

ИММУНОЛОГИЯ



<https://elibrary.ru/wmrhhl>

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Капустин И.В., Котелева С.И., Сандалова С.В., Рамазанова З.К., Новикова Л.И.,
Одинцов Е.Е., Бляхер М.С., Федорова И.М.

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДА ДЛЯ ОЦЕНКИ СОДЕРЖАНИЯ В КРОВИ Т-КЛЕТОК ПАМЯТИ К БЕЛКУ НУКЛЕОКАПСИДА ВИРУСА SARS-COV-2, ПРОДУЦИРУЮЩИХ IFN- γ ПРИ АНТИГЕННОЙ СТИМУЛЯЦИИ *IN VITRO*

ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского
Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия

Актуальность. В начале пандемии COVID-19 основное внимание было сосредоточено на формировании вирус-нейтрализующих антител против spike (S)-белка вируса и Т-клеток, распознающих S-белок, как на основном защитном механизме. Поскольку SARS-CoV-2 - быстро мутирующий вирус, постепенно возросло внимание к белку нуклеокапсиду (N-белку), более консервативному в генетическом отношении, и иммунитету против него.

Цель работы - модифицировать запатентованный нами ранее метод для выявления Т-клеточной памяти к N-белку SARS-CoV-2, оценить его чувствительность и специфичность и возможность введения полукаличественной оценки.

Материал и методы. Валидация метода проведена на образцах крови офисных работников в 2024-2025 годах в г. Москве. Всего использованы 90 образцов крови взрослых добровольцев, у которых в ходе иммунизации вакциной Спутник V и ПЦР-подтвержденного заболевания COVID-19 в 2021-2023 гг. сформировался гибридный иммунитет против коронавируса SARS-CoV-2. Группа отрицательного контроля представлена 13 детьми в возрасте 6 месяцев - 2 лет, не имевших в анамнезе и на момент обследования ПЦР-подтвержденной SARS-CoV-2-инфекции.

Антитела к S-гликопротеину SARS-CoV-2 класса IgG и класса IgM к S-гликопротеину и N(nuclear)-белку в сыворотке крови определяли методом ИФА с помощью тест-систем AO «Вектор-Бест», (Россия), а также тест-систем N-Cov-2-IgG PS (Институт Пастера, Россия). Для выявления Т-клеток памяти против S- или N-белка SARS-CoV-2 использовался собственный метод (Патент RU 2 780 369 С1), при котором та же ИФА наборы использовались как источник антигенов для стимуляции лимфоцитов, выделяемых из крови. После 72-часовой антигенной стимуляции собирали супернатанты и определяли в них концентрацию IFN- γ , являющегося продуктом активации Т-клеток памяти.

Результаты. Определены границы для полукаличественной оценки сохранения Т-клеточной памяти против N-белка SARS-CoV-2. Низкая активность этих клеток при стимуляции N-белком *in vitro* выражается продукцией IFN- γ от 50 до 100 pg/ml, нормальная – 100-700 pg/ml, высокая – выше 700 pg/ml. Корреляция между величиной показателей специфического Т-клеточного и гуморального иммунитета против этого антигена у здоровых людей через 0,5-2 года после перенесенного заболевания в данной выборке слабая ($R_s=0,12$). Однако, у лиц с высокой активностью Т-клеток памяти против N-белка, уровень антител к этому антигену в крови также высок, а у лиц, не контактировавших с вирусом, не обнаружены ни антитела, ни Т-клетки. Специфичность метода оценена с помощью ROC-анализа ($AUC=0,82$, $p=0,0015$).

Заключение. Разработанный нами методический подход пригоден для определения активности Т-клеток памяти не только к S-белку, но и к N-белку SARS-CoV-2. Определение напряженности специфического Т-клеточного иммунитета в группах риска перед началом эпидсезона может дать прогноз заболеваемости в данной популяции.

