

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ, НОВЫЕ ТРЕНДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

DISCUSSION PAPERS, LECTURES, NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

КЛЕТОЧНЫЙ И ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ ПРИ COVID-19 В РЕСПУБЛИКЕ КРЫМ

Зяблицкая Е.Ю.¹,
Кудлай Д.А.^{2,3},
Колесник С.В.⁴,
Макалиш Т.П.¹,
Максимова П.Е.¹,
Куницкая Ю.Е.¹,
Грицкевич О.Ю.¹,
Головкин И.О.¹,
Фомочкина И.И.¹,
Кубышкин А.В.¹

¹ ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» (295007, г. Симферополь, пр. Вернадского, 4, Россия)

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119991, г. Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2, Россия)

³ ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» ФМБА России (115522, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Россия)

⁴ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России (117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, 4, Россия)

Автор, ответственный за переписку:
Зяблицкая Евгения Юрьевна,
e-mail: evgu79@mail.ru

Статья поступила: 17.10.2022

Статья принята: 20.02.2023

Статья опубликована: 02.03.2023

РЕЗЮМЕ

Пандемия COVID-19 (coronavirus disease 2019) послужила стимулом к разработке высокоэффективных количественных методов оценки адаптивного иммунного ответа на вирус SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2).

С целью оценки гуморального звена иммунного ответа широко применяют различные методы детекции иммуноглобулинов классов А, М, G. Для оценки уровня Т-клеток, специфически отвечающих на антигены вируса SARS-CoV-2, наиболее доступным и эффективным методом представляется ELISPOT.

Цель работы. Оценить клеточный и гуморальный иммунитет при COVID-19 у жителей Республики Крым.

Методы. Выполнено исследование на 24 добровольцах: определяли наличие антител к коронавирусу методом иммуноферментного анализа (ИФА) и наличие контакта с белками коронавируса методом ELISPOT «ТиграТест® SARS-CoV-2» (АО «Генериум», Россия). Для ретроспективного исследования гуморального иммунитета в популяции оценили 10 000 ИФА-тестов (ЗАО «ЭКОлаб» IgM и IgG, Россия), выполненных в нашей лаборатории за период с июля 2020 по январь 2022 г.

Результаты. Полученные результаты показывают эффективность использования метода ELISPOT для выявления скрытых форм коронавирусной инфекции. При этом следует отметить, что есть статистически значимая связь между сроками заболевания и количеством спотов в обеих панелях антигенов. После вакцинации против COVID-19 клеточный иммунитет сохраняется до 6 месяцев и более.

Выводы. В результате исследования установлено, что на протяжении 2021 г. уровень иммунизации населения Республики Крым против COVID-19 существенно повысился; возросла доля жителей, имеющих положительный тест на IgG, – с 27 % до 87 %. Результаты исследований методом ELISPOT с использованием набора реагентов для выявления *in vitro* в крови Т-лимфоцитов, специфически отвечающих на антигены вируса SARS-CoV-2 («ТиграТест® SARS-CoV-2»), показали, что данная методика является более чувствительной, чем метод ИФА, способна выявлять перенесённые в скрытой форме заболевания.

Ключевые слова: клеточный иммунитет, COVID-19, SARS-CoV-2 ELISPOT, ТиграТест

Для цитирования: Зяблицкая Е.Ю., Кудлай Д.А., Колесник С.В., Макалиш Т.П., Максимова П.Е., Куницкая Ю.Е., Грицкевич О.Ю., Головкин И.О., Фомочкина И.И., Кубышкин А.В. Клеточный и гуморальный иммунитет при COVID-19 в Республике Крым. *Acta biomedica scientifica*. 2023; 8(1): 12-19. doi: 10.29413/ABS.2023-8.1.2

CELL-MEDIATED AND HUMORAL IMMUNITY DURING COVID-19 IN THE REPUBLIC OF CRIMEA

Zyablitskaya E.Yu.¹,
Kudlay D.A.^{2,3},
Kolesnik S.V.⁴,
Makalish T.P.¹,
Maksimova P.E.¹,
Kunitskaya Yu.E.¹,
Gritskevich O.Yu.¹,
Golovkin I.O.¹,
Fomochkina I.I.¹,
Kubyshkin A.V.¹

¹ V.I. Vernadsky Crimean Federal University (Vernadsky ave. 4, 295007 Simferopol, Russian Federation)

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University) (Trubetskaya str. 8 build. 2, Moscow 119991, Russian Federation)

³ National Research Center Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia (Kashirskoe Highway 24, Moscow 115522, Russian Federation)

⁴ National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov (Academika Oparina str. 4, Moscow 117997, Russian Federation)

Corresponding author:
Evgenia Yu. Zyablitskaya,
e-mail: evgu79@mail.ru

ABSTRACT

The COVID-19 (coronavirus disease 2019) pandemic has spurred the development of highly effective quantitative methods for assessing the adaptive immune response to the SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2) virus. In order to assess the humoral component of the immune response, various methods for detecting immunoglobulins A, M, G are widely used. ELISPOT seems to be the most accessible and effective method to assess the level of T cells that specifically respond to the SARS-CoV-2 virus antigens.

