LABORATORY • DIAGNOSTICS

SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG Test Kit

Gebrauchsanweisung

CE

Microarray auf Basis eines Enzym-Immunoassays zum qualitativen Nachweis von **IgG** Antikörpern gegen spezifische Antigene des **SARS-CoV-2** (*severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*, „Schweres akutes Atemwegssyndrom Coronavirus 2", COVID-19) und Variants of Concern (VOC) von SARS-CoV-2 in humanem Serum.

Auf dem **SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG Test** werden die aufgereinigten spezifischen Oberflächenantigene S1, RBD und S2 und das Nukleokapsidantigen N von SARS-CoV-2 (Wuhan), die RBD der Delta-Variante von SARS-CoV-2 (B.1.617.2) sowie die RBD der Omikron-Variante von SARS-CoV-2 (B.1.1.529) an definierten Positionen auf Nitrozellulose gebunden.

Die Reaktivitäten der Antigene S1 (Wuhan), RBD (Wuhan), S2 (Wuhan), N (Wuhan), RBDd (Delta), RBDo (Omikron) wurden am *First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human)* (3) eingestellt und ermöglichen somit eine Korrelation mit Messwerten in Binding Antibody Units pro Milliliter (**BAU/ml**). Die Quantifizierung von SARS-CoV-2 spezifischen anti-S1, anti-RBD, anti-S2, anti-N, anti-RBDd und anti-RBDo IgG Antikörpern in **BAU/ml** erfolgt über die ViraChip® Software.

Der SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG Test Kit ist nach der Richtlinie **98/79/EG** hergestellt.

Testprinzip

Am Boden jeder Kavität der 96 well Standard-Mikrotiterplatte (MTP) des ViraChip® Test Kits befindet sich eine Nitrozellulose-Membran auf der die Antigene des jeweiligen Erregers als Analytspots fixiert sind (Microarray).
Zum Antikörpernachweis wird zunächst jeweils eine verdünnte Serumprobe in je eine ViraChip® Kavität gegeben und inkubiert. Wenn entsprechende erregerspezifische Antikörper in der Serumprobe vorhanden sind, binden diese unter Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen an die fixierten Analytspots.
Nach mehrmaligem Waschen erfolgt die Zugabe von mit Alkalischer Phosphatase gekoppeltem anti-Human-IgG-Konjugat und eine anschließende Inkubation. Während dieser Inkubation bindet das Konjugat an vorhandene Antigen-Antikörper-Komplexe.
Nach erneutem Waschen und Zugabe der Chromogen / Substratlösung setzt die in den Antigen-Antikörper-Konjugat-Komplexen befindliche Alkalische Phosphatase das Chromogen / Substrat um und färbt damit die Analytspots auf dem Microarray lila bis schwarz an. Nach weiteren Wasch- und Trocknungsschritten werden die Analytspot-Intensitäten gemessen und mittels ViraChip® Software ausgewertet.
Grundsätzlich wird mit dem SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG zunächst ein Standard-Ansatz mit einer 1:4560 verdünnten Serumprobe durchgeführt. Sollte die Auswertung des Standard-Ansatzes entsprechend den Auswertekriterien ein „Retest" Ergebnis ergeben, wird anschließend ein 2. Ansatz (Retest-Ansatz) mit einer 1:76 Verdünnung der entsprechenden Probe vorgenommen und ausgewertet.

Die Analytspots dienen dem Nachweis von Antikörpern gegen die SARS-CoV-2 spezifischen Antigene **S1**, **RBD**, **S2**, **N**, **RBDd** und **RBDo**.

Jeder Microarray beinhaltet neben den Analytspots Kontrollspots für **Serumkontrollen**, **Konjugatkontrollen, Kalibratorkontrollen** und eine **Negativkontrolle**.

Zur Kennzeichnung sind die Kavitäten der Mikrotiterplatte farblich kodiert:
Dazu ist der SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG durch einen **braunen Vollkreis** auf dem Kavitätenrand markiert.

Best.-Nr.:	**V-CVCGOK**	Best.-Nr.:	**V-CVCGDK (Deca Kit)**
Packungsgröße:	**1 MTP à 96 einzelbrechbaren Kavitäten**	Packungsgröße:	**10 MTP à 96 einzelbrechbaren Kavitäten**
Probenmaterial:	**10 µl Serum**	Probenmaterial:	**10 µl Serum**
Testdauer:	**ca. 130 Minuten**	Testdauer:	**ca. 130 Minuten**

Kitinhalt

1 bzw. 10 MTP à 96 Kavitäten	**SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG Antigen Coated Wells** Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	(Prod.-Nr.: V-CVCGAC)
1x bzw. 10x 12 ml	**ViraChip® AP-Anti-Human IgG Conjugate** Anti-human IgG Konjugatlösung für ViraChip® Teste, aus Ziege, mit boviner alkalischer Phosphatase, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-UVCGKI)
1x bzw. 10x 100 ml	**ViraChip® / ViraStripe® / ViraBlot® Diluent / Wash Buffer** Waschpuffer-Konzentrat für ViraChip® Teste, mit Detergenzien und Salzen zum Verhindern unspezifischer Bindungen, 10-fach	(Best.-Nr.: V-UVNUWP)
1x bzw. 10x 12 ml	**ViraChip® Chromogen / Substrate Solution** Chromogen/Substratlösung für ViraChip® Teste, mit BCIP / NBT, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-UVCUCS)