Ключевые слова: SARS-CoV-2; Т-клетки памяти; полукаличественная оценка; IFN- γ ; белок нуклеокапсида (N) SARS-CoV-2; spike (S)-белок SARS-CoV-2

Для цитирования: Капустин И.В., Котелева С.И., Сандалова С.В., Рамазанова З.К., Новикова Л.И., Одинцов Е.Е., Бляхер М.С., Федорова И.М. Валидация метода для оценки содержания в крови Т-клеток памяти к белку нуклеокапсиду вируса SARS-CoV-2, продуцирующих IFN- γ при антигенной стимуляции *in vitro*. Клиническая лабораторная диагностика. 2025; 70 (10): 678-682.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-10-678-682>

EDN: WMRHHL

Для корреспонденции: Капустин Иван Всеволодович, канд. мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии; e-mail: vano-kapusta@inbox.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках темы НИОКР № 1023032300150-2 «Изучение интенсивности и длительности сохранения специфического Т-клеточного иммунитета к SARS-CoV-2 у переболевших COVID-19, вызванным новыми штаммами коронавируса».

Поступила 23.05.2025
Принята к печати 30.08.2025
Опубликовано 03.10.2025

Kapustin I.V., Koteleva S.I., Sandalova S.V., Ramazanova Z.K., Novikova L.I., Odintsov E.E., Blyakher M.S., Fedorova I.M.

VALIDATION OF A METHOD FOR ASSESSING MEMORY T CELLS IN BLOOD SPECIFIC TO THE NUCLEOCAPSID PROTEIN OF SARS-COV-2 AND PRODUCING IFN- γ UPON ANTIGEN STIMULATION IN VITRO

Gabrichhevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор), 125212, Moscow, Russia

Relevance. At the beginning of the COVID-19 pandemic, the primary focus was on the formation of virus-neutralizing antibodies against the spike (S) protein and S-specific T cells as the main protective mechanism. Since SARS-CoV-2 is a rapidly mutating virus, attention gradually shifted to the nucleocapsid (N) protein, which is more genetically conserved, and the immune response against it.

Objective. Modify our previously patented method for detecting T-cell memory for the SARS-CoV-2 N-protein, to evaluate its sensitivity and specificity, and the possibility of introducing a semi-quantitative assessment.

Material and methods. The method was validated using blood samples from office workers in Moscow in 2024–2025. A total of 90 blood samples from adult volunteers with hybrid immunity (developed after Sputnik vaccination and PCR-confirmed COVID-19 in 2021–2023) were used. The negative control group consisted of 13 children aged 6 months to 2 years with no history of PCR-confirmed SARS-CoV-2 infection.

Anti-S IgG and anti-N IgM/IgG antibodies in serum were detected by ELISA (Vector-Best, Russia, and N-Cov-2-IgG PS, Pasteur Institute, Russia). Memory T cells against S or N protein were identified using our patented method (RU Patent 2,780,369 C1), where ELISA kits served as antigen sources for lymphocyte stimulation. After 72-hour antigen stimulation, supernatants were collected, and IFN- γ (a marker of memory T-cell activation) was quantified.

Results. Thresholds for semi-quantitative assessment of N-specific memory T cells were established: low activity (IFN- γ : 50–100 pg/mL), normal (100–700 pg/mL), and high (>700 pg/mL). The correlation between T-cell and humoral immunity against N-protein in healthy individuals 0.5–2 years post-infection was weak ($RS=0.12$). However, subjects with high N-specific T-cell activity also had high anti-N antibody levels, while virus-naïve individuals showed neither. ROC analysis confirmed method specificity ($AUC=0.82$, $p=0.0015$).

Conclusion. Our method is suitable for assessing memory T-cell activity against both S and N proteins. Measuring T-cell immunity in high-risk groups before epidemic seasons may help predict disease incidence.