The aim. To assess cell-mediated and humoral immunity in COVID-19 in residents of the Republic of Crimea.

Methods. The study was performed on 24 volunteers: the presence of coronavirus antibodies was determined by ELISA method, and the presence of contact with coronavirus proteins – by the ELISPOT “TigraTest® SARS-CoV-2” method (Generium, Russia). For retrospective study of humoral immunity in the population, we assessed 10 000 ELISA tests (ECOLab IgM and IgG, Russia) performed in our laboratory for the period from July 2020 to January 2022.

Results. The results show the effectiveness of using the ELISPOT method to detect latent forms of coronavirus infection. It is important to note that there is statistically significant relationship between the timing of the disease and the number of spots in both antigen panels. After vaccination against SARS-CoV-2, cell-mediated immunity lasts up to 6 months or more.

Conclusions. As a result of the study, it was found that during 2021, the level of immunization of the population of the Republic of Crimea against COVID-19 has significantly increased; the proportion of residents who have positive IgG test has increased from 27% to 87%. The results of ELISPOT studies using a set of reagents for *in vitro* detection of blood T-lymphocytes that specifically respond to SARS-COV-2 virus antigens (“TigraTest® SARS-CoV-2”) showed that this method is more sensitive than ELISA in detecting latent diseases.

Key words: cell-mediated immunity, COVID-19, SARS-CoV-2 ELISPOT, TigraTest

For citation: Zyablitskaya E.Yu., Kudlay D.A., Kolesnik S.V., Makalish T.P., Maksimova P.E., Kunitskaya Yu.E., Gritskevich O.Yu., Golovkin I.O., Fomochkina I.I., Kubyshkin A.V. Cell-mediated and humoral immunity during COVID-19 in the Republic of Crimea. *Acta bio-medica scientifica*. 2023; 8(1): 12-19. doi: 10.29413/ABS.2023-8.1.2

Received: 17.10.2022
Accepted: 20.02.2023
Published: 02.03.2023

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность изучения иммунного ответа в период пандемии COVID-19 (coronavirus disease 2019) заключается в ценности прогнозирования возможности заболевания и тяжести болезни для определения сроков вакцинации у людей в зависимости от наличия специфического иммунитета к SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2), а также оно чрезвычайно важно для эпидемиологических прогностических популяционных исследований.

Структурные и молекулярные характеристики SARS-CoV-2, а также этапы адаптивного иммунного ответа явились основой для разработки различных лабораторных диагностических методов оценки иммунитета при COVID-19 [1]. В результате перенесённого COVID-19 формируется иммунитет, упрощённая структура которого включает: 1) иммуноглобулины (Ig) классов A, G, M; 2) SARS-CoV-2-специфичные Т-клетки CD8⁺ и CD4⁺; 3) В-клетки [2]. Для изучения специфического иммунитета наибольшее распространение получили методы определения специфических антител и выявления активированных Т-клеток. Базовыми объектами исследования стали SARS-CoV-2-специфичные антитела IgA, IgM, IgG, определяемые методом иммуноферментного анализа (ИФА), а также Т-клетки, синтезирующие интерферон γ (IFN- γ) в ответ на антигены вируса SARS-CoV-2 [3, 4].

С развитием пандемии наблюдали быструю эволюцию ИФА-методов – от качественного скрининга суммарных антител IgA, IgM, IgG к вирусу до количественного выявления нейтрализующих антител IgG в том числе к рецептор-связывающему домену (RBD, receptor-binding domain) белка S SARS-CoV-2 [5]. Позже в исследовательских целях для оценки нейтрализующей способности сыворотки стал применяться метод PNA (pseudovirus neutralization assay), когда псевдовиром SARS-CoV-2 инфицируют клетки, экспрессирующие рецептор ACE2, а после инкубации с тестируемой сывороткой на основе значения люминесценции производят расчёт степени нейтрализации псевдовиром [6].

Для исследования клеточного иммунного ответа актуальны три метода: проточная цитометрия (по пролиферативному ответу Т-хелперов (CD4⁺) и Т-киллеров (CD8⁺) на рестимуляцию антигена *in vitro*); IGRA-ELISPOT (interferon-gamma release assay) (по количеству продуцирующих IFN- γ антиген-специфических Т-клеток среди мононуклеаров периферической крови (PBMC, peripheral blood mononuclear cell) и ELISA (по изменению концентрации IFN- γ в ответ на стимуляцию Т-клеток антигенами возбудителя) [5].

