



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

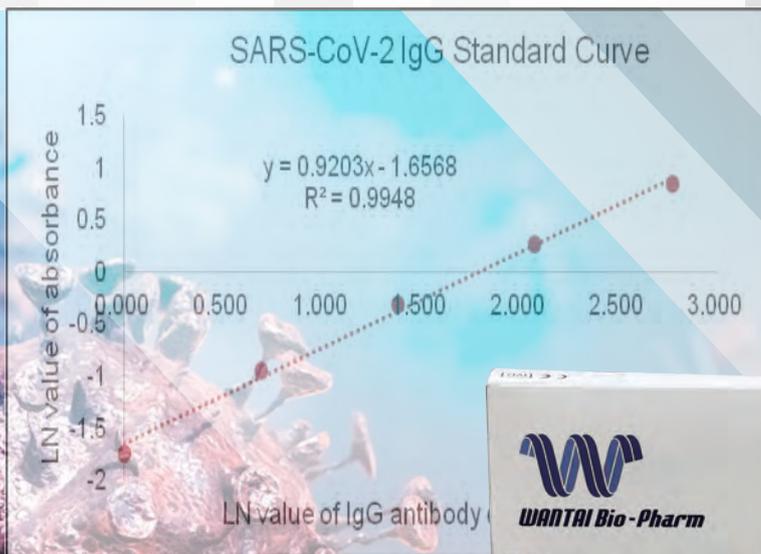
[linkedin.com/company/szaboscandic](https://www.linkedin.com/company/szaboscandic) 

Another Innovative Test Designed by WANTAI



QUANTITATIVE ELISA for **IgG** Antibody to COVID-19

For monitoring antibody level after vaccination



WANTAI

Leading infectious diseases
diagnostic test manufacturer

Your Global Partner in IVD



WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA is an ELISA intended for **quantitative detection of IgG-class antibodies** to SARS-CoV-2 virus in human **serum** or **plasma**.

It works as an aid in detecting **immune response** levels for individuals infected with SARS-CoV-2, or in individuals who have received **COVID-19 vaccination**.

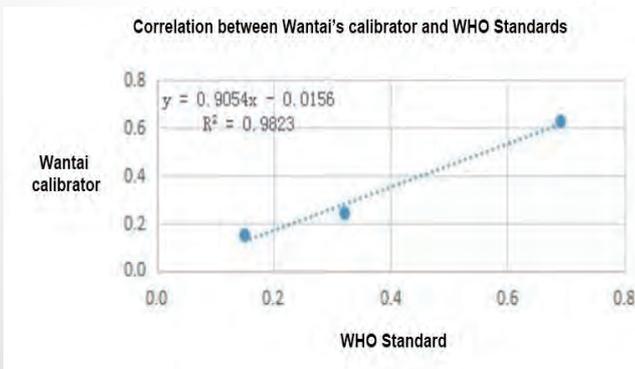
Intended Use

The WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative) is intended for use as an aid in identifying individuals with an adaptive immune response to SARS-CoV-2, indicating recent or prior infection, or as an aid in individual vaccination management decisions. The quantitative result obtained with this kit is as a reference for clinician only, cannot be used as the sole basis for further individual vaccination and treatment.

In June 2020, NIBSC filled and freeze-dried the candidate International Standard, NIBSC code 20/136 and the Reference Panel members (NIBSC codes 20/140, 20/142, 20/144, 20/146, 20/148, 20/150) using documented procedures.

The WHO has now officially approved the first international reference material, the "First WHO International Standard Anti-SARS-CoV-2 Immunoglobulin" (NIBSC code: 20/136). This standard presents a clearly defined antibody activity/concentration against which test systems can be matched and which allows standardising the results.

Wantai's internal kit standard is calibrated against NIBSC 20/136 standard. As a consequence, the test results can now be issued in standardised units. This optimises the use of the ELISA as a valuable support in the quantification and assessment of antibody concentrations achieved through vaccination.



Sensitivity & Specificity

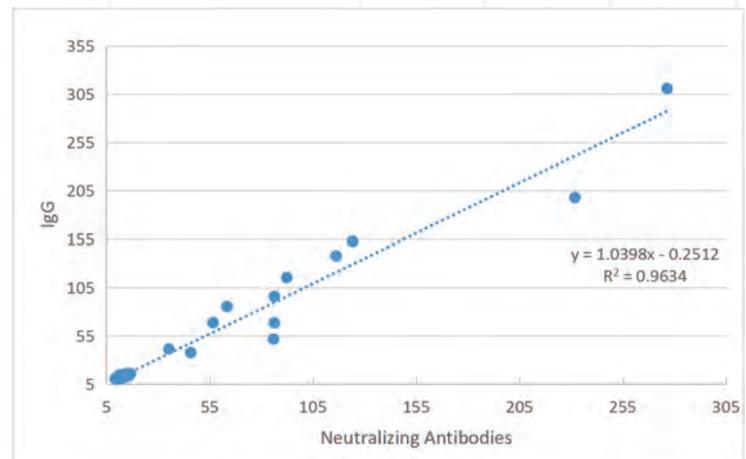
In a clinical study, of the total of 154 positive by PCR samples, 125 were positive on the WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative), and of the 197 negative samples, 196 were negative. The kit demonstrated the Positive Percent Agreement (PPA) of 81.17% (125/154), the Negative Percent Agreement (NPA) of 99.49% (196/197). The kit demonstrated the PPA of 94.94% (75/79) for ≥ 15 days from onset of symptoms, as indicated in the tables below.

Cases		PCR Comparator		Total
		Positive	Negative	
WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA	Positive	125	1	126
	Negative	29	196	225
Total		154	197	351
PPA		81.17% (95%CI: 74.26%-86.56%)		
NPA		99.49% (95%CI: 97.18%-99.91%)		

Days from onset of symptoms	Total PCR Positive	Number of Wantai Positive Result	PPA	95% CI
	Samples			
≤ 7	20	8	40.00%	21.88% - 61.34%
8 - 14	55	42	76.36%	63.65% - 85.63%
≥ 15	79	75	94.94%	87.69% - 98.01%
Total Subjects	154			

Other Performance Data

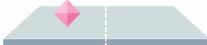
Retrospective analysis of the 75 positive samples (≥ 15 days from onset of symptoms) was conducted to measure the levels of IgG antibodies in the specimens. All specimens had IgG concentration of > 10.0 U/ml. Good correlation between the detected antibody levels with Wantai SARS-CoV-2 IgG (quantitative) ELISA and pseudo-virus neutralization test was established.



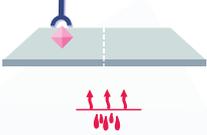
To evaluate the potential cross-reactivity of the WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative) to antibodies to other viruses that may be present in the population, the following viruses were assessed.

Specimen	No.	+	-	Specificity
alpha COV 229E	5	0	5	100%
alpha COV NL63	5	0	5	100%
beta COV OC43	7	0	7	100%
beta COV HKU1	4	0	4	100%

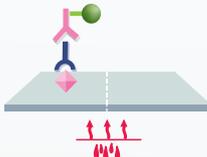
Principle and Procedures

1  ● Microwell strips pre-coated with
- recombinant, highly immunoreactive
SARS-CoV-2 antigens

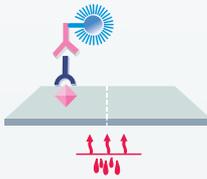
2  ● Add 100µl sample diluent

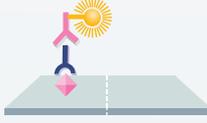
3  ● Add 10µl of Specimens/ Controls
Incubation at 37 °C for 30 min

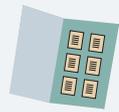
4 5 Wash cycles

5  ● Add 100µl of HRP-conjugate
Incubation at 37 °C for 30 min

6 5 Wash cycles

7  ● Add 50µl of Chromogen Solution A
and 50µl of Chromogen Solution B
Incubation at 37 °C for 15 min

8  ● Add 50µl of Stop Solution

9  ● Read by single wavelength
450nm or dual wavelength
450/600-650nm

 SARS-CoV-2 IgG antibody
 S-RBD antigen
 HRP-conjugated anti-human IgG

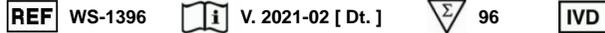
Ordering Info

Cat.	Product	Detection	Specimen	Pack size
WS-1396	SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative)	IgG Antibody	Serum/Plasma	96T/kit

Wantai SARS-CoV-2 Diagnostik

WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative)

Diagnostik-Kit zum quantitativen Nachweis von IgG-Antikörpern gegen SARS-CoV-2 (ELISA)



Lesen Sie die Packungsbeilage sorgfältig durch bevor Sie mit dem Assay beginnen. Folgen Sie der Anleitung und ändern Sie sie nicht. Nur durch strenge Einhaltung der Anleitung, können fehlerhafte Resultate vermieden werden und die optimale Leistung für WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA erreicht werden.