Key words: SARS-CoV-2; memory T-cells; semi-quantitative assessment; IFN- γ ; nucleocapsid (N) protein; spike (S) protein

For citation: Kapustin I.V., Koteleva S.I., Sandalova S.V., Ramazanova Z.K., Novikova L.I., Odintsov E.E., Blyakher M.S., Fedorova I.M. Validation of a method for assessing memory T cells in blood specific to the nucleocapsid protein of SARS-CoV-2 and producing IFN- γ upon antigen stimulation *in vitro*. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70 (10): 678–682 (in Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-10-678-682>

EDN: WMRHHL

For correspondence: Ivan V. Kapustin, PhD, Leading Researcher, Immunology Laboratory; e-mail: vano-kapusta@inbox.ru

Information about authors:

Kapustin I.V.,	https://orcid.org/0000-0001-6191-260X ;
Koteleva S.I.,	https://orcid.org/0000-0003-1878-2234 ;
Sandalova S.V.,	https://orcid.org/0000-0002-4548-9888 ;
Ramazanova Z.K.,	https://orcid.org/0000-0002-9314-3312 ;
Novikova L.I.,	https://orcid.org/0000-0002-0307-4561 ;
Odintsov E.E.,	https://orcid.org/0000-0001-5895-2520 ;
Blyakher M.S.,	https://orcid.org/0000-0003-3480-6873 ;
Fedorova I.M.,	https://orcid.org/0000-0002-0335-2752 .

Conflict of interest. The authors declare absence of conflict of interest.

Funding. The study was carried out within the framework of the research project No. 1023032300150-2 « Study of the intensity and duration of maintenance of specific T-cell immunity to SARS-CoV-2 in patients who have recovered from COVID-19 caused by new strains of coronavirus ».

Received 23.05.2025

Accepted 30.08.2025

Published 03.10.2025

Наряду с изучением гуморального иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 следует считать важным выявление у переболевших и вакцинированных лиц специфических Т-клеток памяти [1]. Ее «носителями» являются CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты. При вирусной инфекции CD8+ Т-клетки напрямую уничтожают инфицированные клетки, в то время как CD4+ Т-клетки «помогают» посредством выработки цитокинов образованию специфических антител и регулируют продолжительность и эффективность CD8+ Т-клеточные реакции [2, 3]. В начале пандемии COVID-19 основное внимание иммунологов было в большей степени сосредоточено на формировании вирус-нейтрализующих антител против spike (S)-белка вируса и Т-клеток, распознающих S-белок, как на основном защитном механизме [4]. Однако, поскольку SARS-CoV-2 - быстро мутирующий вирус, постепенно возросло внимание к белку нуклеокапсида (N-белку), более консервативному в генетическом отношении [5, 6]. Теперь включение N-белка в состав вакцин представляется приемом, необходимым

для предотвращения волн заболеваемости COVID-19 [7 - 9], а исследование Т-клеточного иммунитета против белка нуклеокапсида SARS-CoV-2 считается важным элементом иммуномониторинга у непривитых лиц, особенно у детей [10].

Существует группа методов, которую называют IGRA-тестами (interferon gamma realising assay), так как они позволяют выявлять специфические Т-клетки в общем пуле лимфоцитов по их способности продуцировать IFN- γ , если в культуру лимфоцитов добавлены антигены соответствующего вируса (ELISPOT, метод внутриклеточного окрашивания цитокинов (ICS)) [10, 11]. Эти методы плохо подходят для эпидемиологического надзора из-за их сложности и дороговизны. Скрининговый метод, ранее предложенный нами для оценки Т-клеточной памяти к S-белку SARS-CoV-2 [12], лишен этих недостатков и доступен большинству иммунологических лабораторий, хотя, возможно, и менее чувствителен, чем более тонкие методы.

При оценке специфического иммунного ответа

важным вопросом является величина ответа и единицы измерения его. Специфический гуморальный ответ изучается больше 100 лет; объект исследования (специфические иммуноглобулины и их классы), а также методы количественного анализа унифицированы, оценка величины иммунного ответа проста. Для оценки силы гуморального специфического иммунного ответа для разных инфекций разработаны международные и национальные стандартные растворы, содержащие известное количество специфических антител. Для COVID-19 это международный стандарт ВОЗ для иммуноглобулинов к SARS-CoV-2 (код NIBSC 20/136) [13].

