

Оценка корреляционной связи между результатами исследования образцов плазмы крови доноров-реконвалесцентов, перенесших коронавирусную инфекцию COVID-19, в тест-системах «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)», «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный» и в реакции нейтрализации

Матвеева Е.М., Макарова И.А., Фисенко Н.С., Обрядина А.П.

ООО «Научно-производственное объединение «Диагностические системы», г. Нижний Новгород

Резюме

Проведена работа по оценке корреляционной связи между результатами исследования образцов плазмы крови доноров, перенесших коронавирусную инфекцию COVID-19, в тест-системах «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» и «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный» производства ООО «НПО «Диагностические системы» (г. Нижний Новгород), и в реакции нейтрализации (РН). В качестве объектов исследования использовали 49 образцов плазмы крови доноров-реконвалесцентов COVID-19 с установленным титром вируснейтрализующих антител (ВНА) для каждого образца.

По результатам исследования была установлена статистически значимая корреляция между титром антител класса G к SARS-COV-2 в иммуноферментном анализе (ИФА) и титром ВНА, а также значениями оптической плотности (ОП), коэффициента позитивности (КП) в ИФА и титром ВНА в плазме крови доноров при использовании тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)». Коэффициент корреляции Спирмена составил 0,948 и 0,837 соответственно, при уровне значимости $p < 0,0001$. Чувствительность и специфичность тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» при тестировании образцов от потенциальных доноров гипериммунной плазмы составили 100% и 85,7% соответственно, по критерию титра антител ≥ 1600 , и 100% и 91,4% по критериям $ОП \geq 3,000$ ($КП \geq 9,6$).

Установлена статистически значимая корреляция между концентрацией антител класса G к SARS-COV-2 в тест-системе «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G количественный» и титром ВНА в плазме крови доноров. Коэффициент корреляции Спирмена составил 0,854. Для этой тест-системы установлена концентрация антител класса G к RBD-домену Spike-белка, соответствующая ВНА в титре $\geq 1/160$, которая составила 150 ЕдС/мл (BAU/ml).

Ключевые слова: коронавирус SARS-COV-2, COVID-19, вируснейтрализующие антитела, корреляционная связь

Введение

Информация о кластере случаев пневмонии неясной этиологии в городе Ухань, Китайская Народная Республика, впервые поступила во Всемирную организацию здравоохранения (ВОЗ) 31 декабря 2019 г. Изначально вирусу было присвоено временное название «новый коронавирус 2019 г. (2019-nCoV)». Позднее ВОЗ определила официальное название инфекции, вызванной новым коронавирусом - COVID-19, а Международный комитет по таксономии вирусов (ICTV) присвоил официальное название вирусу - SARS-CoV-2 [1]. В январе 2020 г. ВОЗ объявила вспышку эпидемии, связанной с SARS-CoV-2, чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, а 11 марта 2020 г. объявила принявшее мировой масштаб распространение болезни пандемией.

На сегодняшний день нет средств этиотропной терапии COVID-19 с доказанной эффективностью. Одним из возможных подходов к лечению новой коронавирусной

инфекции, является применение плазмы крови выздоровевших от COVID-19 пациентов, которая содержит антитела к SARS-CoV-2. В основе этого метода лежит концепция пассивной иммунизации. Плазма выздоровевших и гипериммунный иммуноглобулин успешно применялись для лечения инфекций, вызванных другими респираторными вирусами.

В ряде исследований показано, что антитела к спайк белку (S) коронавируса SARS-CoV-2, в особенности к его рецептор-связывающему домену (RBD), обладают нейтрализующими свойствами [2]. Именно этот белок является мишенью большинства стратегий вакцинации и терапии на основе антител. Однако показано, что нуклеокапсидный (N) протеин вируса также содержит эпитопы, к которым определяются нейтрализующие антитела [3,4,5]. В исследовании Grzelak L. et al. при оценке корреляции титров нейтрализующих антител с титрами ИФА, коэффициент корреляции Спирмена, r составил 0,9 и 0,88 с IgG к S-белку и IgG к N-протеину соответственно [3].

