



Sara Medrano¹
Mercedes Martínez-Rodríguez¹
Luis Vallejo¹
Esther Culebras^{1,2}
Alberto Delgado-Iribarren^{1,2}

Valoración de dos pruebas inmunocromatográficas para la detección de anticuerpos frente a SARS-CoV-2

¹Department of Clinical Microbiology, IML and IdISSC, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, Spain.

²Department of Medicine, Facultad de Medicina, Universidad Complutense, Madrid, Spain.

Article history

Received: 3 March 2022; Revision Requested: 25 March 2022; Revision Received: 24 June 2022; Accepted: 19 July 2022; Published: 27 September 2022

RESUMEN

Introducción. Las pruebas serológicas han resultado una herramienta de gran valor en el transcurso de la pandemia por SARS-CoV-2, tanto en la detección, apoyando a los métodos moleculares, como en el seguimiento de la respuesta inmune, provocada por la vacunación o por la infección natural. Dentro de todas estas técnicas, las pruebas rápidas resultan interesantes por su fácil uso, rápida respuesta y bajo coste económico.

Material y métodos. Se evaluaron dos técnicas inmunológicas diferentes: Realy Tech y Mikrogen Diagnostik *recomLine* SARS-CoV-2 IgG. Como técnicas de referencia se utilizaron pruebas automatizadas: SARS-CoV-2 IgG II Quant antibody test y SARS-CoV-IgG assay, ambos de Abbott Diagnostics.

Resultados. Mikrogen Diagnostik fue el que, en conjunto, ofreció mejores resultados ($S=0,985$; $E=0,839$). Las dos técnicas mostraron buenos valores predictivos positivos, pero los valores predictivos negativos de Realy Tech estuvieron lejos de lo deseable.

Conclusiones. Mikrogen Diagnostik *recomLine* SARS-CoV-2 IgG ofreció muy buenos resultados en la detección de anticuerpos frente a SARS-CoV-2 y podría ser utilizada como alternativa a las técnicas automatizadas.

Palabras clave: COVID. SARS-CoV-2. Serología. Prueba rápida.

Evaluation of two immunochromatographic tests for the detection of antibodies against SARS-CoV-2

ABSTRACT

Introduction. Serological tests have been a valuable tool during the SARS-CoV-2 pandemic, supporting molecular methods for detection, and monitoring the immune response, caused by vaccination or by natural infection. Within all these techniques, rapid tests are interesting due to their ease of use, rapid response and low cost.

Methods. Two different immunological techniques were evaluated: Realy Tech and Mikrogen Diagnostik *recomLine* SARS-CoV-2 IgG. SARS-CoV-2 IgG II Quant antibody test and SARS-CoV-IgG assay, both from Abbott Diagnostics, were used as reference techniques.

Results. Mikrogen Diagnostik *recomLine* SARS-CoV-2 IgG shows the best results ($S=0.985$; $E=0.839$). Three techniques offered good positive predictive values, but Realy Tech and Healgen negative predictive values left to be desired.

Conclusions. Mikrogen Diagnostik *recomLine* SARS-CoV-2 IgG showed good results in the detection of antibodies against SARS-CoV-2 and could be used as an alternative to automated techniques

Keywords: COVID. SARS-CoV-2. Serology. Rapid test.

INTRODUCCIÓN

A finales de diciembre de 2019 las autoridades sanitarias de la ciudad de Wuhan (Hubei, China), informaron de una serie de casos de neumonía atípica producida por un nuevo coronavirus. A este nuevo coronavirus se le dio el nombre de SARS-CoV-2, y a la enfermedad que produce se la denominó COVID-19.

Correspondence:
Sara Medrano Pardo
Microbiology Department. Hospital Clínico San Carlos. C/ Martín Lago s/n.
28040-Madrid, Spain
E-mail: smedranopardo@gmail.com

En muy poco tiempo la infección por este coronavirus, que se inició como a un brote aislado, pasó a constituir un problema sanitario de carácter mundial, debido a su rápida capacidad de transmisión a través de secreciones respiratorias [1].