Для специфического клеточного иммунного ответа создание таких стандартов невозможно. В настоящее время среди большого спектра методов не выбран даже тот, который наиболее пригоден для стандартизации и рутинного применения. Однако задача перехода от выявления Т-клеток памяти к полуколичественной оценке активности специфического Т-клеточного иммунитета уже ставится различными исследовательскими группами и фирмами, выпускающими реагенты на основе IGRA-тестов [14, 15].

ЦЕЛЬ настоящей работы - модифицировать запатентованный метод для выявления Т-клеточной памяти к N-белку SARS-CoV-2, оценить его чувствительность и специфичность, и возможность введения количественной оценки.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.

Валидация метода проведена на образцах крови офисных работников в период с сентября 2024 по апрель 2025 года в г. Москве. Всего использованы 90 образцов крови взрослых добровольцев, у которых в ходе иммунизации вакциной Спутник V и ПЦР-подтвержденного заболевания COVID-19 в 2021-2023 годах сформировался гибридный иммунитет против коронавируса SARS-CoV-2 (группа 1). Группа 2 (отрицательный контроль) представлена 13 детьми в возрасте 6 месяцев - 2 лет, госпитализированными в ИКБ № 1 г. Москвы с диагнозом «коклюш» и не имевших в анамнезе и на момент обследования ПЦР-подтвержденной SARS-CoV-2- инфекции.

Все обследованные дали письменное информированное согласие на участие в исследовании, одобренном Этическим комитетом ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского (протокол № 70 от 29.08.2024).

Антитела к S(spike)-гликопротеину SARS-CoV-2 класса IgG и класса IgM к S-гликопротеину и N(nuclear)-белку в сыворотке крови определяли методом ИФА с помощью тест-систем SARS-CoV-2-IgG- ИФА-БЕСТ и SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ (АО «Вектор-Бест», Россия), а также тест-систем N-CoV-2-IgG PS (Институт Пастера, Россия).

Для выявления Т-клеток памяти против S- или N-белка SARS-CoV-2 те же ИФА наборы использовались как источник антигенов для стимуляции лимфоцитов крови. Подробно метод стимуляции CD4+ и CD8+ лимфоци-

тов S-белком SARS-CoV-2, контроль их активации с помощью проточной цитометрии и иммуноферментного анализа описан в статье [12]. Процедура состоит из выделения лимфоцитов в градиенте плотности гистопака-1,077, нанесении их в лунки ИФА-планшета с антигенами или без, 72-часовой инкубации при 37 °C и 5% CO₂, сбора супернатантов и определения в них концентрации IFN-γ (тест-система гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ АО «Вектор-Бест», Россия), являющегося продуктом антигенной стимуляции.

Статистический анализ и графические рисунки выполняли с использованием пакета Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft Corporation, Seattle, USA) и программного обеспечения GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software Inc). Достоверность различий между группами оценивали по критерию Манна-Уитни. Анализ ROC-кривых проводили по вычислению значений площадей под кривыми (AUC) и по определению пороговых отсечений концентрации IFN-γ, при которой имелся баланс между чувствительностью и специфичностью метода.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сочетание постvakцинального и постинфекционного иммунитета, (гибридный иммунитет) в анамнезе добровольцев (по данным 2021-2023 годов) позволял ожидать наличие у них иммунитета и против spike-антисигна, и против белка нуклеокапсида. Серологический анализ показал, что в 2025 году в крови участников исследования сохранялись антитела к S-белку SARS-CoV-2. Их концентрация была не ниже 150 BAU/мл (Ме=456, Q₁-Q₃, (305; 1071). В то же время отсутствие антител к N-белку или очень низкая, их концентрация (менее 32 BAU/мл), было отмечено у 7% группы.