В настоящее время очевидна актуальность поиска доступного и эффективного метода отбора доноров антиковидной плазмы, содержащей ВНА к SARS-CoV-2. Для ряда серологических тестов зарубежных производителей показана корреляционная связь с титрами ВНА [6,7]. Для тестов «Ortho Vitros anti-SARS-CoV-2 IgG» (производства «Ortho Clinical Diagnostic», США) и «SARS-CoV-2 IgG II Quant» («Abbott Laboratories», США) проведены исследования по установлению дискриминационных уровней для отбора образцов плазмы, содержащих ВНА [8, 9]. Для тестов отечественного производства, на сегодняшний день, такой информации мало. Временные методические рекомендации министерства здравоохранения Российской Федерации (ВМР МЗ РФ) «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», версия 13.1 (09.11.2021) предписывают использовать плазму реконвалесцентов с титром ВНА 1:160, допускается также использование донорской плазмы с титром 1:80 [10].

Нами было проведено исследование образцов плазмы крови доноров-реконвалесцентов, перенесших инфекцию COVID-19, с целью установления корреляционной связи между титрами ВНА и специфических антител, определяемых методом ИФА и определения уровня специфической активности антител в ИФА, который соответствует титру ВНА, рекомендованному ВМР МЗ РФ (версия 13.1 от 09.11.2021) для клинического применения антиковидной плазмы.

Материалы и методы

При проведении исследования использовали следующие материалы:

- 49 образцов плазмы крови доноров, с установленной вируснейтрализующей активностью в тесте с использованием перmissive культуры клеток (PH) и содержащих вируснейтрализующие антитела (ВНА) в титрах от 1/20 до 1/640;
- 24 образца сыворотки крови доноров, отобранных до ноября 2019.

Использовались следующие тест-системы:

- Тест-система «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)», производства ООО «НПО «Диагностические системы», кат. № S-2442.
- Тест-система «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный», производства ООО «НПО «Диагностические системы», кат. № S-2562.
- Тест-система для определения вируснейтрализующих антител (суррогатный полуколичественный тест нейтрализации) COVID-19 ImmunoRank Neutralization MICRO-ELISA (S2500, Leinco Technologies, Китай). Принцип действия теста – ингибирование связывания рекомбинантного RBD фрагмента спайк белка SARS-CoV-2 с рекомбинантным ангиотензин-превращающим ферментом 2 (ACE2) в присутствии нейтрализующих антител в исследуемой пробе.

Выявление антител класса G к SARS-COV-2 проводили методом ИФА с использованием тест-систем «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» и «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный». Постановку анализа осуществляли согласно инструкции по применению к указанным наборам реагентов.

Статистический анализ данных проводили с помощью программы Analyse-it. Для оценки нормальности распределения результатов использовали тесты Шапиро-Уилка и Андерсона-Дарлинга. Для оценки взаимосвязи между титрами ИФА и РН использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Чувствительность и специфичность тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» и при тестировании образцов от потенциальных доноров гипериммунной плазмы рассчитывали в соответствии с рекомендациями ГОСТ Р 53022.3-2008 [11].

Результаты и обсуждение

В ходе исследования 49 образцов плазмы крови доноров - реконвалесцентов COVID-19 и 24 образца сыворотки крови доноров, отобранных до ноября 2019, были охарактеризованы в наборе COVID-19 ImmunoRank Neutralization MICRO-ELISA (S2500, Leinco Technologies, Китай). Результаты исследования представлены в табл. 1.

Таблица 1.