Крупные исследования, описанные в литературе, свидетельствуют, что на 21-й день от начала заболевания плазма около 30 % людей, перенёвших COVID-19, имеет низкие титры нейтрализующих антител, специфичных для SARS-CoV-2, или не содержит их вовсе [7, 8]. COVID-19 вызывает выраженный Т-клеточный ответ, устойчивый до 15 месяцев [9], Т-клетки широко продуцируются в ответ на инфекцию и вакцинацию [10], а тест-

системы на основе IGRA-ELISPOT выявляют на 51 % больше людей, перенесших COVID-19, чем ИФА-тесты на IgG [11]. В этой связи SARS-CoV-2-специфические Т-клетки могут быть более чувствительным маркером перенесённого COVID-19, а методы их выявления дополняют серологию в комплексной лабораторной диагностике иммунного ответа на SARS-CoV-2.

Республика Крым была изолирована от материковой части страны в период пандемии вне курортного сезона в 2020 и 2021 гг. в связи с ограничениями перемещения. С мая по сентябрь, напротив, происходила резкая смена эпидемиологической обстановки в связи с активной сезонной миграцией людей в курортный регион, что отразилось на специфике популяционного иммунитета, изучению которого посвящена работа в сравнении методов определения клеточного и гуморального иммунного ответа.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценить клеточный и гуморальный иммунитет при COVID-19 у жителей Республики Крым.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для сравнительной оценки лабораторных методов диагностики иммунного ответа летом 2021 г. выполнено исследование на 24 добровольцах (сотрудниках университета) – 10 мужчин и 14 женщин – с известным анамнезом в отношении COVID-19 и вакцинации. Добровольцы давали информированное согласие на исследование, на базе университетской клиники у них брали венозную кровь в две герметичные пробирки (с коагулянтом с цитратом натрия). Анализ на наличие гуморального и Т-клеточного иммунитета методами ИФА и ELISPOT проводили в Центральной научно-исследовательской лаборатории. Критериями включения были возраст 20–40 лет; отсутствие какого-либо заболевания в острой фазе. Исследование проводили согласно инструкциям наборов реагентов: 1) ЗАО «ЭКОлаб» IgM и IgG для выявления иммуноглобулинов к различным компонентам коронавируса SARS-CoV-2, в том числе поствакцинальных антител к белку S методом ИФА; 2) «ТиграТест® SARS-CoV-2» (АО «Генериум») для *in vitro* выявления Т-лимфоцитов, специфически отвечающих на антигены вируса SARS-CoV-2. Это версия ИФА метода IGRA ELISPOT (Interferon Gamma Release Assay, Enzyme-Linked Spot analysis), в котором цитокин интерферон-гамма (IFN- γ) с одной стороны связывается на поверхности мембраны культурального планшета рядом с секретирующими его клетками, а с другой стороны, IFN- γ связывается с другими антителами, конъюгированными со щелочной фосфатазой. Обработка хромогенным субстратом, который преобразуется щелочной фосфатазой в окрашенное пятно нерастворимого преципитата в месте реакции, дает возможность увидеть реакцию. Каждое пятно (спот) является отпечатком одной

T-клетки, секретирующей IFN- γ в ответ на контакт с антигеном вируса, а подсчет пятен количественно характеризует содержание специфичных для антигенов SARS-CoV-2 CD4+ и CD8+ T-клеток в крови. Результатом анализа является подсчет количества пятен в лунках с контролями и антигенами.

Для исследования гуморального иммунитета в популяции оценили 10 000 ИФА-тестов (ЗАО «ЭКОлаб» IgM и IgG), выполненных в нашей лаборатории за период с июля 2020 по январь 2022 г. жителям Крыма без признаков респираторного заболевания, обратившимся с целью верификации перенесённого ранее COVID-19 в субклинической форме или без подтверждения методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), для планирования вакцинации или оценки ее эффективности. В исследование включены все совершеннолетние пациенты, обратившиеся в лабораторию с целью оценки специфического иммунитета к SARS-CoV-2. Средний возраст пациентов составил $38 \pm 9,8$ года во все периоды исследования. Соотношение мужчин к женщинам составило 4 : 5.

Статистическую обработку выполнили с использованием Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Методом Шапиро – Уилка определяли нормальность распределения признака: количество спотов в лунках с антигеном к пептиду белка S (AG1) и с антигеном к пептидам белков N, M, O3, O7 (AG2) при оценке клеточного иммунитета. Отличия между группами пациентов (1-я группа – не болели, не вакцинировались; 2-я группа – не болели, вакцинировались; 3-я группа – болели, не вакцинировались; 4-я группа – болели, а после вакцинировались) оценивали методом Краскела – Уоллиса. Влияние факторов на количество спотов в лунках с антигенами оценивали методом ANOVA. Контролируемыми факторами считали наличие и сроки заболевания и вакцинации (из анамнеза). Статистически значимыми считали отличия при $p \leq 0,05$.