Zusätzlich erforderlicher Puffer für die Probenverdünnung, wird separat mitgeliefert

50 ml	**ViraChip® Sample Buffer** Probenpuffer für ViraChip® Teste, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-UVCUPP)

Optional erhältlich

1 MTP-Riegel à 8 Kavitäten	**SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG Antigen Coated Wells (8)** Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-CVCGRT)
330 µl	**SARS-CoV-2 ViraChip® IgG Positive Control** IgG positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-COCGPK)
330 µl	**SARS-CoV-2 ViraChip® IgG,A,M Negative Control** IgG, IgA, IgM negatives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-COCPNK)

Zusätzlich geforderte Ausrüstung und benötigtes Material

1.	**ViraChip Software®**	zum Vorbereiten, Durchführen und Auswerten des Testlaufes, ab v1.3.0-1960	(Best.-Nr.: V-VCNUPR)
2.	**2D-Barcode Scanner**	zum Lesen der DataMatrix-Codes	
3.	**Mikrotiterplatte** mit 96 Leerkavitäten	zum Auffüllen angefangener Riegel der Mikrotiterplatte im Halterahmen	(Best.-Nr.: V-UVNMTP)
4.	**Orbitalschüttler (750 rpm)** oder **Linearschüttler (20 Hz)**	zur Durchmischung von Proben und Reagenzien während der Prozessierung	
5.	**ViraChip® Scanner** oder **ViraChip® Reader**	zur Digitalisierung / Messung entwickelter ViraChip® Teste, ab ViraChip® Scanner v1.0 bzw. ViraChip® Reader Rev.01	(Best.-Nr.: V-UVCSCA) (Best.-Nr.: V-UVCCAM)
6.	Optional: **Ventilator/ Lüfter**	zur schnelleren Trocknung der entwickelten Mikrotiterplatten	

© Copyright VIRAMED Biotech AG February 2022 0218/1025

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • D-82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
E-Mail: viramed@viramed.de • www.viramed.de • certified according to ISO 13485

Vorbereiten der Reagenzien und der Patientenproben

Alle Reagenzien und die verpackte Mikrotiterplatte vor Gebrauch auf Raumtemperatur (RT: 20-23°C) bringen. Alle Reagenzien vor Gebrauch gut durchmischen.

Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung: **Waschpuffer-Konzentrat 1:10** in destilliertem oder deionisiertem Wasser (H_20) verdünnen: 100 ml Waschpuffer-Konzentrat + 900 ml H_20

Probenpuffer: Gebrauchsfertig

Konjugatlösung: Gebrauchsfertig

Chromogen / Substratlösung: Gebrauchsfertig

MTP-Kavitäten: Die Mikrotiterplatte (MTP) vorsichtig aus der Verpackung entnehmen und die benötigte Anzahl an Kavitäten in einen leeren Mikrotiterplattenrahmen stecken (Vorbereiten und Durchführen des Testlaufes, Punkt 3). Nach Entnahme aus der Verpackung Kavitäten sofort verwenden. Nicht benötigte Kavitäten sofort wieder in die Originalverpackung zurückgeben, dicht verschließen und bei 2-8°C lagern.

Patientenproben:

Standard-Ansatz

Die Patientenproben werden zunächst in einem Standard-Ansatz in einer **1:4560** Verdünnung eingesetzt:

a) **10 µl Patientenprobe** + **750 µl Probenpuffer** (1:76)

b) **10 µl** der **1:76 vorverdünnten Patientenprobe** + **590 µl Probenpuffer** (1:4560)

Retest-Ansatz

Entsprechend den Auswertekriterien kann es erforderlich sein, im Rahmen eines Retest-Ansatzes ebenfalls eine **1:76** Verdünnung einzusetzen:

- **10 µl Patientenprobe** + **750 µl Probenpuffer**. (1:76)

Von der verdünnten Probe werden für die Prozessierung jeweils 100 µl pro Kavität benötigt.

Kontrollen: Bei Bedarf wird das positive und das negative Kontrollserum in einer **1:16** Verdünnung eingesetzt, z.B.: **10 µl Kontrollserum** + **150 µl Probenpuffer**. Von der verdünnten Kontrolle werden für die Prozessierung 100 µl pro Kavität eingesetzt.

Aufbau des SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG Microarrays

Antigene:
Jedes der SARS-CoV-2 spezifischen Antigene **S1**, **RBD-1**, **RBD-2**, **S2**, **N**, **RBDd-1**, **RBDd-2**, **RBDo-1** und **RBDo-2**, ist jeweils drei Mal in identischer Konzentration als Spottriplett aufgetragen. Die RBD-1, RBDd-1, RBDo-1 Spottripletts sind in einer höheren Konzentration aufgetragen als die entsprechenden RBD-2, RBDd-2, RBDo-2 Spottripletts. Jedes Spottriplett entspricht einer Bande im Western Blot / Immunoblot.