Результаты исследования образцов сыворотки/плазмы крови в ИФА и в РН

№ образца	Результаты определения ВНА		«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)»,			«ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G количественный»	
	РН, титр	Индекс нейтрализации, %	ОП	КП	титр	ОП	сЕд/мл
1	20	≥20	2,845	9,33	1600	0,464	32,5
2	20	≥20	1,353	4,44	100	0,503	35,8
3	20	≥20	1,419	4,65	100	0,893	74,3
4	40	≥20	2,488	8,16	100	0,594	43,7
5	40	≥20	4,056	13,3	3200	0,515	36,8
6	40	≥20	1,232	4,04	100	1,279	127,6
7	40	≥20	0,234	0,77	<100	0,798	63,8
8	40	≥20	3,621	11,87	3200	0,717	55,4
9	40	≥20	2,914	9,55	1600	0,961	82,4
10	40	≥20	3,63	11,9	1600	0,838	68,1
11	40	≥20	2,388	7,83	100	1,364	141,9
12	80	≥20	3,092	10,14	1600	1,56	179,3
13	80	≥20	3,759	12,32	3200	1,534	173,9
14	80	≥20	3,753	12,3	3200	1,321	134,5
15	80	≥20	3,72	12,2	3200	1,591	185,7
16	80	≥20	3,471	11,38	3200	1,401	148,5
17	80	≥20	3,688	12,09	3200	0,997	86,9
18	80	≥20	3,99	13,08	3200	0,837	68,0
19	80	≥20	3,213	10,53	1600	1,273	126,6
20	80	≥20	3,469	11,37	3200	0,119	6,6

21	80	≥20	3,171	10,4	1600	1,267	125,6
22	80	≥20	3,176	10,41	1600	1,531	173,3
23	80	≥20	3,279	10,75	1600	0,977	84,4
24	80	≥20	3,721	12,2	12800	1,147	107,3
25	80	≥20	3,576	11,72	3200	1,084	98,4
26	80	≥20	4,072	13,35	6400	1,084	98,4
27	80	≥20	3,199	10,49	1600	1,258	124,2
28	160	≥20	3,5	11,48	3200	2,298	385,7
29	160	≥20	3,422	11,22	6400	2,177	343,6
30	160	≥20	3,599	11,8	12800	1,43	153,8
31	160	≥20	4,056	13,3	3200	1,8	234,0
32	160	≥20	3,73	12,23	6400	2,753	578,1
33	160	≥20	3,366	11,04	3200	1,871	252,4
34	160	≥20	3,653	11,98	12800	1,697	209,2
35	160	≥20	3,467	11,37	12800	2,144	332,8
36	160	≥20	3,996	13,1	12800	2,292	383,5
37	160	≥20	4,023	13,19	12800	1,921	265,9
38	160	≥20	4,035	13,23	12800	2,25	368,6
39	160	≥20	4,003	13,12	12800	1,503	167,7
40	160	≥20	3,539	11,6	3200	1,796	233,0
41	160	≥20	3,756	12,31	3200	1,451	157,7
42	160	≥20	3,578	11,73	3200	2,454	445,3
43	320	≥20	3,831	12,56	12800	1,623	192,6
44	320	≥20	3,452	11,32	12800	2,273	376,7
45	320	≥20	3,99	13,08	12800	2,284	380,6
46	320	≥20	3,838	12,58	12800	1,925	267,0
47	320	≥20	3,724	12,21	12800	2,289	382,4
48	640	≥20	3,529	11,57	12800	2,163	339,0
49	640	≥20	3,906	12,81	12800	2,625	518,2
50	<20	<20	0,021	0,07	<100	0,016	<5
51	<20	<20	0,011	0,04	<100	0,023	<5
52	<20	<20	0,006	0,02	<100	0,013	<5
53	<20	<20	0	0	<100	0,018	<5
54	<20	<20	0,005	0,02	<100	0,016	<5
55	<20	<20	0,003	0,01	<100	0,022	<5
56	<20	<20	0,004	0,01	<100	0,022	<5
57	<20	<20	0,009	0,03	<100	0,015	<5
58	<20	<20	0,01	0,03	<100	0,022	<5
59	<20	<20	0,005	0,02	<100	0,014	<5
60	<20	<20	0,006	0,02	<100	0,021	<5
61	<20	<20	0,008	0,03	<100	0,016	<5
62	<20	<20	0,011	0,04	<100	0,018	<5
63	<20	<20	0,003	0,01	<100	0,018	<5
64	<20	<20	0,005	0,02	<100	0,018	<5

65	<20	<20	0,006	0,02	<100	0,021	<5
66	<20	<20	0,006	0,02	<100	0,01	<5
67	<20	<20	0,005	0,02	<100	0,016	<5
68	<20	<20	0,008	0,03	<100	0,015	<5
69	<20	<20	0,008	0,03	<100	0,013	<5
70	<20	<20	0,008	0,03	<100	0,021	<5
71	<20	<20	0,01	0,03	<100	0,017	<5
72	<20	<20	0,011	0,04	<100	0,021	<5
73	<20	<20	0,007	0,02	<100	0,018	<5

Все образцы, содержащие ВНА были определены как положительные в «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» и «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G количественный», и как содержащие нейтрализующие антитела в тесте ингибирования COVID-19 ImmunoRank Neutralization MICRO-ELISA.

