Lekarz Adam Tworek

Skuteczność leczenia osoczem ozdrowieńców oraz wybrane aspekty odpowiedzi immunologicznej w przebiegu choroby COVID-19

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu

w dyscyplinie nauki medyczne

Promotor: prof. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska

Klinika Chorób Wewnętrznych i Gastroenterologii z Pododdziałem Leczenia Nieswoistych Chorób Zapalnych Jelit

Państwowy Instytut Medyczny Ministerstwa Spraw Wewnętrznych i Administracji w Warszawie

Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych

Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2023

Słowa kluczowe:

SARS-CoV-2, Choroba COVID-19, osocze ozdrowieńców, przeciwciała neutralizujące

Key words:

SARS-CoV-2, COVID-19 disease, convalescent plasma, neutralizing antibodies

Dziękuję serdecznie pani prof. dr hab. n. med. Grażynie Rydzewskiej za pomoc merytoryczną oraz inspirację do napisania tej pracy.

Pracę dedykuję mojej żonie, rodzicom oraz siostrze Ewelinie. Dziękuję za wsparcie.

1. Wykaz publikacji stanowiących pracę doktorską

1. **“Convalescent plasma treatment is associated with lower mortality and better outcomes in high risk COVID-19 patients – propensity score matched case-control study”**

   A. Tworek, K. Jaroń, B. Uszyńska-Kałuża, A. Rydzewski, R. Gil, A. Deptała, E. Franek, R. Wójtowicz, K. Życińska, I. Walecka, M. Cicha, W. Wierzba, A. Zaczyński, Z. J. Król, G. Rydzewska, International Journal of Infectious Diseases, Volume 105, P209-215, April 2021

   Punktacja MEiN: 100 Impact Factor: 12.073

2. **“The persistence of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies after COVID-19: A one-year observation. Is a SARS-CoV-2 vaccination booster dose necessary?”**

   A. Tworek, K. Jaroń, B. Uszyńska-Kałuża, A. Rydzewski, M. Cicha, W. Wierzba, A. Zaczyński, Z. J. Król, G. Rydzewska, Central European Journal of Immunology, 2023; 48 (2)

   Punktacja MEiN: 70, Impact Factor: 1.3

3. **“COVID-19 humoral response”**

   A. Tworek, A. Rydzewski, K. Lewandowski, M. Głuszek-Osuch, G. Rydzewska, Medical Studies, Studia Medyczne, STUD-MED-00696-2023-02

   Punktacja MEiN: 140, Impact Factor: 0.4

Łącznie MEiN: 310, Impact Factor: 13,773

2. Spis treści

3. Spis tabel i rycin

4. Wykaz stosowanych skrótów

ACE-2 *(ang. angiotensin-converting enzyme 2)* – enzym konwertujący angiotensynę 2

ADE *(ang. antibody – dependent enhancement)*- zjawisko wzmocnienia zależnego od przeciwciał

ARDS *(ang. acute respiratory distress syndrome)* – zespół ostrej niewydolności oddechowej

CMIA *(ang. chemiluminescent immunoassay)* – test chemiluminescencji immunologicznej

COVID-19 (ang. coronavirus disease 2019) – ostra choroba zakaźna układu oddechowego wywołana infekcją wirusem SARS-CoV-2

CRS *(ang. cytokine release syndrome)*- sztorm cytokinowy

ECLIA *(ang. electrochemiluminescence)*- elektrochemiluminescencja, metoda diagnostyczna pozwalająca na wykrywanie przeciwciał

EIA *(ang. enzyme immunoassay)* – test immunologiczny enzymatyczny

Ep *(ang. envelope protein)* białko płaszcza wchodzące w skład wirusa SARS-CoV-2

FAB *(ang. fragment antigen-binding region)* region przeciwciała, który łączy się z antygenem

Fc *(ang. fragment crystallizable region)* region przeciwciała, odpowiedzialny za aktywację kolejnych elementów układu odpornościowego

Komórki NK *(ang. natural killer)* komórki wchodzące w skład układu odpornościowego, posiadające cechy naturalnej cytotoksyczności

MEWS *(ang. modified early warning score)* zmodyfikowana skala wczesnego ostrzegania, używana do szacowania przebiegu zachorowania

MIA *(ang. magnetic immunoassay)* magnetyczny test immunologiczny, metoda badania poziomu przeciwciał

Mp (*ang. peptide megapool)* białko membranowe wchodzące w skład budowy wirusa SARS-CoV-2

Nabs *(ang. neutralizing antibodies)* przeciwciała neutralizujące

Np *(ang. nucleocapsid protein)* białko nukleokapsydu, wchodzące w skład budowy wirusa SARS-CoV-2

qPCR *(ang. quantitative polymerase chain reaction)* ilościowa metoda reakcji łańcuchowej polimerazy

PCR *(ang. polymerase chain reaction)* reakcja łańcuchowa polimerazy

RTG zdjęcie rentgenowskie

RT-PCR *(ang. real time polymerase chain reaction)* reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym

SARS-CoV-2 *(ang. severe acute respiratory syndrome coronavirus 2)* drugi wirus ciężkiego ostrego zespołu oddechowego

Sp *(ang. spike protein)* białko kolca, wchodzące w skład wirusa SARS-CoV-2

TMPRSS2 *(ang. transmembrane protease, serine 2)* proteaza transbłonowa seryny, enzym wykazujący aktywność seryny 2

WHO *(ang. World Health Organization)* Światowa Organizacja Zdrowia

5. Streszczenie w języku polskim

SKUTECZNOŚĆ LECZENIA OSOCZEM OZDROWIEŃCÓW ORAZ WYBRANE ASPEKTY ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ W PRZEBIEGU CHOROBY COVID-19

Pandemia choroby COVID-19, która została wywołana przez koronawirusa SARS-CoV-2, została ogłoszona przez Światową Organizację Zdrowia 11 marca 2020 roku. Pierwsze przypadki choroby zostały zaobserwowane w chińskim mieście Wuhan w listopadzie 2019 roku. Nowy patogen nazwano SARS-CoV-2, został wyizolowany oraz zidentyfikowany w styczniu 2020 roku. Pierwszy przypadek zachorowania na COVID-19 w Polsce został potwierdzony w dniu 4 marca 2020 roku. Wirus SARS-CoV-2 jest jednoniciowym wirusem RNA dodatniej polaryzacji, należy do rodziny Coronaviridae. Ma sferyczny kształt i liczne białka kolca na powierzchni, czemu zawdzięcza charakterystyczny wygląd korony oraz swoją nazwę. Jest blisko spokrewniony z innymi koronawirusami, takimi jak SARS-CoV oraz MERS-CoV. Wirus SARS-CoV-2 posiada wysoki potencjał mutacji, co skutkuje identyfikowaniem szerokiej gamy różnych wariantów wraz z czasem trwania pandemii, takimi jak Alfa, Beta, Gamma, Delta czy Omicron. Objawy COVID-19 mogą się różnić, jednak najczęstsze z nich to gorączka, kaszel, ból głowy, uczucie zmęczenia i ból mięśni. Około jedna trzecia osób zainfekowanych nie wykazuje żadnych objawów.

Cel

Badanie miało na celu ocenę efektów terapii osoczem ozdrowieńców pacjentów chorych na COVID-19, hospitalizowanych w szpitalu MSWiA. W ramach obserwacji, oceniano również wpływ takich czynników jak choroby towarzyszące oraz wiek na efekty zastosowanej terapii. Dodatkowym celem była ocena długości trwania odpowiedzi immunologicznej w postaci przeciwciał neutralizujących IgG, skierowanym przeciwko podjednostkom S1/S1 wirusa SARS-CoV-2.

Materiał i metody

W badaniu skuteczności terapii osoczem ozdrowieńców, leczenie to otrzymało 102 pacjentów. Osocze pochodziło od grupy 49 dawców – ozdrowieńców. Badanie trwało od 24 kwietnia 2020 roku do 28 sierpnia 2020 roku. Kryteria kwalifikujące do bycia dawcą osocza pokrywały się z kryteriami dawstwa krwi przyjętymi przez Ministerstwo Zdrowia, musieli mieć potwierdzoną infekcję wirusem SARS-CoV-2 oraz stwierdzone wyleczenie potwierdzone dwoma ujemnymi wynikami testów PCR. Kryterium włączenia do terapii osoczem ozdrowieńców obejmowało zdiagnozowanie aktywnej choroby COVID-19, potwierdzone dodatnim wynikiem testu PCR. Od jednego dawcy można było pozyskać do trzech jednostek osocza, planowano średnią objętość jednostki wynoszącą 200 ml. Poziom przeciwciał neutralizujących był mierzony za pomocą testu Liaison SARS-CoV-2 S1/S2 IgG. W trakcie badania 56 pacjentom podano jedną jednostkę osocza, 38 otrzymało dwie jednostki, a 8 pacjentom podano trzy jednostki osocza ozdrowieńców. Pierwszorzędnym punktem końcowym było zmniejszenie śmiertelności.

Drugie badanie skupiało się na zdeterminowaniu czasu i siły odpowiedzi immunologicznej w grupie ozdrowieńców COVID-19. W badaniu wzięło udział 38 pacjentów, którzy byli jednocześnie dawcami osocza w pierwszym badaniu. Obserwacja trwała od 15 marca 2020 roku do 26 czerwca 2021 roku. Pomiar poziomu przeciwciał odbywał się w dwumiesięcznych interwałach. Oba badania odbyły się w Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA w Warszawie. W trakcie trwania obserwacji dominującym wariantem wirusa był wariant

B.1.1.7 – wariant *Alpha* , charakterystyczny dla pierwszej fazy pandemii. Obserwacja długości trwania odpowiedzi humoralnej na pierwotną infekcję była zaprzestana m.in. z powodu wprowadzenia masowych szczepień ochronnych przeciwko wirusowi SARS-CoV-2.

Wyniki

W badaniu oceniającym efekty działania osocza ozdrowieńców wykazano znacznie mniejszą śmiertelność w grupie pacjentów przyjmujących tą metodę leczenia (13,7% śmiertelności w grupie pacjentów przyjmujących osocze w porównaniu do 34,3% śmiertelności w grupie kontrolnej). Badanie oceniające efekty leczenia osoczem ozdrowieńców wykazało wyższą korzyść kliniczną w grupie pacjentów, u których osocze ozdrowieńców zostało podane na wczesnym etapie choroby (do 72 godzin od momentu wystąpienia objawów), u pacjentów z ciężkim przebiegiem choroby oraz chorobami towarzyszącymi, w szczególności z niewydolnością krążenia i aktywną chorobą nowotworową. W drugim badaniu, oceniającym długość odpowiedzi humoralnej w przebiegu zachorowania na COVID 19 wykazano, że po 12 miesiącach od zakażenia ponad 56% obserwowanych pacjentów wykazywało ochronny poziom przeciwciał neutralizujących.

Wnioski

Leczenie osoczem ozdrowieńców okazało się skuteczną terapią, obniżająca śmiertelność. Badanie pozwoliło określić grupę pacjentów, która odniosła najwyższą korzyść kliniczną z zastosowanego leczenia- byli to pacjenci z ciężkim przebiegiem COVID-19 oraz ci z chorobami towarzyszącymi. Obserwacja długości trwania odpowiedzi humoralnej pacjentów po przebytej infekcji COVID-19 wykazała, że konieczne jest stosowanie dawki przypominającej szczepienia przeciwko COVID-19, w szczególności w grupie pacjentów z deficytami odporności oraz chorobami towarzyszącymi w wywiadzie.

6. Streszczenie w języku angielskim

EFFECTIVENESS OF CONVALESCENT PLASMA THERAPY AND SELECTED ASPECTS OF THE IMMUNE RESPONSE DURING COVID-19

COVID-19 pandemic, caused by the SARS-CoV-2 coronavirus, was declared by the World Health Organization on March 11, 2020. The first cases of the disease were observed in Chinese city of Wuhan in November 2019. The new pathogen was named SARS-CoV-2, isolated and identified in January 2020. The first confirmed case of COVID-19 in Poland was reported on March 4, 2020. The SARS-CoV-2 virus is a single-stranded positive-sense RNA virus and belongs to the Coronaviridae family. It has a spherical shape with numerous spike proteins on its surface, giving it a characteristic crown-like appearance, from which it derives its name. It is closely related to other coronaviruses such as SARS-CoV and MERS-CoV. The SARS-CoV-2 virus has a high mutation potential, resulting in identification of wide range of many variants such as Alpha, Beta, Gamma, Delta, and Omicron. The COVID-19 symptoms can vary but the most common ones include fever, cough, headache, fatigue, and muscle pain. Approximately one-third of infected individuals do not show any symptoms. Neutralizing antibodies have the ability to bind and destroy the virus.

Objective

The study aimed to evaluate the effects of convalescent plasma therapy in the group of COVID-19 patients hospitalized at the MSWiA hospital. As part of the observation, the impact of factors such as comorbidities and age on therapy's effectiveness was also assessed. An additional objective was to evaluate the duration of the immune response in the form of IgG neutralizing antibodies directed against the S1/S2 subunits of the SARS-CoV-2 virus.

Material and methods

In the study assessing the effectiveness of convalescent plasma therapy, a total of 102 patients received the treatment. The plasma was obtained from a group of 49 convalescent donors. The study took place from April 24, 2020, to August 28, 2020. The criteria for qualifying as a plasma donor aligned with the blood donation criteria set by the Ministry of Health, with the additional requirement that candidates had to be male and have confirmed SARS-CoV-2 infection, along with documented recovery confirmed by two negative PCR test result. Each donor could provide up to three units of plasma. The level of neutralizing antibodies was measured using the Liaison SARS-CoV-2 S1/S2 IgG test. During the study, 56 patients received one unit of plasma, 38 received two units, and 8 patients received three units of convalescent plasma.

The second study aimed to determine the duration and strength of the immune response in a group of COVID-19 convalescent individuals. It involved 38 patients who were also plasma donors in the previous study. The observation took place from March 15, 2020, to June 26, 2021. The measurement of antibody levels was conducted at the Central Clinical Hospital of The Ministry of the Interior Affairs and Administration in Warsaw. During the observation, the predominant variant of the virus was the B.1.1.7 variant – Alpha, characteristic of the first phase of the pandemic. The observation of the duration of the humoral response to the primary infection was discontinued, among other reasons, due to the introduction of mass COVID-19 vaccinations.

Results

In the study evaluating the efficacy of convalescent plasma therapy, a significantly lower mortality rate was observed in the group of patients receiving this treatment (13.7% mortality in the plasma group compared to 34.3% mortality in the control group). The study also demonstrated a higher clinical benefit in group of patients, who received convalescent plasma at an early stage of the disease (within 72 hours of symptom onset), in the group of patients with severe course of COVID-19 and in group of patients with comorbidities, especially with presence of cardiac insufficiency and active cancer. In the second study, which evaluated the duration of the humoral immune response in COVID-19 convalescent patients, it was found that after 12 months from infection, over 56% of observed patients still had a protective level of neutralizing antibodies.

Conclusions

The convalescent plasma treatment has proven to be an effective therapy, reducing mortality. This study also allowed to identify a group of patients who benefited the most – group of patients with severe COVID-19 and those with underlying medical conditions. Second study showed that administering a booster dose of COVID-19 vaccine is necessary, especially in the group of patients with immunodefiencies and pre-existing medical conditions.

7. Wstęp

7.1 Początek epidemii COVID-19 w Polsce i na świecie

Pandemia choroby COVID-19 wywołanej przez koronawirusa SARS-CoV-2 została ogłoszona przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) w dniu 11 marca 2020 roku. Pierwsze zachorowania na dotychczas nieznaną chorobę zostały raportowane w chińskim mieście Wuhan w listopadzie 2019 roku [1]. Pierwszy przypadek pacjenta z rozpoznaną infekcją wirusa SARS-CoV-2 datuje się na 17 listopada 2019 roku [2]. Późniejsze analizy powiązały dwie trzecie rozpoznanych zachorowań z bezpośrednią okolicą targu rybnego Huanan, zlokalizowanego w dzielnicy Jianghan w Wuhan [3][4]. Nowy koronawirus został wyizolowany i rozpoznany 7 stycznia 2020 roku, 10 stycznia opublikowano publicznie genom wirusa. 31 stycznia 2020 roku we Włoszech zostali zdiagnozowani pierwsi pacjenci chorujący na COVID-19 – było to dwóch turystów podróżujących z Chin. 19 marca 2020 roku ilość przypadków infekcji wirusem SARS-CoV-2 w tym państwie była już większa, niż ilość zachorowań w Chinach, natomiast od 26 marca państwem z największą ilością potwierdzonych zakażeń stały się Stany Zjednoczone. Pierwsze prace nad szczepionką zaczęły się w marcu 2020 roku, po serii badań klinicznych szczepionka BNT162b2 została dopuszczona do użytkowania w Wielkiej Brytanii 2 grudnia 2020 roku.

Pierwszy potwierdzony przypadek zachorowania na COVID-19 w Polsce został potwierdzony w dniu 4 marca 2020 roku w szpitalu w Zielonej Górze. W związku z powyższym, w dniu 14 marca 2020 roku został ogłoszony na terenie Polski stan zagrożenia epidemicznego, natomiast w dniu 20 marca 2020 roku zaczął obowiązywać w Polsce stan epidemii. W dniu 16 marca 2020 roku 21 placówek leczniczych zostało przekształconych w tak zwane szpitale jednoimienne, których zadaniem była opieka nad pacjentami chorymi na COVID-19.

7.2 Wirus SARS-CoV-2- budowa

Wirus SARS-CoV-2 jest jednoniciowym, osłonkowym wirusem RNA o dodatniej polaryzacji ssRNA(+)[5]. Wielkość wirionów wacha się w przedziale 60-140 nanometrów. Należy do rodziny *Coronaviridae*, rodzaju *Betacoronavirus* i podrodzaju *Sarbecovirus*, jak inne odzwierzęce koronawirusy. Wirus zawdzięcza nazwę swojej charakterystycznej budowie – posiada sferyczny kształt oraz liczne białka kolca (S) tworzące charakterystyczną koronę, widoczną pod mikroskopem elektronowym. Jest on jednym z siedmiu znanych ludzkich koronawirusów [6]. Jest blisko skorelowany z innymi, wysoko zaraźliwymi wirusami – SARS-CoV, oraz MERS-CoV. Genom SARS-CoV-2 jest w 79 % podobny do genomu SARS-CoV, oraz w 50 % do genomu MERS-CoV [7]. Sekwencja RNA SARS-CoV-2 składa się z około 30 tysięcy zasad azotowych, co czyni go jednym z największych, znanych wirusów RNA [8]. Wirus SARS-CoV-2 jest zbudowany z czterech głównych białek – białko kolca (Sp), białka płaszcza (Ep), białka membranowego (Mp), oraz białka nukleokapsydu (Np). Jednostka Np jest odpowiedzialna za stabilizację materiału genetycznego wirusa, natomiast Sp, Ep, Mp razem tworzą otoczkę wirusa. Białko S składa się z dwóch podjednostek – S1 oraz S2, które są odpowiedzialne za proces wejścia do komórki gospodarza, co jest również ściśle związane z funkcją receptorów ACE2 [9][10]. Podjednostka S1 przyłącza się do receptora ACE-2, następnie podjednostka S2 przy pomocy enzymu TMPRSS2 inicjuje fuzję z błoną komórki gospodarza poprzez endocytozę [11]. Wykazano wysoką ekspresję TMPRSS2 w poszczególnych tkankach, w szczególności w obrębie nabłonka nosa, płuc oraz drzewa oskrzelowego, co tłumaczy szczególny tropizm wirusa SARS-CoV-2 do wyżej wymienionych tkanek [12]. Pod wpływem katepsyny L dochodzi do uwolnienia materiału genetycznego do wnętrza komórki.

Fakt, że wirus SARS-CoV-2 jest wirusem RNA, skutkuje wysokim potencjałem powstawania nowych mutacji. Wykazano, że w procesie replikacji wirusa, każda mutacja pojawia się co 10 tysięcy par nukleotydów [13]. Do tej pory zidentyfikowano tysiące różnych wariantów genetycznych, z których największe znaczenie mają warianty:

- Alfa B.1.1.7, wariant ten został zidentyfikowany w Wielkiej Brytanii we wrześniu 2020 roku.

- Beta B.1.351, wariant został zidentyfikowany w RPA w Maju 2020 roku

- Gamma P.1, zidentyfikowany w Brazylii w listopadzie 2020 roku.

- Delta B.1.617.2, zidentyfikowany w Indiach w październiku 2020 roku.

- Omicron B.1.1.529, po raz pierwszy zidentyfikowanym w Botswanie w listopadzie 2021 roku [14].