En la mayor parte de casos, la infección por SARS-CoV-2 cursa de manera asintomática o provocando un cuadro pseudogripal. Sin embargo, este nuevo coronavirus también puede ocasionar cuadros de neumonía grave, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), tromboembolismo pulmonar (TEP) y otras complicaciones que pueden conducir a un desenlace fatal para el paciente [2].

La detección de este virus se realiza mayoritariamente por técnicas moleculares y, entre ellas, el principal método diagnóstico, es la RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con retrotranscripción) [3]. Esta técnica resulta muy útil para el diagnóstico de la infección aguda, y, por tanto, para el rastreo y control de brotes. Junto a las pruebas moleculares se han desarrollado distintas pruebas serológicas para la detección de anticuerpos específicos, que resultan interesantes tanto para el diagnóstico a posteriori de pacientes que han pasado la infección, como para evaluar el grado de protección frente a SARS-CoV-2 [4].

En la actualidad, la principal estrategia para romper la cadena de transmisión y terminar con la pandemia causada por el SARS-CoV-2, es la vacunación mundial. Es por ello que ha aumentado en gran medida la utilización de test serológicos, que son de gran utilidad para la determinación de anticuerpos vacunales. Los test serológicos son técnicas sencillas que ofrecen resultados con rapidez y bajo coste económico [5].

En este estudio evaluamos una prueba inmunocromatográfica de flujo lateral y un test de inmunoanálisis en línea, determinando su sensibilidad y especificidad en tres cohortes de

pacientes: la primera integrada por individuos sin vacunar, que no habían pasado COVID; la segunda cohorte, por pacientes a los que se les había detectado la infección, bien por estudios serológicos, bien por PCR; y, el tercer y último grupo, integrado por individuos vacunados con distinto nivel de respuesta a la vacuna. Se evaluó, asimismo, la capacidad de estas técnicas como herramienta de diagnóstico en aquellos laboratorios en los que no se disponga de los medios ni de la tecnología para el diagnóstico molecular.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras y diseño del estudio. Se realizó un estudio retrospectivo, analizando 98 muestras de suero de la colección del Hospital Clínico San Carlos. Las muestras se dividieron en tres grupos distintos: en el grupo A se incluyeron 25 sueros de pacientes que, a priori, no habían pasado enfermedad COVID-19; en el grupo B, 23 sueros de pacientes diagnosticados de infección por SARS-CoV-2 mediante serología o RT-PCR y en el grupo C, 50 sueros de individuos vacunados con distinta respuesta inmunológica. No se aplicaron criterios de exclusión.

La inclusión en cada uno de los grupos se realizó acorde a los resultados obtenidos mediante las técnicas de referencia utilizadas en la rutina del laboratorio de Microbiología.

La determinación cualitativa de IgG anti-NP se llevó a cabo mediante SARS-CoV-IgG assay de Abbott Diagnostics. Las muestras se consideraron positivas cuando el ensayo daba valores >1.4 tal y como recomienda el fabricante. Esta prueba posibilitó la distribución entre los grupos A y B.

Los niveles de anticuerpos frente a la región RBD del SARS-CoV-2 se determinaron mediante la técnica SARS-CoV-2 IgG Quant assay (Abbot Diagnostics) en un equipo ARCHITECT