Напряженность Т-клеточного иммунитета против S-белка у этих участников исследования в 2025 году широко варьировала, а распределение ее величины в целом совпадало с таковым, проведенным нами в 2023 г. на 249 образцах Т-лимфоцитов [16]. В этом исследовании 2024 г. было показано, что границами между низкой, нормальной и высокой активностью Т-клеток, стимулированных S-антисигном могут быть соответственно Q₁ и Q₃. В соответствии с этим низкой считалась активность Т-клеток памяти к S-белку при продукции от 50 до 100 пг/мл, нормальной - 100 - 1000 пг/мл и высокой - выше 1000 пг/мл. Использование такого алгоритма, позволило полуколичественно в выборке 2025 года оценить у людей сохранность Т-клеточного иммунитета: 40% из 90 образцов относились к интервалу низкой активности Т-клеток памяти к S-белку, еще 41% характеризовались нормальной активностью, 18% - высокой.

Для каждого из 90 образцов крови были также при-

Статистические (Ме; Q₁-Q₃) параметры Т-клеточного и гуморального иммунитета у лиц с гибридным иммунитетом против SARS-CoV-2 в контрольной группе

Обследованные	S-белок		N-белок	
	Клеточный ответ (IFN-γ, пг/мл)	Антитела (BAU/мл)	Клеточный ответ (IFN-γ, пг/мл)	Антитела (BAU/мл)
Группа 1	355,0* (118,2; 1080,0)	730,5* (355,5; 1543,0)	320,0 * (131,5; 732,3)	96,0 * (46,5; 250,8)
Группа 2	0,0 (0,0; 4,0)	21,0 (2,5; 89,5)	1,0 (0,0; 3,0)	0,0 (0,0; 2,5)

Примечание. * - Значимое отличие между группами при $p < 0,05$.

готовлены пробы, стимулированные N-белком SARS-CoV-2.

Сопоставление Т-клеточного и гуморального иммунитета к обоим антигенам вируса приведено в таблице. Указаны результаты контрольной группы, которая была представлена детьми, так как в 2025 году в Московском регионе практически невозможно найти взрослых людей, не имевших контакта с вирусом SARS-CoV-2.

Для определения границ между низкой, нормальной и высокой активностью Т-клеток памяти против N-белка как и в работе [16] использованы Q_1 и Q_3 . С практической точки зрения для использования не только в этой, но и в дальнейшей работе, удобнее обозначить в качестве границ нормального диапазона не 131,5 и 732,3 пг/мл, а округленные значения: 100 и 700 пг/мл.

В соответствии с этими границами в обследованной нами выборке из 90 образцов из крови здоровых людей Т-клетки памяти к N-белку проявляют низкую активность в 26 % случаев, нормальную активность - в 34% и в 14% - высокую. Низкая активность этих клеток при стимуляции N-белком *in vitro* выражается продукцией IFN- γ от 50 до 100 пг/мл, нормальная – 100-700 пг/мл, высокая – выше 700 пг/мл.

Корреляция между показателями специфического Т-клеточного и гуморального иммунитета против SARS-CoV-2 у здоровых людей через 0,5-2 года после перенесенного заболевания в данной выборке слабая ($R=0,12$ по Спирмену). Однако, у лиц с высокой антиген-специфической активностью Т-клеток к N-белку и уровень антител против этого антигена в крови также высок (рис. 1).

С другой стороны, оценка концентрации IgG-антител против N-белка по инструкции производителя, как очень высокой сочеталась с тем, что антиген-специфическая активация Т-лимфоцитов N-белком у тех же людей также находилась в «верхнем разряде» (рис. 2).

Анализ ROC-кривой (рис.3) показывает четкое соответствие между этими параметрами. Так же можно продемонстрировать специфичность метода, модифицированного для определения Т-клеток памяти против N-белка, при сравнении проб от людей с гибридным иммунитетом к вирусу SARS-CoV-2 и проб контрольной группы, не контактировавшей с этим вирусом ($AUC = 0,82$, $p = 0,0015$).