- XBB.1.5, wariant, który w styczniu 2023 roku stanowił 28% potwierdzonych przypadków w Wielkiej Brytanii.

- XBB.1.16, wariant po raz pierwszy zidentyfikowany w styczniu 2023 roku. Zaobserwowano, że w przypadku tego subwariantu, jednym z dominującym objawów infekcji jest zapalenie spojówki.

Pomimo mnogości wykrytych wariantów, opisywane przeze mnie badania miały miejsce w początkowej fazie pandemii, kiedy dominującym wariantem był wariant B.1.1.7, dlatego nie porównywano różnic w odpowiedzi immunologicznej poszczególnych wariantów.

7.3 Choroba COVID-19 – objawy i odpowiedź immunologiczna

Około jedna trzecia pacjentów zainfekowanych wirusem SARS-CoV-2 nie rozwinie objawów chorobowych [15]. Należy zaznaczyć, że występujące objawy zmieniały się wraz z pojawieniem się nowych, dominujących wariantów wirusa, poniższe umówienie objawów będzie dotyczyło wariantów występujących w pierwszej fazie pandemii. Wśród objawowych infekcji, 81 % pacjentów rozwinęło łagodne objawy, 14 % określono jako cięższy przebieg choroby (najczęściej związany z hipoksją, dusznością, często związany z zajęciem ponad 50 % miąższu płuc w badaniach radiologicznych), natomiast stan 5 % pacjentów określono jako krytyczny (związany z pobytem na oddziałach intensywnej terapii oraz z niewydolnością wielonarządową) [16]. Transmisja wirusa odbywa się głównie drogą kropelkową, w wyniku kaszlu lub kichnięcia [17]. Wykazano, że nosiciele mogą zarażać tą drogą nawet 4-5 dni przed wystąpieniem pierwszych objawów choroby [18]. Okres wylęgania wirusa wynosi od 2 do 14 dni, średnio 5 dni [19].

Objawy ze strony układu oddechowego to najczęstsze objawy COVID-19. Z raportów ECDC na lipiec 2020 roku wynika, że u 63 % wszystkich pacjentów wystąpił kaszel, 60 % doświadczyło kataru. Anosmia lub hyposmia, trwająca ponad 30 dni wystąpiła u 20 % pacjentów [20].

Objaw	Częstość występowania
Gorączka	88 %
Ból głowy	70 %
Kaszel	63 %
Uczucie zmęczenia	38 %
Ból mięśni lub stawów	15 %
Ból gardła	14 %
Nudności i wymioty	5 %
Biegunka	4 %

Tabela 1. Częstość występowania poszczególnych objawów u pacjentów chorych na COVID-19, dane na podstawie bazy 55924 pacjentów z Chin [21].

Wykazano również obecność wielu innych objawów oraz wczesnych powikłań COVID-19, takich jak: koagulopatie, arytmie, zapalenie mięśnia sercowego, zaburzenie funkcji kognitywnych, encefalopatie, psychozy, udary krwotoczne oraz niedokrwienne, biegunka, wymioty [22][23][24]. Na wczesnym etapie pandemii zwrócono uwagę na zwiększone ryzyko wystąpienia ciężkiego przebiegu choroby u pacjentów z chorobami współtowarzyszącymi, w szczególności z cukrzycą typu II, POChP, nadciśnieniem tętniczym oraz z aktywnymi chorobami rozrostowymi [25].

Istotnym problemem klinicznym jest patogeneza ciężkiego przebiegu COVID-19. Badanie na łamach *Virology Journal*, opublikowane w 2022 roku wykazało, że istotny udział w patogenezie ARDS w przebiegu COVID-19 mają w szczególności IL-6, IL-1, IL-17, oraz TNF-α [26]. Ciężki przebieg COVID-19 okazał się mieć związek właśnie z silną odpowiedzią immunologiczną w przebiegu sztormu cytokinowego (CRS), aniżeli wysokim stężeniem wirusa w tkankach [27]. Badania post-mortem wykazały u pacjentów z ciężkim przebiegiem infekcji SARS-CoV-2 znaczną apoptozę limfocytów, co powiązano z makrofagami pobudzonymi przez IL-6 [28]. Badania powiązują objawy ze strony innych układów niż układ oddechowy z ekspresją receptorów ACE-2, w szczególności w obrębie tkanek serca, mózgu, wątroby, nerek [29].

7.4 Diagnostyka COVID-19

Podstawową metodą diagnostyki COVID-19 są testy genetyczne PCR, oparte na wykrywaniu RNA wirusa. Materiał genetyczny jest wykrywany przy użyciu reakcji łańcuchowej polimerazy z odwrotną transkrypcją. Proces ten polega na powieleniu DNA z cDNA pozyskanego z RNA wirusa. Proces ten jest powtarzany setki tysięcy razy, aż do uzyskania wystarczającej ilości kopii materiału genetycznego. Odmiana qPCR (real-time PCR) pozwala wykonać badanie w czasie rzeczywistym, natomiast badanie RT-PCR jest badaniem ilościowym. Materiał do badania genetycznego można pozyskać z wymazów z nasogardzieli lub gardła, ze śliny, plwociny. Wykazano, że czułość dla wymazu z jamy nosa wynosi 62 %, 71 % dla plwociny, natomiast 32 % w wypadku wymazu nosogardzieli. Wadą tego typu testów jest długi czas trwania badania, który trwa kilka godzin.

Kolejnym rodzajem testów w diagnostyce COVID-19 są testy antygenowe. Antygeny są specyficznymi białkami na powierzchni wirusa SARS-CoV-2, z reguły testy antygenowe są specyficzne wobec białek S. Są to testy oparte na technologii immunochromatografii, czas potrzebny do uzyskania wyniku jest zdecydowanie szybszy niż w przypadku testów genetycznych i wynosi między 15 a 30 minut. Testy antygenowe są najszerzej używaną metodą diagnostyczną, jest to metoda tania i szybka, natomiast cechuje się mniejszą swoistością w porównaniu do metody PCR. Materiał do badania również pozyskuje się za pomocą wymazu z nosa, nosogardzieli oraz ze śliny. Metaanaliza 64 badań Cochrane wykazała średnią czułość badania na poziomie 72 % u pacjentów objawowych oraz 58 % u pacjentów bezobjawowych.

Testy serologiczne są badaniami, które mają na celu wykrycie specyficznych przeciwciał celowanych przeciwko wirusowi SARS-CoV-2. Komercyjnie, najszerzej wykonywane testy serologiczne są badaniami w kierunku przeciwciał IgM oraz IgG. Zdecydowaną korzyścią w porównaniu z poprzednimi metodami diagnostycznymi jest dużo dłuższy czas wykrywanych przeciwciał od momentu zainfekowania, który może trwać nawet kilka miesięcy w wypadku przeciwciał w klasie IgG. Testy te mogą być wykonywane różnymi metodami: EIA, CMIA, MIA, ECLIA.

Metoda diagnostyczna	Czułość	Swoistość	Okno diagnostyczne (dni od infekcji)
PCR	73 %	99.7 %	1-9
Testy antygenowe	65.3 %	99.4 %	2-5
Testy serologiczne	86-100 %	58 – 84 %	10-260

Tabela 2. Porównanie wybranych metod w diagnostyce COVID-19.

Metody obrazowania radiologicznego nie są rekomendowane w diagnostyce COVID-19, natomiast specyficzne zmiany, typowe dla COVID-19, takie jak obraz matowej szyby, kostki brukowej, pasmowate zmiany, konsolidacje zapalne są istotne w progrnozowaniu ciężkiego przebiegu choroby. Picchi z zespołem wykazał, że w grupie 193 pacjentów chorych na COVID-19, 190 z nich miało zmiany zapalne w badaniu HRCT.

7.5 Odpowiedź humoralna w przebiegu COVID-19

Przeciwciała (Ig), obok komórek dendrytycznych, limfocytów B i limfocytów T odgrywają znaczącą rolę w prezentacji patogenu komórkom efektorowym. Przeciwciała są białkami w kształcie litery Y, których główną funkcją jest identyfikacja oraz niszczenie patogenów. Większość przeciwciał składa się z czterech łańcuchów polipeptydowych – dwóch łańcuchów ciężkich oraz dwóch łańcuchów lekkich. Istotnym rejonem przeciwciał są rejony FAB, w skład których wchodzą regiony F_v, które łączą się z antygenem. Połączenie przeciwciał z patogenem odgrywa istotną rolę w procesie opsonizacji, co stanowi pierwszy etap odpowiedzi humoralnej, doprowadzając do fagocytozy. Proces opsonizacji oraz sygnalizowania procesów humoralnych innym cytokinom prozapalnym dokonuje się za pomocą regionu Fc przeciwciała. Pobudzenie regionu Fc przeciwciała wydaje się również mieć istotne znaczenie w procesie zjawiska wzmocnienia zależnego od przeciwciał (ADE), które wydaje się mieć istotne znaczenie w powstawaniu burzy cytokinowej. Podjednostki S oraz N stanowią główny cel przeciwciał skierowanym przeciwko wirusowi SARS-CoV-2, jednak przeciwciała przeciwko białku N nie są w stanie neutralizować wirusa, w przeciwieństwie do tych, skierowanych przeciwko białku S [30]. Przeciwciała neutralizujące (NAbs) oddziałują z innymi elementami układu odpornościowego, takimi jak fagocyty, komórki NK, przyczyniając się do neutralizacji wirusa. Wykazano, że przeciwciała, które łączą się z podjednostkami RBD, oraz H2 białka S, indukują efektywniejszą odpowiedź immunologiczną [31]. Udowodniono, że najwięcej przeciwciał neutralizujących ma powinowactwo do podjednostki S2. Pacjenci z cięższym przebiegiem COVID-19 produkują większą ilość przeciwciał neutralizujących, niż ci, z lżejszym przebiegiem. Wyższe poziomy przeciwciał neutralizujących obserwowano u płci męskiej. Wykazano również, że pacjenci z opóźnioną odpowiedzią immunologiczną doświadczali gorszego przebiegu choroby [32]. Średni czas serokonwersji dla IgG wynosi 10 dni, 8 dni dla IgM [33]. Udowodniono, że pierwszymi, specyficznymi przeciwciałami, które pojawiają się w wyniku infekcji są przeciwciała w klasie IgA, pojawiają się już w pierwszym tygodniu choroby. Podwyższony poziom przeciwciał IgM zaczynają spadać w ciągu miesiąca od początku infekcji, IgA zanikają średnio po 6 tygodniach, natomiast podwyższony poziom specyficznych IgG może utrzymywać się nawet przez rok. Krótszy okres serokonwersji był obserwowany u pacjentów z cięższym przebiegiem choroby oraz u pacjentów starszych (po 65 roku życia). Dotychczasowe badania wykazują, że podwyższone miana przeciwciał utrzymują się przez co najmniej 9 miesięcy od momentu zachorowania, znacznie dłużej u pacjentów, którzy przyjęli szczepienie przeciwko COVID-19 [34]. Według dostępnych badań klinicznych, przeciwciała neutralizujące są produkowane przez dojrzałe, jak i niedojrzałe limfocyty B, najprawdopodobniej w wyniku procesu przekazywania informacji odnośnie antygenów naiwnym limfocytom przez ich bardziej dojrzałe formy [35].

Wyższe miano przeciwciał w klasie IgA jest obserwowano u pacjentów z dominacją objawów jelitowych COVID-19 [36].

7.6 Przeciwciała monoklonalne w terapii COVID-19

Pierwszym przeciwciałem monoklonalnym, dopuszczonym do leczenia COVID-19 był tixagevimab/cilgavimab, który uzyskał warunkową autoryzację przez FDA w Stanach Zjednoczonych. Jest to lek w postaci iniekcji domięśniowej, stosowany jako profilaktyka poekspozycyjna. W pierwszych badaniach obserwowano spadek śmiertelności w porównaniu do grupy placebo (9% vs. 12%). W późniejszym etapie pandemii autoryzacja została wycofana z powodu nieskuteczności względem późniejszych wariantów [37]. Casirivimab/imdevimab wykazał znaczącą, ponad 68 procentową redukcję odsetka hospitalizacji w porównaniu do placebo, natomiast został wycofany z listy zalecanych terapii COVID-19 przez WHO w styczniu 2023 z powodu utraty skuteczności [38].

Wysoki potencjał mutacji powoduje, że terapie przeciwciałami monoklonalnymi są terapiami, które mogą mieć wysoką skuteczność przeciwko określonym wariantom, natomiast szybko tracącymi skuteczność. Nie zmienia to faktu, że zdolność szybkiego opracowywania tego typu form leczenia może przynieść potencjalne korzyści w potencjalnych przyszłych pandemiach.

7.7 Uzasadnienie połączenia publikacji w jeden cykl

Cykl publikacji składa się z trzech artykułów – jednej pracy poglądowej oraz dwóch prac oryginalnych dotyczących czasu trwania odpowiedzi immunologicznej u ozdrowieńców oraz zastosowania terapii osoczem ozdrowieńców w terapii COVID-19.

Prace oryginalne wykazały, że terapia osoczem ozdrowieńców wiązała się z wysoką skutecznością leczenia, zwłaszcza wtedy, gdy była zastosowana na wczesnym etapie leczenia. Udało się udowodnić, że zaawansowany wiek, przebyty zawał mięśnia sercowego, aktywna choroba nowotworowa oraz długość hospitalizacji wiązały się z gorszym przebiegiem choroby. W trakcie oznaczania poziomu przeciwciał neutralizujących u ozdrowieńców wykazano wysokie ich stężenie przez 6 oraz 12 miesięcy od momentu zachorowania w dużej grupie pacjentów. Powyższe wnioski pozwalają na lepsze zrozumienie odpowiedzi immunologicznej w przebiegu choroby COVID-19 oraz pozwalają wyciągnąć wnioski z kontekście przyszłych pandemii.

8. Założenia i cel pracy

1) Ocena skuteczności i bezpieczeństwa leczenia osoczem ozdrowieńców oraz identyfikacja grupy pacjentów, u których zastosowana terapia pozwoli przynieść największy efekt kliniczny.

2) Ocena czasu utrzymywania się odporności po podaniu osocza ozdrowieńców oraz po przebytej infekcji COVID-19.

3) Ocena wpływu wieku, chorób towarzyszących oraz ciężkości zachorowania na długość trwania odpowiedzi immunologicznej u pacjentów po przebytej infekcji wirusem SARS-CoV-2.

9. Materiał i metody

Do badania skuteczności terapii osoczem ozdrowieńców zostało zakwalifikowanych 102 pacjentów, którym podano wspomniane leczenie. Osocze pozyskano od grupy 49 dawców – ozdrowieńców. Badanie rozpoczęto 24 kwietnia 2020 roku, natomiast zakończono 28 sierpnia 2020 roku. Kryteria kwalifikacji do bycia dawcą osocza były analogiczne do kryteriów kwalifikacji do dawstwa krwi celem pozyskania preparatów krwiopochodnych, opublikowanych przez Ministerstwo Zdrowia, dodatkowo kandydaci:

- musieli mieć udowodnioną infekcję SARS-CoV-2 pojedynczym dodatnim testem PCR, oraz stwierdzone wyleczenie choroby, poświadczone podwójnie ujemnym testem real-time PCR.

Kryterium włączenia do terapii osoczem ozdrowieńców było zdiagnozowanie aktywnej choroby COVID-19, poświadczone dodatnim wynikiem testu PCR, zebranego z materiału pochodzącego z nosogardzieli, uzyskanie co najmniej dwóch punktów w zmodyfikowanej skali wczesnego ostrzegania MEWS, objawowa postać choroby COVID-19 oraz uwidocznienie w badaniach obrazowych (TK lub RTG) charakterystycznych dla COVID-19 zmian płuc. Założono, że od jednego dawcy można pozyskać do trzech jednostek osocza po 200 ml każda. Pozyskane osocze było inaktywowane za pomocą systemu Mirasol [39]. Poziom przeciwciał neutralizujących był mierzony z użyciem testu Liaison SARS-CoV-2 S1/S2 IgG firmy Diasorin, pozwalającym na ilościowe oznaczenie swoistych przeciwciał, skierowanym przeciwko podjednostkom S1 oraz S2 na powierzchni patogenu dzięki zastosowaniu metody immunochemioluminescencji pośredniej. Metoda ta cechowała się wysoką specyficznością (96%) oraz swoistością (90.3%) [40][41]. Osocze mogło być pobrane co najmniej po 14 dniach od momentu zdiagnozowania COVID-19. 56 pacjentom podano jedną jednostkę osocza, 38 otrzymało dwie jednostki, natomiast 8 pacjentom podano 3 jednostki osocza. Odstęp między każdorazowym podaniem osocza wynosił co najmniej 24 godziny. Badanie odbyło się w szpitalu CSK MSWiA w Warszawie, który od dnia 16 marca 2020 roku funkcjonował jako tzw. Szpital Jednoimienny. Pierwszorzędnym punktem końcowym badania wpływu działania osocza ozdrowieńców był wskaźnik śmiertelności. Drugorzędowymi punktami końcowymi była długość czasu podłączenia pacjenta do respiratora, długość pobytu na oddziale intensywnej terapii, całkowity czas hospitalizacji i czas eliminacji wirusa SARS-CoV-2 z organizmu chorego.

Do obserwacji w drugim badaniu, oceniającym czas oraz siłę odpowiedzi immunologicznej w grupie ozdrowieńców włączono 38 pacjentów. Pacjentów wyłoniono z grupy dawców osocza ozdrowieńców. Obserwację rozpoczęto 15 marca 2020 roku, zakończono 26 czerwca 2021 roku. Przebieg choroby u 28 pacjentów wiązał się z wystąpieniem łagodnych objawów, u 10 z nich przebieg choroby wymagał hospitalizacji, co scharakteryzowano jako ciężki przebieg choroby. Pierwszy pomiar poziomu przeciwciał był dokonywany mniej więcej 2 tygodnie od momentu zdiagnozowania choroby, ale nie później niż po 8 tygodniach. Kolejne pomiary poziomu przeciwciał odbywały się w dwumiesięcznych interwałach. Zaszczepienie przeciwko COVID-19 skutkowało wyłączeniem pacjenta z obserwacji. Na przeprowadzenie obydwu badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej.

10.Kopie opublikowanych prac

1 “Convalescent plasma treatment is associated with lower mortality and better outcomes in high risk COVID-19 patients – propensity score matched case-control study”

A. Tworek, K. Jaroń, B. Uszyńska-Kałuża, A. Rydzewski, R. Gil, A. Deptała, E. Franek, R. Wójtowicz, K. Życińska, I. Walecka, M. Cicha, W. Wierzba, A. Zaczyński, Z. J. Król, G. Rydzewska, International Journal of Infectious Diseases, Volume 105, P209-215, April 2021

Punktacja MEiN: 100 Impact Factor: 12.073

2 “The persistence of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies after COVID-19: A one-year observation. Is a SARS-CoV-2 vaccination booster dose necessary?”