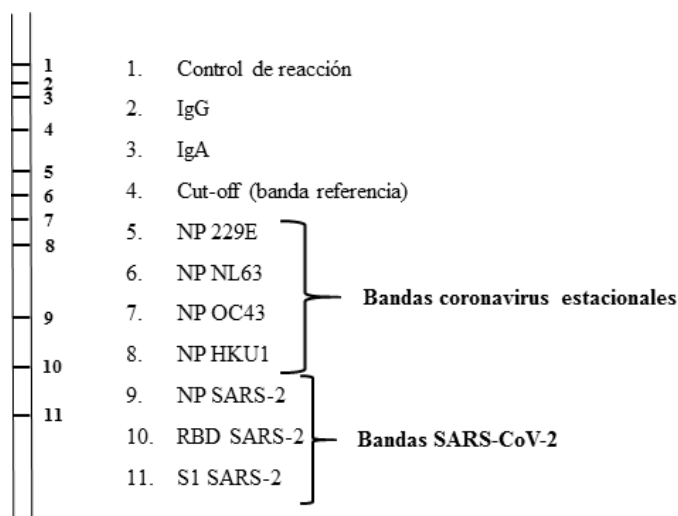


Figura 1 Esquema de bandas de Mikrogen Diagnostik recomLine SARS-CoV-2

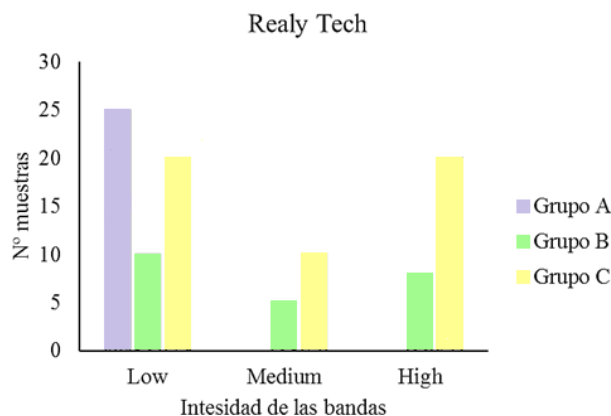


Figura 2 Distribución de los resultados obtenidos por Realy Tech en función del grupo seleccionado y de la intensidad de las bandas.

Tabla 1 Distribución de los resultados obtenidos para las bandas anti N, anti RBD y anti S1 en la técnica Mikrogen Diagnostik recomLine SARS-CoV-2.

	Bandas SARS-CoV-2			
	0 bandas	1 banda	2 bandas	3 bandas
Grupo A	22	1	1	1
Grupo B	3	1	0	18+(1)*
Grupo C	0	0	31+(3)*	4+(12)*

*Positivo débil

i2000. Los resultados se expresaron como Unidades Arbitrarias por mililitro y, tal y como recomienda el fabricante, se consideraron positivos todos los valores superiores a 50 UA/mL. Esta técnica se utilizó para valorar el nivel de respuesta a la vacunación. Este último ensayo también se utilizó en aquellos casos en los que se observaron discrepancias atribuibles a la sensibilidad de la prueba cualitativa.

Técnicas inmunocromatográficas. Se evaluaron dos técnicas inmunocromatográficas diferentes. Realy Tech es una prueba inmunocromatográfica de flujo lateral que detecta anticuerpos frente a la proteína S de SARS-CoV-2. Permite evaluar de manera semicuantitativa el nivel de respuesta, distinguiendo entre respuesta alta (High), respuesta media (Medium) y respuesta baja (Low), en función de la intensidad de las bandas.

Mikrogen Diagnostik *recomLine* SARS-CoV-2 IgG, un inmunoanálisis de línea (LIA) que permite la detección de anticuerpos específicos frente a la nucleoproteína (NP), la región de unión al receptor de la proteína de la espícula (RBD) y la región S1 de esta misma proteína. Asimismo, la tira de detección cuenta con bandas que permiten la identificación de anticuerpos frente a coronavirus estacionales (HCoV: 229E, NL63, OC43, HKU1) (Figura 1).

Ambas técnicas inmunocromatográficas se llevaron a cabo siguiendo las instrucciones de uso de los fabricantes. La lectura de los resultados se realizó mediante evaluación visual, siendo revisada al menos por dos personas diferentes.

