

Respuesta frente a la pandemia por SARS CoV-2 en Córdoba: Detección de anticuerpos neutralizantes en individuos recuperados en el territorio de la provincia.

El objetivo del presente documento es dar conocimiento público a las distintas reparticiones de Salud de la provincia y del resto del territorio nacional, sobre resultados preliminares de la detección de anticuerpos neutralizantes anti-SARS CoV-2 en Córdoba, en un grupo de individuos recuperados de la infección. La información que se muestra en este documento forma parte de los datos obtenidos en el trabajo conjunto entre el Instituto de Virología “Dr. J. M. Vanella” (InViV) de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba, el Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba, el Laboratorio Central de la Provincia de Córdoba, el Hospital Rawson de Córdoba y el Centro de Plasmaféresis provincial, quienes se encuentran trabajando en forma conjunta y coordinada para dar respuesta a las necesidades diagnósticas en el contexto de la actual epidemia. Consideramos que es importante compartir la información contenida en este documento, ya que la misma es tenida en cuenta actualmente para la toma de decisiones diagnósticas y terapéuticas en la provincia y, por lo tanto, podría ser de utilidad en todo el territorio nacional.

Grupo de Trabajo

Facultad de Cs. Médicas, UNC: Decano Dr. Rogelio Pizzi. Instituto de Virología “Dr. J. M. Vanella”, Facultad de Ciencias Médicas, UNC: Dra. Sandra Gallego, Bioq. Sebastián Blanco, Dr. Adrián Díaz, Dra. Lorena Spinsanti, Dra. Brenda Konigheim, Bioq. Javier Aguilar, Dra. Viviana Ré, Dra. Silvia Nates.

Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba: Ministro de Salud Dr. Diego Cardozo; Secretaria de Prevención y Promoción de la Salud Bioq Esp. Virol María Gabriela Barbás, Mg Laura López, Dra. Patricia González, Lic. Magalí Savoretti.

Laboratorio Central, Ministerio de Salud: Dra. Natalia Altamirano, Bioq. Esp. Virol. Soledad Almada, Bioq. Esp. Virol. Gonzalo Castro, Bioq. Esp. Virol. Paola E Sicilia, Bioq. Esp. Parasit. Susana Gignard, Bioq. Esp. Virol. Mariel Borda.

Hospital Rawson: Med. Esp. Infect. Miguel Díaz, Bioq. Esp. Hematol. César Collino.

Centro de Plasmaféresis de la Provincia de Córdoba: Med. Esp. Gustavo Visintín y Med. Esp. Lorena Espil.

Metodología de estudio

Detección de Anticuerpos anti-SARS CoV-2.

Se utilizan pruebas serológicas destinadas a la detección de anticuerpos anti-SARS CoV-2 autorizadas en el marco de la emergencia sanitaria por ANMAT y técnicas de diagnóstico virológico desarrolladas y estandarizadas recientemente en el InViV, en el marco del convenio de cooperación con el Ministerio de Salud de la provincia de Córdoba.

Las técnicas comerciales empleadas son: SARS-COV-2 IgG (CMIA, Abbott, Irland) y el test rápido (TR) 2019-nCoV Ab test (Innovita, Biological Technology Co, China). Las técnicas virológicas implementadas disponibles son: Inmunofluorescencia indirecta (IFI) para la detección específica de anticuerpos de tipo IgG anti-SARS CoV-2 y Neutralización (NT) para la detección específica y cuantificación de anticuerpos neutralizantes anti-SARS CoV-2. Ambas metodologías fueron estandarizadas y validadas según protocolos publicados previamente y experiencia previa adquirida con otros sistemas virales (Zhou et al 2020; Spinsanti et al 2001, 2003, 2005, 2011; Moreno et al 2013; Gallego et al, 1997; Gastaldello et al, 1999; Burgueño et al 2018; Cardozo et al 2018, Díaz et al 2016).