A. Tworek, K. Jaroń, B. Uszyńska-Kałuża, A. Rydzewski, M. Cicha, W. Wierzba, A. Zaczyński, Z. J. Król, G. Rydzewska, Central European Journal of Immunology, 2023; 48 (2)

Punktacja MEiN: 70, Impact Factor: 1.3

3 “COVID-19 humoral response”

A. Tworek, A. Rydzewski, K. Lewandowski, M. Głuszek-Osuch, G. Rydzewska, Medical Studies, Studia Medyczne, STUD-MED-00696-2023-02

Punktacja MEiN: 140, Impact Factor: 0.4

Łącznie MEiN: 190, Impact Factor: 13,774

International Journal of Infectious Diseases 105 (2021) 209–215

Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Infectious Diseases

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijid

Convalescent plasma treatment is associated with lower mortality and better outcomes in high-risk COVID-19 patients – propensity-score matched case-control study

Adam Tworek[a,*], Krzysztof Jaroń[a], Beata Uszyńska-Kałuża[b], Andrzej Rydzewski[c,d], Robert Gil[e,f], Andrzej Deptała[g,h], Edward Franek[f,i], Rafał Wójtowicz[j], Katarzyna Życińska[h,k], Irena Walecka[l,m], Małgorzata Cicha[n], Waldemar Wierzba[o,p], Artur Zaczyński[o], Zbigniew J. Król[o], Grażyna Rydzewska[a,q]

[a] Clinical Department of Internal Medicine and Gastroenterology with Inflammatory Bowel Disease Unit, Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland
[b] Blood Donation Center of Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland
[c] Department of Internal Medicine, Nephrology and Transplantation Medicine, Central Clinical Hospital of the Ministry of Interior and Administration, Warsaw, Poland
[d] Centre of Postgraduate Medical Education, Warsaw, Poland
[e] Clinical Department of Invasive Cardiology in Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland
[f] Mossakowski Clinical Research Centre, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland
[g] Clinical Department of Oncology and Hematology in Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland
[h] Medical University of Warsaw
[i] Clinical Department of Internal Medicine, Endocrinology and Diabetology in Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland
[j] Clinical Department of Anesthesiology and Intensive Care Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland
[k] Clinical Department of Rheumatology, Connective Tissue Diseases and Rare Diseases, Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland
[l] Dermatology Department, Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland
[m] Dermatology Department Centre of Postgraduate Medical Education, Warsaw, Poland
[n] Diagnostic Laboratory of Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland
[o] Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland
[p] University of Humanities and Economics in Łódź, Satellite Campus in Warsaw, Warsaw, Poland
[q] Collegium Medicum, Jan Kochanowski University, Kielce, Poland

A R T I C L E I N F O

Article history:
Received 2 December 2020
Received in revised form 10 February 2021
Accepted 11 February 2021

Keywords:
SARS-CoV-2
COVID-19
convalescent plasma

A B S T R A C T

Objective: This study aimed to investigate the efficacy and safety of convalescent plasma (CP) transfusion in a group of high-risk COVID-19 patients.
Methods: This prospective study included 204 patients from a single tertiary-care hospital, hospitalized with COVID-19, of whom 102 were treated with CP administration and standard care (PG) and 102 others who received standard care only (CG). The CG was selected from 336 hospitalized patients using the propensity-score matching (PSM) technique using age, MEWS score, and comorbidities. The primary outcome was mortality rate; secondary outcomes were the requirement of a ventilator, length of ventilator need, length of intensive care unit (ICU) stay, and length of overall hospital confinement. Additionally, parameters predicting death in COVID-19 patients were identified.
Results: Findings confirmed a significantly lower mortality rate in the PG versus the CG (13.7% vs. 34.3 %, $p = 0.001$) and a significant difference in the cumulative incidence of death between the two groups ($p < 0.001$). CP treatment was associated with lower risk of death ($OR = 0.25$ CI_{95} [0.06; 0.91], $p = 0.041$). There were no significant differences in ICU stay, ventilator time, and hospitalization time between the two groups.
Conclusions: A significantly lower mortality rate was observed in the group of patients treated with CP. Age, presence of cardiac insufficiency, active cancer, a ventilator requirement, and length of

* Corresponding author at: Clinical Department of Internal Medicine and Gastroenterology with Inflammatory Bowel Disease Unit, Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, 137 Wołoska Str, 02-507 Warsaw, Poland.
E-mail address: adamtworek2@gmail.com (A. Tworek).

https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.02.054

hospitalization significantly increased the risk of death in both groups. Our study shows that CP affords better outcomes when administrated in the earlier stage of high-risk COVID-19 disease.

Introduction

The severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is a single-strand ribonucleic acid (RNA) virus similar to severe acute respiratory syndrome coronavirus 1 (SARS-CoV-1) which caused the 2002-2004 SARS outbreak (van Doremalen et al., 2020). During earlier MERS-CoV and SARS-CoV-1 outbreaks, many therapeutic possibilities were explored. Among them, convalescent plasma (CP) was proven to be one of the treatments that reduces mortality (Mair-Jenkins et al., 2015; Cheng et al., 2005). Nearly 18 years later, a similar challenge is being faced on an incomparably larger scale. Many effective treatments used during the SARS-CoV-1, MERS-CoV, and Ebola outbreaks produce no significant effect on SARS-CoV-2 infection, including lopinavir-ritonavir (Cao et al., 2020), tocilizumab (Radbel et al., 2020), and chloroquine (Cortegiani et al., 2020). Therefore, the need to investigate other treatment potentialities remains (Zhang and Liu, 2020; Depfenhart et al., 2020). Convalescent plasma, a passive immunization strategy, has been used effectively to prevent and treat epidemic infections for more than 100 years (Mair-Jenkins et al., 2015; Marson et al., 2020). Studies based on previous outbreaks proved good efficacy and no significant side effects (Van den Berg et al., 2020; Wooding and Bach, 2020). It has been described that the use of CP in SARS-CoV and avian influenza, an H5N1 virus infection, decreased viral load in the respiratory tract (Hung et al., 2011; Kong and Zhou, 2006). Convalescent plasma contains antiviral neutralizing antibodies, which are crucial in virus clearance. Other putative mechanisms underpinning the possible therapeutic effect of convalescent plasma include an overly active immune system (cytokine storm, Th1/Th17 ratio, complement activation) (Tobaiqy et al., 2020). As possibly shown in this study, viremia peaks in the first week of infection; therefore, it may be critical to administrate CP in the early stage of the disease. Convalescent plasma obtained from COVID-19 patients contains high titers of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies. Antibodies play an essential role in communicating the presence of a pathogen to immune effector cells. Neutralizing antibodies interrupt viral entry into the human cell, attacking one of the functional subunits of S glycoprotein, and play a crucial role in the direct neutralization of the virus (Lindholm et al., 2020). Moreover, neutralizing antibodies can activate immune cells, such as dendritic cells, T-cells, B-cells, and other mechanisms of the immune system. High titers of virus-neutralizing antibodies present in plasma after COVID-19 may offer therapeutic value (Rojas et al., 2020; Rajendran et al., 2020).

Objectives

This study's main aim was to investigate the efficacy and safety of treatment with convalescent plasma transfusion in a group of severe COVID-19 patients, hospitalized at a tertiary center.

Study design and setting

This single-center prospective observational cohort study of 204 patients took place in the Central Clinical Hospital of the Ministry of Internal Affairs in Warsaw, Poland, from April 24 to September 28, 2020.

Participants

Donors

Eligibility criteria for 49 plasma donors were in accordance with the Minister of Health Regulations in force in Poland regarding the collection of blood from blood donor candidates and blood donors.

Additional eligibility criteria are as follows:

- male sex,
- positive test for SARS-CoV-2 (Real-Time PCR method for SARS-CoV-2 RNA detection), and
- a double-negative SARS-CoV-2 test with a minimum 24-h interval between the two tests

(Real-Time PCR method for detecting SARS-CoV-2 RNA).

Recipients

Inclusion criteria:

- Detection of SARS-CoV-2 RNA in the reverse transcription-polymerase chain reaction (gene targets RdRp, E, and N) from nasopharyngeal swabs,
- Modified Early Warning Score (Smid et al., 2020) (MEWS) $\geq$ 2,
- Clinical manifestation compatible with COVID-19, and
- Findings compatible with COVID-19 in either chest X-ray or CT.

From April 24 to September 28, 2020, CP was administered to 102 patients hospitalized in the Central Clinical Hospital of the Ministry of Internal Affairs in Warsaw, Poland, which had been converted into a single-purpose hospital customized for COVID-19 patients only. Every patient was subjected to a physical examination before CP administration.

Methods

As soon as ten days after a study participant tested negative two times, the participant's plasma was collected. Convalescent plasma to be used for transfusion was tested to confirm compatibility with the AB0 blood type. Each plasma donation produced one to three units (200 milliliters [ml] each). If the titer of IgG antibodies indicated the need for subsequent plasma collection, it occurred after a minimum of 14 days. The TRIMA Accel separator, using automatic apheresis, was used to obtain the plasma. Plasma was treated to inactivate biological pathogens (system Mirasol) (Kwon, 2014).

The level of neutralizing antibodies was measured using a Liaison SARS-CoV-2 S1/S2 IgG test (Diasorin) for quantitative determination of IgG anti-S1 and IgG anti-S2 specific antibodies to SARS-CoV-2 - an indirect chemiluminescence immunoassay (CLIA), normal values < 15 AU/ ml, that had been proven effective in a comparison of six SARS–CoV-2 immunoassays with micro-neutralization (specificity/sensitivity 96%/90.3%) (Strömer et al., 2020; Bonelli et al., 2020).

Patients in the CP group received their first 200-ml infusion of CP no later than the fourteenth day after a COVID-19 diagnosis. Some patients received more than one infusion: 56 patients (54.9%) received one (200 ml) infusion, 38 (33.95%) received two (400 ml), and eight patients (7.1%) received three (600 ml) infusions. All subsequent infusions were administered with a 24-h interval in between. The decision regarding administered plasma volume (more than 200 ml) was made depending on the patient's general condition. The control group (102 propensity-matched patients) was selected from a cohort of 336 COVID-19 patients at a single hospital.

Convalescent plasma was administrated in parallel with a standard regimen of care. The Bioethics Committee granted approval for this study (agreement number 40/2020 of 03/04/2020). Before administering CP, patients had to sign an informed consent form to participate in the clinical trial. The consent form included information on the study's protocol and possible side effects of CP. Copies of signed forms are stored together with patients' medical records in the hospital.

Variables

Our study's primary endpoint was mortality rate, and the secondary outcomes were the requirement of a ventilator, length of ventilator needs, length of intensive care unit (ICU) stay, overall hospitalization duration, and SARS-CoV-2 elimination time.

Levels of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies were assessed in the donor blood.

Additionally, factors associated with mortality in SARS-CoV-2 patients were identified using logistic regression analysis.

Statistical analysis

Propensity-score matching (PSM) analysis was used to balance baseline confounders between plasma and non-plasma groups. Data from previous COVID-19 CP studies led to the assumption of a 28% death rate, indicating a sample size of 95 patients per each of two groups (190 total study participants) would be needed. This number was determined to be large enough to achieve a power of 90% to detect a 65% difference in death rates between the two study groups (28% - 65% = 18pp) with a two-sided p-value of 0.05. The control group was chosen from a cohort of 336 COVID-19 patients in one hospital. This method maintains the comparability of the two exposure groups in terms of baseline characteristics. For each patient, we used logistic regression to predict the probability (propensity score) of plasma. Variables in propensity-score estimation included sex, age, hypertension, arrhythmia, cardiac insufficiency, diabetes, chronic dialysis, diagnosed cancer, and/or recent stroke. The nearest-neighbor approach was used to match propensity scores. There were no issues with missing data for variables used in PSM. There was no missing data for sex and age; one out of 438 patients had missing data for the remaining variables. A patient from the plasma group was excluded from the final analysis before the start of patient matching and data analysis. Since the issue of missing data was marginal, no missing data imputation method was applied.

To define the control group, nominal variables were presented as *n* (% frequency of group), continuous variables as mean (*SD - standard deviation*), or median (range), depending on the normality of data distribution. Based on the visual assessment of histograms, skewness, and kurtosis values, the Shapiro-Wilk test verified data normality. Groups were compared with either the chi-square test or Fisher exact test for nominal variables and with the t-test or Mann-Whitney U test for continuous variables, as appropriate. Additionally, *MD* (mean or median difference) with a 95% confidence interval was calculated for continuous variables. Relative risk (*RR*) with a 95% confidence interval was calculated for nominal variables. Survival curves were prepared using the Kaplan-Meier approach, and a comparison of survival between groups with and without plasma treatment was made using the log-rank test. Additional analysis using logistic regression was conducted to identify parameters impacting death in COVID-19 patients. Initially, univariate models were calculated using all parameters. Subsequently, variables with $p < 0.25$ demonstrated in the univariate model were included as predictors into the final multivariate model, as recommended by Hosmer and Leweshow (Hosmer and Lemeshow, 2000). The stepwise method of adding predictors to the final model was used. All *OR* (odds ratios) mentioned in the text come from the multivariate model. Final model validation included the χ^2 test, R^2 Nagelkerke coefficient, and Hosmer and Lemeshow goodness of fit (*GOF*) test. Finally, *ROC* curves using Youden's criterium for a cut-off point were calculated for continuous parameters significant in logistic regression. All tests were two-sided, with $\alpha = 0.05$. Statistical analysis was conducted using the R package, version 3.5.4 (Benedetto et al., 2018).

Results

Table 1 quantifies the propensity-score characteristics used to match CG and PG. As described in the statistical analysis section, the groups were comparable in terms of the baseline characteristics. Variables included in the propensity-score estimation included sex, age, hypertension, arrhythmia, cardiac insufficiency, diabetes, dialysis, active cancer, and active stroke. The nearest-neighbor approach was used in propensity-score matching. Hypertension was the most frequently observed comorbidity (54.9% and 52.9%), arrhythmia and cardiac insufficiency were second and third most frequent, and more than 13% of patients had an active neoplastic disease. Only less than 2% of patients had no other conditions.

Table 1
Baseline characteristics of the unmatched and matched cohorts by plasma treatment.

	Unmatched			Propensity-matched		
	Patients without plasma treatment	Plasma treated group	*p*	Patients without plasma treatment	Plasma treated group	*p*
N	336	103		102	102	
Sex, female, *n* (%)	164 (48.8)	46 (44.7)	0.461	40 (39.2)	45 (44.1)	0.478
Age, years, mean (*SD*)	68.86 (17.56)	62.80 (15.60)	0.002	62.74 (20.55)	63.04 (15.48)	0.905
No other conditions, *n* (%)	7 (2.08)	2 (1.94)		2 (1.96)	2 (1.96)	NS
Mean MEWS score	2.66	2.53	0.004	2.59	2.54	0.384
Hypertension, *n* (%)	173 (51.5)	54 (52.9)	0.797	56 (54.9)	54 (52.9)	0.779
Arrhythmia, *n* (%)	90 (26.8)	18 (17.6)	0.061	16 (15.7)	18 (17.6)	0.707
Heart failure, *n* (%)	115 (34.2)	15 (14.7)	< 0.001	15 (14.7)	15 (14.7)	> 0.999
Diabetes, *n* (%)	82 (24.4)	24 (23.5)	0.857	26 (25.5)	24 (23.5)	0.745
Dialysis, *n* (%)	24 (7.1)	3 (2.9)	0.159	6 (5.9)	3 (2.9)	0.498
Stroke active, *n* (%)	11 (3.3)	0 (0.0)	0.075	0 (0.0)	0 (0.0)	> 0.999
Cancer active, *n* (%)	60 (17.9)	14 (13.7)	0.324	14 (13.7)	14 (13.7)	> 0.999

Groups were compared with the chi-square test or Fisher exact test for nominal variables or t-test for continuous variables (age).

Table 2
Plasma treatment (PG) and propensity-matched non-plasma treatment control group (CG) analysis.

Characteristic	CG		PG		Relative risk or median (mean) difference (95% CI)	p
	n	Level	n	Level		
Deaths, *n* (%)	102	35 (34.3)	102	14 (13.7)	2.50 (1.43, 4.36)[2]	0.001
Ventilator, *n* (%)	102	22 (21.6)	102	12 (11.8)	1.83 (0.96, 3.50)[2]	0.060
Intensive care stay, *n* (%)	102	25 (24.5)	102	23 (22.5)	1.09 (0.66, 1.78) [2]	0.741
Ventilator time, days, median (range)	22	6.00 (1.00, 29.00)	12	8.00 (1.00, 28.00)	−2.00 (-6.00, 4.00)[1]	0.701
Hospitalization time, days, median (range)	101	13.00 (0.00, 59.00)	101	20.00 (0.00, 63.00)	−7.00 (-10.00, -5.00)[1]	<0.001
SARS-CoV-2 elimination time, days, mean (*SD*)	64	18.63 (10.39)	82	22.22 (11.50)	−3.59 (-7.23, 0.04)[1]	0.053
Use of corticosteroids, *n* (%)	102	11 (10.8)	102	27 (26.5)	0.41 (0.21;0.77)	0.007

Groups were compared with a chi-square test for dichotomous variables and a t-test (elimination time) or Mann-Whitney U test (ventilator time, hospitalization time) for continuous variables, depending on distribution normality. Mean or median differences between groups were calculated as non-plasma group minus plasma group with 95% confidence interval for continuous variables, a relative risk with 95% confidence interval was calculated for nominal variables.

As shown in Table 2, the mortality rate in CG was 34.3%, while, in PG, the mortality rate was 13.7% (p = 0.001). However, hospitalization time was significantly longer in the PG group (13 vs. 20 days, p < 0.001). The requirement of respiratory treatment in CG was 21.6% compared to 11.8% in PG; however, this tendency did not reach statistical significance (p = 0.06).

There were no significant differences in ICU stay, SARS-CoV-2 elimination time, and ventilator treatment time for both groups.

Cumulative death incidence for the entire study group (plasma + matched control group) at five days was 8.0%, CI_{95} (4.2%, 11.7%). By day ten, death rates had risen to 13.8% CI_{95} (8.8%, 18.5%). On day 20, the death rate was 24.4% CI_{95} (17.4%, 30.8%). The rate had risen to 36.8% CI_{95} (22.6%; 48.8%) by day 40 and, at the study's end (60 days), the death rate had risen to 76.3% CI_{95} (0.0%, 94.8%). The log-rank test confirmed statistically significant differences in the cumulative incidence of death between the plasma and no-plasma groups ($p <$ 0.001) (Fig. 1).

Cumulative incidence of death in patients with eliminated SARS-CoV-2 was 7.4%, CI_{95} (0.0%, 16.4%).

Parameters predicting death in SARS-CoV-2 patients were identified using logistic regression analysis (Table 3). Age was found to significantly increase the risk of death, based on both univariate and multivariate models (OR = 1.14 CI_{95} [1.09; 1.22], $p <$ 0.001). Presence of cardiac insufficiency or active cancer significantly increased the risk of death, based on both univariate and multivariate models, respectively OR = 12.00 CI_{95} (2.81; 62.88), p = 0.001 for cardiac insufficiency and OR = 29.29 CI_{95} (6.08; 199.06), $p <$ 0.001 for active cancer. Ventilator use also increased the risk of death, based on both univariate and multivariate models, OR = 267.96 CI_{95} (40.82; 3222.89), $p <$ 0.001. On the other hand, application of plasma and hospitalization time in days were decreasing the risk of death, both in univariate and multivariate models, respectively, OR = 0.25 CI_{95} (0.06; 0.91), p = 0.041 for plasma application and OR = 0.90 CI_{95} (0.85; 0.95), $p <$ 0.001 for hospitalization time. The presence of arrhythmia, diabetes, stay in ICU, and ventilator use length significantly increased the risk of death in univariate models only. Other variables (sex, hypertension, dialysis, SARS-CoV-2 elimination time) were not significant in the model. Multivariate model evaluation using χ^2 test confirmed that all variables jointly are significant ($p <$ 0.001). The R^2 Nagelkerke coefficient was at a high level (75%), indicating the model's good quality. Additional assessment with Hosmer and Lemeshow GOF test (p = 0.527) also confirmed a good fit of the model to the data.

As shown in Table 4, plasma application time from the beginning of hospitalization was correlated with respiratory treatment time, strongly indicating earlier administration of plasma resulted in a ventilator being needed for a shorter length of time (Spearman's correlation ratio was 0.41 [p < 0.001], which is a moderate correlation). No statistical correlation was found between hospitalization time, mortality, and ventilator need depending on the plasma dose.

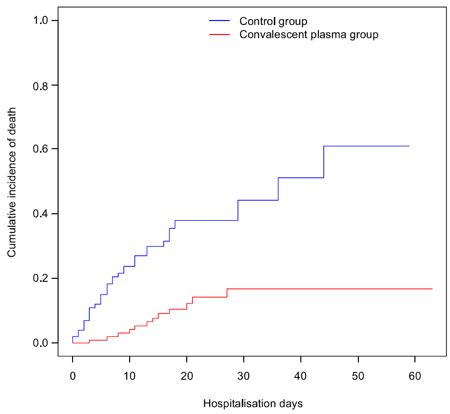

Fig. 1. Kaplan-Meier cumulative incidence of death in patients with SARS-CoV-2 with and without plasma treatment.

As shown in Fig. 2, the sooner plasma is administered, the lower the cumulative incidence of death. At five days, cumulative incidence of death was 12.2%, CI_{95} (4.2%; 19.6%); at ten days 21.5%, CI_{95} (5.9%; 44.5%). During the study in total, the cumulative incidence of death was found to be 47.7%, CI_{95} (0.0%; 77.0%). Fig. 2 includes only patients from the plasma group. Its objective was to present survival depending on the timing of the 1st administration of plasma (Fig. 3).

Donors

The mean level of NBas in the donor group was 142.75 (SEM ± 12.0057). Two of 44 donors had no NBas detected.