Análisis estadístico. Se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) siguiendo sus definiciones y utilizando como técnica de referencia el ensayo cuantitativo de Abbott. El análisis de los datos se realizó mediante el software estadístico IBM SPSS Statistics v.26

RESULTADOS

Realy Tech. Del total de muestras analizadas, 55 (56,1%) dieron señal baja (Low), 15 (15,3%) dieron bandas de intensidad media (Medium) y 28 (28,6%) dieron señal alta (High).

Se pueden observar diferencias entre los resultados en función del grupo que se considere (Figura 2). En el grupo A, las 25 (100%) muestras dieron bandas de intensidad baja. En el grupo B, 10 (43,5%) de las muestras dieron señal baja, 5 (21,7%) dieron bandas de intensidad media y 8 (34,8%) dieron bandas de intensidad alta. En el grupo C se obtuvieron 20

Tabla 2	Valores de sensibilidad y especificidad de las técnicas estudiadas			
	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
Realy Tech	0,627	0,968	0,977	0,545
Mikrogen Diagnostik <i>recomLine S</i>	0,985	0,839	0,93	0,963

VPP: Valor predictivo positivo, VPN: Valor predictivo negativo

(40%) muestras con señal alta, 10 (20%) con señal media y las 20 (40%) restantes dieron intensidad baja. Se analizó la posible relación entre la intensidad de las bandas obtenidas y los niveles de anticuerpos anti-RBD para cada una de las muestras. Los resultados obtenidos indicaron que no existía ningún tipo de relación entre ambos análisis. Así, el rango de IgGs anti-RBD de las muestras con bandas de baja intensidad iba desde 46,3 hasta 61894,8 UA/mL; el de las muestras con bandas de intensidad media desde 325,5-1879,1 UA/mL y el de las muestras con bandas de intensidad alta desde 0 hasta 80000 UA/mL.

Mikrogen Diagnostik; *recomLine SARS-CoV-2 IgG*. Mediante esta técnica se evaluaron tanto la respuesta frente a SARS-CoV-2 como la respuesta frente a la nucleoproteína de cuatro coronavirus estacionales (HcCoV: 229E, NL63, OC43, HKU1),

De las 98 muestras analizadas solo 2 (2,04%) fueron negativas para los cuatro coronavirus estudiados. Las 96 muestras restantes (97,96%), tuvieron señal con, al menos una de las cuatro bandas asociadas a los coronavirus estacionales. La distribución de los resultados fue la siguiente: 2 muestras (2,04%) negativas para todos los coronavirus estacionales, 1 muestra (1,02%) con una banda positiva; 5 muestras (5,1%) con dos bandas positivas; 7 muestras (7,14%) con tres bandas y 83 muestras (84,7%) con señal en las cuatro bandas. La cepa HcCoV-NL63 fue la que se detectó en un mayor número de muestras (95,92%) seguida de HcCoV-OC43 (93,88%), 229E (92,86%) y HKU1 (89,8%).

No se observaron diferencias significativas entre los distintos grupos estudiados.

La respuesta frente a SARS-CoV-2, sin embargo, sí mostró mayor variabilidad en cada grupo.

En el grupo A, 22 sueros (88%) no tuvieron reacción en ninguna de las bandas del SARS-CoV-2. Las 3 muestras restantes (12%) presentaron señal en alguna de las bandas correspondientes a las proteínas específicas de SARS-CoV-2: una de ellas dio señal frente a las tres proteínas (NP, RBD, S1); otra solo frente a NP y la muestra restante dio positivo frente a S1 y RBD. Estos tres sueros habían resultado negativos en el análisis cualitativo de SARS-CoV-2 IgG de Abbott (IgG anti-NP). Con objeto de resolver estas discrepancias se analizaron las tres muestras con el test cuantitativo de Abbott, para determinar la posible presencia de anticuerpos frente a la proteína S. La muestra positiva para las tres proteínas de SARS-CoV-2 incluídas en el ensayo Mikrogen Diagnostik; *recomLine SARS-*

CoV-2 IgG, tuvo un valor claramente positivo con el ensayo de Abbott, no así las dos muestras restantes.