La técnica de NT actualmente utilizada en Córdoba fue desarrollada y estandarizada en el InViV para la evaluación de los plasmas de convalecientes (PC), mediante la detección y cuantificación de anticuerpos neutralizantes. Si bien para los protocolos de utilización de dichos plasmas inmunes en el tratamiento de COVID-19 no hay aún un consenso internacional, se recomienda realizar la determinación de anticuerpos neutralizantes en los mismos para su correcta utilización terapéutica. En este sentido, la OMS recomienda, de ser posible, la determinación de anticuerpos neutralizantes en plasmas a ser utilizados en el tratamiento de infecciones emergentes (WHO, 2017). Además, en estudios realizados en China se determinó que no hay correlación al comparar los títulos de anticuerpos neutralizantes por NT en los PC con la detección cuantitativa de anticuerpos tipo IgG en los mismos por otras técnicas serológicas, por lo tanto, la detección de anticuerpos tipo IgG totales contra SARS-CoV-2 no demostraría la

capacidad neutralizante del plasma (Handbook of COVID-19 Prevention and Treatment, 2020). En este sentido, cabe aclarar que en otros países se están utilizando actualmente técnicas de ELISA para la detección de anticuerpos neutralizantes, pero las mismas, han sido previamente validadas frente a técnicas de NT gold standard, determinando su capacidad para la detección de estos anticuerpos y el rango de lecturas que son equivalentes a determinados títulos de anticuerpos neutralizantes (Wajnberg et al, 2020). Así, la utilización de otras técnicas serológicas diferentes a la NT es posible pero requiere de la validación previa de la misma frente a la técnica de referencia.

En la población de individuos recuperados, se realiza un screening inicial por la técnica SARS-COV-2 IgG (CMIA). Las muestras que resultan Reactivas por esta técnica son estudiadas por la técnica de NT, a los fines de determinar cuáles de estos individuos desarrollaron anticuerpos neutralizantes y podrían ser, por lo tanto, potenciales donantes de plasma inmune. Todas las muestras No Reactivas por CMIA, son estudiadas actualmente por IFI para evaluar la presencia de anticuerpos anti-SARS CoV-2, los cuales podrían no ser detectados por la técnica comercial debido a la naturaleza de su configuración antigénica.

Estudio de excreción e infectividad viral

Con el objeto de determinar el tiempo de excreción de virus infeccioso en los pacientes con detección prolongada del ARN viral, se inoculan en cultivos de células VERO muestras de hisopados nasofaríngeos de dichos pacientes para los estudios de infectividad, evaluándose la aparición de efecto citopático (ECP). Luego de la aparición del ECP, la identificación del agente se realiza en el sobrenadante del cultivo por detección del ARN viral mediante RT-PCR. Se inocularon, hasta el momento, 11 muestras de pacientes internados con detección variable de ARN viral. Las muestras corresponden a individuos que, desde el inicio de los síntomas a la fecha de toma de muestra, se encontraban en: uno, el día 16 de infección, dos en el día 18, uno en el día 19, uno en el día 24, uno en el día 25, uno en el día 35, uno en el día 45, uno en el día 51 y el último en el día 54. Los individuos son todos mayores de 60 años y se encuentran actualmente internados.

Resultados

Individuos recuperados evaluados para donar plasma

A la fecha de realización del presente informe en el ámbito de la provincia de Córdoba había 315 individuos recuperados de COVID 19, entre los cuales, 57 que eran potencialmente elegibles para donación de plasma convaleciente, fueron estudiados para evaluar la presencia y cantidad de anticuerpos neutralizantes. El screening

serológico para la detección de IgG anti-SARS CoV-2 (CMIA) resultó Reactivo para 45 muestras. Las muestras No Reactivas fueron evaluadas por IFI, detectándose anticuerpos anti-SARS CoV-2 en 9 (75%) de ellas. Todas las muestras fueron estudiadas por la técnica de NT y los resultados se muestran en la tabla I.

Un resultado a destacar es que el 33% (19/57) de los individuos recuperados estudiados no desarrollaron anticuerpos neutralizantes al momento del estudio. De estos individuos sin anticuerpos neutralizantes, 8 (42%) tuvieron resultados reactivos por la técnica de CMIA. Además, hubo una gran dispersión en los valores por CMIA para las muestras con altos, intermedios y bajos títulos de anticuerpos neutralizantes, no existiendo, por lo tanto, correlación entre estas lecturas y las concentraciones de anticuerpos con propiedades neutralizantes.

Tabla I. Anticuerpos neutralizantes en individuos recuperados de COVID-19 en Córdoba.