Discussion

This study compares mortality and other endpoints between patients treated with convalescent plasma (PG), and a propensity-score matched control group (CG) of patients hospitalized in the same medical facility and demonstrates a significantly lower mortality rate in the PG (13.7% vs. 34.3% in CG, p = 0.001). A recent randomized PlasmAr study (Simonovich et al., 2020) suggest no significant differences in mortality rate between patients treated with convalescent plasma and those who received placebo;

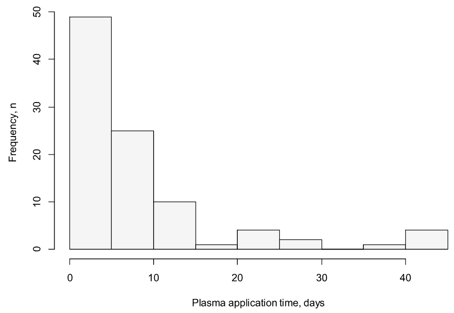

Fig. 3. Histogram for plasma administration time (from positive COVID test to 1st plasma administration in days).

significance. The small number of study participants in each group probably influenced this finding. For this study, a single unit of donated plasma measured between 200 ml and 300 ml. Recent trials in China increased the dose to a maximum of 2,400 ml (Ye et al., 2020). When outcomes of the two studies are compared, there is no significant difference between them. The maximum dose in this study was 600 ml, and we are suggesting this was sufficient since no statistical correlation was found between hospitalization time, mortality, and ventilator need in relation to the size of plasma dose.

In our study, contrary to various other publications (Abolghasemi et al., 2020), we were not able to demonstrate shortened hospitalization in the PG group. This finding is likely a result of significantly higher mortality rates in the control group when linked to shorter hospitalization time. Another influence could be that this study involved administering multiple doses of plasma; this dosing regimen started a median of 14 days after admittance to the hospital.

Early reporting from the United States (US) Food and Drug Administration suggests viral neutralizing antibody titers should be at least 1:160. A Chinese publication found that SARS-CoV-2 neutralizing antibody levels correlate with the severity of COVID-19 pneumonia (Chen et al., 2020). This finding could explain the high level of donor NBas in our study as all donors were recruited while hospitalized for COVID-19, therefore known to carry a moderate to severe viral load. Robiani et al. found 18% of donors with no neutralizing antibodies, whereas we found only 4.55%. With these studies in mind, it is noteworthy to consider routinely documenting the NBas level of all plasma donors; since the science of NBas kinetics is still in its infancy, it is perhaps imperative to document donor NBas levels at this time. Furthermore, donated plasma may be of enhanced value to plasma recipients when the plasma donor has personally experienced moderate or severe COVID disease.

This trial took place during the early days of the COVID-19 pandemic when there were no effective treatment options yet available. Now, enough time has elapsed that multiple studies on potential treatment options are in publication. Some studies involved comparing various potential treatments against each other, such as comparing CP outcomes to those of dexamethasone. In the Roback study, some patients received more than one therapeutic agent, for example, giving one patient both antiviral medications and steroids (Roback and Guarner, 2020). This approach makes it difficult to disentangle the specific clinical responses derived when multiple elements are compared in a study or to single out the beneficial properties of an individual treatment plan.

This study found CP administration to be safe; only one study participant experienced a side effect (mild and temporary skin rash). This finding is in keeping with a study done in the US that produced similar results (Joyner et al., 2020). Other adverse reactions reported in various studies include immunological reactions or increased risk of infection at the transfusion site; these reactions are typical responses to the transfusion of blood products, including plasma. As at the tertiary hospital, baseline mortality in patients during standard treatment was high, a finding that may be similar in other COVID-19 studies.

The primary limitation of this study was a lack of randomization, which was replaced by PSM analysis. The decision not to randomize in our study was based on ethical considerations at the beginning of the pandemic; however, this analysis's results were based on population groups of sufficient size and advanced statistics, as described in the methodology.

In summary, convalescent plasma transfusion seems to be a safe and effective therapy for SARS-CoV-2 infection in a group of high-risk patients. Moreover, our study's results suggest that early administration may be crucial for an optimal outcome. This study demonstrated that age, presence of cardiac insufficiency, active cancer, the requirement of a ventilator, and/or the length of hospitalization significantly increased the death risk in the studied group. Randomized prospective trials in the subgroup of high-risk patients are still needed.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Funding Source

The study was supported by The National Centre for Research and Development in Poland.

Ethical approval

Approved (agreement number 40/2020 of 03/04/2020).

References

Abolghasemi H, Eshghi P, Cheraghali AM, Imani Fooladi AA, Bolouki Moghaddam F, Imanizadeh S, et al. Clinical efficacy of convalescent plasma for treatment of COVID-19 infections: results of a multicenter clinical study. Transfus Apher Sci 2020;102875.

Agarwal A, Mukherjee A, Kumar G, Chatterjee P, Bhatnagar T, Malhotra P, PLACID Trial Collaborators. Convalescent plasma in the management of moderate covid-19 in adults in India: open label phase II multicenter randomized controlled trial (PLACID trial). BMJ (Clin Res Ed) 2020;371:m3939.

Benedetto U, Head SJ, Angelini GD, Blackstone EH. Statistical primer: propensity score matching and its alternatives. Eur J Cardio-Thoracic Surg 2018;53:1112–7.

Bonelli F, Sarasini A, Zierold C, Calleri M, Bonetti A, Vismara C, et al. Clinical and analytical performance of an automated serological test that identifies S1/S2-neutralizing IgG in COVID-19 patients semiquantitatively. J Clin Microbiol 2020;58:.

Cao B, Wang Y, Wen D, Liu W, Wang J, Fan G, et al. A trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe Covid-19. N Eng J Med 2020;382:1787–99.

Chen W, Zhang J, Qin X, Wang W, Xu M, Wang, et al. SARS-CoV-2 neutralizing antibody levels are correlated with severity of COVID-19 pneumonia. Biomed Pharmacother 2020;130:.

Cheng Y, Wong R, Soo YO, Wong WS, Lee CK, Ng MH, et al. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005;24:44–6.

Cortegiani A, Ingoglia G, Ippolito M, Giarratano A, Einav S. A systematic review on the efficacy and safety of chloroquine for the treatment of COVID-19. J Crit Care 2020;57:279–83.

Depfenhart M, de Villiers D, Lemperle G, Meyer M, Di Somma S. Potential new treatment strategies for COVID-19: is there a role for bromhexine as add-on therapy?. Internal Emerg Med 2020;15:801–12.

Hegerova L. Use of convalescent plasma in hospitalized patients with COVID-19: case series. Blood 2020;136:759–62.

Hosmer D, Lemeshow S. Applied Logistic Regression. Second Edition New York: John Wiley & Sons, Inc.; 2000 page 95.

Hung IF, To KK, Lee CK, Lee KL, Chan K, Yan WW, et al. Convalescent plasma treatment reduced mortality in patients with severe pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus infection. Clin Infect Dis 2011;52:447–56.

Joyner MJ, Wright RS, Fairweather D, Senefeld JW, Bruno KA, Klassen SA, et al. Early safety indicators of COVID-19 convalescent plasma in 5000 patients. J Clin Investig 2020;130:4791–7.

Kong LK, Zhou BP. Successful treatment of avian influenza with convalescent plasma. Hong Kong Med J 2006;12:489.

Kwon SY. Pathogen inactivation efficacy of mirasol PRT system and intercept blood system for non-leucoreduced platelet-rich plasma-derived platelets suspended in plasma. Vox Sanguinis 2014;254–60 Web.
Li L, Zhang W, Hu Y, Tong X, Zheng S, Yang J, et al. Effect of convalescent plasma therapy on time to clinical improvement in patients with severe and life-threatening COVID-19: a randomized clinical trial. JAMA 2020;324:460–70.
Lindholm Paul F, Ramsey Glenn, Kwaan Hau C. Passive immunity for coronavirus disease 2019: a commentary on therapeutic aspects including convalescent plasma. Semin Thromb Hemost 2020;46(7):796–803.
Liu STH, Lin HM, Baine I, Wajnberg A, Gumprecht JP, Rahman F, et al. Convalescent plasma treatment of severe COVID-19: a propensity score-matched control study. Nat Med 2020a;26:1708–13.
Liu Y, Yan LM, Wan L, Xiang TX, Le A, Liu JM, et al. Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. Lancet Infect Dis 2020b;20:656–7.
Mair-Jenkins J, Saavedra-Campos M, Baillie JK, Cleary P, Khaw FM, Lim WS, et al. The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: a systematic review and exploratory meta-analysis. J Infect Dis 2015;211:80–90.
Ma Tengfei, Wiggins CC, Kornatowski BM, Hailat RS, Clayburn A, Guo W, et al. The role of disease severity and demographics in the clinical course of COVID-19 patients treated with convalescent plasma. medRxiv 2021; January.
Marson P, Cozza A, De Silvestro G. The true historical origin of convalescent plasma therapy. Transfus Apher Sci 2020;59(5):102847.
Nagoba B, Gavkare A, Jamadar N, Mumbre S, Selkar S. Positive aspects, negative aspects and limitations of plasma therapy with special reference to COVID-19. J Infect Public Health 2020;13:1818–22, doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.jiph.2020.08.011.
Radbel J, Narayanan N, Bhatt PJ. Use of tocilizumab for COVID-19-induced cytokine release syndrome: a cautionary case report. Chest 2020;158:e15–9.
Rajendran K, Krishnasamy N, Rangarajan J, Rathinam J, Natarajan M, Ramachandran A. Convalescent plasma transfusion for the treatment of COVID-19: systematic review. J Med Virol 2020;(September):1475–83.
Roback JD, Guarner J. Convalescent plasma to treat COVID-19: possibilities and challenges. JAMA 2020;09:1561–2.
Rojas M, Rodríguez Y, Monsalve DM, Acosta-Ampudia Y, Camacho B, Gallo JE, et al. Convalescent plasma in Covid-19: possible mechanisms of action. Autoimmun Rev 2020;19:102554.
Smid L, Osman L, Arend SM, de Groot S, de Boer MGJ. Evaluation of a modified early warning score (MEWS) adjusted for COVID-19 patients (CEWS) to identify risk of ICU admission or death. medRxiv 2020; Web, October 28.
Strömer A, Grobe O, Rose R, Fickenscher H, Lorentz T, Krumbholz, et al. Diagnostic accuracy of six commercial SARS-CoV-2 IgG/total antibody assays and identification of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies in convalescent sera. medRxiv 2020;(June) Web.
Tobaiqy M, Qashqary M, Al-Dahery S, Mujallad A, Hershan AA, Kamal MA, et al. Therapeutic management of patients with COVID-19: a systematic review. Infect Preven Pract 2020;2:10006.
Van den Berg K, Vermeulen M, Glatt TN, Wasserman S, Barrett CL, Peter J, Brittain D, et al. COVID-19: convalescent plasma as a potential therapy. South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde 2020;110:562–3.
van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN, et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. N Eng J Med 2020;382:1564–7.
Simonovich VA, Burgos Pratx LD, Scibona P, Beruto MV, Vallone MG, Va'zquez C, et al. A randomized trial of convalescent plasma in Covid-19 severe pneumonia. N Eng J Med 2020;7:619–29, doi:http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa2031304 Advance online publication.
Wooding DJ, Bach H. Treatment of COVID-19 with convalescent plasma: lessons from past coronavirus outbreaks. Clin Microbiol Infect 2020;26:1436–46.
Ye M, Fu D, Ren Y, Wang F, Wang D, Zhang F, et al. Treatment with convalescent plasma for COVID-19 patients in Wuhan, China. J Med Virol 2020;92:1890–901.
Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. N Eng J Med 2020;382:1177–9.
Zhang L, Liu Y. Potential interventions for novel coronavirus in China: a systematic review. J Med Viroly 2020;92:479–90.

 DOI: https://doi.org/10.5114/ceji.2023.126206

The persistence of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies after COVID-19: A one-year observation. Is a SARS-CoV-2 vaccination booster dose necessary?

ADAM TWOREK[1], KRZYSZTOF JAROŃ[1], MAŁGORZATA CICHA[2], ANDRZEJ RYDZEWSKI[3,4], WALDEMAR WIERZBA[5,6], ARTUR ZACZYŃSKI[5], ZBIGNIEW KRÓL[5], GRAŻYNA RYDZEWSKA[1,7]

[1]Clinical Department of Internal Medicine and Gastroenterology with Inflammatory Bowel Disease Unit, Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland
[2]Diagnostic Laboratory of Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland
[3]Department of Internal Medicine, Nephrology and Transplantation Medicine, Central Clinical Hospital of the Ministry of Interior and Administration, Warsaw, Poland
[4]Department of Internal Medicine, Nephrology and Transplantation Medicine, Centre of Postgraduate Medical Education, Warsaw, Poland
[5]Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland
[6]University of Humanities and Economics in Łódz, Satellite Campus in Warsaw, Warsaw, Poland
[7]Collegium Medicum, Jan Kochanowski University, Kielce, Poland

Abstract

Introduction: *The aim of this study was to investigate the persistence of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies (NAbs) one year after contracting COVID-19.*

Material and methods: *The study included 38 patients – 34 men and 4 women – suffering from COVID-19 between March 15 and May 26, 2020. The median age in the group was 31 years, ranging from 22 to 67 years. The levels of neutralizing antibodies were measured at three time-points – baseline, 6 months, and 12 months. The primary endpoint was a post-infection positive result for NAbs (> 15 AU/ml; Liaison SARS-CoV-2 S1/S2 IgG quantitative test) 12 months after infection.*

Results: *The median level of NAbs after 12 months was 26.5 AU/ml. At the end of observation (12 months), 21 of the 38 patients had a NAb level of >15 AU/ml (positive). The median antibody half-life was 5.8 months.*

Conclusions: *A high percentage of the patients maintained positive levels of antibodies 6 and 12 months after COVID-19 infection. The dynamics of the antibody level decline suggests the need for booster vaccination at least once a year.*

Key words: *COVID-19, SARS-CoV-2, vaccination.*

(Cent Eur J Immunol 2023; 48 (2): 1-5)

Introduction

Severe acute respiratory coronavirus 2 (SARS-CoV-2), the pathogen responsible for the COVID-19 outbreak, is one of seven known human coronaviruses, which were first discovered in 1965 [1]. SARS-CoV-2 has four structural proteins: a spike (S), an envelope (E), a membrane (M), and a nucleocapsid (N). The S and N proteins are the key viral structural proteins and the main targets of antibody response after infection. The S protein is divided into two units – S1 and S2 – which are responsible for entry into the host cell [2]. The antibody response to these spike protein units was used to develop the neutralizing antibody (NAb) COVID-19 tests. Antibodies play an essential role in communicating the presence of a pathogen to immune effector cells. NAbs can activate immune cells, such as dendritic cells, T-cells, B-cells, and other mechanisms of the immune system. Huang *et al*. [3] reviewed 491 papers related to human coronavirus immunity and reported that MERS-CoV neutralizing antibodies were detected up to 60 weeks after symptom onset. Cao *et al*. [4] described the long-term dynamics for immunoglobulin G (IgG) and NAbs over the course of a 3-year study on SARS-CoV. The SARS-CoV-2 virus genome is 74.5% similar to that of the SARS-CoV genome [5] and 50% similar to that of the MERS-CoV genome [6]. According to Deng *et al*. [7],

Correspondence: Adam Tworek, Clinical Department of Internal Medicine and Gastroenterology with Inflammatory Bowel Disease Unit, Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland, e-mail: adamtworek2@gmail.com
Submitted: 03.07.2022; Accepted: 27.02.2023

primary SARS-CoV-2 exposure protects against reinfection, which is important in the context of acquiring herd immunity. The COVID-19 immunoglobulin M (IgM)-antibody response occurred earlier than the IgG response (4 days vs. 7 days); the IgM antibodies reached a peak on day 20, while the IgG antibodies peaked on day 25. However, IgM is detectable 3 weeks after infection, while the IgG response is maintained for much longer [8]. Long *et al.* [9] reported higher IgG and IgM titers in the group of patients with severe disease than in those with a mild course. In relation to the research conducted so far, it seems that the immunity against SARS-CoV-2 is sustained for a long period of time. Duysburgh *et al.* [10] reported the presence of NAbs in 91% of health workers at least 120 days after the onset of the first symptoms. The COVID-19 pandemic is the first one in which we have the opportunity for widespread use of a mRNA vaccination as a weapon against the virus [11]. These modern mRNA-based vaccines have proven to be a breakthrough in the fight against pathogens because the time from research to commercial use is measured in months, not years [12]. SARS-CoV-2 glycoprotein S receptor-binding domain (RBD) mutations are leading to an escape from the protective potential of vaccines, which is a major threat, especially in the most vulnerable populations [13]. Knowledge of the SARS-CoV-2 antibodies' disappearance would help us identify the need for and the time of intervals between booster vaccinations.

The main aim of the study was to assess NAbs' half-life time and to investigate the level of antibodies in a group of patients 12 months after the onset of COVID-19.

Material and methods

This single-center prospective observational cohort study of 38 patients took place in the Central Clinical Hospital of the Ministry of Internal Affairs in Warsaw, Poland.

Participants

The 38 patients participating in this observational study had COVID-19; 34 were men (87.2%) and 4 were women (12.8%). The patients were COVID-19 convalescents who were donating plasma. The eligibility criteria were in accordance with the Minister of Health's regulations; a positive test for SARS-CoV-2 was required (real-time PCR method for SARS-CoV-2 RNA detection), as was a double-negative SARS-CoV-2 test with a minimum 24-h interval between the two tests. In this study, we assumed that patients with a mild form of the disease did not require hospitalization, as opposed to those with moderate or severe disease. Accordingly, 10 of them had developed a moderate or severe course of illness, while 28 had mild symptoms. Observation of NAbs took place from March 15, 2020 to June 26, 2021.

Methods

The first measurement of antibodies was made at least 2 weeks after recovery (confirmed by two negative PCR tests), but no later than 8 weeks after recovery. NAb level was measured using a DiaSorin Liaison SARS-CoV-2 S1/S2 IgG test for quantitative determination of IgG S1 and IgG S2 antibodies specific to SARS-CoV-2 – an indirect chemiluminescence immunoassay (negative values were < 15 AU/ml). Subsequent measurements took place at 2-month intervals. The observation period lasted 12 months; vaccination against COVID-19 finished the observation. Patients who received convalescent plasma treatment were not included in the study. The Bioethics Committee granted approval for this study (agreement number 40/2020 from April 3, 2020).

Statistical analysis

The levels of antibodies at different time-points are presented as continuous variables and as dichotomous variables (≤ 15 and > 15). Half-life was calculated using the *pkexamine* procedure in STATA 9.2 (Stata Corporation, College Station, TX, USA). The normality of the distribution was verified with the Shapiro-Wilk test, based on a visual assessment of histograms and the values of skewness and kurtosis. Because the data were not normally distributed, the levels of antibodies are presented as medians (Q1; Q3) with 95% confidence intervals (CIs). The frequencies of antibodies at a level greater than 15 are presented as counts (*n* [% frequency]) with 95% confidence intervals for proportions, using binomial exact calculation. All values below the lower detection limit were replaced by half of the corresponding detection limit. Also, all values above the upper detection limit were replaced by the product of the upper detection limit value and a factor of 1.2 [14]. Additionally, the percentage change in antibody levels vs. baseline levels was calculated, also with 95% CIs. Finally, the correlation between age and antibody level at different time-points as well as the change vs. baseline were verified using Spearman's correlation coefficient. The statistical analysis was conducted with the software package R, version 4.0.5 (http://cran.r-project.org).

Results

The study group included 38 patients – 34 men (89.5%) and 4 women (10.5%). The median age in the group was 31 years (27-39) with a range of 22 to 67 years.

Ten patients (26.3%) had moderate or severe COVID-19 (they required hospitalization and oxygen therapy); 28 of the patients (73.7%) had mild symptoms of COVID-19. The mean level of neutralizing antibodies on first measurement was 134.5 AU/ml in the group of patients with mild symptoms and 186.4 AU/ml in the group of patients with a moderate or severe course of illness (Fig. 3).

The median level of neutralizing antibodies in the first measurement was 122 AU/ml; for the last measurement it was 26.5 AU/ml.

As can be seen, the median antibody half-life in our group of patients was 5.8443 months (range: 1.8439 to 27.1701).

There was no significant correlation between age and antibody level, nor in the change in antibody level vs. baseline ($p > 0.05$ for all time-points; Table 3).

Table 1. Antibody levels in the study group

Antibody level	*N*	Median (Q1; Q3)	95% CI for median
Baseline	38	122 (56.1; 173)	61.2-140.7
2 months	13	84.75 (44.8; 210.5)	57.7-166.1
4 months	13	49.6 (40.2; 134.6)	23.7-136.1
6 months	15	42.9 (15; 93)	16.4-90.5
10 months	13	52.8 (8.2; 134)	7.5-190.3
12 months	38	26.5 (8; 62)	14.2-42.6

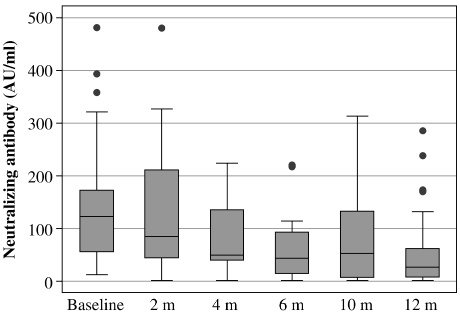

Fig. 1. Change in neutralizing antibody levels

Discussion

In this study we evaluated the change of the SARS-CoV-2 neutralizing antibody level in a one-year period. Globally, societies are trying to overcome the SARS-CoV-2 pandemic with the use of recently developed vaccines, which present a strong immune response against the virus [15, 16]. Unfortunately, despite the availability of effective vaccinations, a part of the population will not use this method of prevention. According to Zhao *et al.* [17], the humoral response seems to have a significant influence on protection against COVID-19. In contrast to the specific IgM, which disappears around 12 weeks after the onset of symptoms [18], IgG has a much longer duration. Previous studies found high titers of NAbs even 6 months after the onset of COVID-19 symptoms [19].