VERWENDUNGSZWECK

Der WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative) ist ein Enzymimmunoassay (ELISA) für den quantitativen Nachweis von Antikörpern der IgG Klasse gegen das SARS-CoV-2 Virus im humanen Serum oder Plasma. Der WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative) dient zur Identifizierung von Individuen mit einer adaptiven Immunantwort auf SARS-CoV-2, welche auf eine kürzliche oder frühere Infektion hinweist, oder als Entscheidungshilfe für individuelle Impfungen. Das mit dem Kit erzielte quantitative Ergebnis dient nur als Referenz und kann nicht als alleinige Grundlage für weitere individuelle Impfungen und Behandlungen verwendet werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Coronavirus-Krankheit 2019 (COVID-19) ist eine Atemwegserkrankung, die durch eine Infektion mit dem SARS-CoV-2-Virus verursacht wird. Häufige Anzeichen einer Infektion sind Atemwegssymptome, Fieber, Husten, Kurzatmigkeit und Atembeschwerden. In schweren Fällen kann eine Infektion zu Lungenentzündung, akutem Atemnotsyndrom (ARDS), Nierenversagen und Tod führen. Coronaviren (CoV) sind eine große Familie von Viren, die verschiedene Krankheiten verursachen, von einer gewöhnlichen Erkältung bis zu schweren Erkrankungen wie dem Middle East Respiratory Syndrom (MERS-CoV) und dem Severe Acute Respiratory Syndrom (SARS-CoV). Das 2019 Novel Coronavirus, früher als 2019-nCoV bekannt und nun als SARS-CoV-2 bezeichnet, ist ein neuer Stamm der Coronaviren, der erstmals während der jüngsten COVID-19 Pandemie identifiziert wurde.

PRINZIP DES TESTS

Der WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitativ) verwendet eine indirekte Festphasen-ELISA-Methode zum Nachweis von Antikörpern der Klasse IgG gegen SARS-CoV-2 mithilfe eines zweistufigen Inkubationsverfahrens. Polystyrol-Mikrotiterstreifen sind mit dem rekombinanten SARS-CoV-2-Antigen vorbeschichtet. Während des ersten Inkubationsschrittes werden die SARS-CoV-2 IgG-Antikörper, falls vorhanden, an die vorbeschichteten Antigene in der Festphase gebunden. Die Wells werden gewaschen, um ungebundene Serumproteine zu entfernen und anschließend werden anti-humane IgG-Antikörper (anti-IgG) zugegeben, die mit Meerrettich-Peroxidase konjugiert sind (HRP-Konjugat). Während des zweiten Inkubationsschrittes werden diese HRP-konjugierten Antikörper an zuvor gebildete Antigen-Antikörper (IgG)-Komplexe gebunden und das ungebundene HRP-Konjugat durch Waschen entfernt. Farblose chromogene Lösungen, die Tetramethylbenzidin (TMB) und Hydrogencyanid enthalten, werden hinzugefügt und werden in Gegenwart des Antigen-Antikörper-Anti-IgG (HRP)-Immunkomplexes durch das gebundene HRP-Konjugat zu einem blauen Produkt hydrolysiert. Nach dem Stoppen der Reaktion mit Schwefelsäure verfärbt sich der Komplex gelb. Der Absorptionwert (A-Wert) kann gemessen werden und ist proportional zum Titer der IgG-Antikörper in der Probe. Der IgG-Antikörper titer der Probe kann durch eine doppelt logarithmische Kurve berechnet werden, die mit der Standardkonzentration und dem A-Wert angepasst wird. Wells mit Proben, die negativ für SARS-CoV-2-IgG sind, bleiben farblos.

KOMPONENTEN

IVD Nur für in-vitro Diagnostik Anwendung

Dieser Kit enthält Reagenzien, die für den Test von maximal 91 Proben in einem Testlauf ausreichen.

UUU-PLATE

Code 5 (1x96 Wells)
8x12/12x8-well per Plate

MIKROTITERPLATTE: Leere Mikrotiterstreifen, die auf einem weißen Streifenhalter befestigt sind. Die Platte ist in einem Aluminiumbeutel mit Trockenmittel versiegelt. Jedes Well enthält rekombinantes SARS-CoV-2-Antigen. Mikrotiterstreifen können zur separaten Nutzung abgebrochen werden. Unbenutzte Wells/Streifen mit dem Trockenmittel in den mitgelieferten verschließbaren Kunststoffbeuteln geben und bei 2-8 °C aufbewahren. Nach Öffnung für 4 Wochen bei 2-8 °C stabil.

STANDARD

-(1 Vial)

konserv.0.4% ProClin™ 300

STANDARD: Lyophilisiert in Vial. Lyophilisiertes SARS-CoV-2 IgG Antikörper im fetalen Kälberserumpuffer. Sollte mit destilliertem oder deionisiertem Wasser zur Arbeitskonzentration rekonstituiert werden. Nach Herstellung stabil für 7 Tage bei 2-8°C.

HRP CON

Code 6 (1x12ml per Vial)

konserv.0.15% ProClin™ 300

HRP-KONJUGAT: Rot gefärbte Flüssigkeit im weißen Vial mit rotem Schraubverschluss. Meerrettich-Peroxidase konjugierte anti-humane IgG Antikörper. Gebrauchsfertig wie geliefert. Nach Öffnung für 4 Wochen bei 2-8 °C stabil.

DIL SPE

Code 9 (2x12ml per Vial)

konserv.0.2% ProClin™ 300

PROBENVERDÜNNUNGSMITTEL: Grün gefärbte Flüssigkeit in einem weißen Vial mit blauem Schraubverschluss. Proteinhaltige Pufferlösung. Gebrauchsfertig wie geliefert. Nach dem Öffnen für 4 Wochen bei 2-8°C stabil.

WASH BUF 20X

Code 1 (1x500ml per Flasche)

VOR GEBRAUCH VERDÜNNEN!

Tensid Tween-20

WASCHPUFFER: Farblose Flüssigkeit in einer weißen Flasche mit weißem Schraubverschluss. Pufferlösung enthält Tenside. Das Konzentrat muss vor Gebrauch 1 zu 20 mit destilliertem/deionisiertem Wasser verdünnt werden. Nach Verdünnung 1 Woche bei Raumtemperatur oder 2 Wochen bei Lagerung bei 2-8°C stabil.

CHROMI SOLI A

CHROMOGENE LÖSUNG A: Farblose Flüssigkeit, in einem weißen Vial mit

Code 2 (1x6ml per Vial)

grünem Schraubverschluss. Harnstoffperoxid-Lösung. Gebrauchsfertig wie geliefert. Nach dem Öffnen für 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

CHROMI SOLI B

Code 3 (1x6ml per Vial)

CHROMOGENE LÖSUNG B: Farblose Flüssigkeit, in einem schwarzen Fläschchen mit schwarzem Schraubverschluss. TMB (Tetramethylbenzidin), N,N-Dimethylformamid. Gebrauchsfertig wie geliefert. Nach dem Öffnen für 4 Wochen stabil bei 2-8°C.