Id	Días de evolución desde el inicio de los síntomas	Architect (CMIA)*	IFI	Anticuerpos Neutralizantes NT
R1	55	0,12	Positivo	Negativo
R2	59	1,44	Positivo	Negativo
R3	68	1,15	Positivo	Negativo
R4	79	1,93	ND	Negativo
R5	68	0,19	Positivo	Negativo
R6	69	0,34	Positivo	Negativo
R7	30	0,69	Positivo	Negativo
R8	81	0,81	Positivo	Negativo
R9	68	1,82	ND	Negativo
R10	65	0,01	Negativo	Negativo
R11	70	1,39	Positivo	Negativo
R12	73	2,96	ND	Negativo
R13	74	0,85	Positivo	Negativo
R14	52	1,82	Positivo	Negativo
R15	58	0,08	Negativo	Negativo
R16	36	0,02	Negativo	Negativo
R17	36	2,50	Positivo	Negativo
R18	N/A	2,22	Positivo	Negativo
R19	N/A	6,26	ND	Negativo
R20	48	3,04	ND	1/10#
R21	68	4,56	ND	1/10
R22	68	3,69	ND	1/10
R23	76	3,62	Positivo	1/10

R24	73	3,53	ND	1/10
R25	70	1,14	Positivo	1/10
R26	55	4,03	ND	1/10
R27	69	1,72	ND	1/10
R28	65	8,35	ND	1/10
R29	34	3,83	Positivo	1/10
R30	N/A	1,77	Positivo	1/10
R31	26	3,17	ND	1/10
R32	N/A	7,58	ND	1/10
R33	72	5,38	ND	1/20
R34	N/A	6,90	ND	1/20
R35	54	3,30	ND	1/20
R36	N/A	6,49	ND	1/20
R37	32	5,62	ND	1/20
R38	21	4,74	Positivo	1/20
R39	70	8,05	ND	1/40
R40	58	9,42	Positivo	1/40
R41	70	4,11	ND	1/40
R42	69	5,72	ND	1/40
R43	N/A	6,52	ND	1/40
R44	23	7,68	ND	1/40
R45	N/A	6,94	ND	1/40
R46	49	4,29	ND	1/80
R47	66	6,25	ND	1/80
R48	68	7,94	ND	1/80
R49	75	1,83	ND	1/80
R50	42	5,77	ND	1/80
R51	N/A	6,02	ND	1/80
R52	N/A	6,55	ND	1/80
R53	24	8,14	ND	1/80
R54	N/A	6,91	ND	1/80
R55	N/A	6,96	ND	1/80
R56	62	6,65	ND	1/160
R57	36	8,32	ND	1/320

ND= No Realizado; N/A= No aplica; *Valor de corte CMIA: 1,4; #Título de anticuerpos neutralizantes.

Evaluación de anticuerpos neutralizantes en pacientes internados

Se está estudiando la presencia de anticuerpos neutralizantes en pacientes internados, por un lado, para aportar al conocimiento de la cinética de dichos anticuerpos y, por el otro, para identificar potenciales donantes de plasma tempranamente, previo al alta

microbiológica. Se observó heterogeneidad en el título de anticuerpos independientemente de los días de evolución desde el inicio de los síntomas. Los títulos más altos ($> 1/160$) fueron detectados en adultos mayores a 60 años.

Tabla II. Anticuerpos neutralizantes en pacientes internados.

ID	Edad	Días Evolución	TR IgM	TR IgG	Título AcN
P1	73	18	Reactivo	Reactivo	Negativo
P2	54	7	Reactivo	Reactivo	1/10#
P3	25	21	Reactivo	Reactivo	1/20
P4	64	40	No Reactivo	Reactivo	1/20
P5	39	36	Reactivo	Reactivo	1/20
P6	39	37	Reactivo	Reactivo	1/20
P7	62	45	Reactivo	Reactivo	1/20
P8	77	24	Reactivo	Reactivo	1/40
P9	23	28	Reactivo	Reactivo	1/40
P10	23	39	Reactivo	Reactivo	1/40
P11	33	15	Reactivo	No Reactivo	1/40
P12	36	7	Reactivo	No Reactivo	1/40
P13	70	40	Reactivo	Reactivo	1/80
P14	25	21	No Reactivo	Reactivo	1/80
P15	71	40	Reactivo	Reactivo	1/160
P16	62	23	Reactivo	Reactivo	1/320
P17	60	15	No Reactivo	Reactivo	1/320
P18	64	40	No Reactivo	Reactivo	1/640
P19	60	45	Reactivo	Reactivo	$>1/640$

Título de anticuerpos neutralizantes.