Kontrollen:
Jede ViraChip® Kavität enthält folgende integrierten Kontrollen:
Zwei Serumkontrollen (sc), eine Negativkontrolle (nc), zwei IgG Konjugatkontrollen (ccG), zwei IgA Konjugatkontrollen (ccA), zwei IgM Konjugatkontrollen (ccM) und sechs Kalibratorkontrollen (cal).

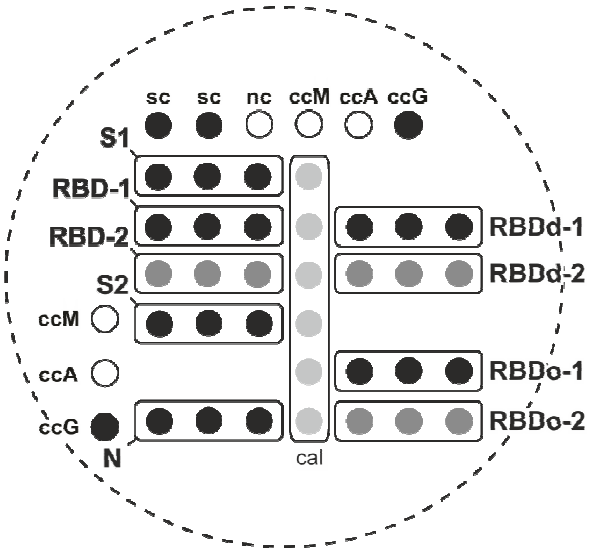

Abbildung 1: Abbildung einer Kavität aus der Mikrotiterplatte mit dem SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG Microarray (vergrößert). Anordnung der Spottripletts für Antigene und der Spots für integrierte Kontrollen.

© Copyright VIRAMED Biotech AG February 2022 0218/1025

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • D-82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
E-Mail: viramed@viramed.de • www.viramed.de • certified according to ISO 13485

Nomenklatur und Beschreibung der SARS-CoV-2 Antigene aus der Literatur

Nomenklatur:	Antigen:	Bemerkung:
S1	Spike-Glykoprotein Untereinheit S1 von SARS-CoV-2 (Wuhan)	Die S1-Untereinheit des SARS-CoV-2 Spike-Proteins ist essentiell für die Bindung des Virus an den ACE2-Rezeptor an der Oberfläche der Wirtszelle (5). Antikörper werden sowohl gegen die Rezeptorbindedomäne als auch die N-terminale Domäne von S1 gebildet (4,14). Antikörper gegen S1 gelten als spezifisch und sensitiv für SARS-CoV-2 (11).
RBD	Rezeptorbindedomäne von SARS-CoV-2 (Wuhan)	Die Rezeptorbindedomäne (RBD) von SARS-CoV-2, welche in der S1-Untereinheit enthalten ist, spielt bei der Bindung des Virus an den ACE2-Rezeptor an der Oberfläche der Wirtszelle eine entscheidende Rolle (6,5). Neutralisierende Antikörper werden v.a. gegen die RBD gebildet (13,8). Antikörper gegen RBD gelten als spezifisch und sensitiv für SARS-CoV-2 (11).
RBDd	Rezeptorbindedomäne der Delta-Variante von SARS-CoV-2 (B.1.617.2)	Die Rezeptorbindedomäne der Delta-Variante von SARS-CoV-2 (B.1.617.2) zeichnet sich durch die Mutationen L452R und T478K aus (1,2). Es gibt Hinweise darauf, dass diese zwei Mutationen einen Einfluss auf die Bindung von Antikörpern an die RBD von SARS-CoV-2 haben können (2).
RBDo	Rezeptorbindedomäne der Omikron-Variante von SARS-CoV-2 (B.1.1.529)	Die Rezeptorbindedomäne der Omikron-Variante von SARS-CoV-2 (B.1.1.529) enthält 15 Mutationen im Vergleich zum Wuhan-Stamm (1,21). Simulationen und Modellierungen weisen darauf hin, dass diese Mutationen einen Einfluss auf die Bindung von Antikörpern an die RBD von SARS-CoV-2 haben könnten (18,19,20,21).
S2	Spike-Glykoprotein Untereinheit S2 von SARS-CoV-2 (Wuhan)	Die S2-Untereinheit des SARS-CoV-2 Spike-Proteins fusioniert die Wirts- und die Virusmembran nach der Bindung des Virus an die Wirtszelle und ermöglicht damit dem Virusgenom in die Wirtszelle einzudringen (5). Die serologische Bedeutung von Antikörpern gegen S2 ist derzeit noch wenig untersucht.
N	Nukleokapsid-Protein von SARS-CoV-2 (Wuhan)	Das Nukleokapsid-Protein / Nukleoprotein von SARS-CoV-2 ist für die virale Replikation notwendig (7). Durch Wechselwirkungen sowohl mit dem viralen Genom als auch mit anderen viralen Proteinen ist es von grundlegender Bedeutung bei der Assemblierung des Virions (15,12). Antikörper gegen das Nukleokapsid-Protein sind als spezifisch und sensitiv für SARS-CoV-2 beschrieben (11).