В работе были соблюдены этические нормы; участники подписывали добровольное информированное согласие, а работа получила одобрение этического комитета ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» (Протокол № 4 от 12.04.2022).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении клеточного иммунитета, согласно анамнезу, исследуемые распределились следующим образом: 1-я группа (не болели, не вакцинировались) – 12 % ($n = 3$); 2-я группа (не болели, вакцинировались) – 21 % ($n = 5$); 3-я группа (болели, не вакцинировались) – 38 % ($n = 9$); 4-я группа (болели, а после вакцинировались) – 29 % ($n = 7$).

Важно отметить, что исследование выполнено спустя 12 месяцев от начала пандемии в Крыму, и уровень антител на 100 % отразил анамнез продолжительностью 6 месяцев; более долгие периоды после болезни исследованы не были. То есть у всех лиц 1-й груп-

пы уровень антител был негативный, а у лиц 2-й, 3-й, 4-й групп позитивный уровень IgM или IgG выявлен лишь в случае перенесённого заболевания (с ПЦР-подтверждением) или вакцинации в период последнего полугодия. В случае болезни или вакцинации в более ранний период у лиц 2-й, 3-й, 4-й групп уровень антител был негативным. Для однородности исследования в число вакцинированных добровольцев вошли только лица, привитые двумя компонентами вакцины Спутник V.

В результате исследования методом ELISPOT, согласно его интерпретации, группы «перераспределились»: 1-я группа – 4 % ($n = 1$); 2-я группа – 17 % ($n = 4$); 3-я группа – 46 % ($n = 11$); 4-я группа – 33 % ($n = 8$). Лишь 1 человек не имел клеточного иммунитета, у остальных (здоровых по данным анамнеза и лабораторных исследований на наличие антител к коронавирусу) выявились споты в лунках с AG1 и AG2 в количествах, свидетельствующих о субклинически перенесённом заболевании. Среди лиц 2-й группы 1 из 5 человек имел споты в панели AG2, что свидетельствует о перенесённом после вакцинации заболевании в скрытой форме. Среди лиц 3-й и 4-й групп совпадение результатов исследования и данных анамнеза оказалось полным, но эти группы увеличились за счёт лиц, которые ранее составляли 1-ю и 2-ю группы (по данным анамнеза и уровню антител). При этом следует отметить, что есть статистически значимая связь между сроками заболевания и количеством спотов в обеих панелях антигенов у лиц 3-й группы и в панели AG2 у пациентов 4-й группы. Так, чем больше времени прошло с момента выздоровления, тем меньшее количество активированных T-клеток обнаруживали. Количество спотов в панели антигенов к белку S у вакцинированных лиц составляло от 35 до 75 штук даже через 6 месяцев после вакцинации (рис. 1).

Результаты статистики представлены на рисунках 2 и 3. При сравнении числа спотов в лунках с AG1 и AG2 между группами выяснилось, что в группе вакцинированных число спотов в лунке AG1 статистически значимо выше, чем у лиц 1-й и 3-й групп, не получавших вакцину. Люди из 3-й группы, переболевшие ПЦР-подтверждённой коронавирусной инфекцией, имели статистически значимо большее количество спотов в лунках с AG2, чем лица из групп не болевших ранее, либо болевших в скрытой форме. Однофакторный анализ ANOVA показал статистически значимое влияние наличия заболевания и его сроков на количество спотов в лунке с AG2 ($F = 12,40$ и $F = 7,88$ соответственно). Наличие и сроки вакцины оказывают статистически значимое влияние на количество спотов к обеим панелям антигенов ($F = 21,98$ для AG1 и $F = 21,01$ для AG2). При этом стоит отметить, что при вакцинации количество спотов в лунке с AG1 к белку S статистически значимо выше, а в лунке с AG2 к пептидам белков N, M, O3, O7 – наоборот, статистически значимо ниже, чем при её отсутствии. Срок вакцины оказывает аналогичное влияние, однако степень его значительно ниже ($F = 10,10$ для AG1 и $F = 5,05$ для AG2).

