in the presence of these substances.
13. If using fully automated equipment, during incubation, do not cover the plates with the plate cover. The tapping out of the remainders inside the plate after washing, can also be omitted.
14. All specimens from human origin should be considered as potentially infectious. Strict adherence to GLP (Good Laboratory Practice) regulations can ensure the personal safety.
15. **WARNING:** Materials from human origin may have been used in the preparation of the Negative Control of the kit. These materials have been tested with tests kits with accepted performance and found negative for HBsAg and antibodies to HIV 1/2, HCV, TP. However, there is no analytical method that can assure that infectious agents in the specimens or reagents are completely absent. Therefore, handle reagents and specimens with extreme caution as if capable of transmitting infectious diseases. Bovine derived sera and have been used for stabilizing of the positive and negative controls. Bovine serum albumin (BSA) and fetal calf sera (FCS) are derived from animals from BSE/TSE free-geographical areas.
16. Never eat, drink, smoke, or apply cosmetics in the assay laboratory. Never pipette solutions by mouth.
17. Chemical should be handled and disposed of only in accordance with the current GLP (Good Laboratory Practices) and the local or national regulations.
18. The pipette tips, vials, strips and specimen containers should be collected and autoclaved for not less than 2 hours at 121°C or treated with 10% sodium hypochlorite for 30 minutes to decontaminate before any further steps of disposal. Solutions containing sodium hypochlorite should NEVER be autoclaved. Materials Safety Data Sheet (MSDS) available upon request.
19. Some reagents may cause toxicity, irritation, burns or have carcinogenic effect as raw materials. Contact

with the skin and the mucosa should be avoided but not limited to the following reagents: Stop solution, the Chromogens, and the Wash buffer.

20. The Stop solution 0.5M H₂SO₄ is an acid. Use it with appropriate care. Wipe up spills immediately and wash with water if come into contact with the skin or eyes.
21. ProClin™ 300 0.1% used as preservative, can cause sensation of the skin. Wipe up spills immediately or wash with water if come into contact with the skin or eyes.

INDICATIONS OF INSTABILITY DETERIORATION OF THE REAGENT: Values of the Positive or Negative controls, which are out of the indicated quality control range, are indicators of possible deterioration of the reagents and/or operator or equipment errors. In such case, the results should be considered as invalid and the specimens must be retested. In case of constant erroneous results and proven deterioration or instability of the reagents, immediately substitute the reagents with new one or contact Wantai technical support for further assistance.



Warning:
H317, H412, P273, P280,
P333+P313, P363
ProClin™ 300



Danger:
H360D, P201, P280, P308+P313
N,N-dimethylformamide

PROCEDURE

Reagents preparation: Allow the reagents to reach room temperature (18-30°C). Check the Wash buffer concentrate for the presence of salt crystals. If crystals have formed, resubitize by warming at 37°C until crystals dissolve. Dilute the Wash buffer (20X) as indicated in the instructions for washing. Use distilled or deionized water and only clean vessels to dilute the buffer. All other reagents are **READY TO USE AS SUPPLIED.**