Among the 38 patients, 21 (56.75%) presented a protective level of SARS-CoV-2 antibodies 12 months after infection. Liu *et al.* [20] found a difference between disease severity and antibody level, which was also visible in our study. Despite the difference between age and disease severity [21], we found no significant correlation between age and antibody level. However, our study revealed a correlation between disease severity and antibody level, which can be found in other studies [22]. According to our findings, the protective antibody level seems to be high for even longer than one year for most convalescent patients, but more research is needed to prove it. The fact that not all patients presented at the ideal time was a significant obstacle; therefore, the study assumed a one-month tolerance period.

The important variable to be determined is the protective level of NAbs. Khoury *et al.* [23] determined that the estimated 50% protective neutralization level (which equates to a 50% lower risk of getting sick) was 20.2% of the mean convalescent level. According to these findings, our convalescents' 50% protective neutralization level was 34.37 AU/l. This level was maintained in 70% of our patients after 6 months of observation, and in 32% of them after 12 months.

Our study showed no significant correlation between age and SARS-CoV-2 neutralization antibody level, but most available studies show much higher mortality in the group of elderly patients [24, 25]. The greater number of comorbidities appears to be the most likely cause of the increased mortality in this group of patients. Moreover, nutritional status seems to play a crucial role in the defense against the virus; patients with nutritional deficiencies seems to be more susceptible to infectious diseases, which can lead to harmful consequences [26]. Our research results presented in this article prove that the mean level of neutralizing antibodies was higher in the group of patients with a moderate or severe course of COVID-19 illness than in the group of patients with mild symptoms (186.4 AU/ml vs. 134.5 AU/ml). The antigen specific T cell response also appears to play a large role in COVID-19 immunity. However, T-cell response could be different from the SARS-CoV-2 neutralizing antibody level. Studies published so far show that SARS-CoV-2-specific $CD8^+$ and $CD4^+$ T cells were identified in 70% and 100% of COVID-19 patients, respectively [27].

Table 2. Antibody half-life

	N	Median (Q1; Q3)	95% CI for median	Range
Antibody half-life (months)	38	5.8443 (4.2667; 9.1299)	5.04305-7.298629	1.8439-27.1701

Table 3. Correlation between age and antibody level

Correlation with age	Spearman's coefficient (rho)	*p*
Antibody level		
Baseline	0.16	0.351
6 months	0.36	0.145
12 months	0.14	0.415

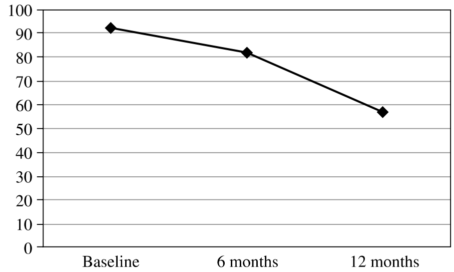

Fig. 2. Percentage change in the number of patients testing positive for SARS-CoV-2 neutralizing antibodies

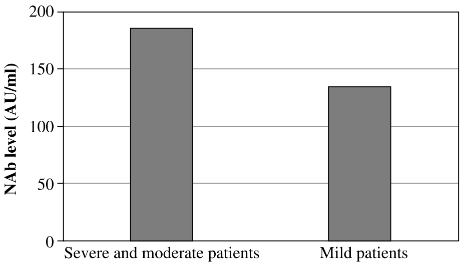

Fig. 3. Antibody level in two groups of patients: severe vs. mild or moderate course of COVID-19

According to Ibarrondo *et al*. [28], the kinetics of neutralizing antibodies after vaccination is very similar to that observed after natural infection. However, NAb levels decline more rapidly in vaccinated people with no history of SARS-CoV-2 infection. Dimeglio *et al*. found a difference in NAb kinetics in two groups of patients: vaccinated people with no history of infection and vaccinated people with previous infection. In the first group, the protection time was approximately 309 days, while in the second group it was 714 days [29]. Our research team previously reported that among COVID-19 patients, comorbidities such as active cancer, hypertension, arrhythmia, and cardiac insufficiency correlated with a higher mortality rate [30]. The fact that our patients were infected with the primal strain of the SARS-CoV-2 virus seem to be a limitation in our study. However, recent studies relating to the newest strains such as Omicron prove the same protection period [31]. Further assessment of NAb levels in the Polish population has been hampered by the fact that 47% of the population had received at least the first dose of a COVID-19 vaccination by July 27, 2021. Our group of patients seems to extrapolate to the population of vaccinated patients. It is worth noting that the type of selected vaccine can make a great difference. According to Rogliani *et al*. [32], adenovirus-vector-based, mRNA-based, and inactivated SARS-CoV-2 vaccines are superior to the plant-derived virus-like particle and SARS-CoV-2 recombinant spike glycoprotein nanoparticle vaccines. Additionally, the $CD8^+$ T cell response was eliciting relatively narrowly in the group of vaccinated patients compared to patients suffering from COVID-19 [27].

Conclusions

Our latest results along with the publications cited above prove that the SARS-CoV-2 vaccination booster should be indicated, especially for patients with risk factors such as advanced age and comorbidities. Due to the proven antibody half-life, it seems reasonable to use such vaccinations at least once a year, more often in high-risk groups. Moreover, patients with a history of COVID-19 disease will get the most benefits.

Funding source

The study was supported by the National Center for Research and Development in Poland.

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Bradburne AF, Bynoe ML, Tyrrell DA (1967): Effects of a "new" human respiratory virus in volunteers. Br Med J 3: 767-769.
2. V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, et al. (2021): Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. Nat Rev Microbiol 19: 155-170.
3. Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MDT, et al. (2020): A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: kinetics, correlates of protection, and association with severity. Nat Commun 11: 4704.
4. Cao WC, Liu W, Zhang PH, et al (2007): Disappearance of antibodies to SARS-associated coronavirus after recovery. N Engl J Med 357: 1162-1163.
5. Zhang W, Du RH, Li B, et al. (2020): Molecular and serological investigation of 2019-NCoV infected patients: implication of multiple shed-ding routes. Emerg Microbes Infect 9: 386-389.
6. Zhu Z, Lian X, Su X, et al. (2020): From SARS and MERS to COVID-19: a brief summary and comparison of severe acute respiratory infections caused by three highly pathogenic human coronaviruses. Respir Res 21: 224.

7. Deng W, Bao L, Liu J, et al. (2020): Primary exposure to SARS-CoV-2 protects against reinfection in rhesus macaques. Science 369: 818-823.
8. Liu C, Yu X, Gao C, et al. (2021): Characterization of antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent COVID-19 patients. J Med Virol 93: 2227-2233.
9. Long QX, Liu BZ, Deng HJ, et al. (2020): Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. Nat Med 26: 845-848.
10. Duysburgh E, Mortgat L, Barbezangeet C, et al. (2021): Persistence of IgG response to SARS-CoV-2. Lancet Infect Dis 21: 163-164.
11. Taubenberger JK, Morens DM (2006): 1918 influenza: the mother of all pandemics. Emerg Infect Dis 12: 15-22.
12. Lurie N, Saville M, Hatchett R, et al. (2020): Developing Covid-19 vaccines at pandemic speed. N Engl J Med 382: 1969-1973.
13. Cosar B, Karagulleoglu ZY, Unal S, et al. (2022): SARS-CoV-2 mutations and their viral variants. Cytokine Growth Factor Rev 63: 10-22.
14. Mikšová D, Filzmoser P, Middleton M (2020): Imputation of values above an upper detection limit in compositional data. Comput Geosci 136: 104383.
15. Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, et al. (2020): Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 NCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. Lancet 396: 467-478.
16. Prompetchara E, Chutitorn K, Tanapat P (2020): Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: lessons learned from SARS and MERS epidemic. Asian Pac J Allergy Immunol 38: 1-9.
17. Zhao J, Yuan Q, Wang H, et al. (2020): Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with novel coronavirus disease 2019. Clin Infect Dis 71: 2027-2034.
18. Wu J, Liang B, Chen C, et al. (2021): SARS-CoV-2 infection induces sustained humoral immune responses in convalescent patients following symptomatic COVID-19. Nat Commun 12: 1813.
19. Liu C, Yu X, Gao C, et al. (2021: Characterization of antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent COVID-19 patients. J Med Virol 93: 2227-2233.
20. Liu ZL, Liu Y, Wan LG, et al. (2020): Antibody profiles in mild and severe cases of COVID-19. Clin Chem 66: 1102-1104.
21. Liang J, Nong S, Jiang L, et al. (2021): Correlations of disease severity and age with hematology parameter variations in patients with COVID-19 pre- and post-treatment. J Clin Lab Anal 35: e23609.
22. Imai K, Kitagawa Y, Tabata S, et al. Antibody response patterns in COVID-19 patients with different levels of disease severity in Japan. J Med Virol 93: 3211-3218.
23. Khoury DS, Cromer D, Reynaldi A, et al. (2021): Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. Nat Med 27: 1205-1211.
24. Águila-Gordo D, Martínez-Del Río J, Mazoteras-Muńoz V, et al. (2021): Mortality and associated prognostic factors in elderly and very elderly hospitalized patients with respiratory disease COVID-19. Rev Esp Geriatr Gerontol 56: 259-267.
25. Liu XQ, Xue S, Xu JB, et al. (2022): Clinical characteristics and related risk factors of disease severity in 101 COVID-19 patients hospitalized in Wuhan, China. Acta Pharmacol Sin 43: 64-75.
26. Guillin OM, Vindry C, Ohlmann T, et al. (2019): Selenium, selenoproteins and viral infection. Nutrients 11: 2101.
27. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, et al. (2020): Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals. Cell 181: 1489-1501.e15.
28. Ibarrondo FJ, Hofmann C, Fulcher JA, et al. (2021): Primary, recall, and decay kinetics of SARS-CoV-2 vaccine antibody responses. ACS Nano 15: 11180-11191.
29. Dimeglio C, Herin F, Da-Silva I, et al. (2021): Post-vaccination severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) antibody kinetics and protection duration. Clin Infect Dis 75: e924-e925.
30. Tworek A, Jaroń K, Uszyńska-Kałuża B, et al. (2021): Convalescent plasma treatment is associated with lower mortality and better outcomes in high-risk COVID-19 patients – propensity-score matched case-control study. Int J Infect Dis 105: 209-215.
31. Chemaitelly H, Nagelkerke N, Ayoub HH, et al. (2022): Duration of immune protection of SARS-CoV-2 natural infection against reinfection in Qatar. J Travel Med 29: taac109.
32. Rogliani P, Chetta A, Cazzola M, et al. (2021): SARS-CoV-2 neutralizing antibodies: a network meta-analysis across vaccines. Vaccines (Basel) 2021; 9: 227.

Review paper

COVID-19 humoral response

COVID-19 – odpowiedź humoralna

Adam Tworek[1], Andrzej Rydzewski[2,3], Grażyna Rydzewska[1,4], Martyna Głuszek-Osuch[1,4], Konrad Lewandowski[1]

[1]Clinical Department of Internal Medicine and Gastroenterology with Inflammatory Bowel Disease Unit, Central Clinical Hospital of the Ministry of the Interior and Administration, Warsaw, Poland
[2]Department of Internal Medicine, Nephrology and Transplantation Medicine, Central Clinical Hospital of the Ministry of Interior and Administration, Warsaw, Poland
[3]Centre of Postgraduate Medical Education, Warsaw, Poland
[4]Collegium Medicum, Jan Kochanowski University, Kielce, Poland

Medical Studies/Studia Medyczne 2023; 39 (3): 296–303
DOI: https://doi.org/10.5114/ms.2023.131679

Key words: SARS-CoV-2, neutralizing antibodies, immune response, COVID-19 therapy, cytokine storm.

Słowa kluczowe: SARS-CoV-2, przeciwciała neutralizujące, odpowiedź immunologiczna, leczenie COVID-19, sztorm cytokinowy.

Abstract

This article reviews studies on SARS-CoV-2 antibodies, including neutralizing antibodies (NAbs) and post-vaccination response. The SARS-CoV-2 virus is closely related to SARS-CoV and MERS-CoV, sharing 79% and 50% of its genome sequence with them, respectively. Antibodies are crucial in identifying and destroying pathogens such as viruses, and understanding virus-specific antibodies can help end pandemics quickly. The SARS-CoV-2 virus uses the spike protein to enter human cells via the angiotensin-converting enzyme 2 receptor (ACE2). The immune response to the virus involves various components, including dendritic cells, T cells, B cells, and NAbs. Seroconversion, antibody kinetics, and immune response after COVID-19 vaccination are essential factors in understanding the virus and developing treatments. Neutralizing antibody therapies have been explored as potential treatments, but the emergence of viral variants challenges their long-term development. Lessons learned from antibody-based therapies can influence future strategies for treating emerging infectious diseases.

Streszczenie

Niniejszy artykuł jest przeglądem dotychczasowych badań dotyczących odpowiedzi humoralnej przeciwko COVID-19, ze szczególnym uwzględnieniem przeciwciał neutralizujących (NAbs). Wirus SARS-CoV-2 jest blisko spokrewniony z wirusami SARS-CoV i MERS-CoV, dzieląc z nimi odpowiednio 79% i 50% sekwencji genomu. Przeciwciała odgrywają kluczową rolę w identyfikowaniu i niszczeniu patogenów, takich jak wirusy, a zrozumienie przeciwciał specyficznych dla wirusa może przyspieszyć zakończenie pandemii. Wirus SARS-CoV-2 za pomocą białka kolca wnika do ludzkich komórek za pośrednictwem receptora enzymu konwertującego angiotensynę 2 (ACE2). Terapie oparte na przeciwciałach neutralizujących wraz z coraz nowszymi wariantami wirusa stają się coraz mniej skuteczne.

Introduction

The SARS-CoV-2 virus, which caused the COVID-19 pandemic, has been the subject of a vast number of studies around the world. In this article, we review current studies regarding SARS-CoV-2 antibodies, including neutralizing antibodies (NAbs) and post-vaccination response. According to Pekar *et al.* [1], the first human-to-human transmission took place in mid-October or mid-November 2019. The World Health Organization (WHO) announced a public health emergency of international concern on January 30, 2020 and the COVID-19 pandemic was declared on March 11, 2020. By July 2020, more than 300,000 people had died because of COVID-19 and the virus had spread around the world. We witnessed a very rapid reaction by the scientific community: by January 5, 2020, the Wuhan Institute of Virology had sequenced the whole virus genome [2], starting the large-scale race for a COVID-19 vaccine. This sequencing took place just one week after the first case, which was reported on December 31, 2019. The first COVID-19 human vaccine trials began in March 2020. After numerous studies, the BNT162b2 vaccine was finally allowed for commercial use on December 2, 2020 – initially by the United Kingdom's Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA), and subsequently by other countries' regulatory agencies. More than one billion COVID-19 vaccine doses had been administered globally by April 2021.

The SARS-CoV-2 virus is closely related to two highly pathogenic coronaviruses: severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) and Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). The novel coronavirus shares 79% of its genome sequence with SARS-CoV and 50% with MERS-CoV [3]. Despite their differences, these viruses have one thing in common: they have jumped the immunology barrier and started human-to-human transmission.

Antibodies (along with dendritic cells, T cells, and B cells) play a crucial role in communicating the presence of a pathogen to immune effector cells. An antibody, also known as immunoglobin (Ig), is a heavy, Y-shaped protein used to identify and destroy pathogens such as bacteria and viruses. Most antibodies are composed of four polypeptide chains – two copies of a heavy chain and two copies of a light chain – connected by disulfide bonds [4]. Moreover, an antibody is also separated into two antigen-binding fragments (FAB) contacting domains and forming a characteristic Y shape. The F_V region is the subregion of FAB that binds to an antigen. There are two identical antibody-binding sites on a single antigen, which allows it to bind strongly to a multivalent antigen and to form antibody complexes. This plays a crucial role in activating other parts of the immune system. Being aware of this virus's specific antibodies could facilitate efforts to end this and future pandemics quickly.

SARS-CoV-2 structure and mechanism of entry into cells

The SARS-CoV-2 virus is built of various proteins: membrane (M), envelope (E), nucleocapsid (N), and spike (S). The N protein holds the virus's RNA genome. Together, the E, S, and M proteins create the viral envelope. The mechanism of entry into human cells is closely related to the angiotensin-converting enzyme 2 receptor (ACE2) [5, 6]. Coronaviruses use the homotrimeric spike glycoprotein, which is divided into S1 and S2 subunits on the envelope, to bind to their receptors. SARS-CoV-2 enters human cells with the mediation of the spike protein, which is duplicated multiple times on the surface of the virus. The S1 subunit binds to the ACE2 receptor, while the S2 subunit binds to the cell membrane, initiating peptide-mediating membrane fusion. The mechanism of SARS-CoV-2 membrane fusion is very similar to that proposed for HIV membrane fusion [7]. At this stage, the first cellular immune mechanisms can be observed. Toll-like receptors (TLRs) are responsible for producing type I interferons once they recognize the virus [8]. Among these TLRs, TLR7 and TLR8 play a special role: they bind single-stranded viral RNA and induce pro-inflammatory cytokines. These two TLRs are expressed mostly in the lung, brain, skin, and lymphoid tissues.

Antibody response in COVID-19 patients

In the early stage of the pandemic, Zhang *et al.* were the first to establish a specific SARS-CoV-2 antibody detection test [9]. Moreover, they noted that a molecular diagnosis based on oral swabs detected only 50% of COVID-19 cases; in contrast, the serology test detected almost 100% of the positive cases. After infection, the S and N proteins are the main targets of the immune response. According to Sun *et al.*, the antibody response was more chaotic and less linear in ICU patients than in non-ICU patients [10]. N protein antibodies, unlike the S protein antibodies, are unable to neutralize the virus [11]. NAbs interact with other parts of the immune system, such as phagocytes or natural killer cells, facilitating effective neutralization of SARS-CoV-2. Apart from their protective function, these antibodies can induce a harmful antibody-dependent enhancement (ADE), which was observed in the previous SARS-COV pandemic. ADE is mediated by the Fc receptors (FcRs) found on many immune cells, such as monocytes, macrophages, and B cells [12]. Furthermore, during the SARS-CoV pandemic, ADE in macrophages led to elevated levels of tumor necrosis factor and IL-6 [13]. Another conclusion drawn from the SARS-CoV pandemic is the fact that antibodies targeting different S-protein epitopes have different potential to induce ADE. Antibodies targeted to the receptor-binding domain (RBD) or the H2 domain of the S protein induced a better antibody response in non-human primates, while antibodies targeting other S protein domains were related to a higher risk of ADE. Moreover, recent studies have found a correlation between antibody kinetics and disease severity. Rijkers *et al.* observed that patients with a severe form of the disease developed a robust antibody response to SARS-CoV-2, including IgG and IgA antibodies. Patients with mild symptoms experienced a modest antibody response [14]. Ren *et al.* also reported a clear link between the dynamics of antibody production and disease severity. A delayed antibody response was associated with a more severe course of the disease, in contrast to the earlier response characteristic of patients with a mild form of the disease [15].