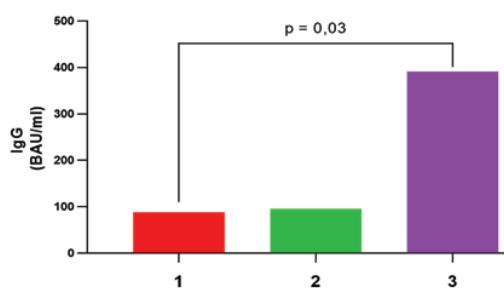


Рис. 1. Медианы содержания IgG-антител (BAU/мл) против N-белка SARS-CoV-2 в крови лиц, различающихся по уровню активности Т-клеток памяти к этому антигену. По оси абсцисс – уровень активности Т-клеток памяти (1 - низкий, 2 - нормальный, 3 - высокий), по оси ординат – концентрация IgG-антител (BAU/мл).

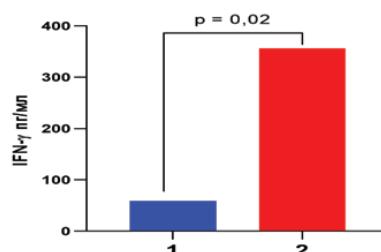


Рис. 2. Медианы активности Т-клеток памяти (продукции IFN- γ , стимулированной N-белком SARS-CoV-2) у лиц, различающихся по уровню IgG-антител против этого антигена в крови. По оси абсцисс – уровень антител к N-белку (1 - низкий, 2 - высокий), по оси ординат – концентрация IFN- γ (пг/мл).

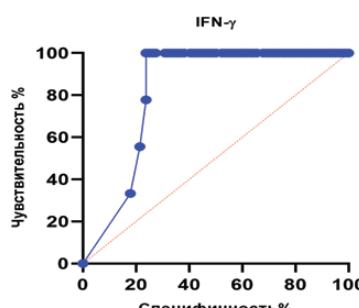


Рис. 3. ROC-кривая, полученная при исследовании продукции IFN- γ Т-клетками после их стимуляции N-белком вируса SARS-CoV-2 у доноров с высоким уровнем антител к этому белку и у доноров без антител.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определены границы для полуколичественной оценки сохранения Т-клеточной памяти против N-белка SARS-CoV-2. Полученные результаты показывают, что предложенный метод подходит для определения активности Т-клеток памяти не только к S-белку, но и к N-белку SARS-CoV-2. Предстоит определить биологический смысл низкой, нормальной и высокой границ активности Т-клеток, специфичных к N-белку SARS-CoV-2, как это было сделано нами для S-белка, когда в этих границах было показано значимое различие показателей у здоровых людей и у пациентов, перенесших COVID-19, а также постепенное и значимое возрастание уровня активности Т-клеток у одних и тех же здоровых людей на этапах вакцинации, ревакцинации, а затем и прорывной инфекции [16].

После этого в дальнейшем определение напряженности специфического Т-клеточного иммунитета в группах риска перед началом эпидсезона может дать прогноз заболеваемости в данной популяции.

-  **ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-3, 7-10, 13, 14 см. REFERENCES)**
4. Алешкин А.В., Новикова Л.И., Бочкарева С.С., Комбарова С.Ю., Лебедин Ю.С., Воробьев А.М., Мехтиев Э.Р.О., Зулькарнеев Э.Р., Лайшевцев А.И., Карапулов А.В. Алешкин А.В., Динамика антител к различным антигенам коронавируса SARS-CoV-2 у больных с подтверждённой инфекцией COVID-19. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2021; 171(2): 196-9. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-171-2-196-199.
 5. Дуванова О. В., Чемисова О. С., Носков А. К. Структурные белки SARS-CoV-2. *Медицинский вестник Юга России*. 2022; 13(4): 45-52. DOI:

6. Костинов М.П., Тюкавкина С.Ю., Харссеева Г.Г., Миронов А.Ю., Каушанская Л.В., Муслимова З.А. Клиническая лабораторная диагностика, иммунопатогенез, иммунокоррекция при COVID-19 (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (9): 456-67. DOI: 10.51620/0869-2084-2024-69-9-456-467 .
11. Стрижакова О.М., Першин А.С., Казаров А.А., Лягоскин И.В., Бахарева Я.А., Васильев А.П., Никонова Ю.А., Егорова И.Ю., Шукуров Р.Р., Хамитов Р.А. Оптимизация и валидация количественного метода оценки реактивности Т-клеток памяти человека к антигенам вируса SARS-CoV-2 с использованием проточной цитометрии. *Инфекция и иммунитет*. 2023; 13(4): 642-52. DOI: 10.15789/2220-7619-OAV-2084.
12. Бляхер М.С., Федорова И.М., Тульская Е.А., Капустин И.В., Котельева С.И., Рамазанова З.К., Одинцов Е.Е., Сандалова С.В., Нови-

РЕКЛАМА

ЭКОФИТОЛ ДЕТОКС ПЛЮС

ЭКСТРАКТ
АРТИШОКА 100 МЛ

Стимулирует образование
и выведение желчи

Только натуральные
компоненты

Защищает клетки печени
от негативных факторов



БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ ДОБАВКА.
НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВОМ

кова Л.И. Определение специфического Т-клеточного иммунитета к антигенам вируса SARS-CoV-2 у людей, переболевших COVID-19. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(6): 527-37. DOI: 10.36233/0507-4088-151.

- Потеряев Д.А., Аббасова С.Г., Игнатьева П.Е., Стрижакова О.М., Колесник С.В., Хамитов Р.А. Оценка Т-клеточного иммунитета к SARS-CoV-2 у переболевших и вакцинированных против COVID-19 лиц с помощью ELISPOT набора ТиграТест® SARS-CoV-2. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2021;21(3):178-92. DOI: 10.30895/2221-996X-2021-21-3-178-192.
- Бляхер М.С., Федорова И.М., Котелева С.И., Капустин И.В., Тульская Е.А., Рамазанова З.К. и др. Алгоритм оценки уровня Т-клеточного иммунного ответа против SARS-CoV-2 и результаты его применения у не вакцинированных и вакцинированных людей, переболевших COVID-19. *Инфекция и иммунитет*. 2024; 14(3): 451-8. DOI: 10.15789/2220-7619-AFA-16736.