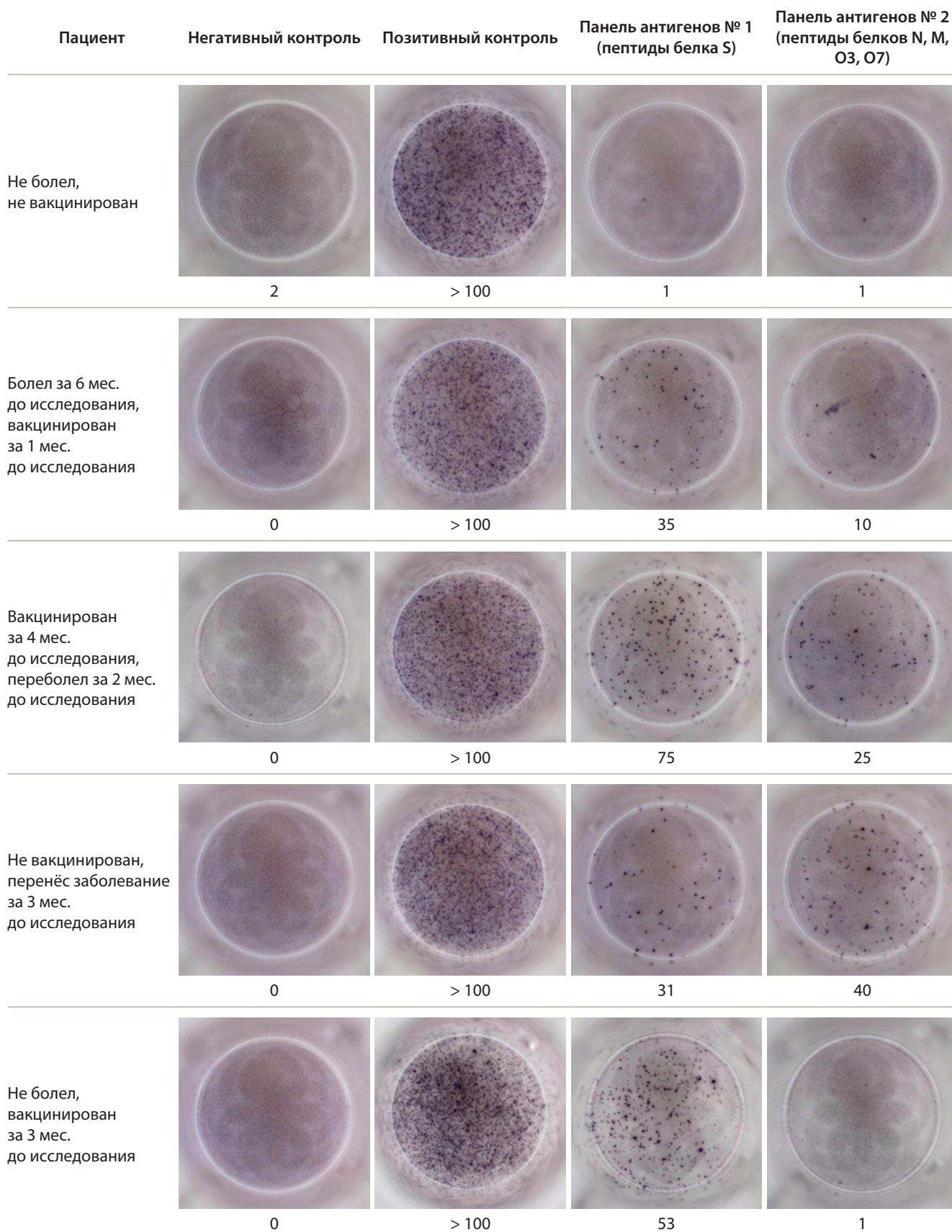


РИС. 1.

Результаты исследований на примере пациентов из различных групп: фотографии лунок после инкубации лимфоцитов с антигенами и визуализации активированных на выработку интерферона клеток цветными метками; ув. 20×

FIG. 1.

The results of studies on the example of patients from different groups: photographs of wells after incubation of lymphocytes with antigens and visualization of cells activated for the interferon production with color marks; magnification 20×

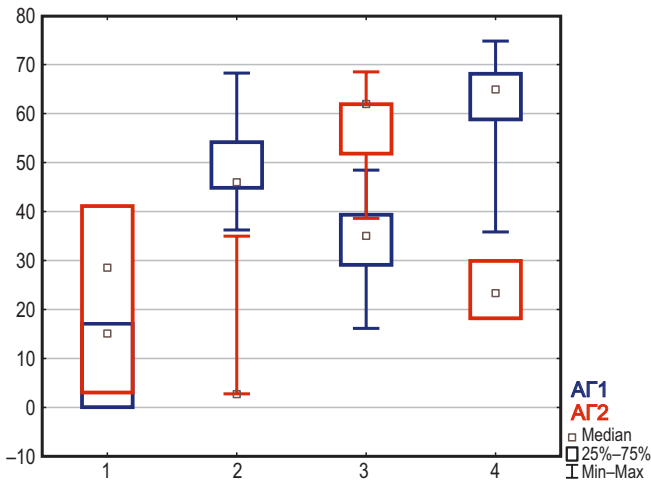


РИС. 2.
Средние показатели количества спотов в лунках с антигенами к белку S (АГ1) и к белкам N, M, Orf3a, Orf7a (АГ2)

FIG. 2.
Mean values of the spots number in wells with antigens to S-protein (AG1) and to N-, M-, Orf3a- and Orf7a-proteins (AG2)

Исследование гуморального иммунитета показало прогрессивное нарастание иммунизации населения Республики Крым. В осенне-зимний период 2020–2021 гг. положительный тест на какой-либо класс антител имели 27 % пациентов ($n = 4499$), у большинства преобладали IgG; весной 2021 г. процент положительных проб составил 47 % ($n = 1760$) с преобладанием IgG и суммарных поствакцинальных антител. Процент положительных проб нарастал летом и осенью 2021 г. до 61–63 % ($n = 2286$); к зиме 2021–2022 г. он достиг 87 %. ($n = 1455$). Положительная динамика данных мониторинговых показателей в Республике Крым свидетельствует об активной иммунизации населения, и рост числа иммунизированных лиц до 80–87 % совпал с резким спадом, фактически прекращением, волны эпидемии в регионе.