© Copyright VIRAMED Biotech AG February 2022 0218/1025

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • D-82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
E-Mail: viramed@viramed.de • www.viramed.de • certified according to ISO 13485

Vorbereiten und Durchführen des Testlaufes

Die unten aufgeführte Vorbereitung und Durchführung des Testlaufes gilt für den Standard- und Retest-Ansatz gleichermaßen.
Bei automatisierter Prozessierung können sich Inkubationszeiten, Volumina und die Reihenfolge der einzelnen Arbeitsschritte von der im Folgenden aufgeführten Arbeitsvorschrift unterscheiden. Eine detaillierte Schritt-für-Schritt Anleitung für die verwendete Automationslösung sowie eine Anleitung für die Benutzung der ViraChip® Software wird bei der Einrichtung der Geräte und Schulung durch die Viramed Biotech AG zur Verfügung gestellt. Einzelheiten sind im Abschnitt „Hinweise zu Geräten und Software“ beschrieben.

1. Belegen
Testauswahl und Eintrag der Probendaten in den Belegungsplan der ViraChip® Software.

2. Bestücken
Scannen der 2D-Barcodes auf den Etiketten des Test Kits und der Mikrotiterplatte, zur Übertragung der Chargennummern und der chargen-spezifischen Faktoren (lot specific factors).

3. Prozessieren
Alle Schritte der Prozessierung bei RT durchführen.

3.1 Vorbereitung
- Die gemäß der Belegung definierte Anzahl an Kavitäten in den Halterahmen setzen.
- Leere Positionen eines Riegels der Mikrotiterplatte im Halterahmen mit Leerkavitäten auffüllen. Die Riegel sind auf der Mikrotiterplatte mit 1-12 gekennzeichnet.

Darauf achten, dass beim Brechen der Riegel keine Kunststoffpartikel in die Kavitäten fallen.

3.2 Vorinkubation
- Je Kavität 300 µl Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben.
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.3 Seruminkubation
- Gemäß dem Belegungsplan 100 µl verdünnte Patientenprobe bzw. 100 µl verdünntes Kontrollserum der entsprechenden Kavität zugeben.
- 30 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.4 3 x waschen
- Je Kavität 300 µl Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben.
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

Absaugnadeln so einstellen bzw. Pipetten so verwenden, dass die Kavitätenböden nicht beschädigt werden.

Die Kavitätenböden müssen während der Inkubationsschritte vollständig mit Flüssigkeit bedeckt sein.

Während der Inkubations- und Waschschritte einen Orbitalschüttler, einstellbar auf eine Frequenz von ca. 750 rpm, oder einen Linearschüttler, einstellbar auf eine Frequenz von ca. 20 Hz, verwenden.

3.5 Konjugatinkubation
- Je Kavität 100 µl Konjugatlösung zugeben.
- 30 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.6 3 x waschen
- Je Kavität 300 µl Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben.
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.7 1 x waschen
- Je Kavität 300 µl destilliertes oder deionisiertes Wasser zugeben.
- 1 Minute bei RT inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.8 Substratinkubation
- Je Kavität 100 µl Chromogen/Substratlösung zugeben.
- 15 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Stoppen: Flüssigkeit absaugen.

3.9 3 x waschen
- Je Kavität 300 µl destilliertes oder deionisiertes Wasser zugeben.
- Keine Zwischeninkubation.
- Flüssigkeit absaugen.

3.10 Kavitäten trocknen
20 Minuten bei maximal 60% Luftfeuchtigkeit unter kontinuierlichem Luftstrom trocknen lassen.

Bei höherer Luftfeuchtigkeit kann sich die Trockenzeit verlängern. Alternativ 12 Stunden lichtgeschützt bei RT trocknen lassen.

4. Scannen
ViraChip® Microarrays mit dem ViraChip® Scanner oder dem ViraChip® Reader messen.

Messungen der ViraChip® Microarrays sind innerhalb von 24 Stunden nach Prozessierung durchzuführen (Mikrotiterplatte lichtgeschützt aufbewahren). Die genaue Durchführung bitte dem Geräte-Handbuch entnehmen.

© Copyright VIRAMED Biotech AG February 2022 0218/1025

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • D-82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
E-Mail: viramed@viramed.de • www.viramed.de • certified according to ISO 13485

5. Analysieren

5.1 Zuordnung der Antigen-Spottripletts und der Kontrollspots überprüfen (Technisch validieren)

Jeder Spot wird aufgrund seiner Position von der ViraChip® Software automatisch dem entsprechenden Antigen-Spottriplett bzw. dem entsprechendem Kontrollspot zugeordnet.
Die automatische Zuordnung muss visuell mit dem Muster entsprechend Abb. 1 überprüft werden. Zuordnungen, die nicht dem dargestellten Muster entsprechen im Feld „QC“ auf „nicht gültig“ setzen. Die entsprechende Probe muss wiederholt werden.