Estudio de excreción e infectividad viral

Los estudios de aislamiento viral están en desarrollo. Las muestras de los pacientes enrolados fueron inoculadas en los cultivos celulares y se realizó el seguimiento diario de los mismos para la observación de ECP. Hasta el momento, se descartó la presencia de virus viable en 10/11 muestras estudiadas.

Conclusiones

Se observó, que al momento del estudio, más del 30% de los individuos recuperados de COVID-19 en Córdoba no tenían anticuerpos neutralizantes y, de los que desarrollaron estos anticuerpos, la mayoría tienen títulos considerados bajos a los fines terapéuticos (entre 1/10 y 1/40). Se realizará una evaluación en el tiempo a estos individuos, ya que el aumento tardío de los títulos de anticuerpos neutralizantes ya ha sido descrito para esta infección viral (Wajnberg et al, 2020). Los potenciales donantes que estén en esta

situación serán, por ello, diferidos por 20 días y reevaluados. Cabe aclarar que, la mayoría de los individuos recuperados en el ámbito de la provincia de Córdoba descriptos en este documento y que cumplirían con los criterios de selección de donantes, cursaron cuadros leves de infección por SARS CoV-2. En una publicación reciente, Long et al. comunicaron los resultados de un estudio, según el cual, los individuos asintomáticos tienen una respuesta inmune más débil a la infección por SARS-CoV-2 y presentan una reducción en los niveles de anticuerpos IgG y neutralizantes en la fase de convalecencia temprana (Long et al, 2020). Nuestros resultados preliminares coinciden con esta afirmación. En contraste con esto, durante las etapas iniciales del estudio de la presencia de anticuerpos neutralizantes en pacientes internados, se detectaron pacientes COVID-19 con títulos elevados de anticuerpos neutralizantes. Por otro lado, entre los internados, los mayores de 60 años han desarrollado los títulos más altos ($>1/160$) al momento de la observación. Estos datos son coincidentes con reportes que sostienen que los títulos de anticuerpos neutralizantes son mayores en quienes han cursado cuadros más graves y tienen más edad (Wu et al, 2020; Wang et al, 2020).

Un resultado muy importante a considerar es que hay una gran dispersión en las lecturas de CMIA en relación con los títulos de anticuerpos neutralizantes por NT, por lo cual, no habría correlación entre dichos valores y la presencia y/o concentración de anticuerpos neutralizantes en los plasmas de los individuos convalecientes. En este sentido, si bien la mayoría de los individuos con títulos de anticuerpos neutralizantes mayores a $1/80$ tienen lecturas por CMIA mayores a 4, lecturas iguales o mayores a 4 se encuentran frecuentemente en muestras con títulos de anticuerpos neutralizantes de hasta $1/10$. Además, hay que destacar que en el grupo de individuos recuperados que no tenían anticuerpos neutralizantes por NT, el 42% resultaron reactivos por CMIA. Es por lo tanto necesario contar con una técnica que tenga probada sensibilidad para la detección y cuantificación de anticuerpos con propiedades neutralizantes, a fin de que los plasmas destinados a transfusión sean correctamente evaluados, por un lado, para optimizar la utilización de este escaso recurso y, por el otro, para que se pueda realizar una evaluación adecuada de la efectividad del tratamiento.

Por último, la técnica de aislamiento viral puesta en marcha en Córdoba, es una herramienta muy valiosa que está siendo utilizada para estudios de viabilidad viral, lo cual tiene una gran relevancia para tomar decisiones en el contexto del manejo de los pacientes COVID-19 y para orientar las medidas a adoptar para la prevención de la diseminación de la infección. Se ha demostrado que, en algunos individuos que cursan infección por SARS CoV-2, el genoma viral puede detectarse durante varias semanas luego de la resolución de los síntomas. En un estudio publicado por Wajnberg et al, el