1. **Preparation:** Mark three wells as Negative control (e.g. B1, C1, D1), two wells as Positive control (e.g. E1, F1) and one Blank (e.g. A1, neither specimens nor HRP-Conjugate should be added into the Blank well). If the results will be determined by using dual wavelength plate reader, the requirement for use of Blank well could be omitted. Use only number of strips required for the test.
2. **Adding controls and specimen:** Add 50µl of Positive control, Negative control, and 100µl of Specimen into their respective wells except the Blank. **Note: Use a separate disposal pipette tip for each specimen, Negative Control, Positive Control to avoid cross-contamination.** Mix by tapping the plate gently.
3. **Incubating:** Cover the plate with the plate cover and incubate at 37°C for 30 minutes.
4. **Washing:** At the end of the incubation, remove and discard the plate cover. Wash each well 5 times with diluted Wash Buffer. Each time allow the microwells to soak for 30-60 seconds. After the final washing cycle, turn down the plate onto blotting paper or clean towel, and tap it to remove any remainders.
5. **Adding HRP-Conjugate:** Add 100µl of HRP-Conjugate into each well except the Blank.
6. **Incubating:** Cover the plate with the plate cover and incubate at 37°C for 30 minutes.
7. **Washing:** At the end of the incubation, remove and discard the plate cover. Wash each well 5 times with diluted Wash Buffer. Each time allow the microwells to soak for 30-60 seconds. After the final washing cycle, turn down the plate onto blotting paper or clean towel, and tap it to remove any remainders.
8. **Coloring:** Add 50µl of Chromogen Solution A and then 50µl of Chromogen Solution B into each well including the Blank, mix gently. Incubate the plate at 37°C for 15 minutes avoiding light. The enzymatic reaction between the Chromogen solutions and the HRP-Conjugate produces blue color in Positive control and SARS-CoV-2 antibody positive specimen wells.
9. **Stopping Reaction:** Using a multichannel pipette or manually, add 50µl of Stop Solution into each well and mix gently. Intensive yellow color develops in Positive control and SARS-CoV-2 antibody positive specimen wells.
10. **Measuring the Absorbance:** Calibrate the plate reader with the Blank well and read the absorbance at 450nm. If a dual filter instrument is used, set the reference wavelength at 600-650nm. Calculate the Cut-off value and evaluate the results. **(Note: read the absorbance within 10 minutes after stopping the reaction).**

INSTRUCTIONS FOR WASHING

1. A good washing procedure is essential in order to obtain correct and precise analytical data.
2. It is therefore, recommended to use a good quality ELISA microplate washer, maintained at the best level of washing performances. In general, no less than 5 automatic washing cycles of 350-400µl/well are sufficient to avoid false positive reactions and high background.
3. To avoid cross-contaminations of the plate with specimen or HRP-conjugate, after incubation, do not discard the content of the wells but allow the plate washer to aspirate it automatically.
4. Assure that the microplate washer liquid dispensing channels are not blocked or contaminated and sufficient volume of Wash buffer is dispensed each time into the wells.
5. In case of manual washing, we suggest to carry out 5 washing cycles, dispensing 350-400µl/well and aspirating the liquid for 5 times. If poor results (high background) are observed, increase the washing cycles or soaking time per well.
6. In any case, the liquid aspirated out the strips should be treated with a sodium hypochlorite solution at a final concentration of 2.5% for 24 hours, before they are wasted in an appropriate way.
7. The concentrated Wash buffer should be diluted 1:20 before use. If less than a whole plate is used, prepare the proportional volume of solution.

QUALITY CONTROL AND CALCULATION OF THE RESULTS

Each microplate should be considered separately when calculating and interpreting the results of the assay, regardless of the number of plates concurrently processed. The results are calculated by relating each specimen absorbance (A) value to the Cut-off value (C.O.) of the plate. If the Cut-off reading is based on single filter plate reader, the results should be calculated by subtracting the Blank well A value from the print report values of specimens and controls. In case the reading is based on dual filter plate reader, do not subtract the Blank well A value from the print report values of specimens and controls.

Calculation of the Cut-off value (C.O.) = Nc + 0.16

(Nc = the mean absorbance value for three negative controls). If Nc is < 0.03, take it as 0.03.

Quality control (assay validation): The test results are valid if the Quality Control criteria are fulfilled. It is recommended that each laboratory must establish appropriate quality control system with quality control material similar to or identical with the patient specimen being analyzed.

- The A value of the Blank well, which contains only Chromogen and Stop solution, is < 0.080 at 450nm.
- The A values of the Positive control must be ≥ 0.190 at 450/600-650nm or at 450nm after blanking.
- The A values of the Negative control must be ≤ 0.100 at 450/600-650nm or at 450nm after blanking.

If one of the Negative control A values does not meet the Quality Control criteria, it should be discarded and the mean value calculated again using the remaining two values. If more than one Negative control A values do not meet the Quality Control Range specifications, the test is invalid and must be repeated.