En el grupo B, 19 muestras (84%) fueron positivas para las tres proteínas de SARS-CoV-2 estudiadas en el test. Una muestra (4%) mostró reacción en la banda NP pero no con las correspondientes a las proteínas S1 y RBD; esta muestra no se tuvo en cuenta para los estudios estadísticos posteriores. Las 3 muestras restantes (12%) fueron negativas para las tres bandas de proteínas. Estas 3 muestras fueron también negativas por el ensayo cualitativo de Abbott. La infección de estos pacientes se había confirmado por RT-PCR en el momento en el que acudieron al hospital con clínica compatible con COVID. Para comprobar los resultados negativos del test inmunocromatográfico, las tres muestras se analizaron por el ensayo cuantitativo de Abbott, dando resultado negativo, lo que parece indicar un resultado falso positivo en el momento del diagnóstico. La muestra positiva para NP y negativa para las otras dos proteínas incluídas en las tiras del inmunoanálisis de línea fue claramente positiva por el test cualitativo de Abbott.

En el grupo C, todas las muestras procedentes de individuos vacunados (100%), mostraron bandas positivas de mayor o menor intensidad frente a la proteína S1 y la RBD, incluso aquellas en las que el ensayo cuantitativo de Abbott había dado valores por debajo del punto de corte establecido por la casa comercial.

La banda correspondiente a la proteína NP, que solo debería positivar en aquellos individuos que hubiesen pasado la infección, dio valores positivos (de intensidad variable según la muestra) en 16 (32%) de las 50 muestras incluídas en este grupo. En cuatro de estas 16 muestras, la banda NP-SARS-2 mostró una intensidad claramente superior a la de la banda control. El análisis por SARS-CoV-IgG assay de Abbott Diagnostics reveló que estas cuatro muestras eran claramente positivas, indicando que correspondían a individuos que habían pasado la infección por COVID. De las 12 muestras restantes, 4 dieron valores claramente negativos (<0.1) por la técnica de referencia, los otros 8 dieron valores negativos pero cercanos al punto de corte.

La tabla 1 es un resumen de los resultados obtenidos mediante esta técnica.

Sensibilidad y especificidad de las técnicas evaluadas.

Los datos estadísticos de las pruebas evaluadas se recogen en la tabla 2.

Realy Tech mostró el peor resultado de sensibilidad de las técnicas a estudio; por el contrario, los datos de especificidad fueron los más favorables. La sensibilidad más alta se obtuvo con Mikrogen Diagnostik *recomLine* (con las distintas bandas de la proteína S). En general, las dos técnicas obtuvieron buenos valores predictivos positivos, si bien, salvo en el caso de Mikrogen Diagnostik *recomLine*, los valores predictivos negativos fueron peores de lo esperado.

DISCUSIÓN

La necesidad de control de la pandemia de COVID-19 ha llevado al desarrollo de numerosas técnicas de diagnóstico y seguimiento, con el fin de facilitar el manejo de la infección por este nuevo coronavirus. Dentro de estas técnicas, las pruebas rápidas han jugado un papel esencial debido a su sencillez y fácil manejo, así como su menor coste económico y la rapidez de resultados. Aunque actualmente, en nuestro entorno, la mayor parte de la población ha sido vacuna, infectada o ambas, no podemos olvidar que existen otros lugares en los que el grado de vacunación es mucho menor y en los que no disponen de los recursos o la tecnología necesarias para implementar técnicas automatizadas. Por ello, contar con una técnica de las características de las que se evalúan, puede seguir siendo de gran interés.

Los principales usos de las pruebas serológicas en la infección por SARS-CoV-2 serían la detección de la infección pasada, seguimiento de la respuesta inmune tras la vacunación y como complemento a las técnicas moleculares en el diagnóstico de la infección.