Для исследования корреляционной связи между титрами/концентрацией антител в образцах крови доноров, полученных в ИФА и в РН, использовали программу Analyse-it. Сначала проводили исследование выборки на нормальность распределения. Для этих целей использовали тесты Шапиро-Уилка и Андерсона-Дарлинга. Затем оценивалась корреляционная связь между исследуемыми показателями.

Результаты для тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» представлены в таблицах 2-7.

Таблица 2.

Результаты исследования нормальности распределения значений в выборках по данным ИФА и РН

	ИФА	РН
Тест Шапиро-Уилка		
W	0,75	0,70
Уровень значимости (p)	<0,0001	<0,0001
Пройден ли тест на нормальность ($\alpha=0,05$)?	нет	нет
Тест Андерсон-Дарлинга		
A ²	7,93	5,89
Уровень значимости (p)	<0,0001	<0,0001
Пройден ли тест на нормальность ($\alpha=0,05$)?	нет	нет
Численность выборки	73	73

Так как распределение данных не является нормальным, для оценки связи между титрами в ИФА и РН использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Результаты представлены в табл. 3. Корреляция показателей ОП (КП) и титра антител в ИФА с титрами ВНА проиллюстрирована на рис. 1, 2.

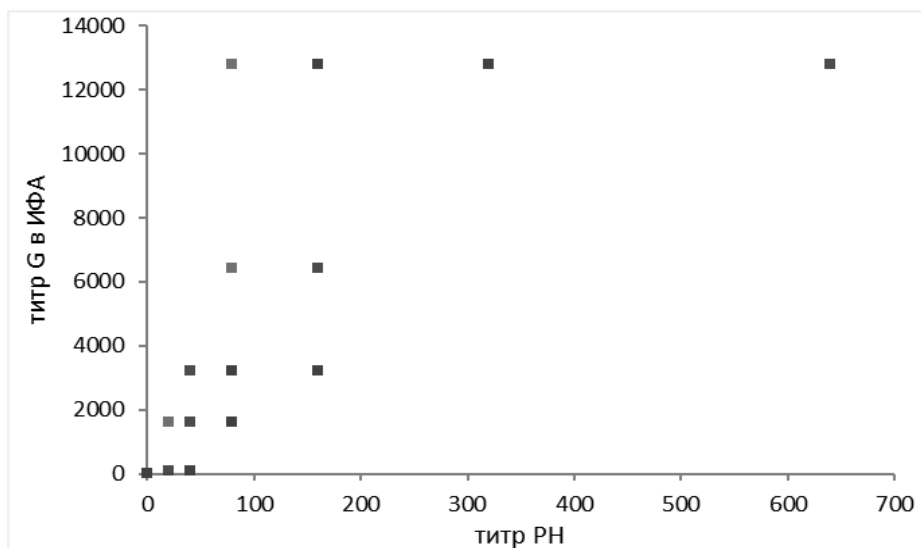


Рис. 1. Корреляция между титрами IgG и ВНА к SARS-CoV-2.