Example:

1. Quality Control

Blank well A value: A1= 0.025 at 450nm (Note: blanking is required only when reading with single filter at 450nm)

Well No.: B1 C1 D1
Negative control A values after blanking: 0.020 0.012 0.016

Well No.: E1 F1
Positive control A values after blanking: 2.421 2.369

All control values are within the stated quality control range

2. Calculation of Nc: = (0.020+0.012+0.016) ÷ 3 = 0.016. Nc is < 0.03 so the value of 0.03 is used in the next step.

3. Calculation of the Cut-off: (C.O.) = 0.03 + 0.16 = 0.190

INTERPRETATIONS OF THE RESULTS

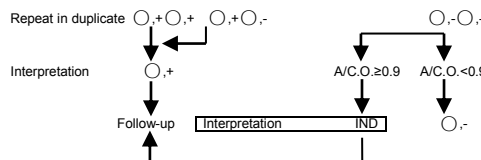
Negative Results (A / C.O. < 1): Specimens giving absorbance less than the Cut-off value are negative for this assay, which indicates that no SARS-CoV-2 antibodies have been detected with WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA, therefore there are no serological indications for current or past coronavirus disease COVID-19.

Positive Results (A / C.O. ≥ 1): Specimens giving an absorbance equal to or greater than the Cut-off value are considered initially reactive, which indicates that SARS-CoV-2 antibodies have probably been detected using WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA. All initially reactive specimens should be retested in duplicate using WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA before the final assay results interpretation. Repeatedly reactive specimens can be considered positive for antibodies to SARS-CoV-2 therefore there are serological indications for current or past coronavirus disease COVID-19.

Borderline (A / C.O. = 0.9-1.1): Specimens with absorbance to Cut-off ratio between 0.9 and 1.1 are considered borderline and retesting of these specimens in duplicate is required to confirm the initial results.

Follow-up, confirmation and supplementary testing of any positive specimen with other analytical system (e.g. PCR) is required. Clinical diagnosis should not be established based on a single test result. It should integrate clinical and other laboratory data and findings.

INITIAL RESULTS INTERPRETATION AND FOLLOW-UP ALL INITIALLY REACTIVE OR BORDERLINE SPECIMENS



IND = non interpretable

- If, after retesting of the initially reactive specimens, both wells are negative results (A/C.O. < 0.9), these specimens should be considered as non-repeatable positive (or false positive) and recorded as negative. As with many very sensitive ELISA assays, false positive results can occur due to the several reasons, most of which are connected with, but not limited to, inadequate washing step. For more information regarding Wantai ELISA Troubleshooting, please refer to Wantai's "ELISAs and Troubleshooting Guide".
- If after retesting in duplicate, one or both wells are positive results, the final result from this ELISA test should be recorded as repeatedly reactive. Repeatedly reactive specimens could be considered positive for antibodies to SARS-CoV-2 and therefore the patient is probably infected with the virus.
- After retesting in duplicate, specimens with values close to the Cut-off value should be interpreted with caution and considered as "borderline" zone specimen, or uninterpretable for the time of testing.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity and specificity: clinical validation study of WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA was conducted in 2020 in Beijing, Shenzhen, Zhejiang of China. 266 specimens from confirmed COVID-19 cases and 306 specimens from the excluded COVID-19 cases and healthy individuals were tested. The kit demonstrated the sensitivity of 94.36% (251/266) and the specificity of 100% (306/306).

WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA evaluation centers			
Clinical institution	Confirmed (Cases)	Excluded (Cases)	Total
Academy of Military Medical Sciences	12	0	12
Shenzhen Third People's Hospital	173	33	206

The First Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University	81	273	354
Total	266	306	572

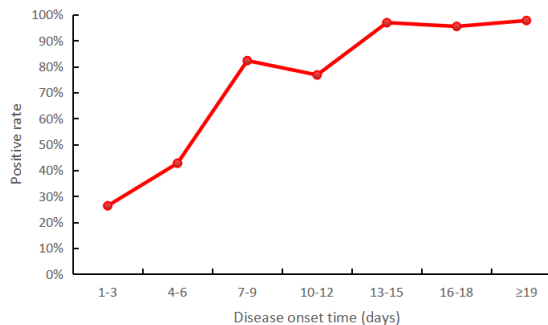
Summary of clinical evaluation results

Cases	Confirmed/excluded SARS-CoV-2 results		Total	
	Confirmed	Excluded		
WANTAI	Positive	251	0	251
	Negative	15	306	321
Total	266	306	572	