La capacidad de las pruebas serológicas de detectar infecciones pasadas tiene mucha utilidad tanto a nivel epidemiológico (West *et al.* [6]) como para el diseño de vacunas (Galipeau *et al.* [7]). Este estudio es un ejemplo del papel que puede desempeñar la serología para la detección de pacientes asintomáticos.

Son muchas las plataformas tecnológicas que han desarrollado test rápidos para la detección de anticuerpos frente a SARS-CoV-2. Esto hace que sean necesarios estudios que evalúen la utilidad de los mismos en la práctica diaria, por comparación con una técnica de referencia estandarizada y validada. Varios autores (Nicol *et al.* [8] Montesinos *et al.* [9]) han realizado trabajos de este tipo, valorando distintos inmunoensayos por comparación con técnicas de referencia. En la mayoría de los casos se han obtenido muy buenos resultados en la detección de anticuerpos frente al SARS-CoV-2 a los 14 días del inicio de los síntomas de COVID-19. En nuestro caso, las técnicas que se han evaluado son más simples, pero, salvo con las bandas frente a la espícula de Mikrogen diagnostik *recomLine*, los resultados obtenidos son menos prometedores.

Aunque existen diferencias en función del grupo de pacientes considerado, las dos pruebas de flujo lateral han mostrado una sensibilidad y especificidad mejorable. En el caso de Realy Tech debe resaltarse, además, la imposibilidad de discernir visualmente entre el resultado negativo y el "low".

En cuanto a su papel en la respuesta a la vacunación, todos los individuos del grupo de vacunados de nuestro estudio mostraron reacción en las bandas de la proteína S con la técnica de Mikrogen diagnostik *recomLine*. Incluso dos pacientes con valores inferiores al punto de corte establecido con la técnica de referencia (50 UA/mL) mostraron una clara señal en las bandas correspondientes a RBD-SARS-2 y la S1-SARS-2. Sin embargo, no ha sido posible establecer una correlación clara entre los valores obtenidos por la técnica de referencia y la intensidad de las bandas del test de inmunoanálisis en línea.

Diversos autores han resaltado el papel que este tipo de técnicas tiene como complemento de los ensayos moleculares. Así Turbett *et al.* [10] pusieron de manifiesto que la serología es una herramienta que complementa la detección del ARN viral. La detección de ARN es muy sensible en los primeros días después del inicio de la sintomatología, pero esta efectividad cae por debajo del 50% después de 1 semana; por lo contrario, los anticuerpos totales son detectables en el 50% de los pacientes después de la primera semana, y la sensibilidad supera el 90% después de 2 semanas. Por ello las pruebas serológicas resultan adecuadas para respaldar el diagnóstico de infección por SARS-CoV-2.

Los resultados de este estudio concuerdan con estas afirmaciones ya que mediante el análisis serológico se ha podido detectar a un individuo sin constancia previa de infección que, inicialmente, se había incluido en el grupo de pacientes negativos y que, tras las determinaciones llevadas a cabo, se confirmó que había pasado infección de manera asintomática. Cabe destacar también que con la técnica de referencia fueron los anticuerpos frente a la espícula los que revelaron la infección previa y no los anticuerpos frente a la nucleocápside. Este hecho ya había sido constatado por Fedele *et al.* [11], que comprobaron que los anticuerpos anti-S son más duraderos y estables y que, por tanto, son mejores para el diagnóstico de infección pasada.

Sin embargo, debe tenerse en cuenta que aunque los anticuerpos anti-N tienen una vida media corta, son los únicos que sirven para detectar la infección en individuos vacunados y que, además, y gracias a la rapidez con la que se negativizan, pueden ser de gran utilidad para detectar reinfecciones. Dado que las manifestaciones clínicas de la enfermedad no suelen ser tan evidentes en los individuos vacunados o que ya han pasado una infección, la detección de IgG frente a la nucleocápside podría ser un buen recurso para detectarlas, aunque solo sea para fines epidemiológicos. En estos casos, los valores de IgGs anti-RBD con una duración mucho mayor tendrían una utilidad menor.