tiempo máximo de detección por PCR de RNA SARS CoV- 2 fue de 43 días desde el inicio de los síntomas y 28 días desde la resolución de los síntomas (Wajnberg et al, 2020). Respecto de este hallazgo, se ha postulado que la detección prolongada del genoma viral en estos individuos podría representar la eliminación de virus no viable o de fragmentos del genoma no infeccioso. En una publicación reciente Wölfel et al comunicaron que *"Para comprender la infectividad, intentamos el aislamiento de virus vivo en múltiples ocasiones a partir de muestras clínicas. Mientras que el virus se aisló fácilmente durante la primera semana de síntomas de una fracción considerable de muestras (16,66% de hisopos y 83,33% de muestras de esputo) no se obtuvieron aislamientos de las muestras tomadas después del día 8, a pesar de las altas cargas virales en curso"* (Wölfel et al, 2020). Coincidentemente, en el estudio más extenso publicado hasta ahora sobre este tema, investigadores de Manitoba, Canadá, analizaron 90 muestras positivas para RNA SARS CoV-2 por RT PCR y observaron la presencia de virus viable a través de la infectividad de SARS CoV-2 en células VERO, solo en las muestras que tenían Ct < 24 (resultado de RT PCR) y menos de 8 días de evolución desde el inicio de los síntomas. Según los autores, *"en las muestras de hisopado en el día 8 o más allá del inicio de los síntomas, el virus ya no podía crecer en cultivo celular"*. En línea con estas publicaciones, un comunicado emitido por el Centro Nacional de Enfermedades Infecciosas de Singapur y la Academia de Medicina de Singapur sostiene que *"En un estudio local de una cohorte multicéntrica de 73 pacientes con COVID-19, cuando el valor de Ct era 30 o superior (es decir, cuando la carga viral es baja), no se encontró ningún virus viable (basado en la capacidad de cultivar el virus). Además, el virus no pudo aislarse o cultivarse después del día 11 de la enfermedad"*. Estos resultados tienen grandes implicancias en materia de salud pública referente al manejo del paciente COVID-19, principalmente en términos de orientación de cuándo los individuos con SARS-CoV-2 recuperados deben terminar con el autoaislamiento, como así también, en políticas de prevención y control de la infección. Con el objetivo de aportar datos científicos regionales y contribuir al conocimiento de la dinámica viral que permita generar u orientar políticas de salud pública, pero además permitan dilucidar aspectos de la historia natural de la infección, estamos realizando en Córdoba estudios de infectividad viral en pacientes infectados por SARS CoV-2 que presentan detección de genoma viral prolongada.

Referencias

- Bullard J, Dust K, Funk D, Strong JE, Alexander D, et al: Predicting infectious SARS CoV 2 from diagnostic samples. Published by Oxford University Press for the Infectious Diseases Society of America. 2020 <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa638>.