5.2 Gültigkeitsprüfung

Die Gültigkeitsprüfung wird von der ViraChip® Software automatisch durchgeführt.

Ein ViraChip® Microarray ist gültig, wenn folgende Kontrollspots die in der ViraChip® Software hinterlegten Kriterien erfüllen:
- **Serumkontrollen** (sc) über Grenzwert
- **Konjugatkontrollen IgG** (ccG) über Grenzwert
  Die Konjugatkontrollen IgG müssen stärker reagieren als die Kontrollen der anderen Konjugatklassen.
- **Kalibratorkontrollen** (cal) über Grenzwert
- **Negativkontrolle** (nc) unter Grenzwert

Falls eines der genannten Kriterien nicht erfüllt ist, wird der ViraChip® Microarray als „nicht gültig“ klassifiziert.

Nicht gültige ViraChip® Microarrays dürfen nicht ausgewertet werden und müssen wiederholt werden.

5.3 Auswertung der ViraChip® Microarrays

Die Bewertung der Patientenproben wird von der ViraChip® Software automatisch nach den im Folgenden definierten Auswertekriterien durchgeführt:

Die ViraChip® Einheiten jedes Spottripletts werden unter Berücksichtigung der chargen-spezifischen Faktoren relativ zu den Kalibratorkontrollen durch die ViraChip® Software berechnet.

© Copyright VIRAMED Biotech AG February 2022 0218/1025

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • D-82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
E-Mail: viramed@viramed.de • www.viramed.de • certified according to ISO 13485

Auswertekriterien

1. Standard-Ansatz (1:4560 Probenverdünnung)

ViraChip®-Einheiten der Spottripletts	**Ergebnis**	**Beurteilung**
Mindestens **ein** Spottriplett **≥ 100 ViraChip®-Einheiten** aus: S1, RBD-1/RBDd-1/RBDo-1*, S2, N oder S1 und RBD-1/RBDd-1/RBDo-1* Spottripletts **≥ 50 ViraChip®-Einheiten**	**Positiv**	Spezifische IgG Antikörper gegen **SARS-CoV-2** nachweisbar.
Alle anderen Konstellationen	**Retest**	Für eine qualitative Beurteilung der Probe ist ein zweiter Ansatz (**Retest-Ansatz**) mit einer Probenverdünnung von **1:76** durchzuführen (siehe Auswertekriterien für den Retest-Ansatz unten).

2. Retest-Ansatz (1:76 Probenverdünnung)

ViraChip®-Einheiten der Spottripletts	**Ergebnis**	**Beurteilung**
Mindestens **ein** Spottriplett **≥ 100 ViraChip®-Einheiten** aus: S1, RBD-1/RBDd-1/RBDo-1*, S2, N oder S1 und RBD-1/RBDd-1/RBDo-1* Spottripletts **≥ 50 ViraChip®-Einheiten**	**Positiv**	Spezifische IgG Antikörper gegen **SARS-CoV-2** nachweisbar.
Keines der oberen Kriterien, aber mindestens **ein** Spottriplett **≥ 65 ViraChip®-Einheiten** und mindestens **zwei** zusätzliche Spottripletts **≥ 20 ViraChip®-Einheiten** aus: S1, RBD-1/RBDd-1/RBDo-1*, S2, N	**Grenzwertig**	Anwesenheit spezifischer IgG Antikörper gegen **SARS-CoV-2** ist fraglich. Für grenzwertige Ergebnisse wird nach MiQ35a eine Verlaufskontrolle empfohlen (10).
Alle anderen Konstellationen	**Negativ**	Spezifische IgG Antikörper gegen **SARS-CoV-2** sind nicht nachweisbar.

* RBD-1/RBDd-1/RBDo-1 = RBD-1 oder RBDd-1 oder RBDo-1

© Copyright VIRAMED Biotech AG February 2022 0218/1025
VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • D-82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
E-Mail: viramed@viramed.de • www.viramed.de • certified according to ISO 13485

Leistungsdaten

Sensitivität
Kollektiv 1, hospitalisierte COVID-19 Patienten:
Zur Bestimmung der Sensitivität wurden 19 Seren von hospitalisierten Patienten mit COVID-19 Klinik, positivem SARS-CoV-2-PCR Ergebnis sowie positiver Serologie (9) mit dem SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG untersucht. Die Blutentnahme erfolgte 7-17 Tage nach Symptombeginn.

	SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG		
Gesamt	Negativ n	Positiv / Grenzwertig n	**Sensitivität (%)**
n = 19	1	18	**95%**

Tabelle 1a. © Copyright VIRAMED Biotech AG Februar 2022

Kollektiv 2, nicht-hospitalisierte COVID-19 Patienten:
Zur Bestimmung der Sensitivität wurden 35 Seren von 15 nicht-hospitalisierten Patienten (mit mildem Verlauf) mit bekannter COVID-19 Klinik und positivem SARS-CoV-2-PCR Ergebnis mit dem SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG untersucht. Die Blutentnahme erfolgte 12 bis 184 Tage nach Symptombeginn.

		SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG		
Blutentnahme - Tage nach Symptombeginn	Gesamt n = 35	Negativ n	Positiv / Grenzwertig n	**Sensitivität (%)**
12-17	7	1	6	**86%**
18-59	14	0	14	**100%**
> 59	14	1	13	**93%**

Tabelle 1b. © Copyright VIRAMED Biotech AG Februar 2022

Spezifität
Zur Bestimmung der Spezifität wurden Seren von gesunden Blutspendern aus Deutschland mit dem SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG untersucht. Die Blutentnahme erfolgte in den Jahren 1995/96, vor den SARS-CoV- und MERS-CoV-Ausbrüchen.

	SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG		
Kollektiv 3: Blutspender vor Beginn der COVID-19 Pandemie	Negativ n	Positiv / Grenzwertig n	**Spezifität (%)**
Seren von deutschen Blutspendern 1995/96, n = 142	141	1	**99%**

Tabelle 2. © Copyright VIRAMED Biotech AG Februar 2022

Kreuzreaktivität
Es wurden insgesamt 101 Proben mit dem SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG untersucht, die zum einen Antikörper gegen andere Organismen enthalten, die COVID-19-ähnliche Symptome auslösen können, und zum anderen eine atypische Immunaktivität repräsentieren können.

		SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG		
Kollektive		Negativ n	Positiv / Grenzwertig n	**Spezifität (%)**
HCoV	n=25	23	2	**92%**
EBV	n=8	8	0	**100%**
CMV	n=6	4	2	**67%**
Influenza A Virus	n=8	8	0	**100%**
Influenza B Virus	n=6	6	0	**100%**
H. influenzae	n=6	6	0	**100%**
RSV	n=6	6	0	**100%**
B. pertussis	n=8	7	1	**88%**
C. pneumoniae	n=4	4	0	**100%**
MERS-CoV	n=7	7	0	**100%**
SARS-CoV-1	n=10	10	0	**100%**
ANA Autoantikörper	n=7	7	0	**100%**

Tabelle 3. © Copyright VIRAMED Biotech AG Februar 2022

© Copyright VIRAMED Biotech AG February 2022 0218/1025

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • D-82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
E-Mail: viramed@viramed.de • www.viramed.de • certified according to ISO 13485

Impfseren
Zur Bestimmung der Sensitivität bei COVID-19 Geimpften wurden insgesamt 77 Proben von Personen mit dem SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG untersucht, die die 1., 2. bzw. 3. COVID-19 Impfung erhalten haben. Die Blutabnahme ist bei allen Proben mindestens 7 Tage nach der Impfung erfolgt.

		SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG		
Kollektive		Negativ n	Positiv / Grenzwertig n	**Sensitivität (%)**
1. COVID-19 Impfung	n=26	0	26	**100%**
2. COVID-19 Impfung	n=35	0	35	**100%**
3. COVID-19 Impfung	n=16	0	16	**100%**

Tabelle 4. © Copyright VIRAMED Biotech AG Februar 2022

Zur Bestimmung der Leistungsdaten wurde die ViraChip® Software 1.4.0 und der ViraChip® Reader Rev.03 verwendet.

Anforderungen an den Anwender

1. Dieser Test ist nur in einem Fachlabor durchzuführen, das die entsprechende Laborausrüstung (z.B. nach GLP) und die ggf. erforderlichen behördlichen Genehmigungen zum Umgang mit den zu testenden Proben besitzt.

2. Dieser Test ist nur von Fachpersonal durchzuführen, das bezüglich des Testverfahrens geschult wurde.
3. Um ein exaktes Testergebnis zu erhalten, müssen die Gebrauchsanweisung und „Good Laboratory Practice (GLP)“ eingehalten werden.

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

1. ViraChip® Microarrays: Verschlossen in der Originalverpackung bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
2. Waschpuffer-Konzentrat, 10-fach: Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
3. Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung: Bei 2-8°C ca. 2 Wochen haltbar. Bei längerer Aufbewahrung kann die Gebrauchsverdünnung aliquotiert bei -20°C eingefroren werden.
4. Probenpuffer: Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
5. Konjugatlösung: Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
6. Chromogen/Substratlösung: Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum. Vor Lichteinfall schützen!
7. Nach erstmaligem Öffnen der Reagenzien und Kitkomponenten wird bei sachgerechter Anwendung („Good Laboratory Practice“) und Einhaltung der auf dem Etikett angegebenen Lagerungsbedingungen in der Originalverpackung die Haltbarkeit in der Regel bis zum angegebenen Verfallsdatum beibehalten.