STOP SOLI

Code 4 (1x6ml per Vial)

STOPPLÖSUNG: Farblose Flüssigkeit in einem weißen Vial mit gelbem Schraubverschluss. Verdünnte Schwefelsäurelösung (0,5M H₂SO₄). Gebrauchsfertig wie geliefert. Nach dem Öffnen für 4 Wochen bei 2-8°C stabil.

- **VERSCHLISSBARER KUNSTSTOFFBEUTEL:** Zur Aufbewahrung nicht verwendeter Streifen 1 Stück
 - **PACKAGUNGSBEILAGE** 1 Exemplar
 - **PLATTENABDECKUNG AUS KARTON** 2 Stück
- Zur Abdeckung der Platten während Inkubationen und zum Schutz vor Verdunstung oder Kontamination der Wells.

ERFORDERLICHE, NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN

Frisch destilliertes oder deionisiertes Wasser, Einweghandschuhe und Stoppuhr, geeignete Abfallbehälter für potenziell kontaminierte Materialien, Dosiersystem und/oder Pipette, Einwegpipettenspitzen, saugfähiges Papier Tuch oder sauberes Handtuch, trockener Inkubator oder Wasserbad, 37±1°C. Plattenlesegerät, Einzelwellenlänge 450 nm oder duale Wellenlängen 450/600-650 nm, Mikrotiterplatten-Absaug-/Waschsystem.

ENTNAHME, TRANSPORT UND LAGERUNG VON PROBEN

1. **Probenentnahme:** Keine besondere Vorbereitung des Patienten erforderlich. Sammeln Sie die Probe gemäß der normalen Laborpraxis. Für diesen Assay können entweder frische Serum- oder Plasmaproben verwendet werden. Durch Venenpunktion entnommenes Blut sollte natürlich und vollständig gerinnen - das Serum/Plasma muss so früh wie möglich vom Gerinnsel getrennt werden, um eine Hämolyse der roten Blutkörperchen zu vermeiden. Es sollte darauf geachtet werden, dass die Serumproben klar und nicht durch Mikroorganismen kontaminiert sind. Alle sichtbaren Partikel in der Probe sollten durch Zentrifugation bei 3000-5000 RPM (Umdrehungen pro Minute) für 20 Minuten bei Raumtemperatur oder durch Filtration entfernt werden.
2. Plasmaproben, die in EDTA, Natriumcitrat oder Heparin gesammelt wurden, können getestet werden, aber **stark lipämische, ikterische oder hämolytische Proben sollten nicht verwendet werden**, da sie falsche Ergebnisse im Assay liefern können. **Die Proben dürfen nicht hitzeinaktiviert werden.** Proben mit sichtbarer mikrobieller Kontamination sollten nicht verwendet werden.
3. Der WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (quantitativ) ist NUR für den Test von einzelnen Serum- oder Plasmaproben vorgesehen. Verwenden Sie den Assay nicht zum Testen von Kadaverproben, Speichel, Urin oder anderen Körperflüssigkeiten oder gepooltem (gemischtem) Blut.
4. **Transport und Lagerung:** Die Proben können bei 2-8 °C eine Woche lang gelagert werden. Für eine längerfristige Lagerung sollten die Proben eingefroren (-15°C oder niedriger) und mit nicht mehr als drei Gefrier-Auftau-Zyklen gelagert werden. Für den Versand sollten die Proben in Übereinstimmung mit den bestehenden lokalen und internationalen Vorschriften für den Transport von klinischen Proben und ethologischen Substanzen verpackt und beschriftet werden.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Die Komponenten des Kits bleiben bis zu dem auf dem Etikett und der Verpackung angegebenen Verfallsdatum stabil, wenn sie bei 2-8 °C gelagert wurden. Die Komponenten sollen nicht eingefroren werden. Um die maximale Leistung des WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA zu gewährleisten, sind die Reagenzien während der Lagerung vor Verunreinigungen durch Mikroorganismen oder Chemikalien zu schützen.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND SICHERHEIT

NUR VON QUALIFIZIERTEM FACHPERSONAL ZU VERWENDEN

Die ELISA-Assays sind zeit- und temperaturempfindlich. Um ein falsches Ergebnis zu vermeiden, halten Sie sich strikt an die Schritte der Testdurchführung und verändern Sie diese nicht.

1. Tauschen Sie keine Reagenzien aus verschiedenen Chargen aus und verwenden Sie keine Reagenzien aus anderen kommerziell erhältlichen Kits. Die Komponenten des Kits sind für eine optimale Durchführung der Tests genau aufeinander abgestimmt.
2. Vergewissern Sie sich, dass alle Reagenzien innerhalb der auf der Kit-Verpackung angegebenen Gültigkeitsdauer liegen und von der gleichen Charge sind. Verwenden Sie die Reagenzien niemals nach Ablauf des auf dem Etikett oder der Schachtel angegebenen Verfallsdatums.
3. **VORSICHT - KRITISCHER SCHRITT:** Lassen Sie die Reagenzien und Proben vor Gebrauch Raumtemperatur annehmen. Schütteln Sie die Reagenzien vor Gebrauch vorsichtig. Sofort nach Gebrauch bei 2-8°C aufbewahren.
4. Verwenden Sie nur beschriebene Menge an Proben, die in den Durchführungsschritten angegeben sind. Andernfalls kann es zu einer geringen Sensitivität des Assays kommen.
5. Berühren Sie nicht den äußeren Boden der Wells; Fingerabdrücke oder Kratzer können das Ablesen beeinträchtigen. Achten Sie beim Ablesen der Ergebnisse darauf, dass der Plattenboden trocken ist und sich keine Luftblasen in den Wells befinden.
6. Lassen Sie die Wells der Mikroplatte nach dem Waschschritt niemals austrocknen. Fahren Sie sofort mit dem nächsten Schritt fort. Vermeiden Sie die Bildung von Luftblasen bei der Zugabe der Reagenzien.
7. Vermeiden Sie lange Unterbrechungen der Durchführungsschritte. Sorgen Sie für gleiche Arbeitsbedingungen in allen Wells.
8. Kalibrieren Sie die Pipette regelmäßig, um die Genauigkeit der Proben-/Reagenzienzugabe zu gewährleisten. Verwenden Sie für jede Probe und jedes Reagenz unterschiedliche Pipettenspitzen, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
9. Stellen Sie sicher, dass die Inkubationstemperatur im Inkubator 37°C beträgt.
10. Berühren Sie beim Hinzufügen von Proben nicht den Boden der Wells mit der Pipettenspitze.
11. Wenn Sie mit einem Plattenlesegerät messen, bestimmen Sie die Absorption bei 450nm oder bei 450/600-650nm.
12. Die enzymatische Aktivität des HRP-Konjugats kann durch Staub und reaktive Chemikalien und Substanzen wie Natriumhypochlorit, Säuren, Laugen usw. beeinträchtigt werden. Führen Sie den Assay nicht in Gegenwart dieser Substanzen durch.
13. Wenn Sie ein vollautomatisches Gerät verwenden, decken Sie die Platten während der Inkubation nicht mit der Plattenabdeckung ab. Auch das Ausklappen der Reste in der Platte nach dem Waschen kann entfallen. Alle Proben menschlichen Ursprungs sollten als potenziell infektiös betrachtet werden. Die strikte Einhaltung der GLP-Vorschriften (Good Laboratory Practice) kann die persönliche Sicherheit gewährleisten.
14. **WARNUNG:** Zur Stabilisierung des Standards wurden Rinderseren verwendet. Bovines Serumalbumin
- 15.