Seroconversion and antibody kinetics

A longitudinal prospective study of 1000 patients conducted by Yadav *et al.* reported that the median time for seroconversion was 10 days for IgG and 8 days for IgM [16]. Severe cases of COVID-19 tended to have an earlier seroconversion than mild ones. According to other studies, the combination of SARS-CoV-2 IgG and IgM antibodies was observed in 75% of patients; IgM peaked in the second week of infection, while IgG

Table 1. Comparison of SARS-CoV-2 antigen tests [31–33]

Antibody test	Sensitivity	Specificity
ELISA – DiaSorin	90–97%	90%
Maglumi – nCoV CLIA	82–83%	88–93%
Biosynex BSS test	83–95%	88–75%
Abbott Panbio LFT test	72%	100%
PCL COVID-19 Ag FIA test	69.8%	94.1%

peaked in the third week [17]. This seroconversion rate differs from other studies, which reported values between 70% and 90%. This is most likely related to different laboratory methods. Zhang *et al.* found that among ICU patients, the seroconversion time for both IgG and IgM antibodies was up to one month [18]. According to Agarwal *et al.*, there was no difference in seroconversion rate according to age, comorbidities, or treatment groups [19]. No correlation between antibody levels and sex was proven. The duration that antibodies are present among convalescents is a very important issue from a public health perspective. According to Hedges *et al.*, 50% of subjects maintained a high level of neutralizing antibodies for at least 6 months. The participants with the highest starting titers had the longest-lasting response, up to 12 months after the diagnosis. In this group, the antibody response after SARS-CoV-2 vaccination was much higher and lasted longer than in the convalescent patients [20]. Achiron *et al.* reported that a protective level of NAbs lasted at least 9 months in a group of convalescents [21]. According to most studies, anti-spike protein and anti-RBD antibodies showed the highest neutralizing potential [22]. The available data indicate that NAbs are produced by many B cells with little or no affinity maturation required [23–25]. These data also suggest that SARS-CoV-2 NAbs are developed from naïve B cells instead of pre-existing cross-reactive memory B cells. Although there is no evidence of a correlation between age and NAb levels, Varona *et al.* observed that among patients older than 45 years, NAb levels were more stable than among younger patients [26].

COVID-19 antibody tests

The rapid spread of SARS-CoV-2 in society created an urgent need to develop fast diagnostic methods. Antibody tests seem to be a great alternative to expensive, time-consuming PCR methods. Even though antibody tests do not detect active disease, they do have some advantages over nucleic acid tests and antigen tests. First of all, they have a much longer detection window. Another advantage is the fact that the distribution of antibodies in the blood is more uniform than the viral load in respiratory samples, which may cause false negatives with PCR. Antibody tests may be applied in convalescent plasma donor research to determine the level of protection in patients with immune deficits, or it can simply be supplementary in the diagnosis of COVID-19. Currently, neutralization assays seem to be the standard method for these measurements. Moreover, the role of this test is to evaluate the diagnostic performance of binding antibody tests, which is the most popular antibody test method. Binding antibody tests have been developed to detect immunoglobins IgA, IgM, and IgG, including ELISA, ICG assay, electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA), CLIA with enzyme or non-enzyme labels, fluorescence immunoassay (FIA), LFIA, protein microarrays, biosensors, and immunofluorescence assays (IFA) [27]. There are a few reasons for false positives, one of which is the cross-reactivity towards the SARS-CoV, MERS-CoV, HCoV-HKU1, HCoV-OC43, HCoV-229E, HCoV-Alpha1, dengue, and hepatitis B viruses [28–34] (Tables 1, 2).

Immune response after COVID-19 vaccination

According to the literature, the BNT162b2 vaccine induces a moderate level of anti-S1 IgA and IgM after two doses, though a strong IgG response was observed [35]. Wheeler *et al.* investigated the dynamics of the antibody response by comparing four vaccinations. The first dose of vaccination induced an immune response two weeks after injection. A second dose resulted in a 100-fold increase in antibodies in every

Table 2. Potential reasons for false results from COVID-19 NAb-based tests [34]

False positive test result	False negative test result
Autoantibodies: Endogenous antibodies that react with self-antigens or assay components may be present	Prozone phenomenon: High NAb titers can lead to the formation of antigen/antibody complexes that do not precipitate
Cross-reactivity: Antibodies targeting similar epitopes on different antigens may bind to the target antigen nonspecifically	Immunosuppression: Conditions such as AIDS or immunosuppressive therapies can impair the immune system's ability to produce detectable levels of NAbs
SARS-CoV-2 vaccination is IgG-positive long after an initial infection	Early test implementation: In the early stages of infection or post-vaccination, the immune system may not have generated sufficient NAbs to be detected
Exogenous factors: e.g., high concentrations of nasal spray, non-specific binding, or contamination	Exogenous factors e.g., sample degradation, or contamination

Table 3. Factors influencing the immune response to SARS-CoV-2 vaccination [46–51]

Age	Advanced age is associated with immunosenescence, a decline in immune system function that can result in a reduced ability to generate a robust immune response to vaccinations
Immunosuppression	Conditions such as HIV/AIDS or the use of immunosuppressive therapies can impair the immune system's capacity to mount an effective response to the vaccine
Genetic factors	Inter-individual genetic variability, particularly in genes related to immune system function, can influence the strength and duration of the immune response to vaccination
Nutritional status	Malnutrition, micronutrient deficiencies, or an imbalance in essential nutrients can compromise immune system function and affect the response to vaccination
Comorbidities	Certain underlying medical conditions, such as diabetes, chronic kidney disease, or autoimmune disorders, can impair immune function and affect vaccine response
Prior SARS-CoV-2 infection	The presence of pre-existing immunity due to previous SARS-CoV-2 infection may impact the immune response to COVID-19 vaccination, increasing the response

group, including the patients who had not responded after the first dose. Their antibody levels were significantly higher than those of the convalescent group. According to Martinez-Baz *et al.*, the incidence of symptomatic COVID-19 infection was three times lower in the patients vaccinated with the second dose vs. patients vaccinated only once (15.5% vs. 5.1%) [36]. Interestingly, RBD and S1 antibody levels were much higher after the second dose than any levels after the first dose. This could mean that the first dose of vaccination could induce an immunologic response, even among patients who exhibited no increase in antibodies after the first vaccination. According to Ibarrondo *et al.*, a sharp increase in antibodies was observed in convalescents after the first dose, but there was no further rise after the second one [37]. Tada *et al.* observed lower seroconversion related to SARS-CoV-2 vaccination during anti-CD20 monoclonal antibody and fingolimod therapy in a group of patients with multiple sclerosis [38]. A weaker post-vaccination immunologic response was also observed in a group of patients with active cancer [39]. Moreover, it was also observed that the dynamics of falling antibody levels was similar in convalescents and vaccine recipients, with a 90% loss within 90 days [40].

Tada *et al.* compared NAb titers after vaccination with the mRNA vaccines BNT162b2 and mRNA-1273 versus adenoviral vector-based single-dose Ad26.COV2.S vaccination. The study reported much higher neutralization titers in the mRNA-based vaccines [38]. However, some recent studies have demonstrated that combining ChAdOx1nCoV-19 adenoviral vector vaccine with the previous BNT162b2 proved to be effective against the new variants of concern [40–43].

An important question is how the new variants of the virus affect the ability to produce specific NAbs. Muik *et al.* found that after two doses of BNT162b2 vaccine, Omicron-neutralizing titers were reduced 22-fold compared to the primary version of SARS-CoV-2 [41]. The level of NAbs significantly increased one month after a third dose of vaccination. This could mean that there is a need for a third dose, as well as for vaccines adapted to newer variants of this coronavirus. Khoury *et al.* reported that the neutralization level required for 50% protection against detectable SARS-CoV-2 was 20.2% of the mean convalescent level in seven different cohorts [42]. Larger decreases in NAb titers were reported among younger patients, those previously vaccinated against influenza and those with no previous COVID-19 infection [44–51] (Table 3).

Neutralizing antibody therapies for COVID-19

The COVID-19 pandemic has compelled society to explore new technologies to treat active infections. Drugs based on neutralizing antibodies appear to be a promising avenue. The first antibody-based drug granted emergency use authorization (EUA) in the USA was tixagevimab/cilgavimab, a combination of monoclonal antibodies administered via intramuscular injection for pre-exposure prophylaxis. In the group of patients receiving this treatment, a lower mortality rate was observed (9% compared to 12% in the placebo group). However, in February 2023, the FDA revoked the authorization due to its inefficacy against the XBB.1.5 subvariant [52]. A phase 3 study of casirivimab/imdevimab reported a 70% reduction in hospitalizations when administered at a daily dose of 1200 mg and a median duration of symptoms that was four days shorter. Despite these findings, the WHO advised against the use of casirivimab/imdevimab in the 13th version of the COVID-19 Therapeutic Guidelines, released on January 13, 2023 [53].

The most significant challenge for neutralizing antibody therapies in treating COVID-19 patients is the emergence of viral variants. The increased resistance of new SARS-CoV-2 variants, such as Omicron, to neutralizing antibodies limits the long-term development of this treatment approach. A potential solution could involve targeting conserved sites less likely to mutate. Zhou *et al.* reported that targeting the S2 stem-helix fusion region of the spike protein yielded comparable effectiveness while reducing the risk of mutation at this epitope [54]. Our experience treating COVID-19 with neutralizing antibodies provides valuable insight that may be highly applicable in addressing the inevitable future pandemics. The lessons learned from developing and implementing antibody-based therapies can inform and expedite the creation of effective treatments for emerging infectious diseases.

Pathological antibody response

Although the humoral response is aimed at combating the SARS-CoV-2 virus, unwanted reactions have also been observed. It has long been known that NAbs activate specific immune complexes, leading to cytokine storm [55]. Recent studies have demonstrated that an IgG-specific immune complex was detected in the vascular walls of the lungs in 6 severe cases [56]. These specific IgG complexes are associated with acute respiratory distress syndrome in the most severe cases. Some publications have reported incorrect glycosylation in the Fc region of S1/S2 IgG antibodies in critical patients [57, 58]. This incorrect glycosylation in immune complexes can lead to the excitation of macrophages with FcγRIIIa or FcγRIIa, which in turn can lead to cytokine storm and the secretion of cytokines such as IL-6 or tumor necrosis factor. Another unwanted effect caused by IgG-specific immune complexes is platelet-mediated thrombosis [59]. According to Bastard *et al.*, at the onset of critical disease, 101 of 987 patients with life-threatening COVID-19 pneumonia had neutralizing IgG autoantibodies against interferon-w (13 patients), against the 13 types of IFN-a (36 patients), or against both (52 patients) [59]. For comparison, those autoantibodies were detected in only 4 out of 1227 healthy individuals. Other studies have also reported that autoantibodies against immunomodulatory proteins such as cytokines, chemokines, and cell-surface proteins have been observed in severe COVID-19 patients. This may indicate a significant role for the proteins in critical COVID-19 pathogenesis. Membrane attack complexes have been found in the liver, kidney, hearts, and lungs of patients with severe disease. SARS-CoV-2 can induce the complement activation pathway in a few ways: classical, lectin, and alternative pathways. Higher levels of IgG1 and IgG3 were found, as were higher levels of the activated complement components C3a, C3b, C4b, and C5a. This concentration of the complement activation pathway was related to disease severity [60].

Conclusions

The humoral response against SARS-CoV-2 presented in this article is just a part of the immune response, which includes cell-mediated immunity and the innate immune system. Our knowledge about this pathogen is growing every day. On the other hand, its ability to mutate rapidly is a serious global public health threat. We still need additional studies, as this knowledge may be crucial in future global pandemics as well.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

1. Pekar J, Zhang Y, Gearing M, Pan M, Yan H, Zhang S, Wang G, Chen X, Chen L, Chen Z, Zhu H. Timing the SARS-CoV-2 index case in Hubei Province. Science 2021; 372: 412-417.
2. Brant AC, Simões E Silva AC, Souza JP, Abreu BJ, Duarte AJ, Oliveira SC. SARS-CoV-2: from its discovery to genome structure, transcription, and replication. Cell Biosci 2021; 11: 211.
3. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, Wang W, Song H, Huang B, Zhu N, Bi Y. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. Lancet 2020; 395: 565-574.
4. Woof JM, Burton DR. Human antibody-Fc receptor interactions illuminated by crystal structures. Nat Rev Immunol 2004; 4: 89-99.
5. Shang J, Ye G, Shi K, Wan Y, Luo C, Aihara H, Geng Q, Auerbach A, Li F. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. Nature 2020; 581: 221-224.
6. Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, Zhang Q, Shi X, Wang Q, Zhang L, Wang X. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. Nature 2020; 581: 215-220.
7. Shaik MM, Peng H, Lu J, Rits-Volloch S, Xu C, Liao M, Chen B. Structural basis of coreceptor recognition by HIV-1 envelope spike. Nature 2019; 565: 318-323.
8. Jangra S, De Vrieze J, Choi A, Rathnasinghe R, Laghlali G, Uvyn A, Van Herck S, Ozorowski G, De Waele J, Schepens W, Roose K. Sterilizing immunity against SARS--CoV-2 infection in mice by a single-shot and lipid amphiphile imidazoquinoline TLR7/8 agonist-adjuvanted recombinant spike protein vaccine. Angew Chem Int 2021; 60: 9467-9473.
9. Zhang W, Du RH, Li B, Zheng XS, Yang XL, Hu B, Wang YY, Xiao GF, Yan B, Shi ZL, Zhou P. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. J Med Virol 2020; 92: 1691-1697.
10. Sun B, Feng Y, Mo X, Zheng P, Wang Q, Li P, Peng P, Liu X, Chen Z, Huang H, Zhang F, Luo W, Niu X, Hu P, Wang L, Peng H, Huang Z, Feng L, Li F, Zhang F, Li F, Zhong N, Chen L. Kinetics of SARS-CoV-2 specific IgM and IgG responses in COVID-19 patients. Emerg Microbes Infect 2020; 9: 940-948.
11. Shrock E, Fujimura E, Kula T, Timms RT, Lee IH, Leng Y, Robinson ML, Sie BM, Li MZ, Chen Y, Logue J, Zuiani A, McCulloch D, Lelis FJN, Henson S, Monaco D, Travers M, Habibi S, Clarke WA, Caturegli P, Laeyendecker O, Piechocka-Trocha A, Li JZ, Khatri A, Chu HY; MGH COVID-19 Collection & Processing Team; Villani AC, Kays K, Goldberg MB, Hacohen N, Filbin MR, Yu XG, Walker BD,

Wesemann DR, Larman HB, Lederer JA, Elledge SJ. Viral epitope profiling of COVID-19 patients reveals cross-reactivity and correlates of severity. Science 2020; 370: 4250.
12. Iwasaki A, Yang Y. The potential danger of suboptimal antibody responses in COVID-19. Nat Rev Immunol 2020; 20: 339-341.
13. Wang SF, Tseng SP, Yen CH, Yang JY, Tsao CH, Shen CW, Chen KH, Liu FT, Liu WT, Chen YMA, Huang JC. Antibody-dependent SARS coronavirus infection is mediated by antibodies against spike proteins. Biochem Biophys Res Commun 2014; 451: 208-214.
14. Rijkers G, Murk JL, Wintermans B, van Looy B, van den Berge M, Veenemans J, Stohr J, Reusken C, van der Pol P, Reimerink J. Differences in antibody kinetics and functionality between severe and mild SARS-CoV-2 infections. J Infect Dis 2020; 222: 1265-1269.
15. Ren L, Zhang R, Chang D, Wang J, Hu Y, Chen H, Guo L, Wu C, Wang C, Wang Y, Wang Y, Wang G, Yang S, Dela Cruz CS, Sharma L, Wang L, Zhang D, Wang J. The kinetics of humoral response and its relationship with the disease severity in COVID-19. Commun Biol 2020; 3: 780.
16. Yadav AK, Ghosh S, Kotwal A, Kaushik SK, Bobdey S, Sahu R, Kapoor S, Faujdar DS, Teli PT, Anand V. Seroconversion among COVID-19 patients admitted in a dedicated COVID hospital: a longitudinal prospective study of 1000 patients. Med J Armed Forces India 2021; 77 (Suppl 1): S379-S384.
17. Sun B, Feng Y, Mo X, Zheng P, Wang Q, Li P, Peng P, Liu X, Chen Z, Huang H, Zhang F, Luo W, Niu X, Hu P, Wang L, Peng H, Huang Z, Feng L, Li F, Zhang F, Li F, Zhong N, Chen L. Kinetics of SARS-CoV-2 specific IgM and IgG responses in COVID-19 patients. Emerg Microbes Infect 2020; 9: 940-948.
18. Zhang B, Yue D, Wang Y, Wang F, Wu S, Hou H. The dynamics of immune response in COVID-19 patients with different illness severity. J Med Virol 2021; 93: 1070-1077.
19. Agarwal A, Baghmar S, Qureshi S, Khurana A, Setia R, Khan MA, Barman P, Kapoor RK, Hasthavaram NR, Kumar R, Singh N, Sarin A, Handoo A. Persistent antibody responses to SARS-CoV-2 infection in cancer patients: a single-center retrospective observational study. Indian J Med Paediatr Oncol 2021; 42: 123-129.
20. Hedges JF, Thompson MA, Snyder DT, Robison A, Taylor MP, Jutila MA. Titers, prevalence, and duration of Sars-Cov-2 antibodies in a local Covid-19 Outbreak and following vaccination. Vaccines 2021; 9: 587.
21. Achiron A, Gurevich M, Falb R, Dreyer-Alster S, Sonis P, Mandel M. SARS-CoV-2 antibody dynamics and B-cell memory response over time in COVID-19 convalescent subjects. Clin Microbiol Infect 2021; 27: 1349.e1-1349.e6.
22. Garcia-Beltran WF, Lam EC, Astudillo MG, Yang D, Miller TE, Feldman J, Hauser BM, Caradonna TM, Clayton KL, Nitido AD, Murali MR, Alter G, Charles RC, Dighe A, Branda JA, Lennerz JK, Lingwood D, Schmidt AG, Iafrate AJ, Balazs AB. COVID-19-neutralizing antibodies predict disease severity and survival. Cell 2021; 184: 476-488.e11.
23. Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. Cell 2021; 184: 861-880.
24. Ng KW, Faulkner N, Cornish GH, Rosa A, Harvey R, Hussain S, Ulferts R, Earl C, Wrobel AG, Benton DJ, Roustan C, Bolland W, Thompson R, Agua-Doce A, Hobson P, Heaney J, Rickman H, Paraskevopoulou S, Houlihan CF, Thomson K, Sanchez E, Shin GY, Spyer MJ, Joshi D, O'Reilly N, Walker PA, Kjaer S, Riddell A, Moore C, Jebson BR, Wilkinson M, Marshall LR, Rosser EC, Radziszewska A, Peckham H, Ciurtin C, Wedderburn LR, Beale R, Swanton C, Gandhi S, Stockinger B, McCauley J, Gamblin SJ, McCoy LE, Cherepanov P, Nastouli E, Kassiotis G. Preexisting and de novo humoral immunity to SARS-CoV-2 in humans. Science 2020; 370: 1339-1343.
25. Nguyen-Contant P, Embong AK, Kanagaiah P, Chaves FA, Yang H, Branche AR, Topham DJ, Sangster MY. S Protein--reactive IGG and memory B cell production after human SARS-CoV-2 infection includes broad reactivity to the S2 subunit. mBio 2020; 11: e01991-20.
26. Varona JF, Madurga R, Peñalver F, Abarca E, Almirall C, Cruz M, Ramos E, Castellano-Vazquez JM. Kinetics of anti-SARS-CoV-2 antibodies over time. Results of 10 month follow up in over 300 seropositive health care workers. Eur J Intern Med 2021; 89: 97-103.
27. Liu G, Rusling JF. COVID-19 antibody tests and their limitations. ACS Sens 2021; 6: 593-612.
28. Ng KW, Faulkner N, Cornish GH, Rosa A, Harvey R, Hussain S, Ulferts R, Earl C, Wrobel AG, Benton DJ, Roustan C, Bolland W, Thompson R, Agua-Doce A, Hobson P, Heaney J, Rickman H, Paraskevopoulou S, Houlihan CF, Thomson K, Sanchez E, Shin GY, Spyer MJ, Joshi D, O'Reilly N, Walker PA, Kjaer S, Riddell A, Moore C, Jebson BR, Wilkinson M, Marshall LR, Rosser EC, Radziszewska A, Peckham H, Ciurtin C, Wedderburn LR, Beale R, Swanton C, Gandhi S, Stockinger B, McCauley J, Gamblin SJ, McCoy LE, Cherepanov P, Nastouli E, Kassiotis G. Preexisting and de novo humoral immunity to SARS-CoV-2 in humans. Science 2020; 370: 1339-1343.
29. Hicks J, Klumpp-Thomas C, Kalish H, Shunmugavel A, Mehalko J, Denson JP, Snead KR, Drew M, Corbett KS, Graham BS, Hall MD, Memoli MJ, Esposito D, Sadtler K. Serologic cross-reactivity of SARS-CoV-2 with endemic and seasonal betacoronaviruses. J Clin Immunol 2021; 41: 906-913.
30. Lv H, Wu N, Tsang OTY, Yuan M, Perera RAPM, Leung WS, So RTY, Chan JMC, Yip GK, Chik TSH, Wang Y, Choi CYC, Lin Y, Ng WW, Zhao J, Poon LLM, Peiris JSM, Wilson IA, Mok CKP. Cross-reactive antibody response between SARS-CoV-2 and SARS-CoV infections. Cell Rep 2020; 31: 107725.
31. Al-Alawi S, Al-Hinai H, Al-Kindi N, Al-Rashidi M, Al-Kindi H, Al-Shukri I, Al-Rashdi A, Jose S, Al-Jardani A. Evaluation of four rapid antigen tests for detection of SARS--CoV-2 virus. Oman Med J 2021; 36: e273.
32. Hsieh WY, Lin CH, Lin TC, Lin CH, Chang HF, Tsai CH, Wu HT, Lin CS. Development and efficacy of lateral flow point-of-care testing devices for rapid and mass COVID-19 diagnosis by the detections of SARS-CoV-2 antigen and anti-SARS-CoV-2 antibodies. Diagnostics 2021; 11: 1760.
33. Kopel J, Goyal H, Perisetti A. Antibody tests for COVID-19. Proc Bayl Univ Med Cent 2021; 34: 63-72.
34. Mouliou DS, Gourgoulianis KI. False-positive and false--negative COVID-19 cases: respiratory prevention and management strategies, vaccination, and further perspectives. Expert Rev Respir Med 2021; 15: 993-1002.
35. Jalkanen P, Kolehmainen P, Häkkinen HK, Huttunen M, Tähtinen PA, Lundberg R, Maljanen S, Reinholm A, Tauriainen S, Pakkanen SH, Levonen I, Nousiainen A, Miller T, Välimaa H, Ivaska L, Pasternack A, Naves R, Ritvos O, Österlund P, Kuivanen S, Smura T, Hepojoki J, Vapalahti O,