ВЫВОДЫ

В результате исследования было установлено, что на протяжении 2021 г. уровень иммунизации на-

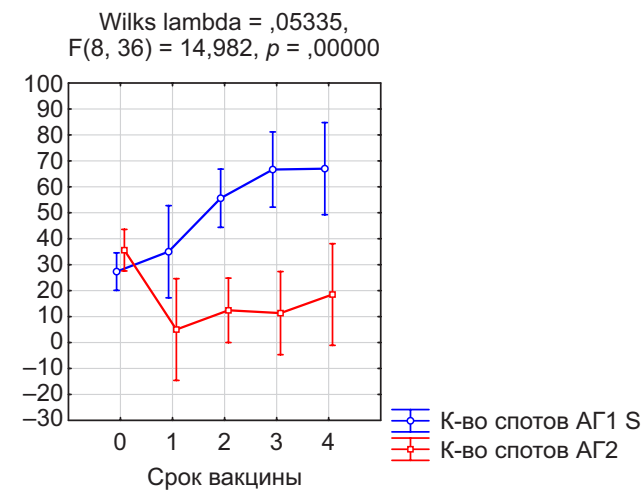
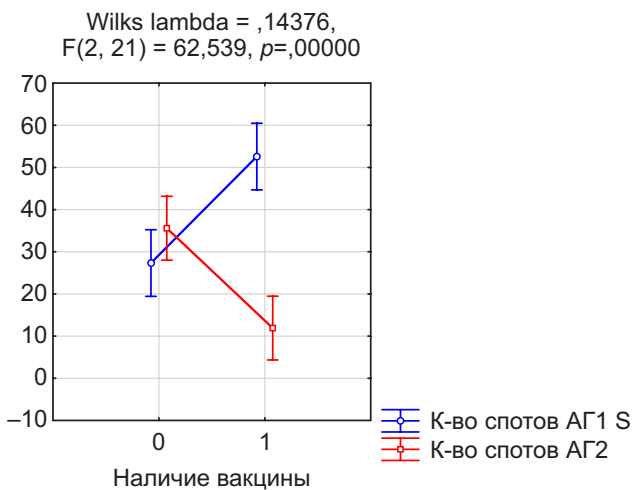


РИС. 3.
Степень влияния различных факторов (наличие и сроки заболевания, наличие и сроки вакцинации) на количество спотов (активированных T-клеток) к панелям АГ1 и АГ2

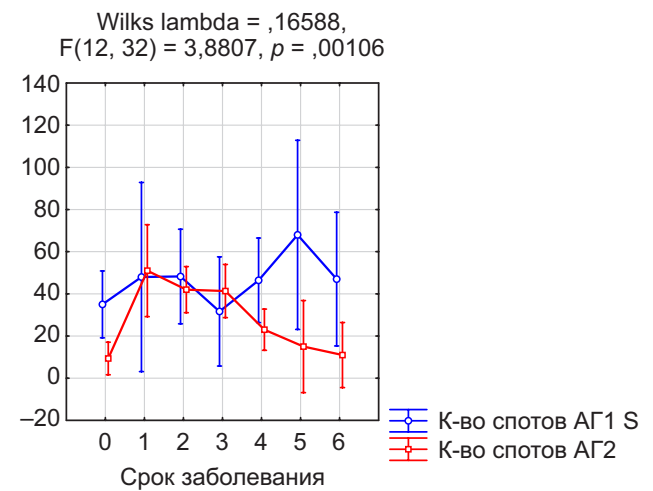
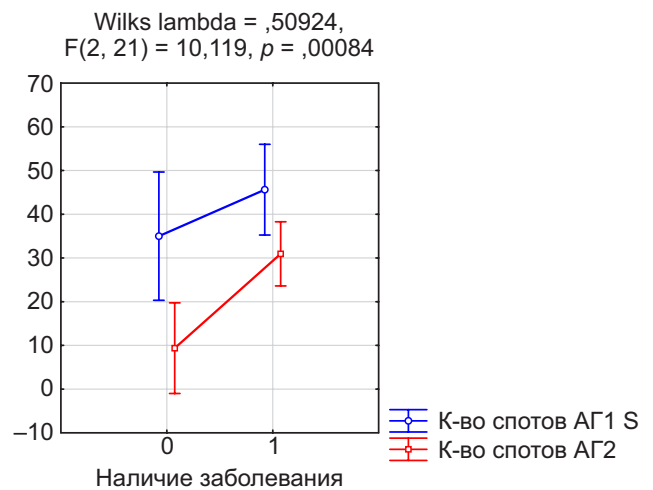


FIG. 3.
The degree of influence of various factors (the presence and timing of the disease, the presence and timing of vaccination) on the spots number (activated T-cells) to AG1 and AG2 panels

селения Республики Крым против COVID-19 повысилась, возросла доля жителей, имеющих положительный тест на IgG (с 27 % до 87 %). Результаты исследований методом ELISPOT с использованием набора реагентов для выявления *in vitro* в крови Т-лимфоцитов, специфически отвечающих на антигены вируса SARS-CoV-2 («ТиграТест® SARS-CoV-2»), показали, что данная методика является более чувствительной, чем метод ИФА, способна выявлять перенесённые в скрытой форме заболевания.