16. (BSA) und fetale Kälberseren (FCS) stammen von Tieren aus BSE/TSE-freien geographischen Gebieten. Im Testlabor niemals essen, trinken, rauchen oder Kosmetika auftragen. Pipettieren Sie niemals Lösungen mit dem Mund.
17. Chemikalien sollten nur in Übereinstimmung mit der aktuellen GLP (Good Laboratory) gehandhabt und entsorgt werden.
18. Die Pipettenspitzen, Fläschchen, Streifen und Probenbehälter sollten gesammelt werden und vor allen weiteren Entsorgungsschritten mindestens 2 Stunden bei 121°C autoklaviert oder 30 Minuten lang mit 10%igem Natriumhypochlorit behandelt werden, um sie zu dekontaminieren. Lösungen, die Natriumhypochlorit enthalten, sollten NIE autoklaviert werden. Material Sicherheitsdatenblatt (MSDS) auf Anfrage erhältlich.
19. Einige Reagenzien können Toxizität, Reizungen, Verbrennungen verursachen oder als Rohstoffe krebsfördernd wirken. Der Kontakt mit der Haut und den Schleimhäuten sollte bei den folgenden Reagenzien vermieden werden, ist aber nicht darauf beschränkt: Stopplösung, chromogene Lösungen und Waschpuffer.
20. Die Stopplösung ist eine Säure. Verwenden Sie sie mit entsprechender Vorsicht. Wischen Sie Verschüttetes sofort auf und waschen Sie es mit Wasser aus, wenn es mit der Haut oder den Augen in Berührung kommt. ProClin™ 300, das als Konservierungsmittel verwendet wird, kann Hautreizungen verursachen. Wischen Sie Verschüttetes sofort auf oder waschen Sie es mit Wasser aus, wenn es mit der Haut oder den Augen in Berührung kommt.
21. Für jeden Testlauf sollten Standards verwendet werden, und die Testergebnisse müssen mit der Standardkurve desselben Testlaufs berechnet werden, da es sonst zu großen Abweichungen bei den quantitativen Ergebnissen kommen kann.
22. Abnormale Punkte in der Standardkurve können zu einer Abweichung der Testergebnisse der gesamten Platte führen, daher sollte jeder vorbereitete Standard in doppelter Ausführung getestet werden, um die Testgenauigkeit zu verbessern. Wenn nur einer der Standards einen signifikanten Anstieg oder Abfall aufweist und dies auf menschliches Versagen zurückzuführen ist, kann dieser Punkt verworfen werden und die Standardkurve mit anderen Standards erstellt werden.
- 23.

ANZEICHEN VON INSTABLER DETERIORIERUNG DER REAGENZIEN: Werte des Standards, die außerhalb des angegebenen Qualitätskontrollbereichs liegen, sind Indikatoren für eine mögliche Verschlechterung der Reagenzien und/oder Bediener- oder Gerätefehler. In einem solchen Fall sollten die Ergebnisse als ungültig betrachtet werden und die Proben müssen erneut getestet werden. Bei konstant fehlerhaften Ergebnissen und nachgewiesener Verschlechterung oder Instabilität der Reagenzien ersetzen Sie die Reagenzien sofort durch neue oder wenden Sie sich an den technischen Support von Wantai für weitere Unterstützung.



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



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

DURCHFÜHRUNG

Vorbereitung der Reagenzien: Lassen Sie die Reagenzien Raumtemperatur annehmen. Überprüfen Sie das Waschpufferkonzentrat auf das Vorhandensein von Salzkristallen. Wenn sich Kristalle gebildet haben, lösen Sie diese durch Erwärmen bei 37 °C auf, bis sich die Kristalle auflösen. Verdünnen Sie den Waschpuffer (20X) wie in der Waschanleitung angegeben. Verwenden Sie destilliertes oder deionisiertes Wasser und nur saubere Gefäße, um den Puffer zu verdünnen. Alle anderen Reagenzien sind **BEREIT ZUR VERWENDUNG WIE GELIEFERT**.

1. **Schritt 1 Vorbereitung der Standards:** Geben Sie destilliertes oder deionisiertes Wasser in das Vial entsprechend der Volumenangabe auf dem Vial-Etikett, um den lyophilisierten Standard zu rekonstituieren. Nach 2-3 Minuten ist der Standard vollständig aufgelöst, vorsichtig mischen, bis er homogen ist, dann ist der 32,0U/ml Standard gebrauchsfertig. Verwenden Sie die 2-fach Verdünnungsmethode, um den 32,0U/ml Standard mit dem Probenverdünnungsmittel auf 16,0U/ml, 8,0U/ml, 4,0U/ml, 2,0U/ml, 1,0U/ml und 0U/ml zu verdünnen (das Probenverdünnungsmittel wird als 0U/ml verwendet). Die Endkonzentrationen der gebrauchsfertigen Standards sind dann 32,0U/ml, 16,0U/ml, 8,0U/ml, 4,0U/ml, 2,0U/ml, 1,0U/ml bzw. 0U/ml.
2. **Schritt 2 Nummerierung der Wells:** Verwenden Sie zwei Wells für jeden Standard und ein Well für den Blank (in die Blank-Wells sollten weder Proben noch HRP-Konjugat zugegeben werden). Wenn die Ergebnisse mit einem Zwei-Wellenlängen-Plattenlesegerät ermittelt werden, kann die Anforderung für die Verwendung der Blank-Wells entfallen. Verwenden Sie nur die für den Test notwendige Anzahl von Streifen. Jeder vorbereitete Standard sollte in zweifacher Ausführung getestet werden.
3. **Schritt 3 Zugabe von Probenverdünnungsmittel:** Geben Sie **100µl** des Verdünnungsmittels für die Proben in jedes Well mit Ausnahme des Blanks.
4. **Schritt 4 Zugabe der Probe:** Geben Sie **10µl** der Probe und der vorbereiteten Standardlösungen in die jeweiligen Wells (mit Ausnahme des Blanks) und mischen Sie sie durch vorsichtiges Klopfen auf die Platte. **Hinweis: Verwenden Sie für jede Probe eine separate Einwegpipettenspitze, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.**
5. **Schritt 4 Inkubation:** Decken Sie die Platte mit dem Plattendeckel ab und inkubieren Sie sie bei **37°C für 30 Minuten**.
6. **Schritt 5 Waschen:** Am Ende der Inkubation die Plattenabdeckung entfernen und entsorgen. Waschen Sie jedes Well **5 Mal** mit verdünntem Waschpuffer. Lassen Sie die Wells jedes Mal **30-60 Sekunden** einweichen. Drehen Sie die Platte nach dem letzten Waschzyklus auf saugfähiges Papier oder ein sauberes Handtuch um und klopfen Sie sie ab, um eventuelle Reste zu entfernen.
7. **Schritt 6 Zugabe von HRP-Konjugat:** Geben Sie **100µl** des HRP-Konjugats in jedes Well außer dem Blank-Well.
8. **Schritt 7 Inkubation:** Decken Sie die Platte mit dem Plattendeckel ab und inkubieren Sie sie bei **37°C für 30 Minuten**.
9. **Schritt 8 Waschen:** Entfernen und werfen Sie am Ende der Inkubation die Plattenabdeckung. Waschen Sie jedes Well **5 Mal** mit verdünntem Waschpuffer. Lassen Sie die Wells jedes Mal **30-60 Sekunden** einweichen. Nach dem letzten Waschgang die Platte auf saugfähiges Papier oder ein sauberes Handtuch stürzen und abklopfen, um eventuelle Reste zu entfernen.
10. **Schritt 9 Färben:** Geben Sie **50µl** der chromogenen Lösung A und anschließend **50µl** der chromogenen Lösung B in jedes Well, einschließlich dem Blank-Well, und mischen Sie vorsichtig. Inkubieren Sie die Platte bei **37 °C für 15 Minuten unter Vermeidung von Licht**. Durch die enzymatische Reaktion zwischen den chromogenen Lösungen und dem HRP-Konjugat entsteht eine blaue Farbe in den Standard-Wells und den Wells mit SARS-CoV-2-IgG-Antikörper positiven Proben.