REFERENCES

- Notarbartolo S. T-cell immune responses to SARS-CoV-2 infection and vaccination. *Vaccines (Basel)*. 2024; 12(10): 1126. DOI: 10.3390/vaccines12101126.
- Sallusto F. Heterogeneity of human CD4(+) T cells against microbes. *Annu. Rev. Immunol.* 2016; 20(34): 317-34. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032414-112056.
- Verhoeven D., Teijaro J.R., Farber D.L. Heterogeneous memory T cells in antiviral immunity and immunopathology. *Viral Immunology*. 2008; 21(2): 99-113. DOI: 10.1089/vim.2008.0002.
- Aleshkin A.V., Novikova L.I., Bochkareva S.S., Kombarova S.Y., Vorob'ev A.M., Mekhtiev E.R., Karaulov A.V., Zul'karneev E.R., Laishevts A.I., Lebedin Y.S. Dynamics of antibodies to various antigens of the SARS-CoV-2 coronavirus in patients with confirmed COVID-19 infection. *Bulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2021; 171(2): 196-9. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-171-2-196-199. (in Russian)
- Duvanova O.V., Chemisova O.S., Noskov A.K. Structural proteins of SARS-CoV-2. *Meditinskii vestnik Yuga Rossii*. 2022; 13(4): 45-52. DOI: 10.21886/2219-8075-2022-13-4-45-52. (in Russian)
- Kostinov M.P., Tyukavkina S.Y., Kharseeva G.G., Mironov A.Yu., Kaushanskaya L.V., Muslimova Z.A. Clinical laboratory diagnostics, immunopathogenesis, immunocorrection in COVID-19 (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (9): 456-67. DOI: 10.51620/0869-2084-2024-69-9-456-467. (in Russian)
- Song W., Fang Z., Ma F., Li J., Huang Z., Zhang Y., Li J., Chen K. The role of SARS-CoV-2 N protein in diagnosis and vaccination in the context of emerging variants: present status and prospects. *Front. Microbiol.* 2023; 14(14): 1217567. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1217567.
- Lv H., Shi F., Yin H., Jiao Y., Wei P. Development of a double-antibody sandwich ELISA for detection of SARS-CoV-2 variants based on nucleocapsid protein-specific antibodies. *Microbiol. Immunol.* 2024; 68(11): 393-8. DOI: 10.1111/1348-0421.13173.
- Weigl N., Pleimelding C., Gilberg L., Huynh D., Brand I., Bruger J. et al. Detectable SARS-CoV-2 specific immune responses in recovered unvaccinated individuals 250 days post wild type infection. *PLoS One*. 2025; 20(6): e0325923. DOI: 10.1371/journal.pone.0325923.
- Files M.A., Gentles L., Kehoe L., Adler A., Lacombe K., Dickerson J.A. et al. Kinetics and durability of antibody and T-cell responses to SARS-CoV-2 in children. *J. Infect. Dis.* 2024; 230(4): 889-900. DOI: 10.1093/infdis/jiac301.
- Strizhakova O.M., Pershin A.S., Kazarov A.A., Lyagoskin I.V., Bahareva Y.A., Vasil'ev A.P. et al. Optimization and validation of flow cytometry method for quantification of SARS-CoV-2 antigen-reactive human memory T cells. *Infektsiya i immunitet*. 2023; 13(4): 642-52. DOI: 10.15789/2220-7619-OAV-2084. (in Russian)
- Blyakher M.S., Fedorova I.M., Tulskaya E.A., Kapustin I.V., Koteleva S.I., Ramazanova Z.K., Odintsov E.E., Sandalova S.V., Novikova L.I. Assessment of specific T-cell immunity to SARS-CoV-2 virus antigens in COVID-19 convalescents. *Voprosy virusologii*. 2022; 67(6): 527-37. DOI: 10.36233/0507-4088-151. (in Russian)
- <https://roszdravnadzor.gov.ru/i/upload/images/2021/7/7/1625616749.35705-1-141305.pdf?ysclid=mcugwbtg2d168851684>
- Dourdouna M.M., Tatsi E.B., Syriopoulou V., Michos A. Evaluation of T cell responses with the QuantiFERON SARS-CoV-2 assay in individuals with 3 doses of BNT162b2 vaccine, SARS-CoV-2 infection, or hybrid immunity. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2023; 106(3):115948. DOI: 10.1016/j.diagnmicrobio.2023.115948.
- Poteryaev D.A., Abbasova S.G., Ignatyeva P.E., Strizhakova O.M., Kolesnik S.V., Khamitov R.A. Assessment of T-cell immunity to SARS-CoV-2 in COVID-19 convalescents and vaccinated subjects, using TigaTest® SARS-CoV-2 ELISPOT kit. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2021; 21(3):178-92. DOI: 10.30895/2221-996X-2021-21-3-178-192. (in Russian)
- Blyakher M.S., Fedorova I.M., Koteleva S.I., Kapustin I.V., Tulskaya E.A., Ramazanova Z.K., Odintsov E.E., Sandalova S.V., Novikova L.I., Bochkareva S.S. Algorithm for assessing the level of T cell immune response against SARS-CoV-2 and the results of its application in unvaccinated and vaccinated people who have been infected with COVID-19. *Infektsiya i immunitet*. 2024; 14(3): 451-8. DOI: 10.15789/2220-7619-AFA-16736. (in Russian)