Como resumen, de las dos pruebas evaluadas, Mikrogen diagnostik *recomLine* es la que ofrece unos resultados más satisfactorios, mostrando los otros dos valores de sensibilidad por debajo de lo que sería deseable. No obstante, dado que los valores de predictivo positivo son aceptables en ambos casos, estas dos técnicas podrían ser de utilidad para detectar positivos en ausencia de otros sistemas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Rafael Sánchez del Hoyo, Unidad de Apoyo Metodológico a la Investigación and Preventive Department, Hospital Clínico San Carlos and Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico San Carlos (IdISSC), por realizar el estudio estadístico.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran no haber recibido financiación para la realización de este estudio.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no presentan ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mojica-Crespo R, Morales-Crespo MM. Pandemia COVID-19, la nueva emergencia sanitaria de preocupación internacional: una revisión. *Semergen*. 2020;46 Suppl 1:65-77. doi:10.1016/j.semerg.2020.05.010
2. Franco-Moreno A, Muñoz-Rivas N, Mestre-Gómez B, Torres-Macho J. Tromboembolismo pulmonar y COVID-19: un cambio de paradigma. *Rev Clin Esp*. 2020;220(7):459-461. doi:10.1016/j.rce.2020.05.006
3. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill*. 2020 Jan;25(3):2000045. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.
4. Labclins. (2021, 10 diciembre). *Serología: tests de anticuerpos para COVID-19*. weblab.immograf.com. <https://www.labclinics.com/2020/09/30/serologia-interpretacion-de-los-tests-de-anticuerpo-para-covid-19/>
5. Gestoso-Pecellín, L., García-Flores, Y., González-Quintana, P., & Marrero-Arencibia, J. L. (2021). Recomendaciones y uso de los diferentes tipos de test para detección de infección por SARS-COV-2. *Enferm Clin*. 2021 Feb;31:S40-S48. doi: 10.1016/j.enfcli.2020.10.001
6. West R, Kobokovich A, Connell N, Gronvall GK. COVID-19 Antibody Tests: A Valuable Public Health Tool with Limited Relevance to Individuals. *Trends Microbiol*. 2021 Mar;29(3):214-223. doi: 10.1016/j.tim.2020.11.002.
7. Galipeau Y, Greig M, Liu G, Driedger M, Langlois MA. Humoral Responses and Serological Assays in SARS-CoV-2 Infections. *Front Immunol*. 2020 Dec 18;11:610688. doi: 10.3389/fimmu.2020.610688.
8. Nicol T, Lefeuvre C, Serri O, Pivert A, Joubaud F, Dubée V, et al. Assessment of SARS-CoV-2 serological tests for the diagnosis of COVID-19 through the evaluation of three immunoassays: Two automated immunoassays (Euroimmun and Abbott) and one rapid lateral flow immunoassay (NG Biotech). *J Clin Virol*. 2020 Aug;129:104511. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104511.
9. Montesinos I, Gruson D, Kabamba B, Dahma H, Van den Wijngaert S, Reza S, et al. Evaluation of two automated and three rapid lateral flow immunoassays for the detection of anti-SARS-CoV-2 antibodies. *J Clin Virol*. 2020 Jul;128:104413. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104413.
10. Turbett SE, Anahtar M, Dighe AS, Garcia Beltran W, Miller T, Scott H, et al. Evaluation of Three Commercial SARS-CoV-2 Serologic Assays and Their Performance in Two-Test Algorithms. *J Clin Microbiol*. 2020 Dec 17;59(1):e01892-20. doi: 10.1128/JCM.01892-20.
11. Fedele G, Stefanelli P, Bella A, Fiore S, Pancheri S, Benedetti E, et al. Anti-SARS-CoV-2 antibodies persistence after natural infection: a repeated serosurvey in Northern Italy. *Ann Ist Super Sanita*. 2021 Oct-Dec;57(4):265-271. doi: 10.4415/ANN_21_04_01. PMID: 35076416.