Финансирование

Работа поддержана программой «Приоритет 2030» № 075-15-2021-1323.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Falzone L, Gattuso G, Tsatsakis A, Spandidos DA, Libra M. Current and innovative methods for the diagnosis of COVID-19 infection (review). *Int J Mol Med*. 2021; 47(6): 100. doi: 10.3892/ijmm.2021.4933
2. Козлов В.А., Тихонова Е.П., Савченко А.А., Кудрявцев И.В., Андронova Н.В., Анисимова Е.Н., и др. *Клиническая иммунология. Практическое пособие для инфекционистов*. Красноярск: Поликор; 2021.
3. Cox RJ, Brokstad KA. Not just antibodies: B cells and T cells mediate immunity to COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2020; 20(10): 581-582. doi: 10.1038/s41577-020-00436-4
4. Hai-Qiong Yu, Bao-Qing S, Zhang-Fu F, Jin-Cun Z, Xiao-Yu L, Yi-Min L, et al. Distinct features of SARSCoV-2-specific IgA response in COVID-19 patients. *Eur Respir J*. 2020; 56(2): 2001526. doi: 10.1183/13993003.01526-2020
5. Kudlay D, Kofiadi I, Khaitov M. Peculiarities of the T cell immune response in COVID-19. *Vaccines*. 2022; 10(2): 242. doi: 10.3390/vaccines10020242
6. Donofrio G, Franceschi V, Macchi F, Russo L, Rocci A, Marchica V, et al. A simplified SARS-CoV-2 pseudovirus neutralization assay. *Vaccines (Basel)*. 2021; 9(4): 389. doi: 10.3390/vaccines9040389
7. Martynova E, Hamza S, Garanina EE, Kabwe E, Markelova M, Shakirova V, et al. Long term immune response produced by the SputnikV vaccine. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(20): 11211. doi: 10.3390/ijms222011211
8. Tukhvatulina AI, Dolzhikova IV, Shcheblyakova DV, Zubkova OV, Dzharullaeva AS, Kovyreshina AV, et al. An open, non-randomised, phase 1/2 trial on the safety, tolerability, and immunogenicity of single-dose vaccine "Sputnik Light" for prevention of coronavirus infection in healthy adults. *Lancet Reg Health Eur*. 2021; 11: 100241. doi: 10.1016/j.lanpe.2021.100241
9. Marcotte H, Piralla A, Zuo F, Du L, Cassaniti I, Wan H, et al. Immunity to SARS-CoV-2 up to 15 months after infection. *iScience*. 2022; 25(2): 103743. doi: 10.1101/2021.10.08.463699
10. 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): 178-192. doi: 10.30895/2221-996X-2021-21-3-178-192

11. Sushentseva NN, Popov OS, Polkovnikova IA, Al'pako SV, Shcherbak SG. Differences in characteristics of T-cell immunity to SARS-CoV-2 in clinically healthy subjects. *Bull Exp Biol Med*. 2022; 173(1): 133-138. doi: 10.1007/s10517-022-05508-0