Schritt 10 Stoppen der Reaktion: Mit einer Mehrkanalpipette oder manuell **50µl** der Stopplösung in jedes Well geben und vorsichtig mischen. In den Standard-Wellen und den Wells mit SARS-CoV-2-IgG-Antikörper-positiven Proben entwickelt sich eine intensive gelbe Farbe.

Schritt 11 Messung der Extinktion: Kalibrieren Sie das Dualwellenlesegerät mit dem Blank-Well und lesen Sie die Extinktion bei **450 nm** ab. Wenn ein Gerät mit dualen Wellenlängen verwendet wird, stellen Sie die Referenzwellenlänge auf **600–650nm** ein. Berechnen Sie den Cut-off-Wert und werten Sie die Ergebnisse aus. (**Hinweis:** Lesen Sie die Extinktion innerhalb von **10 Minuten** nach dem Stoppen der Reaktion ab).

HINWEISE ZUM WASCHEN

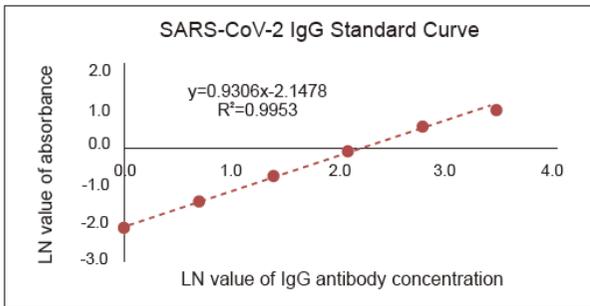
- Ein gutes Waschverfahren ist unerlässlich, um korrekte und präzise Analysedaten zu erhalten.
- Es wird daher empfohlen, ein qualitativ hochwertiges ELISA-Mikroplatten-Waschgerät zu verwenden, das auf dem besten Niveau der Waschleistung gehalten wird. Im Allgemeinen sind nicht weniger als **5 automatische Waschzyklen mit 350-400µl/Well** ausreichend, um falsch positive Reaktionen und einen hohen Hintergrund zu vermeiden.
- Um Kreuzkontaminationen der Platte mit Proben oder HRP-Konjugat zu vermeiden, werfen Sie den Inhalt der Wells nach der Inkubation nicht, sondern lassen Sie ihn vom Plattenwaschgerät automatisch absaugen.
- Stellen Sie sicher, dass die Flüssigkeitsabgabekanäle des Waschgeräts nicht verstopft oder kontaminiert sind und jedes Mal eine ausreichende Menge Waschpuffer in die Wells abgegeben wird.
- Bei manuellem Waschen empfehlen wir, **5 Waschzyklen** durchzuführen, wobei **350-400µl/Well** dispensiert und die Flüssigkeit **5 Mal** abgesaugt wird. Wenn schlechte Ergebnisse (hoher Hintergrund) beobachtet werden, erhöhen Sie die Waschzyklen oder die Einweichzeit pro Well.
- Auf jeden Fall sollte die aus den Streifen abgelesene Flüssigkeit 24 Stunden lang mit einer Natriumhypochloritlösung in einer Endkonzentration von 2,5 % behandelt werden, bevor sie auf geeigneter Weise entsorgt wird.
- Der konzentrierte Waschpuffer sollte vor der Verwendung **1 zu 20** verdünnt werden. Wenn weniger als eine ganze Platte verwendet wird, bereiten Sie das proportionale Volumen der Lösung vor.

QUALITÄTSKONTROLLE UND BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Wenn die Ergebnisablesung auf einen Plattenleser mit Einzelwellenlänge basiert, sollten die Ergebnisse durch Subtraktion des Blank A-Werts von den Messwerten der Proben und Standards berechnet werden. Wenn die Alesung auf einen Plattenleser mit zwei Wellenlängen basiert, ziehen Sie den A-Wert des Blank-Wellen nicht von den Werten der Proben und Standards ab. Der Nachweisbereich dieses Kits beträgt 1,0U/ml–32,0U/ml. Wenn die Konzentration des SARS-CoV-2-IgG-Antikörpers in der Probe höher als 32,0U/ml ist, muss der Test nach Verdünnung der Probe mit dem Probenverdünnungsmittel wiederholt werden.

- Verwenden Sie die Antikörperkonzentrationen der Standards (1,0U/ml–32,0U/ml) und den Mittelwert der entsprechenden Absorptionswerte, um eine doppelt logarithmische Kurve zu erstellen und die lineare Regressionsgleichung zu erhalten. Setzen Sie den logarithmischen Wert der Extinktion der Probe in die lineare Regressionsgleichung ein, um die SARS-CoV-2-IgG-Antikörperkonzentration der entsprechenden Probe zu erhalten.
- Der Kit-Standard von Wantai ist gegen den Standard NIBSC 20/136 kalibriert. Die Konzentration einer Wantai-Einheit (U/ml) beträgt $\approx 5,4$ U/ml (NIBSC 20/136).
- Ein Beispiel ist wie folgt:
Nehmen Sie den natürlichen logarithmischen Wert jedes Wertes: Nehmen Sie den natürlichen logarithmischen Wert (LN-Wert) der IgG-Antikörperkonzentration des Standards als unabhängige Variable (X) und den natürlichen logarithmischen Wert (LN-Wert) der entsprechenden Extinktion als abhängige Variable (Y), die lineare Regressionsgleichung wird wie folgt berechnet: $Y = 0,9306X - 2,1478$. Die Daten und das Diagramm sind wie folgt:

IgG-Antikörper-Konzentration des Standards (U/ml)	1.0	2.0	4.0	8.0	16.0	32.0
LN Wert	0	0.693	1.386	2.079	2.773	3.466
A Wert des Standards	0.109	0.224	0.444	0.863	1.677	2.591
LN Wert	-2.221	-1.498	-0.813	-0.148	0.517	0.952



Wenn der Absorptionswert bei 450nm/630nm einer gemessenen Probe $A = 0,826$ ist, ist ihr berechneter LN-Wert 0,910, der in die Gleichung eingesetzt wird, die SARS-CoV-2 IgG-Antikörperkonzentration ist: $EXP((-0,910+2,1478)/0,9306) \approx 3,78U/ml$. (Diese Standardkurve dient nur zur Veranschaulichung.)

- Wenn eines der folgenden Ergebnisse erhalten wird, sollten die Testergebnisse als ungültig betrachtet werden, es ist notwendig, den Test zu wiederholen:
(1) $R^2 < 0,9801$; (2) Ein Wert von 32,0U/ml Standard $< 0,5$; (3) Ein Wert von 0U/ml Standard $> 0,1$.

LEISTUNGSDATEN

Die prospektive klinische Validierungsstudie des WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitativ) wurde 2020 an zwei Standorten in China durchgeführt. Es wurden Serum- und Plasmaproben von 351 Probanden ermittelt. Von den 351 Proben waren 154 Probanden COVID-19-Fälle, die durch einen RT-PCR-Assay positiv bestätigt wurden, während 197 Probanden PCR-negativ bestätigt wurden. Alle Patienten, die als positiv bestätigt wurden, wiesen klinische Anzeichen oder Symptome von COVID-19 auf. Von den 154 positiven Proben waren 125 positiv auf den WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitativ), und von den

197 negativen Proben waren 196 negativ. Der Kit zeigte eine positive prozentuale Übereinstimmung (PPA) von 81,17 % (125/154) und eine negative prozentuale Übereinstimmung (NPA) von 99,49 % (196/197). Der Kit zeigte eine PPA von 94,94 % (75/79) für ≥ 15 Tage ab Beginn der Symptome, wie in den folgenden Tabellen angegeben.