- Burgueño, Analía; Frabasile, Sandra; Díaz, Adrian; Cabrera, Andrés; Pisano, María; Rivarola, María; Contigiani, Marta; Delfraro, Adriana. Genomic characterization and seroprevalence studies on alphaviruses in Uruguay. *Am J Trop Med Hyg.* 2018. doi:10.4269/ajtmh.17-0980.
- Cardozo F, Konigheim B, Albrieu-Llinás G, Rivarola ME, Aguilar J, Rojas A, Quaglia AI, Paez M, Guillén Y, Diaz A, Vallejos MA, Herebia L, Recalde ML, Contigiani MS, Mendoza L. Alphaviruses: Serological Evidence of Human Infection in Paraguay (2012–2013). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2018;18(5):266-272. doi: 10.1089/vbz.2017.2178.
- Diaz LA, Quaglia AI, Konigheim BS, Boris AS, Aguilar JJ, Komar N, Contigiani MS. Activity Patterns of St. Louis Encephalitis and West Nile Viruses in Free Ranging Birds during a Human Encephalitis Outbreak in Argentina. *PloS One.* 2016;11(8):e0161871. Doi: 10.1371/journal.pone.0161871.
- Gallego S, Alejandra Recalde, René Gastaldello, María Isa, Silvia Nates, Silvia Medeot. Kinetics study of Human Retrovirus antigens expression in T lymphocytic cell lines by indirect immunofluorescence assay. *Viral Immunology.* 10 (3):149-157, 1997.
- Gastaldello R., Gallego S., Isa M., Nates S., Medeot S. Efficiency of Indirect Immunofluorescence assay as a confirmatory test for the diagnosis of human Retrovirus infection (HIV-1 and HTLV-I/II) in different at risk populations. *Journal Sao Paulo Institute of Tropical Medicine* 41(3):159-164, 1999.
- Handbook of COVID-19 Prevention and Treatment. The First Affiliated Hospital, Zhejiang University School of Medicine. Compiled According to Clinical Experience (file:///F:/Desktop/coronavirus/paper%20para%20plasma%20hiperinmune/Handbook-of-COVID-19-Prevention-en-Mobile.pdf.pdf).
- Long Q, Tang X, Shi Q, Li Q, Deng H et al: Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Natura Medicine* 2020 <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0965-6>
- Moreno C, Marcos Balangero, María G. Barbás, Analía Cudolá y Sandra Gallego. Diagnóstico serológico de HTLV-1/2: combinación de técnicas de tamizaje para definir el estatus serológico en donantes de sangre. *Rev Argent Microbiol.* 2013;45(3):145-148.
- Position Statement from the National Centre for Infectious Diseases and the Chapter of Infectious Disease Physicians, Academy of Medicine, Singapore – 23 May 2020 [https://www.ams.edu.sg/view-pdf.aspx?file=media%5c5556_fi_331.pdf&ofile=Period+of+Infectivity+Position+Statement+\(final\)+23-5-20+\(logos\).pdf](https://www.ams.edu.sg/view-pdf.aspx?file=media%5c5556_fi_331.pdf&ofile=Period+of+Infectivity+Position+Statement+(final)+23-5-20+(logos).pdf)
- Spinsanti L, Ré V.,Aguilar J, Contigiani M. An indirect immunofluorescence assay to detect antibodies against St. Louis encephalitis virus. *Rev.Inst.Med.trop.S.Paulo* 2001; 43(6): 339-340.

- Spinsanti, L, Ana L. Basquiera, Sebastián Bulacio, Stephano C. H. Kim, Verónica Somale,† Viviana Ré,* Damián Rabbat, Abel Zárate, Santiago Palacio, Juan C. Zlocowski, Carlos Quiroga Mayor, and Marta Contigiani. St. Louis Encephalitis in Argentina: the First Case Reported in the Last Seventeen Years. *Emerging Infectious Diseases* 2003 9 (2): 271-273.
- Spinsanti L, LA Diaz, N Glatstein, S Arselan, MA Morales, A Farias, C Fabbri, J Aguilar, V Ré, M Frías, W Almirón, E Hunsperger, M Siirin, A Travassos da Rosa, R B Tesh, D Enría and M Contigiani. Human outbreak of St. Louis encephalitis detected in Argentina, 2005 *Journal of Clinical Virology* vol.42:27:33.2008 ISSN 1386-6532
- Spinsanti L, Farías AA, Aguilar Jj, Díaz MP, Contigiani M. Immunoglobulin G subclass antibody responses in St.Louis encephalitis virus infections. *Arch Virol* 156:129-13,2011.
- Wajnberg A, Mansour M, Leven E, Bouvier N, Patel G, et al. Humoral immune response and prolonged PCR positivity in a cohort of 1343 SARS CoV 2 patients in the New York City Region. May 5, 2020. medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.04.30.20085613>
- Wang X, Guo X, Xin Q, Pan Y, Li J, et al: Neutralizing Antibodies Responses to SARS CoV 2 in covid-19 Inpatients and convalescent patients. COVID-19 SARS-CoV-2 preprints from medRxiv and bioRxivDoi<https://doi.org/10.1101/2020.04.15.20065623>
- WHO Blood Regulators Network (BRN) Position Paper on Use of Convalescent Plasma, Serum or Immune Globulin Concentrates as an Element in Response to an Emerging Virus*https://www.who.int/bloodproducts/brn/2017_BRN_PositionPaper_ConvalescentPlasma.pdf?ua=1.
- Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S et al: Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* 2020;581:465-649 doi: 10.1038/s41586-020-296-x
- Wu F, Wang A, Liu M, Wang Q, Chen J et al: Neutralizing antibodies responses to SARS CoV 2 in a Covid-19 recoverd patient cohort and their implication. COVID-19 SARS-CoV-2 preprints from medRxiv and bioRxivDoi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20047365>
- Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020 Mar;579(7798):270-3.