Summary of clinical performance

Performance	Results	95% CI
Sensitivity	94.36%	90.87%-96.81%
Specificity	100.00%	98.80%-100.00%
Overall agreement	97.38%	95.71%-98.53%

Samples were collected from COVID-19 confirmed cases with clinical symptoms, laboratory abnormalities or pulmonary imaging manifestations. No tests have been performed on specimens from latent infections or patients in the incubation period. It was observed that the detection rate of the kit was closely related to the time of disease onset, the kit showed higher positive detection rate in specimens from patients with delayed onset. Therefore, the interpretation of the test results should consider the specimen's collection time.



LIMITATIONS

- Positive results must be confirmed with another available method and interpreted in conjunction with the patient clinical information.
- Antibodies may be undetectable during the early stage of the disease and in some immunosuppressed individuals. Therefore, negative results obtained with WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA are only indication that the specimen does not contain detectable level of antibodies and any negative result should not be considered as conclusive evidence that the individual is not infected with the virus.
- If, after retesting of the initially reactive specimens, the assay results are negative, these specimens should be considered as non-repeatable (false positive) and interpreted as negative. As with many very sensitive ELISA assays, false positive results can occur due to the several reasons, most of which are related but not limited to inadequate washing step. For more information regarding Wantai ELISA Troubleshooting, please refer to Wantai's "ELISAs and Troubleshooting Guide", or contact Wantai technical support for further assistance.
- The most common assay mistakes are: using kits beyond the expiry date, bad washing procedures, contaminated reagents, incorrect assay procedure steps, insufficient aspiration during washing, failure to add specimens or reagents, improper operation with the laboratory equipment, timing errors, the use of highly hemolyzed specimens or specimens containing fibrin, incompletely clotted serum specimens. The prevalence of the marker will affect the assay's predictive values.
- This assay cannot be utilized to test pooled (mixed) serum or plasma. The kit has been evaluated only with individual serum or plasma specimens.
- WANTAI SARS-CoV-2 Ab ELISA is a qualitative assay and the results cannot be used to measure antibody concentration.

SUMMARY OF THE MAJOR COMPONENTS OF THE KIT:

Use this summary only as a reference and always follow the comprehensive method sheet when performing the assay. Note: the components of individual kits are not lot- interchangeable.

1. Microwell plate	Code 5	one
2. Negative Control	Code 8	1x0.5ml
3. Positive Control	Code 7	1x0.3ml
4. HRP-Conjugate	Code 6	1x12ml
5. Wash Buffer	Code 1	1x50ml
6. Chromogen Solution A	Code 2	1x6ml
7. Chromogen Solution B	Code 3	1x6ml
8. Stop Solution	Code 4	1x6ml

SUMMARY OF THE ASSAY PROCEDURE:

Use this summary only as a reference and always follow the detailed method sheet when performing the assay.

Add Controls	50µl
Add Specimen	100µl
Incubate	30 minutes
Wash	5 times
Add HRP-Conjugate	100µl
Incubate	30 minutes
Wash	5 times
Coloring	50µl A + 50µl B
Incubate	15 minutes
Stop the reaction	50µl stop solution
Read the absorbance	450nm or 450/600-650nm

EXAMPLE SCHEME OF CONTROLS / SPECIMENS DISPENSING:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	S3										
B	Neg.	...										
C	Neg.	...										
D	Neg.	...										
E	Pos.											
F	Pos.											
G	S1											
H	S2											

CE MARKING SYMBOLS:



In Vitro Diagnostic Medical Device



+2°C~+8°C Storage Conditions



Use By



Batch



Content Sufficient For <n> Tests



Instructions For Use



CE Marking - IVDD 98/79/EC



EU Authorized Representative



Catalog Number



Manufacturer



Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co., Ltd.
No.31 Kexueyuan Road, Changping District, Beijing 102206, China
Tel: +86-10-59528888, Fax: +86-10-89705849
Website: www.ystwt.com
Email: wtexport@ystwt.com



Qarad b.v.b.a.
Cipalstraat 3, B-2440 Geel, Belgium
Email: qarad@qarad.com