Fälle	PCR Vergleichler SARS-CoV-2 Ergebnis		Gesamt	
	Positiv	Negativ		
WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative)	Positiv	125	1	126
	Negativ	29	196	225
Total		154	197	351
PPA		81.17% (95%CI: 74.26%-86.56%)		
NPA		99.49% (95%CI: 97.18%-99.91%)		

Tage ab Auftreten der Symptome	Gesamt PCR Positive Samples	Anzahl von Wantai Positive Ergebnisse	PPA	95% CI
≤ 7	20	8	40,00%	21.88% - 61.34%
8 - 14	55	42	76,36%	63.65% - 85.63%
≥ 15	79	75	94,94%	87.69% - 98.01%
Gesamtanzahl Probanden	154			

Eine retrospektive Analyse der 75 positiven Proben (≥ 15 Tage nach Beginn der Symptome) wurde durchgeführt, um die Konzentrationen der IgG-Antikörper in den Proben zu messen. Alle Proben hatten eine IgG-Konzentration von $\geq 10,0U/ml$. Im linearen Bereich von 1,0U/ml bis 32,0U/ml beträgt der lineare Korrelationskoeffizient $R^2 \geq 0,9801$. ≥ 10 negative Proben wurden mit diesem Kit getestet, die Konzentration der nachgewiesenen SARS-CoV-2-IgG-Antikörper lag bei allen unter 1,0U/ml. Um die mögliche Kreuzreaktivität des WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative) mit Antikörpern gegen andere Viren, die in der Bevölkerung vorhanden sein können, zu bewerten, wurden die folgenden Viren und Autoimmunerkrankungen untersucht. Mit dem WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative) wurden keine falsch positiven Ergebnisse beobachtet.

Probe	Nr.	Lot #1		Lot #2		Lot #3		Spezifizität
		+	-	+	-	+	-	
Flu A	8	0	8	0	8	0	8	100%
Flu B	6	0	6	0	6	0	6	100%
HCV	6	0	6	0	6	0	6	100%
HBV	6	0	6	0	6	0	6	100%
ANA	5	0	5	0	5	0	5	100%
RSV	13	0	13	0	13	0	13	100%
Rhinovirus	6	0	6	0	6	0	6	100%

Probe	Nr.	+	-	Spezifizität
alpha COV 229E	5	0	5	100%
alpha COV NL63	5	0	5	100%
beta COV OC43	7	0	7	100%
beta COV HKU1	4	0	4	100%

Präzision: Zwei Reproduzierbarkeits-Referenzproben CV1–CV2 wurden getestet, der Variationskoeffizient (VK) lag bei allen $< 15\%$, und der VK von innerhalb eines Tages, zwischen zwei Tagen und von verschiedenen Bedienern und Standorten lag bei allen $< 15\%$.

LIMITIERUNGEN

- Dieser Kit ist für den quantitativen Nachweis der Konzentration von SARS-CoV-2-IgG-Antikörpern bestimmt, die von Personen mit Impfstoff-Immunsierung oder Patienten mit kürzlicher oder früherer Infektion produziert werden, die Ergebnisse sind nur für klinische Zwecke bestimmt.
- Positive Ergebnisse müssen mit einer anderen verfügbaren Methode bestätigt und in Verbindung mit den klinischen Informationen des Patienten interpretiert werden.
- Antikörper können im Frühstadium der Erkrankung und bei einigen immunsupprimierten Personen nicht nachweisbar sein. Daher sind negative Ergebnisse, die mit dem WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative) erzielt werden, nur ein Hinweis darauf, dass die Probe keine nachweisbaren Mengen an IgG-Antikörpern enthält, und ein negatives Ergebnis sollte nicht als schlüssiger Beweis dafür angesehen werden, dass die Person nicht mit SARS-CoV-2 infiziert ist.
- Wenn nach erneuter Untersuchung der ursprünglich reaktiven Proben die Testergebnisse negativ sind, sollten diese Proben als nicht wiederholbar (falsch positiv) betrachtet und als negativ interpretiert werden. Wie bei vielen sehr empfindlichen ELISA-Assays können falsch positive Ergebnisse aus verschiedenen Gründen auftreten, von denen die meisten mit einem unzureichenden Waschschritt zusammenhängen, aber nicht darauf beschränkt sind. Weitere Informationen zur Fehlerbehebung bei Wantai-ELISAs finden Sie im "ELISAs and Troubleshooting Guide" von Wantai, oder wenden Sie sich an den technischen Support von Wantai, um weitere Unterstützung zu erhalten.
- Die häufigsten Assay-Fehler sind: Verwendung von Kits nach Ablauf des Verfallsdatums, schlechte Waschverfahren, kontaminierte Reagenzien, falsche Assay-Durchführungsschritte, unzureichende Absaugung während des Waschens, fehlende Zugabe von Proben oder Reagenzien, unsachgemäße Bedienung der Laborgeräte, Zeitfehler, Verwendung von stark hämolysierten oder fibrinhaltigen Proben, unvollständig geronnene Serumproben.
- Die Prävalenz des Markers beeinflusst die präaktiven Werte des Assays.
- Dieses Kit ist NUR für den Test einzelner Serum- oder Plasmaproben bestimmt. Verwenden Sie es nicht für den Test von Leichenproben, Speichel, Urin oder anderen Körperflüssigkeiten oder gepooltem (gemischtem) Blut.

REFERENZEN

- Ria Lassaunière, et al. Evaluation of nine commercial SARS-CoV-2 immunoassays. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.09.20056325>
- Juanjuan Zhao, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.02.20030189>
- Bin Lou, et al. Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection since the exposure and post symptoms onset.

- doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.23.20041707>
- Fan Wu, et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20047365>
- Ying Liu, et al. Diagnostic Indexes of a Rapid IgG/IgM Combined Antibody Test for SARS-CoV-2. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.26.20044883>

ZUSAMMENFASSUNG DER HAUPTKOMPONENTEN DES KITS:

Verwenden Sie diese Zusammenfassung nur als Referenz und folgen Sie bei der Durchführung des Assays immer dem umfassenden Methodenblatt. Hinweis: Die Komponenten der einzelnen Kits sind nicht chargenweise austauschbar

1. Mikrotiterplatte	Code 5	1x
2. Standard	-	1x
3. HRP-Konjugat	Code 6	1x12ml
4. Probenverdünnungsmittel	Code 9	2x12ml
5. Waschpuffer	Code 1	1x50ml
6. Chromogene Lösung A	Code 2	1x6ml
7. Chromogene Lösung B	Code 3	1x6ml
8. Stopplösung	Code 4	1x6ml

ZUSAMMENFASSUNG DER ASSAY DURCHFÜHRUNG:

Verwenden Sie diese Zusammenfassung nur als Referenz und befolgen Sie bei der Durchführung des Assays immer das detaillierte Methodenblatt.

Probenverdünnungsmittel zugeben	100µl
Standards/Proben zugeben	10µl
Inkubieren	30 Minuten
Waschen	5 Mal
HRP-Konjugat zugeben	100µl
Inkubieren	30 Minuten
Waschen	5 Mal
Färben	50µl A + 50µl B
Inkubieren	15 Minuten
Reaktion stoppen	50µl Stopplösung
Extinktion ablesen	450nm oder 450/600–650nm

BEISPIELSCHEMA FÜR DIE ZUGABE VON STANDARDS/PROBEN:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	STD4	S4									
B	STD1	STD5	S5									
C	STD1	STD5	...									
D	STD2	STD6										
E	STD2	STD6										
F	STD3	S1										
G	STD3	S2										
H	STD4	S3										

CE-KENNEICHNUNGSSYMBOLE:

	Medizinisches In-vitro-Diagnosegerät		+2°C–+8°C Lagertemperaturgrenzwerte
	Verfallsdatum		Chargencode
	Inhalt ausreichend für <n> Tests		Gebrauchsanweisung beachten
	CE Kennzeichnung – IVDD 98/79/EC		Bevollmächtigter Vertreter in der Europäischen Gemeinschaft
	Katalognummer		Hersteller

UUU PLATE	MIKROTITERPLATTE
STANDARD	STANDARD
HRP CON	HRP-KONJUGAT
DIL SPE	PROBENVERDÜNNUNGSMITTEL
WASH BUF 20X	WASCHPUFFER
CHROM SOL A	CHROMOGENE LÖSUNG A
CHROM SOL B	CHROMOGENE LÖSUNG B
STOP SOL	STOPPLÖSUNG

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: wtxepor@ystwt.com

Qarad BV
Cipalstraat 3, 2440 Geel, Belgien



Version: V. 2021-02 [D.]
Ausgabedatum: März 1, 2021
Anzahl der Revision: Revision 1

Wantai SARS-CoV-2 Diagnostics

WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative)

Diagnostic Kit for Quantitative Detection of IgG Antibody to SARS-CoV-2 (ELISA)



WS-1396



V. 2021-02 [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 IgG ELISA achieved.

INTENDED USE

The WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative) is an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) intended for quantitative detection of IgG-class antibodies to SARS-CoV-2 virus in human serum or plasma. The WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative) is intended for use as an aid in identifying individuals with an adaptive immune response to SARS-CoV-2, indicating recent or prior infection, or as an aid in individual vaccination management decisions. The quantitative result obtained with this kit is as a reference only, cannot be used as the sole basis for further individual vaccination and treatment.