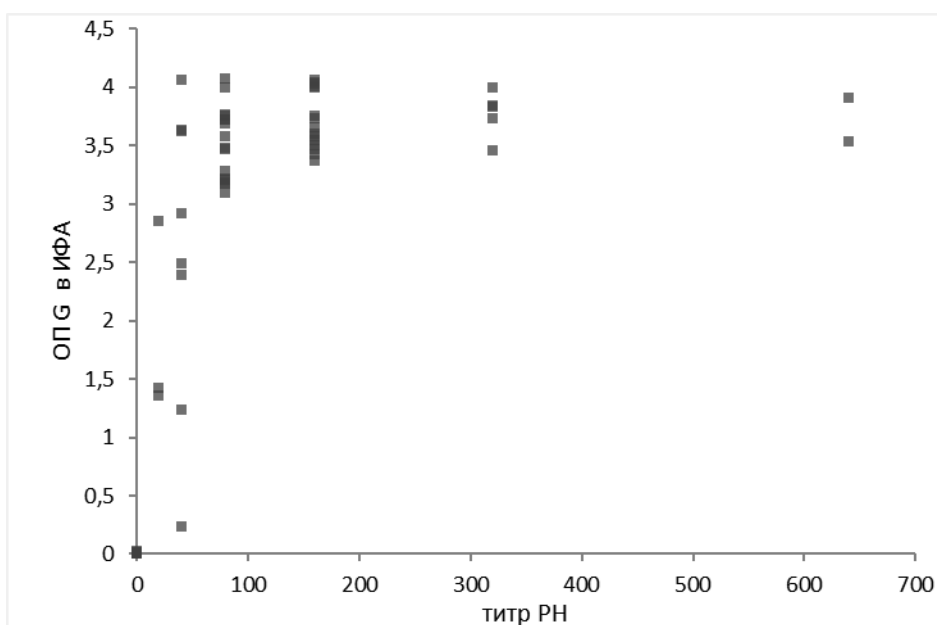


Рис. 2. Корреляция между ОП (КП) образцов, содержащих IgG и титрами ВНА к SARS-CoV-2.

Таблица 3.

Результаты корреляционного анализа методом Спирмена значений, полученных в ИФА и РН

Тест Спирмена	Титр в ИФА – титр в РН	ОП (КП) в ИФА – титр в РН
Коэффициент корреляции (r)	0,948	0,837
95% доверительный интервал	0,916-0,967	0,748-0,896
Уровень значимости (p)	< 0,0001	< 0,0001
Количество пар сравнения	73	73

Коэффициент корреляции Спирмена составил 0,948 и 0,837 при уровне значимости $p < 0,0001$, что свидетельствует о статистически значимой корреляционной связи между

титром IgG в ИФА и титром нейтрализующих антител, а также ОП (КП) в ИФА и титром нейтрализующих антител в плазме крови доноров.

При расчете чувствительности и специфичности тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» для отбора доноров антиковидной плазмы с высокой активностью антител к SARS-CoV-2 (по критериям соответствующих титров антител, ОП (КП) и титров нейтрализующих антител) рассматривали следующие параметры:

- Позитивный результат в ИФА – значение титра антител ≥ 1600 , ОП $\geq 3,000$ (КП $\geq 9,6$)
- Негативный результат в ИФА – значение титра антител < 1600 и ОП $< 3,000$ (КП $< 9,6$)
- Позитивный результат в РН – значение титра нейтрализующих антител ≥ 80
- Негативный результат в РН – значение титра нейтрализующих антител < 80 .

Полученные аналитические характеристики «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» приведены в табл. 4 и 5.

Таблица 4.

Аналитические характеристики «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» для отбора доноров антиковидной плазмы, содержащей ВНА к SARS-CoV-2 по критерию титра антител ≥ 1600

Статус по ИФА	Статус по РН		Всего
	Позитивный, ≥ 80	Негативный, < 80	
Позитивный, титр антител ≥ 1600	38	5	43
Негативный, титр антител < 1600	0	30	30
Всего	38	35	73
Чувствительность, %			100,0
Специфичность, %			85,7
Прогностическая ценность позитивного результата, %			88,4
Прогностическая ценность негативного результата, %			87,5

Таблица 5.