Vorsichtsmaßnahmen / Sicherheitsvorkehrungen

1. Alle humanen Serumkomponenten wurden auf HCV-, HIV1,2-Antikörper und HBs-Antigen untersucht und für negativ befunden. Dennoch sollten alle humanen Kitkomponenten, ebenso wie die Patientenproben, als potentiell infektiös betrachtet und mit entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen verwendet werden. Bei Arbeiten mit potentiell gefährlichen oder infektiösen Materialien sind die entsprechenden nationalen / internationalen Gesetze, Verordnungen und Vorschriften zu beachten. Dies gilt ebenfalls für die Lagerung und Entsorgung der verwendeten Chemikalien und Reagenzien.
2. Die Schutzmaßnahmen für das Arbeiten mit Gefahr- und Biostoffen sind gemäß den aktuell gültigen länderspezifischen Richtlinien für Laboratorien zu beachten. Maßnahmen sind unter anderem:
- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- Einweg-Handschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- Am Arbeitsplatz nicht essen, trinken oder rauchen.

3. Die Berührung von Haut und Schleimhäuten mit Chromogen / Substratlösung vermeiden. Bei Berührung mit Haut und Augen sofort mit viel Wasser nachwaschen.
4. Proben und alle möglicherweise kontaminierten Materialien sowie flüssige infektiöse Abfälle sind gemäß allgemein anerkannter Laborrichtlinien zu dekontaminieren, z.B. durch ein mindestens 20-minütiges Autoklavieren bei 121°C. Zur Entsorgung flüssiger Abfälle können diese z.B. mit Natriumhypochlorit in einem Volumenverhältnis gemischt werden, so dass das Endgemisch 1% Natriumhypochlorit enthält. Zur vollständigen Desinfektion 30 Minuten einwirken lassen.
5. Angaben über mögliche Gefahren, Erste-Hilfe-Maßnahmen, Maßnahmen bei unbeabsichtigter Freisetzung von größeren Mengen, Handhabung und Lagerung, persönliche Schutzausrüstung, Hinweise zur Entsorgung sowie Angaben zur Toxikologie sind in den Sicherheitsdatenblättern dokumentiert.
6. Der Eintritt von Staub und anderen Verschmutzungen in die Kavitäten der MTP ist zu vermeiden, da daraus ungültige Ergebnisse resultieren können.

Gewinnung, Handhabung und Lagerung der Patientenprobe

1. Der **SARS-CoV-2 VOC ViraChip® IgG Test Kit** ist mit humanem Serum als Probenmaterial durchzuführen.
2. Die Probengewinnung sollte durch medizinisches Fachpersonal nach den geltenden Standards aus Vollblut erfolgen (17).
3. Proben, die mit Hitze vorbehandelt wurden, hämolytisch, ikterisch oder lipämisch sind, können zu ungültigen Ergebnissen führen.
4. Proben dürfen nicht mikrobiell kontaminiert sein.
5. In der Regel können unverdünnte Proben bis zu 5 Tage bei 2-8°C aufbewahrt werden. Für eine Lagerung bis zu 24 Monaten sind die Proben in Aliquots bei mindestens -20°C einzufrieren.

6. Vor Beginn der Testdurchführung sollten die Proben auf Raumtemperatur gebracht werden. Proben nach dem Auftauen vorsichtig mischen und bei Bedarf sichtbare Partikel durch Zentrifugation entfernen.
7. Ein wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden.

© Copyright VIRAMED Biotech AG February 2022 0218/1025

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • D-82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
E-Mail: viramed@viramed.de • www.viramed.de • certified according to ISO 13485

Einschränkungen des Untersuchungsverfahrens

1. Ein positives Testergebnis der jeweiligen Patientenprobe ist als Symptom zu werten. Interpretation und Beurteilung von Testergebnissen dürfen nur durch medizinisches Fachpersonal unter Wertung aller relevanten Daten erfolgen (16).
2. Der Nachweis von SARS-CoV-2 IgG Antikörpern gibt keine Rückschlüsse auf das Vorhandensein einer Immunität gegen das Virus.
3. Ein negatives Testergebnis schließt einen Erregerkontakt bzw. eine Infektion nicht aus.
4. Der Nachweis von spezifischen Antikörpern kann bei Untersuchungen mit verschiedenen Testen bzw. mit verschiedenen Herstellern aufgrund von unterschiedlichen Sensitivitäten, Spezifitäten und Testmethoden zu unterschiedlichen Ergebnissen führen.
5. Bei Immunsuppression gilt eine eingeschränkte Beurteilbarkeit (16).
6. Medikamente und Immunglobulingaben können unspezifische Antikörperreaktionen hervorrufen (16).
7. *In vitro*-Diagnostika dürfen nicht über das angegebene Verfallsdatum hinaus verwendet werden, da zuverlässige Ergebnisse dann nicht mehr gewährleistet sind.
8. Präzises Befolgen der Arbeitsvorschrift ist essentiell für exakte Testergebnisse. Abweichendes Prozessieren wie z.B. ungenügendes Durchführen der Waschschritte kann falsche Ergebnisse verursachen.
9. Der Ansatz von „Poolproben“, bei denen mehrere Seren gemeinsam untersucht werden, ist unzulässig, da bei derartigen Ansätzen die Testsensitivität und -spezifität nicht gewährleistet sind.
10. Aufgrund der erhaltenen Ergebnisse mit RBD, RBDd und RBDo sind keine Rückschlüsse bezüglich einer Infektion mit entsprechender VOC (Variant of Concern) möglich.