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, acute respiratory distress syndrome (ARDS), 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 the recent COVID-19 pandemic.

PRINCIPLE OF THE TEST

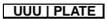
The WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative) employs solid phase, indirect ELISA method for detection of IgG-class antibodies to SARS-CoV-2 in two-step incubation procedure. Polystyrene microwell strips are pre-coated with SARS-CoV-2 recombinant antigen. During the first incubation step, SARS-CoV-2 IgG antibodies, if present, will be bound to the solid phase pre-coated antigens. The wells are washed to remove unbound serum proteins and then, anti-human IgG antibodies (anti-IgG) conjugated to horseradish peroxidase (HRP-Conjugate) is added. During the second incubation step, these HRP-conjugated antibodies will be bound to any antigen-antibody (IgG) complexes previously formed and the unbound HRP-conjugate is then removed by washing. Chromogen solutions containing Tetramethyl benzidine (TMB) and urea peroxide are added to the wells and in presence of the antigen-antibody-anti-IgG (HRP) immunocomplex, the colorless chromogens are hydrolyzed by the bound HRP conjugate to a blue colored product. The blue color turns yellow after stopping the reaction with sulfuric acid. The absorbance value (A value) can be measured and is proportional to the titer of IgG antibody in the specimen. The IgG antibody titer in the specimen can be calculated by double logarithmic curve fitted with the standard concentration and A value. Wells containing specimens negative for SARS-CoV-2 IgG remain colorless.

COMPONENTS



In Vitro Diagnostic Use Only

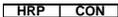
This kit contains reagents sufficient for testing of maximum of 91 specimens in a test run.



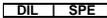
Code 5 (1x96wells)
8x12/12x8-well per plate



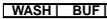
Code 6 (1x12ml per vial)
preserv.0.15% ProClin™ 300



Code 9 (2x12ml per vial)
preserv.0.15% ProClin™ 300



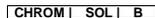
Code 9 (2x12ml per vial)
preserv.0.2% ProClin™ 300



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



Code 2 (1x6ml per vial)



Code 3 (1x6ml per vial)



Code 4 (1x6ml per vial)

- PLASTIC SEALABLE BAG: For enclosing the strips not in use
- PACKAGE INSERT
- CARDBOARD PLATE COVER

To cover the plates during incubation and prevent evaporation or contamination of the wells.

- 1 unit
- 1 copy
- 2 sheets

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 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.

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, TRANSPORTING AND STORAGE

- 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 3000-5000 RPM (round per minutes) for 20 minutes at room temperature or by filtration.
- 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.** Specimens with visible microbial contamination should never be used.
- The WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative) 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.
- Transportation and Storage:** Specimens can be stored at 2-8°C for one week. For longer-term storage, specimens should be stored frozen (-15°C or lower) with no more than three freeze-thaw cycles. 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 IgG 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.**

- 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.
- 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.
- CAUTION - CRITICAL STEP:** Allow the reagents and specimens to reach room temperature before use. Shake reagent gently before use. Return at 2-8°C immediately after use.
- Use only sufficient volume of specimen as indicated in the procedure steps. Failure to do so, may cause low sensitivity of the assay.
- 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.
- Avoid long time interruptions of assay steps. Assure same working conditions for all wells.
- Calibrate the pipets 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.
- Assure that the incubation temperature is 37°C inside the incubator.
- When adding specimens, do not touch the well's bottom with the pipette tip.
- Assure that the incubation temperature is 37°C inside the incubator.
- When measuring with a plate reader, determine the absorbance at 450nm or at 450/600-650nm.
- 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.
- 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.
- All specimens from human origin should be considered as potentially infectious. Strict adherence to GLP (Good Laboratory Practice) regulations can ensure the personal safety.
- WARNING:** Bovine derived sera have been used for stabilizing of the Standard. Bovine serum albumin (BSA) and fetal calf sera (FCS) are derived from animals from BSE/TSE free-geographical areas.
- Never eat, drink, smoke, or apply cosmetics in the assay laboratory. Never pipette solutions by mouth.
- Chemical should be handled and disposed of only in accordance with the current GLP (Good Laboratory Practices) and the local or national regulations.
- 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.
- 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.

- The Stop solution 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.
- ProClin™ 300 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.
- Standards should be used for each test run, and the test results must be calculated with the standard curve of the same test run, otherwise it may lead to large deviation in the quantitative results.
- Abnormal points in the standard curve may cause deviation of the test results of the whole plate, so each prepared standard should be tested in duplicate to improve the test accuracy. When only one of Standards has a significant increase or decrease, and it is caused by human error, this point can be discarded and the standard curve can be drawn with other Standards.

INDICATIONS OF INSTABILITY DETERIORATION OF THE REAGENT: Values of the Standard, 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. Check the Wash buffer concentrate for the presence of salt crystals. If crystals have formed, resolubilize 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**.

- Standards preparation:** Add distilled or deionized water into the vial according to the volume indicated on the label of the vial to reconstitute the lyophilized standard. After 2-3 minutes, the standard is completely dissolved, gently mix until it is homogeneous, then 32.0U/ml standard is ready to use. Use doubling dilution method to dilute 32.0U/ml standard with Specimen Diluent to 16.0U/ml, 8.0U/ml, 4.0U/ml, 2.0U/ml, 1.0U/ml and 0U/ml (Specimen Diluent is used as 0U/ml). Then the final concentrations of the ready-to-use Standards are 32.0U/ml, 16.0U/ml, 8.0U/ml, 4.0U/ml, 2.0U/ml, 1.0U/ml and 0U/ml respectively.
- Numbering Wells:** Set two wells for each standard and one well for Blank (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. Each prepared standard should be tested in duplicate.
- Adding Diluent:** Add 100µl of Specimen Diluent into each well except Blank well.
- Adding Specimen:** Add 10µl of specimen and the prepared Standards into their respective wells except the Blank well and mix by tapping the plate gently. **Note: Use a separate disposable pipette tip for each specimen to avoid cross-contamination.**
- Incubating:** Cover the plate with the plate cover and incubate at 37°C for 30 minutes.
- 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.
- Adding HRP-Conjugate:** Add 100µl of HRP-Conjugate into each well except the Blank well.
- Incubating:** Cover the plate with the plate cover and incubate at 37°C for 30 minutes.
- 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.
- Coloring:** Add 50µl of Chromogen Solution A and then 50µl of Chromogen Solution B into each well including the Blank well, 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 the Standards wells and SARS-CoV-2 IgG antibody positive specimen wells.
- Stopping Reaction:** Using a multichannel pipette or manually, add 50µl of Stop Solution into each well and mix gently. Intensive yellow color develops in the Standards wells and SARS-CoV-2 IgG antibody positive specimen wells.
- 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

- A good washing procedure is essential in order to obtain correct and precise analytical data.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- The concentrated Wash buffer should be diluted **1 to 20** before use. If less than a whole plate is used, prepare the proportional volume of solution.