Аналитические характеристики «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» для отбора доноров антиковидной плазмы, содержащей ВНА к SARS-CoV-2 по критерию ОП $\geq 3,000$ (КП $\geq 9,6$)

Статус по ИФА	Статус по РН		Всего
	Позитивный, ≥ 80	Негативный, < 80	
Позитивный, ОП $\geq 3,000$ (КП $\geq 9,6$)	38	3	41
Негативный, ОП $< 3,000$ (КП $< 9,6$)	0	32	32
Всего	38	35	73
Чувствительность, %			100
Специфичность, %			91,4
Прогностическая ценность позитивного результата, %			92,7
Прогностическая ценность негативного результата, %			92,1

При расчете чувствительности и специфичности ИФА тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» для отбора доноров антиковидной плазмы с высокой активностью антител к SARS-CoV-2, по приведенным ниже критериям соответствующих титров антител, ОП (КП) и титров нейтрализующих антител, рассматривали следующие параметры:

Позитивный результат в ИФА – значение титра антител ≥ 3200 и ОП $\geq 3,300$ (КП $\geq 10,6$)

Негативный результат в ИФА – значение титра антител <3200 и ОП< 3,300 (КП<10,6)

Позитивный результат в РН – значение титра нейтрализующих антител ≥ 160

Негативный результат в РН – значение титра нейтрализующих антител <160.

В табл. 6 и 7 приведены полученные аналитические характеристики «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)».

Таблица 6.

Аналитические характеристики «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» для отбора плазм крови с высокой активностью антител к SARS-CoV-2 по критерию титра антител ≥ 3200

Статус по ИФА	Статус по РН		Всего
	Позитивный, ≥ 160	Негативный, <160	
Позитивный, титр антител ≥ 3200	22	12	34
Негативный, титр антител <3200	0	39	39
Всего	22	51	73
Чувствительность, %			100,0
Специфичность, %			76,5
Прогностическая ценность положительного результата, %			64,7
Прогностическая ценность отрицательного результата, %			81,0

Таблица 7.

Аналитические характеристики «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» для отбора плазм крови с высокой активностью антител к SARS-CoV-2 по критерию ОП $\geq 3,300$ (КП $\geq 10,6$)

Статус по ИФА	Статус по РН		Всего
	Позитивный, ≥ 160	Негативный, <160	
Позитивный, ОП $\geq 3,300$ (КП $\geq 10,6$)	22	13	35
Негативный, ОП <3,300 (КП<10,6)	0	38	38
Всего	22	51	73
Чувствительность, %			100
Специфичность, %			74,5
Прогностическая ценность положительного результата, %			62,9
Прогностическая ценность отрицательного результата, %			79,7

В ходе исследования продемонстрированы высокие показатели чувствительности и специфичности тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)», что позволяет эффективно выявлять высокие уровни ВНА к SARS-CoV-2 в сыворотке/плазме крови человека.

В тест-системе «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный» концентрация антител класса G к вирусу SARS-CoV-2 выражена в единицах связывания (BAU/ml)/(ЕдС/мл) относительно Первого международного стандарта ВОЗ по иммуноглобулину, содержащему антитела к SARS-CoV-2, код NIBSC: 20/136 («WHO International Standard First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human) NIBSC code: 20/136»). Для этой тест-системы была установлена концентрация антител к RBD-домену Spike-белка, соответствующая ВНА в титре $\geq 1/160$.

Результаты для тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G количественный» представлены в таблицах 8-9.

Таблица 8.

Результаты исследования нормальности распределения данных в выборках по данным ИФА и РН

Тест Шапиро-Уилка	ИФА	РН
W	0,92	0,70
Уровень значимости (p)	<0,0001	<0,0001
Пройден ли тест на нормальность ($\alpha=0,05$)?	нет	нет

Так как распределение данных не является нормальным, для оценки связи между концентрацией антител (сЕд/мл) в ИФА и РН использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Результаты представлены в табл. 9. Корреляция показателей концентрации IgG, сЕд/мл в ИФА с титрами ВНА проиллюстрирована на рис. 3.