Lempainen J, Kakkola L, Kantele A, Julkunen I. COVID-19 mRNA vaccine induced antibody responses against three SARS-CoV-2 variants. Nat Commun 2021; 12: 3991.
36. Martínez-Baz I, Miqueleiz A, Casado I, Navascués A, Trobajo-Sanmartín C, Burgui C, Guevara M, Ezpeleta C, Castilla J; Working Group for the Study of COVID-19 in Navarra. Effectiveness of COVID-19 vaccines in preventing SARS-CoV-2 infection and hospitalisation, Navarre, Spain, January to April 2021. Euro Surveill 2021; 26: 2100438.
37. Ibarrondo FJ, Hofmann C, Fulcher JA, Goodman-Meza D, Mu W, Hausner MA, Ali A, Balamurugan A, Taus E, Elliott J, Krogstad P, Tobin NH, Ferbas KG, Kitchen SG, Aldrovandi GM, Rimoin AW, Yang OO. Primary, recall, and decay kinetics of SARS-CoV-2 vaccine antibody responses. ACS Nano 2021; 15: 11180-11191.
38. Tada T, Zhou H, Dcosta BM, Samanovic MI, Dcosta BM, Cornelius A, Mulligan MJ, Landau NR. Comparison of neutralizing antibody titers elicited by mRNA and adenoviral vector vaccine against SARS-CoV-2 variants. bioRxiv 2021: 2021.07.19.452771.
39. Nordström P, Ballin M, Nordström A. Effectiveness of heterologous ChAdOx1 nCoV-19 and mRNA prime-boost vaccination against symptomatic COVID-19 infection in Sweden: a nationwide cohort study. Lancet Reg Health Eur 2021; 11: 100249.
40. Barros-Martins J, Hammerschmidt SI, Cossmann A, Odak I, Stankov MV, Ramos GM, Dopfer-Jablonka A, Heidemann A, Ritter C, Friedrichsen M, Schultze-Florey C, Ravens I, Willenzon S, Bubke A, Ristenpart J, Janssen A, Ssebyatika G, Bernhardt G, Münch J, Hoffmann M, Pöhlmann S, Krey T, Bošnjak B, Förster R, Behrens GMN. Immune responses against SARS-CoV-2 variants after heterologous and homologous ChAdOx1 NCoV-19/BNT162b2 vaccination. Nat Med 2021; 27: 1525-1529.
41. Muik A, Lui BG, Wallisch AK, Bacher M, Mühl J, Reinholz J, Ozhelvaci O, Beckmann N, de la Caridad Güimil Garcia R, Poran A, Shpyro S, Finlayson A, Cai H, Yang Q, Swanson KA, Türeci Ö, Şahin U. Neutralization of SARS-CoV-2 omicron by BNT162b2 mRNA vaccine-elicited human sera. Science 2022; 375: 678-680.
42. Khoury DS, Cromer D, Reynaldi A, Schlub TE, Wheatley AK, Juno JA, Subbarao K, Kent SJ, Triccas JA, Davenport MP. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. Nat Med 2021; 27: 1205-1211.
43. Modenese A, Paduano S, Bellucci R, Marchetti S, Bruno F, Grazioli P, Vivoli R, Gobba F, Bargellini A. Investigation of possible factors influencing the neutralizing anti-SARS--CoV-2 antibody titer after six months from the second vaccination dose in a sample of italian nursing home personnel. Antibodies (Basel) 2022; 11: 59.
44. Hurt AC, Wheatley AK. Neutralizing antibody therapeutics for Covid-19. Viruses 2021; 13: 628.
45. Platzer B, Stout M, Fiebiger E. Antigen cross-presentation of immune complexes. Front Immunol 2014; 5: 140.
46. Mueller AL, McNamara MS, Sinclair DA. Why does COVID-19 disproportionately affect older people? Aging (Albany NY) 2020; 12: 9959-9981.
47. Fung M, Babik JM. COVID-19 in immunocompromised hosts: what we know so far. Clin Infect Dis 2021; 72: 340-350.
48. COVID-19 Host Genetics Initiative. Mapping the human genetic architecture of COVID-19. Nature 2021; 600: 472-477.
49. Jayawardena R, Sooriyaarachchi P, Chourdakis M, Jeewandara C, Ranasinghe P. Enhancing immunity in viral infections, with special emphasis on COVID-19: a review. Diabetes Metab Syndr 2020; 14: 367-382.
50. Williamson EJ, Walker AJ, Bhaskaran K, Bacon S, Bates C, Morton CE, Curtis HJ, Mehrkar A, Evans D, Inglesby P, Cockburn J, McDonald HI, MacKenna B, Tomlinson L, Douglas IJ, Rentsch CT, Mathur R, Wong AYS, Grieve R, Harrison D, Forbes H, Schultze A, Croker R, Parry J, Hester F, Harper S, Perera R, Evans SJW, Smeeth L, Goldacre B. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. Nature 2020; 584: 430-436.
51. Krammer F, Srivastava K, Alshammary H, Amoako AA, Awawda MH, Beach KF, Bermúdez-González MC, Bielak DA, Carreño JM, Chernet RL, Eaker LQ, Ferreri ED, Floda D, Gleason CR, Hamburger JZ, Jiang K, Kleiner G, Jurczyszak D, Matthews JC, Mendez WA, Nabeel I, Mulder LCF, Raskin AJ, Russo Kayla T, Salimbangon ABT, Saksena M, Shin AS, Singh G, Sominsky LA, Stadlbauer D, Wajnberg A, Simon V. Antibody responses in seropositive persons after a single dose of SARS-CoV-2 mRNA vaccine. N Engl J Med 2021; 384: 1372-1374.
52. BMJ. COVID-19: The BMJ's Coronavirus Hub [Internet]. BMJ. [cited 2023 Apr 25]. https://www.bmj.com/content/380/bmj.p264
53. MAGICapp. National COVID-19 Clinical Evidence Taskforce [Internet]. Australian Government Department of Health. [cited 2023 Apr 25]. https://app.magicapp.org/#/guideline/6914/section/121234
54. Zhou P, Song G, Liu H, Yuan M, He WT, Beutler N, Zhu X, Tse LV, Martinez D, Schäfer A, Anzanello F, Yong P, Peng L, Dueker K, Musharrafieh R, Callaghan S, Capozzola T, Limbo O, Parren M, Garcia E, Rawlings SA, Smith DM, Nemazee D, Jardine JG, Safonova Y, Briney B, Rogers TF, Wilson IA, Baric RS, Gralinski LE, Burton DR, Andrabi R. Broadly neutralizing anti-S2 antibodies protect against all three human betacoronaviruses that cause deadly disease. Immunity 2023; 56: 669-686.
55. Kim DM, Kim HS, Seo JW, Lee J, Park U, Ha NY, Koh J, Park H, Lee JW, Ro HJ, Yun NR, Kim DY, Yoon SH, Na YS, Moon DS, Lim SC, Kim CM, Jeon K, Kang JG, Jang NY, Jeong H, Kim J, Cheon S, Sohn KM, Moon JY, Kym S, Han SR, Lee MS, Kim HJ, Park WY, Choi JY, Shin HW, Kim HY, Cho CH, Jeon YK, Kim YS, Cho NH. Enhanced eosinophil-mediated inflammation associated with antibody and complement-dependent pneumonic insults in critical COVID-19. Cell Rep 2021; 37: 109798.
56. Ankerhold J, Giese S, Kolb P, Maul-Pavicic A, Voll RE, Göppert N, Ciminski K, Kreutz C, Lother A, Salzer U, Bildl W, Welsink T Morgenthaler NG, Grawitz AB, Huzly D, Schwemmle M, Hengel H, Falcone V. Circulating multimeric immune complexes drive immunopathology in COVID-19. bioRxiv 2021 Jun 25. doi: 10.1101/2021.06.25.449893.
57. Bye AP, Hoepel W, Mitchell JL, Jégouic S, Loureiro S, Sage T, Vidarsson G, Nouta J, Wuhrer M, de Taeye S, van Gils M, Kriek N, Cooper N, Jones I, den Dunnen J, Gibbins JM. Aberrant glycosylation of anti-SARS-CoV-2 spike IgG is a prothrombotic stimulus for platelets. Blood 2021; 138: 1481-1489.
58. Nazy I, Jevtic SD, Moore JC, Huynh A, Smith JW, Kelton JG, Arnold DM. Platelet activating immune complexes identified in COVID-19 associated coagulopathy. medRxiv. 2020 Nov 4. doi: 10.1101/2020.11.04.20226076.

59. Bastard P, Rosen LB, Zhang Q, Michailidis E, Hoffmann HH, Zhang Y, et al. Autoantibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19. Science 2020; 370: eabd4585. doi: 10.1126/science.abd4585.
60. Pfister F, Vonbrunn E, Ries T, Jäck HM, Überla K, Lochnit G, Sheriff A, Herrmann M, Büttner-Herold M, Amann K, Daniel C. Complement activation in kidneys of patients with COVID-19. Front Immunol 2020; 11: 594849.

Address for correspondence

Adam Tworek
Clinical Department of Internal Medicine
and Gastroenterology with
Inflammatory Bowel Disease Unit
Central Clinical Hospital
of the Ministry of the Interior and Administration
137 Wołoska St, 02-507 Warsaw, Poland
E-mail: adamtworek2@gmail.com,
Adam.tworek@cskmswia.gov.pl

11. Podsumowanie i wnioski

1) Wykazano istotną redukcję śmiertelności w grupie pacjentów, która otrzymała leczenie osoczem (odsetek śmiertelności 13.7% w grupie, która otrzymała leczenie osoczem, natomiast 34.3% w grupie kontrolnej).
2) Większe korzyści odnotowano w grupie pacjentów z cięższym przebiegiem choroby, u chorych, u których terapię podano w pierwszych dniach choroby (do 72 godzin od momentu postawienia rozpoznania) oraz u tych, u których współwystępują choroby towarzyszące, a zwłaszcza niewydolność krążenia oraz aktywna choroba nowotworowa.
3) Wyższy poziom przeciwciał neutralizujących zaobserwowano u dawców osocza z cięższym przebiegiem COVID-19.
4) W grupie pacjentów po przebytym COVID-19, poddanych obserwacji, u 56.75% z nich zaobserwowano ochronny poziom przeciwciał neutralizujących po 12 miesiącach od zdiagnozowania choroby, co przemawia za koniecznością stosowania szczepień przypominających przeciwko COVID-19, zwłaszcza w grupie pacjentów z niedoborami odporności oraz z chorobami towarzyszącymi.

12. Bibliografia

[1] Sun, J., He, W. T., Wang, L., Lai, A., Ji, X., Zhai, X., Li, G., Suchard, M. A., Tian, J., Zhou, J., Veit, M., & Su, S. (2020). COVID-19: Epidemiology, Evolution, and Cross-Disciplinary Perspectives. *Trends in molecular medicine*, *26*(5), 483–495. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2020.02.008

[2] Ma, J. (2020). Coronavirus: China's first confirmed Covid-19 case traced back to November 17. Retrieved from https://www.scmp.com/news/china/society/article/3074991/coronavirus-chinas-first-confirmed-covid-19-case-traced-back

[3] Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., Zhang, L., Fan, G., Xu, J., Gu, X., Cheng, Z., Yu, T., Xia, J., Wei, Y., Wu, W., Xie, X., Yin, W., Li, H., Liu, M., Xiao, Y., … Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet (London, England), 395(10223), 497–506. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5

[4] Chan, J. F., Yuan, S., Kok, K. H., To, K. K., Chu, H., Yang, J., Xing, F., Liu, J., Yip, C. C., Poon, R. W., Tsoi, H. W., Lo, S. K., Chan, K. H., Poon, V. K., Chan, W. M., Ip, J. D., Cai, J. P., Cheng, V. C., Chen, H., Hui, C. K., … Yuen, K. Y. (2020). A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. Lancet (London, England), 395(10223), 514–523. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30154-9

[5] Machhi, J., Herskovitz, J., Senan, A. M., Dutta, D., Nath, B., Oleynikov, M. D., Blomberg, W. R., Meigs, D. D., Hasan, M., Patel, M., Kline, P., Chang, R. C., Chang, L., Gendelman, H. E., & Kevadiya, B. D. (2020). The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections. Journal of neuroimmune pharmacology: the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology, 15(3), 359–386. https://doi.org/10.1007/s11481-020-09944-5

[6] Bradburne, A. F., Bynoe, M. L., & Tyrrell, D. A. (1967). Effects of a "new" human respiratory virus in volunteers. British medical journal, 3(5568), 767–769. https://doi.org/10.1136/bmj.3.5568.767

[7] Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., Wang, W., Song, H., Huang, B., Zhu, N., Bi, Y., Ma, X., Zhan, F., Wang, L., Hu, T., Zhou, H., Hu, Z., Zhou, W., Zhao, L., Chen, J., … Tan, W. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. Lancet (London, England), 395(10224), 565–574. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8

[8] Kim, D., Lee, J. Y., Yang, J. S., Kim, J. W., Kim, V. N., & Chang, H. (2020). The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. Cell, 181(4), 914–921.e10. https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.011

[9] V'kovski P, Kratzel A, Steiner S, et al. (2021): Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. Nat Rev Microbiol 19: 155-170.

[10] Shang, J., Ye, G., Shi, K., Wan, Y., Luo, C., Aihara, H., Geng, Q., Auerbach, A., & Li, F. (2020). Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. Nature, 581(7807), 221–224. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2179-y

[11] Lu, R., Zhao, X., Li, J., Niu, P., Yang, B., Wu, H., Wang, W., Song, H., Huang, B., Zhu, N., Bi, Y., Ma, X., Zhan, F., Wang, L., Hu, T., Zhou, H., Hu, Z., Zhou, W., Zhao, L., Chen, J., … Tan, W. (2020). Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. Lancet (London, England), 395(10224), 565–574. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8

[12] Wang, Y., Sun, J., Zhu, A., Zhao, J., & Zhao, J. (2018). Current understanding of middle east respiratory syndrome coronavirus infection in human and animal models. Journal of thoracic disease, 10(Suppl 19), S2260–S2271. https://doi.org/10.21037/jtd.2018.03.80

[13] Michaelsen, T. Y., Bennedbæk, M., Christiansen, L. E., Jørgensen, M. S. F., Møller, C. H., Sørensen, E. A., Knutsson, S., Brandt, J., Jensen, T. B. N., Chiche-Lapierre, C., Collados, E. F., Sørensen, T., Petersen, C., Le-Quy, V., Sereika, M., Hansen, F. T., Rasmussen, M., Fonager, J., Karst, S. M., Marvig, R. L., … Albertsen, M. (2022). Introduction and transmission of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7, Alpha variant, in Denmark. Genome medicine, 14(1), 47. https://doi.org/10.1186/s13073-022-01045-7

[14] Oran, D. P., & Topol, E. J. (2021). The Proportion of SARS-CoV-2 Infections That Are Asymptomatic: A Systematic Review. Annals of internal medicine, 174(5), 655–662. https://doi.org/10.7326/M20-6976

[15] Gorzalski, A. J., Tian, H., Laverdure, C., Morzunov, S., Verma, S. C., VanHooser, S., & Pandori, M. W. (2020). High-Throughput Transcription-mediated amplification on the Hologic Panther is a highly sensitive method of detection for SARS-CoV-2. Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology, 129, 104501. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104501

[16] Lai, C. C., Shih, T. P., Ko, W. C., Tang, H. J., & Hsueh, P. R. (2020). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. International journal of antimicrobial agents, 55(3), 105924. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924

[17] He, X., Lau, E. H. Y., Wu, P., Deng, X., Wang, J., Hao, X., Lau, Y. C., Wong, J. Y., Guan, Y., Tan, X., Mo, X., Chen, Y., Liao, B., Chen, W., Hu, F., Zhang, Q., Zhong, M., Wu, Y., Zhao, L., Zhang, F., … Leung, G. M. (2020). Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. Nature medicine, 26(5), 672–675. https://doi.org/10.1038/s41591-020-0869-5

[18] Velavan, T. P., & Meyer, C. G. (2020). The COVID-19 epidemic. Tropical medicine & international health: TM & IH, 25(3), 278–280. https://doi.org/10.1111/tmi.13383

[19] Sungnak, W., Huang, N., Bécavin, C., Berg, M., Queen, R., Litvinukova, M., Talavera-López, C., Maatz, H., Reichart, D., Sampaziotis, F., Worlock, K. B., Yoshida, M., Barnes, J. L., & HCA Lung Biological Network (2020). SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. Nature medicine, 26(5), 681–687. https://doi.org/10.1038/s41591-020-0868-6

[20] Paderno, A., Mattavelli, D., Rampinelli, V., Grammatica, A., Raffetti, E., Tomasoni, M., Gualtieri, T., Taboni, S., Zorzi, S., Del Bon, F., Lombardi, D., Deganello, A., Redaelli De Zinis, L. O., & Schreiber, A. (2020). Olfactory and Gustatory Outcomes in COVID-19: A Prospective Evaluation in Nonhospitalized Subjects. Otolaryngology--head and neck surgery: official

journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, 163(6), 1144–1149. https://doi.org/10.1177/0194599820939538

[21] Światowa Organizacja Zdrowia. (2020). Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). (s. 11–12). Dostęp 2020-03-08, z https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf

[22] Long, B., Brady, W. J., Koyfman, A., & Gottlieb, M. (2020). Cardiovascular complications in COVID-19. The American journal of emergency medicine, 38(7), 1504–1507. https://doi.org/10.1016/j.ajem.2020.04.048

[23] Puntmann, V. O., Carerj, M. L., Wieters, I., Fahim, M., Arendt, C., Hoffmann, J., Shchendrygina, A., Escher, F., Vasa-Nicotera, M., Zeiher, A. M., Vehreschild, M., & Nagel, E. (2020). Outcomes of Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Patients Recently Recovered From Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). JAMA cardiology, 5(11), 1265–1273. https://doi.org/10.1001/jamacardio.2020.3557

[24] Toscano, G., Palmerini, F., Ravaglia, S., Ruiz, L., Invernizzi, P., Cuzzoni, M. G., Franciotta, D., Baldanti, F., Daturi, R., Postorino, P., Cavallini, A., & Micieli, G. (2020). Guillain-Barré Syndrome Associated with SARS-CoV-2. The New England journal of medicine, 382(26), 2574–2576. https://doi.org/10.1056/NEJMc2009191

[25] Ejaz, H., Alsrhani, A., Zafar, A., Javed, H., Junaid, K., Abdalla, A. E., … Younas, S. (2020, December 1). COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients. Journal of Infection and Public Health. Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.07.014

[26] Montazersaheb, S., Hosseiniyan Khatibi, S. M., Hejazi, M. S., Tarhriz, V., Farjami, A., Ghasemian Sorbeni, F., Farahzadi, R., & Ghasemnejad, T. (2022). COVID-19 infection: an overview on cytokine storm and related interventions. Virology journal, 19(1), 92. https://doi.org/10.1186/s12985-022-01814-1

[27] Grasselli, G., Tonetti, T., Filippini, C., Slutsky, A. S., Pesenti, A., & Ranieri, V. M. (2021). Pathophysiology of COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome- Authors' reply.