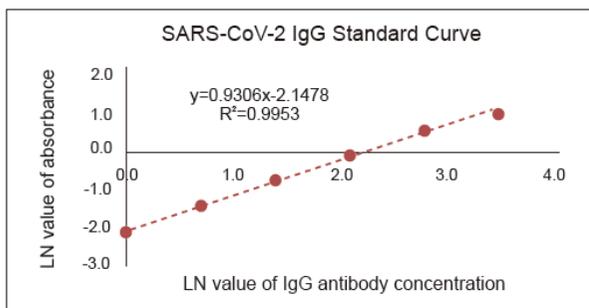
QUALITY CONTROL AND CALCULATION OF THE RESULTS

If the result reading is based on single filter plate reader, the results should be calculated by subtracting A value of the Blank well from the print report values of specimens and standards. In case the reading is based on dual filter plate reader, do not subtract the A value of Blank well from the print report values of specimens and standards.

The detection range of this kit is 1.0U/ml–32.0U/ml. If the concentration of the SARS-CoV-2 IgG antibody in specimen is higher than 32.0U/ml, it is necessary to redo the test after diluting the specimen with Specimen Diluent.

- Use the antibody concentrations of the Standards (1.0U/ml–32.0U/ml) and the mean value of its corresponding absorbance values to do double logarithmic curve to obtain the linear regression equation. Substitute the logarithmic value of the absorbance of the specimen into the linear regression equation to obtain the SARS-CoV-2 IgG antibody concentration of the corresponding specimen.
- Wantai's kit standard is calibrated against NIBSC 20/136 standard. The concentration of one Wantai unit (U/ml) is = 5.4IU/ml (NIBSC 20/136).
- An example is as follows:
Take the natural logarithmic value of each value: take the natural logarithmic value (LN value) of the IgG antibody concentration of the Standard as the independent variable (X), and the natural logarithm value (LN value) of the corresponding absorbance as the dependent variable (Y), the linear regression equation is calculated as follows: $Y = 0.9306X - 2.1478$. The data and graph are as follows:

IgG antibody concentration of Standard (U/ml)	1.0	2.0	4.0	8.0	16.0	32.0
LN value	0	0.693	1.386	2.079	2.773	3.466
A value of Standard	0.109	0.224	0.444	0.863	1.677	2.591
LN value	-2.221	-1.498	-0.813	-0.148	0.517	0.952



If the absorbance value at 450nm/630nm of a specimen measured is A=0.826, its LN value calculated is -0.910, which is substituted into the equation, the SARS-CoV-2 IgG antibody concentration is: $EXP((-0.910+2.1478)/0.9306) = 3.78U/ml$. (This standard curve is for illustration only)

- If any following result is obtained, the test results should be considered invalid, it is necessary to repeat the test:
(1) $R^2 < 0.9801$; (2) A value of 32.0U/ml Standard < 0.5 ; (3) A value of 0U/ml Standard > 0.1 .

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Prospective clinical validation study of the WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative) was conducted at two sites in China in 2020. Serum and plasma specimens were evaluated from 351 subjects. Out of the 351 samples, 154 subjects were COVID-19 cases confirmed positive by an RT-PCR assay while 197 subjects were confirmed PCR negative. All patients who were confirmed positive exhibited clinical signs or symptoms of COVID-19.

Of the 154 positive samples, 125 were positive on the WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative), and of the 197 negative samples, 196 were negative. The kit demonstrated the Positive Percent Agreement (PPA) of 81.17% (125/154), the Negative Percent Agreement (NPA) of 99.49% (196/197). The kit demonstrated the PPA of 94.94% (75/79) for ≥ 15 days from onset of symptoms, as indicated in the tables below.

Cases	PCR Comparator SARS-CoV-2 results	Total		
		Positive	Negative	
WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative)	Positive	125	1	126
	Negative	29	196	225
Total		154	197	351
PPA		81.17% (95%CI: 74.26%-86.56%)		
NPA		99.49% (95%CI: 97.18%-99.91%)		

Days from onset of symptoms	Total PCR Positive Samples	Number of Wantai Positive Result	PPA	95% CI
≤ 7	20	8	40.00%	21.88% - 61.34%
8 - 14	55	42	76.36%	63.65% - 85.63%
≥ 15	79	75	94.94%	87.69% - 98.01%
Total Subjects	154			

Retrospective analysis of the 75 positive samples (≥ 15 days from onset of symptoms) was conducted to measure the levels of IgG antibodies in the specimens. All specimens had IgG concentration of $\geq 10.0U/ml$.

In the linear range of 1.0U/ml to 32.0U/ml, the linear correlation coefficient R^2 is ≥ 0.9801 .

340 negative specimens were tested with this kit, the concentration of SARS-CoV-2 IgG antibody detected were all less than 1.0U/ml.

To evaluate the potential cross-reactivity of the WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative) to antibodies to other viruses that may be present in the population, the following viruses and autoimmune conditions were assessed. No false positive results were observed with the WANTAI SARS-CoV-2 IgG ELISA (Quantitative).

Specimen	No.	Lot #1		Lot #2		Lot #3		Specificity
		+	-	+	-	+	-	
Flu A	8	0	8	0	8	0	8	100%
Flu B	6	0	6	0	6	0	6	100%
HCV	6	0	6	0	6	0	6	100%
HBV	6	0	6	0	6	0	6	100%
ANA	5	0	5	0	5	0	5	100%
RSV	13	0	13	0	13	0	13	100%
Rhinovirus	6	0	6	0	6	0	6	100%

Specimen	No.	+	-	Specificity
alpha COV 229E	5	0	5	100%
alpha COV NL63	5	0	5	100%
beta COV OC43	7	0	7	100%
beta COV HKU1	4	0	4	100%

Precision: Two reproducibility reference samples CV1–CV2 were tested, the coefficient of variation (CV) were all $< 15\%$, and the CV of intra-day, inter-day, and different operators and locations were all $< 15\%$.

LIMITATIONS

- This kit is intended for quantitative detection of the concentration of SARS-CoV-2 IgG antibody produced by individuals with vaccine immunization or patients with recent or prior infection, the results are for clinical reference only.
- 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 IgG ELISA (Quantitative) are only indication that the specimen does not contain detectable level of IgG antibodies and any negative result should not 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.
- 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 kit is intended ONLY for testing of individual serum or plasma specimens. Do not use it for testing of cadaver specimens, saliva, urine or other body fluids, or pooled (mixed) blood.

REFERENCES

- Ria Lassaunière, et al. Evaluation of nine commercial SARS-CoV-2 immunoassays. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.09.20056325>
- Juanjuan Zhao, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.02.20030189>
- Bin Lou, et al. Serology characteristics of SARS-CoV-2 infection since the exposure and post symptoms onset. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.23.20041707>
- Fan Wu, et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20047365>
- Ying Liu, et al. Diagnostic Indexes of a Rapid IgG/IgM Combined Antibody Test for SARS-CoV-2. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.26.20044883>

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	1x
2. Standard	-	1x
3. HRP-Conjugate	Code 6	1x12ml
4. Specimen Diluent	Code 9	2x12ml
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 Specimen Diluent	100µl
Add Standards/Specimen	10µl
Incubate	30 minutes
Wash	5 times
Add HPR-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 STANDARDS / SPECIMENS DISPENSING:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Blank	STD4	S4									
B	STD1	STD5	S5									
C	STD1	STD5	---									
D	STD2	STD6										
E	STD2	STD6										
F	STD3	S1										
G	STD3	S2										
H	STD4	S3										

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

UUU | PLATE

MICROWELL PLATE

STANDARD

STANDARD

HRP | CON

HRP-CONJUGATE

DIL | SPE

SPECIMEN DILUENT

WASH | BUF | 20X

WASH BUFFER

CHROM | SOL | A

CHROMOGEN SOLUTION A

CHROM | SOL | B

CHROMOGEN SOLUTION B

STOP | SOL

STOP SOLUTION



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: wtxport@ystwt.com



Qarad BV
Cipalstraat 3, 2440 Geel, Belgium