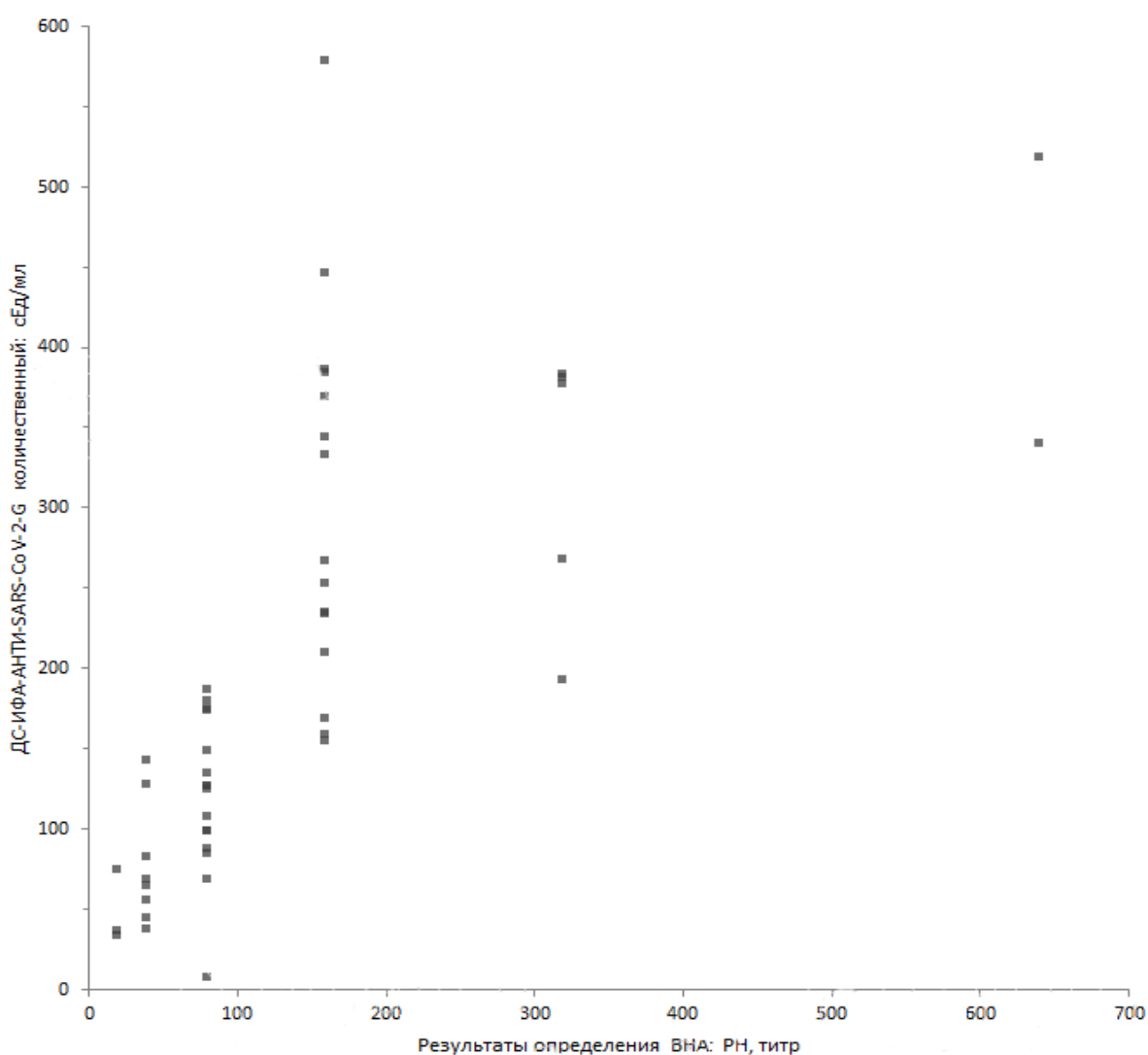


Рис.3. Корреляция между концентрацией IgG, сЕд/мл в ИФА и титрами ВНА к SARS-CoV-2.

Результаты корреляционного анализа методом Спирмена значений, полученных в ИФА и РН

Тест Спирмена	Концентрации IgG, сЕд/мл в ИФА – титр в РН
Коэффициент корреляции (r)	0,854
95% доверительный интервал	0,751-0,917
Уровень значимости (p)	< 0,0001
Количество пар сравнения	73

Заключение

В настоящем исследовании по оценке корреляционной зависимости между результатами исследований образцов плазмы крови доноров-реконвалесцентов, перенесших инфекцию COVID-19, проведенных методом ИФА и в РН, была выявлена значимая корреляция между титрами/концентрацией антител в тест-системах «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)», «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный» и ВНА. Титры антител в ИФА положительно коррелируют с титрами ВНА и ОП образца. Для эффективного отбора образцов антиковидной плазмы, содержащей ВНА в титрах $\geq 1/80$ и $\geq 1/160$ с использованием тест-систем «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» и «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный» установлены критерии значений ОП (КП), титров и концентрации специфических IgG (табл.10).