The Lancet. Respiratory medicine, 9(1), e5–e6. https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30525-7

[28] Park M. D. (2020). Macrophages: a Trojan horse in COVID-19?. Nature reviews. Immunology, 20(6), 351. https://doi.org/10.1038/s41577-020-0317-2

[29] Angeli, F., Zappa, M., Reboldi, G., Trapasso, M., Cavallini, C., Spanevello, A., & Verdecchia, P. (2021). The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection: One year later. European Journal of Internal Medicine. Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.ejim.2021.09.007

[29'] Dinnes, J., Deeks, J. J., Adriano, A., Berhane, S., Davenport, C., Dittrich, S., Emperador, D., Takwoingi, Y., Cunningham, J., Beese, S., Dretzke, J., Ferrante di Ruffano, L., Harris, I. M., Price, M. J., Taylor-Phillips, S., Hooft, L., Leeflang, M. M., Spijker, R., Van den Bruel, A., & Cochrane COVID-19 Diagnostic Test Accuracy Group (2020). Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. The Cochrane database of systematic reviews, 8(8), CD013705. https://doi.org/10.1002/14651858.CD013705

[29''] Picchi, S. G., Lassandro, G., Corvino, A., Tafuri, D., Caruso, M., Faggian, G., Cocco, G., Pizzi, A. D., Gallo, L., Quassone, P., Boccatonda, A., & Minguzzi, M. T. (2023). COVID-19: Correlation between HRCT findings and clinical prognosis and analysis of parenchymal pattern evolution. Journal of clinical imaging science, 13, 10. https://doi.org/10.25259/JCIS_22_2023

[30] Shrock, E., Fujimura, E., Kula, T., Timms, R. T., Lee, I. H., Leng, Y., Robinson, M. L., Sie, B. M., Li, M. Z., Chen, Y., Logue, J., Zuiani, A., McCulloch, D., Lelis, F. J. N., Henson, S., Monaco, D. R., Travers, M., Habibi, S., Clarke, W. A., Caturegli, P., … Elledge, S. J. (2020). Viral epitope profiling of COVID-19 patients reveals cross-reactivity and correlates of severity. Science (New York, N.Y.), 370(6520), eabd4250. https://doi.org/10.1126/science.abd4250

[31] Rijkers, G., Murk, J. L., Wintermans, B., van Looy, B., van den Berge, M., Veenemans, J., Stohr, J., Reusken, C., van der Pol, P., & Reimerink, J. (2020). Differences in Antibody Kinetics and Functionality Between Severe and Mild Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infections. The Journal of infectious diseases, 222(8), 1265–1269. https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa463

[32] Ren, L., Zhang, L., Chang, D., Wang, J., Hu, Y., Chen, H., Guo, L., Wu, C., Wang, C., Wang, Y., Wang, Y., Wang, G., Yang, S., Dela Cruz, C. S., Sharma, L., Wang, L., Zhang, D., & Wang, J. (2020). The kinetics of humoral response and its relationship with the disease severity in COVID-19. Communications biology, 3(1), 780. https://doi.org/10.1038/s42003-020-01526-8

[33] Yadav, A. K., Ghosh, S., Kotwal, A., Kaushik, S. K., Bobdey, S., Sahu, R., Kapoor, S., Faujdar, D. S., Teli, P. T., & Anand, V. (2021). Seroconversion among COVID-19 patients admitted in a dedicated COVID hospital: A longitudinal prospective study of 1000 patients. Medical journal, Armed Forces India, 77(Suppl 2), S379–S384. https://doi.org/10.1016/j.mjafi.2021.06.007

[34] Achiron, A., Gurevich, M., Falb, R., Dreyer-Alster, S., Sonis, P., & Mandel, M. (2021). SARS-CoV-2 antibody dynamics and B-cell memory response over time in COVID-19 convalescent subjects. Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 27(9), 1349.e1–1349.e6. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.05.008

[35] Sette, A., & Crotty, S. (2021). Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. Cell, 184(4), 861–880. https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.01.007

[36] Wang, Z., Lorenzi, J. C. C., Muecksch, F., Finkin, S., Viant, C., Gaebler, C., Cipolla, M., Hoffmann, H. H., Oliveira, T. Y., Oren, D. A., Ramos, V., Nogueira, L., Michailidis, E., Robbiani, D. F., Gazumyan, A., Rice, C. M., Hatziioannou, T., Bieniasz, P. D., Caskey, M., & Nussenzweig, M. C. (2021). Enhanced SARS-CoV-2 neutralization by dimeric IgA. Science translational medicine, 13(577), eabf1555. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.abf1555

[37] BMJ. COVID-19: The BMJ's Coronavirus Hub [Internet]. BMJ. [cited 2023 Apr 25]. https://www.bmj.com/content/380/bmj.p264

[38] MAGICapp. National COVID-19 Clinical Evidence Taskforce [Internet]. Australian Government Department of Health. [cited 2023 Apr 25]. https://app.magicapp.org/#/guideline/6914/section/121234

[39] Kwon S.Y. Pathogen inactivation efficacy of mirasol PRT system and intercept blood system for non-leucoreduced platelet-rich plasma-derived platelets suspended in plasma. Vox Sanguinis. 2014:254–260. Web.

[40] Strömer A., Grobe O., Rose R., Fickenscher H., Lorentz T., Krumbholz Diagnostic accuracy of six commercial SARS-CoV-2 IgG/total antibody assays and identification of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies in convalescent sera. medRxiv. 2020;(June) Web.

[41] Bonelli F., Sarasini A., Zierold C., Calleri M., Bonetti A., Vismara C. Clinical and analytical performance of an automated serological test that identifies S1/S2-neutralizing IgG in COVID-19 patients semiquantitatively. J Clin Microbiol. 2020;58

13. Opinia Komisji Bioetycznej

Komisja Etyki i Nadzoru nad Badaniami na Ludziach i Zwierzętach
przy Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA w Warszawie
ul.Wołoska 137, 02-507 Warszawa
email: komisja.etyki@cskmswia.pl tel. +48-22-5081681 fax. +48-22-5081881
Przewodniczący Komisji: prof. dr hab.n.med. Robert J. Gil

DECYZJA NR 40/2020
z dn. 03.04.2020r.

Komisja Etyki i Nadzoru nad Badaniami na Ludziach i Zwierzętach przy CSK MSWiA w Warszawie na posiedzeniu w dniu **03 kwietnia 2020 r.**

- zapoznała się z projektem nowego badania pt.

„Prospektywne, jednośrodkowe badanie oceniające wpływ podania osocza ozdrowieńców na przebieg choroby i dalsze rokowanie u pacjentów z objawami, aktywnym zakażeniem SARS-CoV-2”

którego badaczem jest prof. dr hab.n.med Grażyna Rydzewska-Wyszkowska Kierownik Kliniki Chorób Wewnętrznych i Gastroenterologii Centralnego Szpitala Klinicznego MSWiA w Warszawie.

dotyczących: - Ocena wpływu podania osocza ozdrowieńców na przebieg choroby i dalsze rokowanie u pacjentów z objawami, aktywnym zakażeniem SARS-CoV-2.

Po zapoznaniu się z całością dokumentacji* zgodnie z zasadami ICH-GCP Komisji Bioetycznej CSK MSWiA w Warszawie

- wyraziła zgodę na przeprowadzenie leczenia zgodnie z przedstawionym protokołem

Warszawa, 03.04.2020 r.

Przewodniczący Komisji Etyki

Prof. dr hab. n. med. Robert Gil

Komisja Etyki i Nadzoru nad Badaniami na Ludziach i Zwierzętach
przy Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA w Warszawie
ul.Wołoska 137, 02-507 Warszawa
email: komisja.etyki@cskmswia.pl tel. +48-22-5081681 fax. +48-22-5081881
Przewodniczący Komisji: prof. dr hab.n.med. Robert J. Gil

***Do Komisji Etycznej wpłynęły następujące dokumenty:**

1. Wniosek
2. Protokół
3. Zgoda Dyrektora na przeprowadzenie badania

Komisja Etyki i Nadzoru nad Badaniami na Ludziach i Zwierzętach
przy Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA w Warszawie
ul.Wołoska 137, 02-507 Warszawa
email: komisja.etyki@cskmswia.pl tel. +48-22-5081681 fax. +48-22-5081881
Przewodniczący Komisji: prof. dr hab.n.med. Robert J. Gil

Informacja

Posiedzenie Komisji Bioetycznej przy CSK MSWiA w Warszawie w dniu 03.04.2020r. odbyło się w tzw. formie hybrydowej. Obecni na sali posiedzenia byli:

- Prof. Robert J. Gil
- Prof. Grażyna Rydzewska
- Prof. Andrzej Rydzewski
- Prof. Edward Franek
- Prof. Piotr Andziak
- Dr hab.med. Małgorzata Dorobek
- Mgr Irena Szoszkiewicz
- Lek.med. Jolanta Kołakowska
- Mec. Jarosław Koczur

Natomiast łączyli się on-line:

- Ksiądz Dariusz Cempura
- Prof. Michał Powolny
- Dr hab.med. Adam Fronczak
- Piel. Lic. Bożena Majewska

Głosowanie odbyło się w oparciu o system internetowy (www.interaankiety.pl) umożliwiający tajne oddawanie głosów. Wydanie stosownych ankiet dołączone do aktualnego posiedzenia.

PRZEWODNICZĄCY
Komisji Etyki i Nadzoru nad Badaniami
nad Ludźmi i Zwierzętami CSK MSWiA
Warszawa, ul. Wołoska 137
prof. dr hab. n. med. Robert Gil

Przewodniczący Komisji Etyki

Prof. dr hab. n. med. Robert Gil

Komisja Etyki i Nadzoru nad Badaniami na Ludziach i Zwierzętach przy Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA
ul. Wołoska 137, 02-507 Warszawa, tel. +48-22-5081681, fax. +48-22-5081881
email: komisja.etyki@cskmswia.pl

Załącznik nr 1 do Decyzji nr 40/2020 z dn. 03.04.2020r.

SKŁAD KOMISJI ETYCZNEJ PODEJMUJĄCEJ DECYZJĘ

Prof. dr hab. n. med. Robert Gil - Przewodniczący	Kardiolog	CSK MSWiA Klinika Kardiologii Inwazyjnej
Ks. Dariusz Cempura - z-ca przewodniczącego	Ksiądz	Parafia św. Jana Chrzciciela w Cegłowie
Prof. dr hab. n. med. Edward Franek	Endokrynolog	CSK MSWiA Klinika Chorób Wewnętrznych Endokrynologii i Diabetologii
Prof. dr hab. n. med. Michał Powolny	Ginekolog-położnik	CSK MSWiA Klinika Ginekologii i Położnictwa
Prof. dr hab. n.med. Piotr Andziak	Chirurg	CSK MSWiA Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej
Prof. dr hab. n. med. Maria Barcikowska	Neurolog	CSK MSWiA Klinika Neurologii

Komisja Etyki i Nadzoru nad Badaniami na Ludziach i Zwierzętach przy Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA
ul. Wołoska 137, 02-507 Warszawa, tel. +48-22-5081681, fax. +48-22-5081881
email: komisja.etyki@cskmswia.pl

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Rydzewski	Nefrolog	CSK MSWiA Klinika Chorób Wewnętrznych, Nefrologii i Transplantologii
Prof. dr hab. n.med. Grażyna Rydzewska - Wyszkowska	Specjalista Chorób Wewnętrznych	CSK MSWiA Klinika Chorób Wewnętrznych I Gastroenterologii
Mgr farm. Irena Szoszkiewicz	Farmaceuta	CSK MSWiA Apteka Szpitalna
Mec. Jarosław Kocznur	Prawnik	
Dr n. med. Jolanta Kołakowska	Kardiolog	CSK MSWiA Oddział Rehabilitacji Kardiologicznej
Dr hab. n. o zdr. Adam Fronczak	Farmakolog kliniczny	
Bożenna Majewska	Pielęgniarka	

Komisja Etyki i Nadzoru nad Badaniami na Ludziach i Zwierzętach przy Centralnym Szpitalu Klinicznym MSWiA
ul. Wołoska 137, 02-507 Warszawa, tel. +48-22-5081681, fax. +48-22-5081881
email: komisja.etyki@cskmswia.pl

Jednocześnie przypominamy o obowiązku zgłaszania badań do **Centralnej Ewidencji Badań Klinicznych** mieszczącej się w Warszawie przy **Urzędzie Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, Al. Jerozolimskie 181C, 02-222 Warszawa tel. 492 11-00**

Oświadczam, że podczas badania i po jego zakończeniu dostarczę Komisji:

1. Wszelkie zmiany w protokole /aneksy/ mające wpływ na przebieg oraz ocenę badania

2. Wszystkie przypadki poważnych zdarzeń niepożądanych

3. Zawiadomienie o przyczynach przedwczesnego zakończenia badania

4. Raport końcowy

podpis badacza

14. Oświadczenia współautorów i autora

Warszawa, 26.06.2023

Prof. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska

Oświadczenie

Jako współautor pracy pt. „**COVID-19 humoral response" Medical Studies/Studia Medyczne** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii badania, gromadzenie bazy danych oraz przygotowanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 10%.

Wkład Adama Tworka w powstanie publikacji określam jako 70 %.

Obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii badania oraz przygotowanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Adama Tworka.

KIEROWNIK
Kliniki Chorób Wewnętrznych i Gastroenterologii
Państwowego Instytutu Medycznego MSWiA
prof. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska

(Podpis oświadczającego)

Warszawa, 26.06.2023

Lek. Krzysztof Jaroń

Oświadczenie

Jako współautor pracy pt. **„Convalescent plasma treatment is associated with lower mortality and better outcomes in high-risk COVID-19 patients - propensity-score matched case-control study" International Journal of Infectious Diseases 2021 Apr;105:209-215.** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.
Wkład Adama Tworka w powstanie publikacji określam jako 70 %.
Obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Adama Tworka.

Krzysztof Jaroń

....
(Podpis oświadczającego)

Warszawa, 26.06.2023

Lek. Krzysztof Jaroń

Oświadczenie

Jako współautor pracy pt. **„The persistence of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies after COVID-19: A one-year observation. Is a SARS-CoV-2 vaccination booster dose necessary?" Central European Journal of Immunology 2023 48(2).** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.
Wkład Adama Tworka w powstanie publikacji określam jako 70 %.
Obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Adama Tworka.

Krzysztof Jaroń
LEKARZ

....
(Podpis oświadczającego)

Warszawa, 26.06.2023

Prof. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska

Oświadczenie

Jako współautor pracy pt. **„The persistence of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies after COVID-19: A one-year observation. Is a SARS-CoV-2 vaccination booster dose necessary?" Central European Journal of Immunology 2023 48(2).** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.

Wkład Adama Tworka w powstanie publikacji określam jako 70 %.

Obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Adama Tworka.

KIEROWNIK
Kliniki Chorób Wewnętrznych i Gastroenterologii
Państwowego Instytutu Medycznego MSWiA
prof. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska

(Podpis oświadczającego)

Warszawa, 26.06.2023

Prof. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska

Oświadczenie

Jako współautor pracy pt. **„Convalescent plasma treatment is associated with lower mortality and better outcomes in high-risk COVID-19 patients - propensity-score matched case-control study" International Journal of Infectious Diseases 2021 Apr;105:209-215.** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.
Wkład Adama Tworka w powstanie publikacji określam jako 70 %.
Obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Adama Tworka.

KIEROWNIK
Kliniki Chorób Wewnętrznych i Gastroenterologii
Państwowego Instytutu Medycznego MSWiA
prof. dr hab. n. med. Grażyna Rydzewska

....
(Podpis oświadczającego)

Warszawa, 26.06.2023

lek. Adam Tworek

Oświadczenie

Jako współautor pracy pt. **„Convalescent plasma treatment is associated with lower mortality and better outcomes in high-risk COVID-19 patients - propensity-score matched case-control study" International Journal of Infectious Diseases 2021 Apr;105:209-215.** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 70%.

Adam Tworek
lekarz
3503412

Adam Tworek ....
(Podpis oświadczającego)

Warszawa, 26.06.2023

lek. Adam Tworek

Oświadczenie

Jako współautor pracy pt. **„The persistence of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies after COVID-19: A one-year observation. Is a SARS-CoV-2 vaccination booster dose necessary?" Central European Journal of Immunology 2023 48(2).** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 70%.

Adam Tworek
lekarz
3503412
Adam Tworek
....
(Podpis oświadczającego)

Warszawa, 26.06.2023

lek. Adam Tworek

Oświadczenie

Jako współautor pracy pt. **„COVID-19 humoral response" Medical Studies/Studia Medyczne** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: koncepcja pracy przeglądowej, przegląd dostępnej literatury medycznej w bazach naukowych, opracowanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 70%.

Adam Tworek
lekarz
3502412

Adam Tworek

(Podpis oświadczającego)

Warszawa, 26.06.2023

Dr n. med. Konrad Lewandowski

Oświadczenie

Jako współautor pracy pt. **„COVID-19 humoral response" Medical Studies/Studia Medyczne** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii badania, gromadzenie bazy danych oraz przygotowanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.

Wkład Adama Tworka w powstanie publikacji określam jako 70 %.

Obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii badania oraz przygotowanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Adama Tworka.

....

(Podpis oświadczającego)

Warszawa, 26.06.2023

Dr n. med. Małgorzata Cicha-Brzezińska

Oświadczenie

Jako współautor pracy pt. **„The persistence of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies after COVID-19: A one-year observation. Is a SARS-CoV-2 vaccination booster dose necessary?" Central European Journal of Immunology 2023 48(2).** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.

Wkład Adama Tworka w powstanie publikacji określam jako 70 %.

Obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Adama Tworka.

KIEROWNIK
ZAKŁADU DIAGNOSTYKI LABORATORYJNEJ
M. Cicha-Brzezińska
dr n. med. Małgorzata Cicha-Brzezińska

....
(Podpis oświadczającego)

Warszawa, 26.06.2023

Dr n. med. Małgorzata Cicha-Brzezińska

Oświadczenie

Jako współautor pracy pt. **„Convalescent plasma treatment is associated with lower mortality and better outcomes in high-risk COVID-19 patients - propensity-score matched case-control study" International Journal of Infectious Diseases 2021 Apr;105:209-215.** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.
Wkład Adama Tworka w powstanie publikacji określam jako 70 %.
Obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Adama Tworka.

KIEROWNIK
ZAKŁADU DIAGNOSTYKI LABORATORYJNEJ
M. Cicha-Brzezińska

(Podpis oświadczającego)

Warszawa, 26.06.2023

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Rydzewski

Oświadczenie

Jako współautor pracy pt. **„COVID-19 humoral response" Medical Studies/Studia Medyczne** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii badania, gromadzenie bazy danych oraz przygotowanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.

Wkład Adama Tworka w powstanie publikacji określam jako 70 %.

Obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii badania oraz przygotowanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Adama Tworka.

KIEROWNIK
Kliniki Chorób Wewnętrznych,
Nefrologii i Transplantologii
prof. dr hab. n. med. Andrzej Rydzewski

....

(Podpis oświadczającego)

Warszawa, 26.06.2023

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Rydzewski

Oświadczenie

Jako współautor pracy pt. **„Convalescent plasma treatment is associated with lower mortality and better outcomes in high-risk COVID-19 patients - propensity-score matched case-control study" International Journal of Infectious Diseases 2021 Apr;105:209-215.** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.
Wkład Adama Tworka w powstanie publikacji określam jako 70 %.
Obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Adama Tworka.

KIEROWNIK
Kliniki Chorób Wewnętrznych,
Nefrologii i Transplantologii

....
(Podpis oświadczającego)

Warszawa, 26.06.2023

Prof. dr hab. n. med. Andrzej Rydzewski

Oświadczenie

Jako współautor pracy pt. **„The persistence of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies after COVID-19: A one-year observation. Is a SARS-CoV-2 vaccination booster dose necessary?" Central European Journal of Immunology 2023 48(2).** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.
Wkład Adama Tworka w powstanie publikacji określam jako 70 %.
Obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii badania, przeprowadzenie badania i nadzór nad jego uczestnikami, gromadzenie bazy danych, analiza statystyczna, opracowanie wyników oraz przygotowanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Adama Tworka.

KIEROWNIK
Kliniki Chorób Wewnętrznych, Nefrologii i Transplantologii
prof. dr hab. n. med. Andrzej Rydzewski

....
(Podpis oświadczającego)

Warszawa, 26.06.2023

mgr Martyna Głuszek-Osuch

Oświadczenie

Jako współautor pracy pt. **„COVID-19 humoral response" Medical Studies/Studia Medyczne** oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii badania, gromadzenie bazy danych oraz przygotowanie manuskryptu.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 5%.

Wkład Adama Tworka w powstanie publikacji określam jako 70 %.

Obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii badania oraz przygotowanie manuskryptu.

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. Adama Tworka.

Martyna Głuszek-Osuch

(Podpis oświadczającego)