REFERENCES

1. Falzone L, Gattuso G, Tsatsakis A, Spandidos DA, Libra M. Current and innovative methods for the diagnosis of COVID-19 infection (review). *Int J Mol Med*. 2021; 47(6): 100. doi: 10.3892/ijmm.2021.4933
2. Kozlov VA, Tikhonova EP, Savchenko AA, Kudryavtsev IV, Andronova NV, Anisimova EN, et al. *Clinical immunology. A practical guide for infectious disease specialists*. Krasnoyarsk: Polikor; 2021. (In Russ.).
3. Cox RJ, Brokstad KA. Not just antibodies: B cells and T cells mediate immunity to COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2020; 20(10): 581-582. doi: 10.1038/s41577-020-00436-4
4. Hai-Qiong Yu, Bao-Qing S, Zhang-Fu F, Jin-Cun Z, Xiao-Yu L, Yi-Min L, et al. Distinct features of SARSCoV-2-specific IgA response in COVID-19 patients. *Eur Respir J*. 2020; 56(2): 2001526. doi: 10.1183/13993003.01526-2020
5. Kudlay D, Kofiadi I, Khaitov M. Peculiarities of the T cell immune response in COVID-19. *Vaccines*. 2022; 10(2): 242. doi: 10.3390/vaccines10020242
6. Donofrio G, Franceschi V, Macchi F, Russo L, Rocci A, Marchica V, et al. A simplified SARS-CoV-2 pseudovirus neutralization assay. *Vaccines (Basel)*. 2021; 9(4): 389. doi: 10.3390/vaccines9040389
7. Martynova E, Hamza S, Garanina EE, Kabwe E, Markelova M, Shakirova V, et al. Long term immune response produced by the SputnikV vaccine. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(20): 11211. doi: 10.3390/ijms222011211
8. Tukhvatulina AI, Dolzhikova IV, Shcheblyakova DV, Zubkova OV, Dzharullaeva AS, Kovyreshina AV, et al. An open, non-randomised, phase 1/2 trial on the safety, tolerability, and immunogenicity of single-dose vaccine "Sputnik Light" for prevention of coronavirus infection in healthy adults. *Lancet Reg Health Eur*. 2021; 11: 100241. doi: 10.1016/j.lanpe.2021.100241
9. Marcotte H, Piralla A, Zuo F, Du L, Cassaniti I, Wan H, et al. Immunity to SARS-CoV-2 up to 15 months after infection. *iScience*. 2022; 25(2): 103743. doi: 10.1101/2021.10.08.463699
10. Poteryaev DA, Abbasova SG, Ignatyeva PE, Strizhakova OM, Kolesnik SV, Khamitov RA. Assessment of T-cell immunity to SARS-CoV-2 in COVID-19 convalescents and vaccinated subjects, using TиграТест® SARS-CoV-2 ELISPOT kit. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2021; 21(3): 178-192. (In Russ.). doi: 10.30895/2221-996X-2021-21-3-178-192
11. Sushentseva NN, Popov OS, Polkovnikova IA, Al'pako SV, Shcherbak SG. Differences in characteristics of T-cell immunity to SARS-CoV-2 in clinically healthy subjects. *Bull Exp Biol Med*. 2022; 173(1): 133-138. doi: 10.1007/s10517-022-05508-0

Сведения об авторах

Зяблицкая Евгения Юрьевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: evgu79@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8216-4196>

Кудлай Дмитрий Анатольевич – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, профессор кафедры фармакологии, Институт фармации, ФГАУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); ведущий научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины и молекулярной иммунологии № 71, ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» ФМБА России, e-mail: d624254@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1878-4467>

Колесник Светлана Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, e-mail: svetlab.kolesnik@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2398-4615>

Макашиш Татьяна Павловна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: gemini_m@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1884-2620>

Максимова Полина Евгеньевна – студентка шестого курса первого медицинского факультета, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: polina_maksimova_2000@mail.ua, <https://orcid.org/0000-0001-5920-8664>

Куницкая Юлия Евгеньевна – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: uu1995.95lia@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3900-1671>

Грицкевич Ольга Юрьевна – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: sudmedma@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3556-1399>

Головкин Илья Олегович – младший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: golovkin.io.1996@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3578-5130>

Фомочкина Ирина Ивановна – доктор медицинских наук, профессор кафедры общей и клинической патофизиологии, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: fomochkina_i@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3065-5748>

Кубышкин Анатолий Владимирович – доктор медицинских наук, заведующий кафедрой общей и клинической патофизиологии, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского», ФГАУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», e-mail: kubyshkin_av@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1309-4005>

Information about the authors

Evgenia Yu. Zyblytskaya – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Central Research Laboratory, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: evgu79@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-8216-4196>

Dmitry A. Kudlay – Dr. Sc. (Med.), Professor, Corresponding Member of RAS, Professor at the Department of Pharmacology, Institute of Pharmacy, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Leading Research Officer at the Laboratory of Personalized Medicine and Molecular Immunology. National Research Center Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia, e-mail: D624254@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1878-4467>

Svetlana V. Kolesnik – Junior Research Officer at the Department of Laboratory of Clinical Immunology, National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov, e-mail: svetlab.kolesnik@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2398-4615>

Tatiana P. Makalish – Cand. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Central Research Laboratory, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: gemini_m@list.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1884-2620>

Polina E. Maksimova – 6-year Student at the First Medical Faculty, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: polina_maksimova_2000@mail.ua, <https://orcid.org/0000-0001-5920-8664>

Yulia E. Kunitskaya – Junior Research Officer at the Central Research Laboratory, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: uu1995.95lia@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3900-1671>

Olg Yu. Gritskevich – Junior Research Officer at the Central Research Laboratory, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: sudmedma@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-3556-1399>

Ilya O. Golovkin – Junior Research Officer at the Central Research Laboratory, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: golovkin.io.1996@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3578-5130>

Irina I. Fomochkina – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of General and Clinical Pathophysiology, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: fomochkina_i@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3065-5748>

Anatoly V. Kubyshkin – Dr. Sc. (Med.), Head of the Department of General and Clinical Pathophysiology, Medical Academy named after S.I. Georgievsky, V.I. Vernadsky Crimean Federal University, e-mail: kubyshkin_av@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1309-4005>