Таблица10.

Соответствие значений ОП (КП), титров и концентрации антител в ИФА титрам ВНА

Титр ВНА в РН	Значение ОП в ИФА	Значение КП в ИФА	Титр антител в ИФА	Концентрация антител в ИФА, сЕд/мл
$\geq 1/80$	$\geq 3,000$	$\geq 9,6$	$\geq 1/1600$	
$\geq 1/160$	$\geq 3,300$	$\geq 10,6$	$\geq 1/3200$	≥ 150

Для тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G-количественный» концентрация антител класса G, соответствующая ВНА в титре $\geq 1/160$ составляет ≥ 150 ЕдС/мл.

Продемонстрированы высокие показатели чувствительности и специфичности тест-системы «ДС-ИФА-АНТИ-SARS-CoV-2-G (S)» производства ООО «НПО «Диагностические системы» при тестировании образцов биологического материала от потенциальных доноров гипериммунной плазмы.

Литература

1. Диагностическое тестирование для определения вируса SARS-CoV-2. Временные рекомендации ВОЗ от 11 сентября 2020 г. <https://www.euro.who.int/ru/health-topics/health-emergencies/coronavirus-covid-19/publications-and-technical-guidance/2020/diagnostic-testing-for-sars-cov-2-interim-guidance,-11-september-2020>
2. Grigoryan L., Pulendran B. The immunology of SARS-CoV-2 infections and vaccines. *Semin Immunol.* 2020 Aug; 50:101422
3. Sholukh A.M., Fiore-Gartland A., Ford E.S., Hou Y., Tse L.V., Lempp F.A. et al. Evaluation of SARS-CoV-2 neutralization assays for antibody monitoring in natural infection and vaccine trials. *medRxiv*. 2020 Dec 8; 2020. 12.07.20245431. doi: 10.1101/2020.12.07.20245431.Preprint
4. Flehmig B., Schindler M., Ruetalo N., Businger R., Bayer M., Haage A. et al. Persisting neutralizing activity to SARS-CoV-2 over months in sera of COVID-19 patients. *Viruses*. 2020 Nov 27;12(12):1357. doi: 10.3390/v12121357

5. Grzelak L., Temmam S., Planchais C., Demeret C., Tondeur L., Huon C. et al., A comparison of four serological assays for detecting anti-SARS-CoV-2 antibodies in human serum samples from different populations. *Sci Transl Med.* 2020 Sep 2; 12(559):eabc3103. doi: 10.1126/scitranslmed.abc3103. Epub 2020 Aug 17.
6. Luchsinger L.L. Ransegnola B., Jin D., Muecksch F., Weisblum Y., Bao W., et al. Serological analysis of New York City COVID19 convalescent plasma donors. *medRxiv* 2020 Jun 9:2020.06.08.20124792. doi: 10.1101/2020.06.08.20124792. Preprint.
7. Padoan A., Bonfante F., Pagliari M., Bortolami A., Negrini D., Zuin S, et al. Analytical and clinical performances of five immunoassays for the detection of SARS-CoV-2 antibodies in comparison with neutralization activity. *EBioMedicine.* 2020 Dec;62:103101. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.103101. Epub 2020 Nov 4.
8. Emergency Use Authorization (EUA) for the emergency use of COVID-19 convalescent plasma for the treatment of hospitalized patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), pursuant to Section 564 of the Act.3, August 23, 2020, the Food and Drug Administration (FDA) <https://www.clinicaltrials.gov/>
9. Материалы 36-го Конгресса Международного общества переливания крови (ISBT) от 16.12.2020.
10. Временные методические рекомендации министерства здравоохранения РФ «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19), версия 13.1 от 09.11.2021 г. – 235 с.
11. ГОСТ Р 53022.3-2008. Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов. <http://docs.cntd.ru/document/120007256>.