Hinweise zu Geräten und Software

1. Bei automatisierter Durchführung müssen für den jeweiligen Prozessortyp von Viramed Biotech AG validierte Arbeitsschritte programmiert und verwendet werden.
2. Bei Verwendung von prozessorspezifischen Verbrauchsmaterialien sind die entsprechenden Konfigurationen nach Herstellerangaben von Viramed Biotech AG freizugeben.
3. Die von Viramed Biotech AG bereitgestellte Geräte- und Softwarekonfiguration darf nicht verändert werden. Jegliche Änderung kann falsche Ergebnisse verursachen.
4. Es ist ausschließlich gerätespezifische Software zu verwenden. Änderungen an Konfigurationsdateien dürfen nur von Viramed Biotech AG durchgeführt werden.
5. Als Messgeräte sind nur von Viramed Biotech AG zugelassene Systeme zu verwenden.
6. Die Auswertung der ViraChip® Microarrays erfolgt ausschließlich über die ViraChip® Software. Eine manuelle/visuelle Auswertung ist nicht möglich.

Literatur

1. RKI Robert Koch Institut: Bericht zu Virusvarianten von SARS-CoV-2 in Deutschland - Stand 07.07.2021, 2021
2. PLANAS, D et al.: Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization., Nature, 2021
3. NIBSC: First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human) NIBSC code: 20/136 Instructions for use (Version 2.0, Dated 17/12/2020), 2020
4. CHI et al.: A neutralizing human antibody binds to the N-terminal domain of the Spike protein of SARS-CoV-2, Science, 2020
5. FANG, L: Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins, Annu Rev Virol, 2016
6. HUANG et al.: Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antivirus drug development for COVID-19, Acta Pharmacologica Sinica, 2020
7. KANG, S et al.: Crystal structure of SARS-CoV-2 nucleocapsid protein RNA binding domain reveals potential unique drug targeting sites., Acta Pharmaceutica Sinica B, 2020
8. KREER et al.: Longitudinal Isolation of Potent Near-Germline SARS-CoV-2-Neutralizing Antibodies from COVID-19 Patients, Cell, 2020
9. KRÜTTGEN, A et al.: Comparison of four new commercial serologic assays for determination ofSARS-CoV-2 IgG, Journal of Clinical Virology, 2020
10. PODBIELSKI , A et al.: MIQ Heft: 35a Infektionsimmunologische Methoden Teil 1, Elsevier Urban & Fischer, 2016
11. OKBA, NMA et al.: SARS-CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients, medRxiv, 2020
12. TOK, TT & TATAR, G: Structures and Functions of Coronavirus Proteins: Molecular Modeling of Viral Nucleoprotein, Int J Virol Infect Dis, 2017
13. WALLS et al.: Elicitation of Potent Neutralizing AntibodyResponses by Designed Protein NanoparticleVaccines for SARS-CoV-2, Cell, 2020
14. XIAOJIE et al.: Stem Cell Research 50 (2021) 102125Available online 15 December 20201873-5061/© 2020 The Author(s).Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license(http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).Neutralizing antibodies targeting SARS-CoV-2 spike protein, Stem Cell Research, 2021
15. YU, IM et al.: Crystal Structure of the Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) Coronavirus Nucleocapsid Protein Dimerization Domain Reveals Evolutionary Linkage Between Corona- And Arteriviridae, J Biol Chem, 2006
16. THOMAS, L: Labor und Diagnose, Med Verlagsgesellschaft Marburg, 2012
17. TUCK, MK et al.: Standard Operating Procedures for Serum and Plasma Collection, J Proteome Res, 2009
18. CHEN, J et al.: Chen, Jiahui, et al. "Omicron (B. 1.1. 529): Infectivity, vaccine breakthrough, and antibody resistance., ArXiv, 2021
19. LUPALA, C et al.: Lupala, Cecylia S., et al. "Mutations on RBD of SARS-CoV-2 Omicron variant result in stronger binding to human ACE2 receptor., Biochemical and Biophysical Research Communications, 2021
20. LUBIN, J et al.: Structural models of SARS-CoV-2 Omicron variant in complex with ACE2 receptor or antibodies suggest altered binding interfaces., bioRxiv, 2021
21. DEJNIRATTISAI, W et al.: SARS-CoV-2 Omicron-B. 1.1. 529 leads to widespread escape from neutralizing antibody responses, Cell, 2022

© Copyright VIRAMED Biotech AG February 2022 0218/1025

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • D-82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
E-Mail: viramed@viramed.de • www.viramed.de • certified according to ISO 13485

Symbolerklärungen

	Hersteller		Bestell-Nummer
	Gebrauchsanweisung beachten		Verwendbar bis / Mindesthaltbarkeitsdatum
	In-Vitro Diagnostikum		Temperaturbegrenzung (Lagerung)
	Chargen-Nummer		Positives Kontrollserum
	Ausreichend für 96 Ansätze		Negatives Kontrollserum

© Copyright VIRAMED Biotech AG February 2022 0218/1025

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • D-82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
E-Mail: viramed@viramed.de • www.viramed.de • certified according to ISO 13485