

Тест-система: Система оценки противовирусной активности ингибиторов репродукции SARS-CoV-2 *in vivo*

Мишень/тест-система	коронавирус SARS-CoV-2 (варианты прототипный В.1.1, В.1.617.2 Дельта, ВА.1. Омикрон)
Животные	сирийские хомяки (6-8 недель, 50-80 г)
Метод детекции	Клиническое наблюдение, выделение вируса или вирусной РНК из лёгких и мазков, макро- и микроскопическое исследование тканей лёгких
Активность	Улучшение параметров по сравнению контролем в течение 7 дней после интраназального заражения при выбранном способе введения соединений (в/м, в/ж, и/п)
Методы контроля	Положительный контроль: по обсуждению Отрицательный контроль: заражённые животные без препарата

Краткое описание тест-системы

Оценка активности ингибиторов SARS-CoV-2 проводится по улучшению параметров у экспериментальных животных в течение 7 дней после заражения по сравнению с контрольными животными после интраназального заражения сирийских хомяков. Эксперименты проводятся с соблюдением требований биологической безопасности при работе с патогенными биологическими агентами II группы опасности.

Протокол

Соединения, показавшие активность *in vitro*, используют в виде водных растворов (суспензии для внутрижелудочного введения в 10% крахмальном клейстере или стерильном растворе для внутривенного введения), которые готовят непосредственно перед использованием с минимальным сроком хранения при +4 °С.

Исследование проводят по профилактически-лечебной схеме, если не оговаривается иное. Соединения вводят выбранным способом за 3 часа до заражения и 1 раз/сутки каждый день в течение 6 дней после заражения.

Затем проводят интраназальное заражение животных выбранным штаммом SARS-CoV-2 (10^4 или 10^5 ТЦД₅₀/животное). Животных наблюдают ежедневно, оценивают общее состояние, двигательную активность путем внешнего осмотра (осмотр в клетке, осмотр на открытой площадке, осмотр при взятии животного в руки, осмотр места введения) и массу тела; отбирают орофарингеальные мазки (каждый день или на 1, 3, 5 и 7 сутки после заражения) для оценки содержания вирусной РНК методом ОТ-ПЦР (Ct), проводят вскрытие на 3 и 7 сутки после заражения с отбором лёгких для оценки содержания вируса (ОТ-ПЦР и титр в культуре клеток Vero); состояние лёгких оценивают макроскопически (10-балльная система) и по массовому коэффициенту и микроскопически в гистологическом анализе.

В протоколе возможны изменения по способу введения тестируемых соединений, штамму SARS-CoV-2 и количеству оцениваемых параметров после заражения.

Интерпретация результатов

Инфекция SARS-CoV-2 у сирийских хомяков нелетальная, характеризуется снижением массы тела животных, угнетением поведения, увеличением массового коэффициента лёгких по мере развития инфекции, наличием вирусной РНК/инфекционного вируса в лёгких и орофарингеальных мазках, макроскопическими и микроскопическими изменениями легких, характерными для пневмонии, в том числе вирусной.

Ссылки на методику или ее аналоги, описанные в литературе

- Kozlovskaya LI, Pinaeva AN, Ignatyev GM, Gordeychuk IV, Volok VP, Rogova YV, Shishova AA, Kovpak AA, Ivin YY, Antonova LP, Mefyod KM, Prokosheva LS, Sibirkina AS, Tarasova YY, Bayurova EO, Gancharova OS, Illarionova VV, Glukhov GS, Sokolova OS, Shaitan KV, Moysenovich AM, Gulyaev SA, Gulyaeva TV, Moroz AV, Gmyl LV, Ipatova EG, Kirpichnikov MP, Egorov AM, Siniugina AA, Ishmukhametov AA. Long-term humoral immunogenicity, safety and protective efficacy of inactivated vaccine against COVID-19 (CoviVac) in preclinical studies. *Emerg Microbes Infect.* **2021**, *10* (1), 1790-1806. doi: 10.1080/22221751.2021.1971569.

Препарат сравнения, использованный для валидации методики; результаты валидации

Препарат	Результат
Вакцина КовиВак	Обнаруженные терапевтические эффекты проявляются в виде снижения частоты проявления клинических признаков инфекции вплоть до их полного исчезновения к концу эксперимента. Положительная динамика изменения массы тела животных с набором веса с 2 суток после заражения, снижению вирусной нагрузки (по ПЦР) в орофарингеальных мазках с 1 суток после заражения и снижению количества инфекционного вируса в лёгких на двух сроках эвтаназии. На двух сроках эвтаназии наблюдали достоверное снижение макроскопических и микроскопических признаков поражения легких.
Ремдесивир (А-5702)	Обнаруженные терапевтические эффекты проявляются в виде снижения частоты проявления клинических признаков инфекции вплоть до их полного исчезновения к концу эксперимента. Отмечено достоверное снижение массового коэффициента легких на 3-и сутки после заражения и снижение данного показателя на уровне тенденции на 7-е сутки. На двух сроках эвтаназии наблюдали тенденцию к снижению макроскопических и микроскопических признаков поражения легких. Введение тестируемой субстанции привело к достоверному снижению вирусной нагрузки (по ПЦР) в орофарингеальных мазках на 5-е сутки после заражения и снижению количества инфекционного вируса в лёгких на двух сроках эвтаназии.

Дополнительные характеристики

Количество вещества для проведения одного исследования	≥ 5 мг
Производительность тест-системы	1-5 соединений — 2 месяца до 5 соединений (или вариаций) в 1 эксперименте
Дополнительная информация	<ul style="list-style-type: none">• Дизайн эксперимента и альтернативные варианты постановок требуют дополнительного обсуждения.

Организация

ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита)

<http://chumakovs.ru/>

Почтовый адрес: поселение Московский, посёлок Института полиомиелита, домовладение 8, корпус 1, город Москва, 108819

Контактное лицо

Александр Сергеевич Лунин, эл. почта: lunin_as@chumakovs.su