



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

# Модели для изучения эффективности и безопасности профилактических вакцин против COVID-19

Илья Гордейчук, к.м.н.

Зам. генерального директора по научной работе

GLP-planet III

Санкт-Петербург, 2022

# План доклада

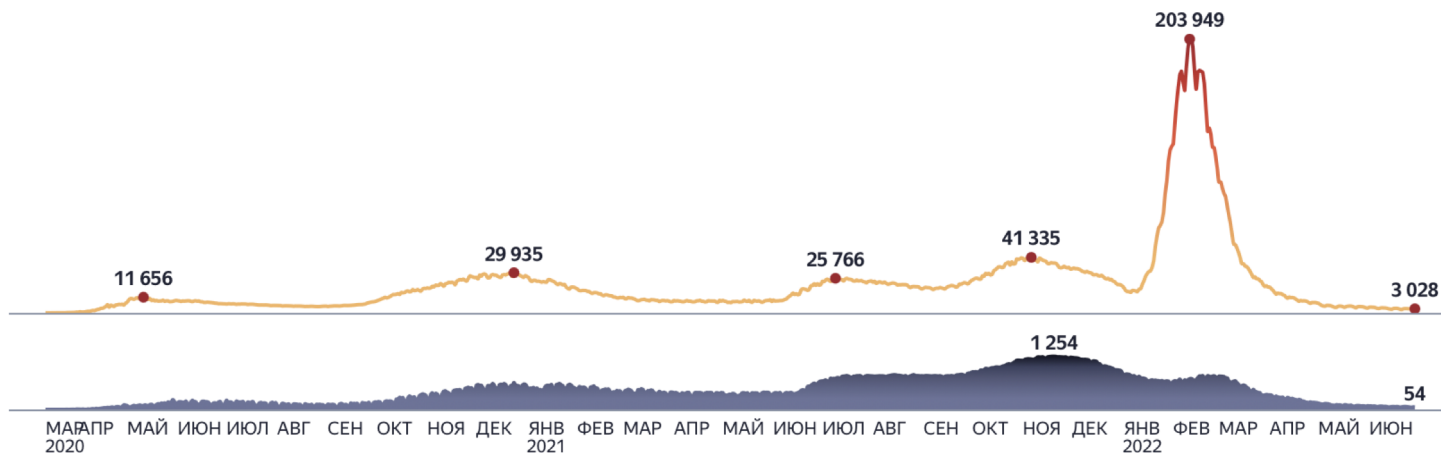
- Лабораторные животные модели для изучения эффективности вакцин против COVID-19. Международный и российский опыт
- Приматная модель для изучения иммуногенности и безопасности вакцин против COVID-19
- Лабораторные животные модели для изучения токсичности вакцин против COVID-19

# Пандемия COVID-19

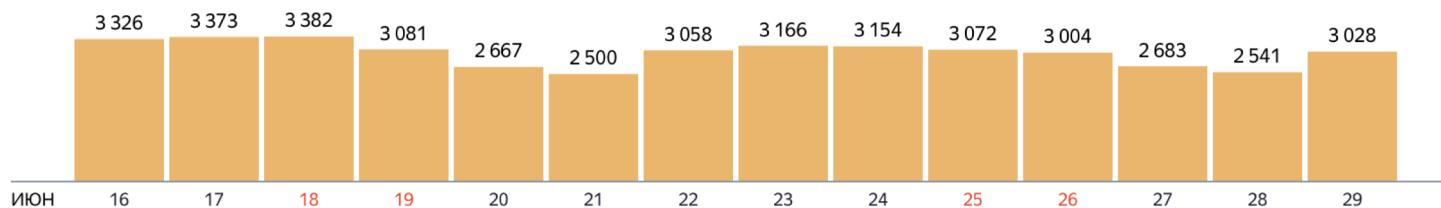
Главные цифры  
на 29 июня

	Заражений	Госпитализаций	Смертей
За сутки	<b>+3 028</b>	<b>+1 334</b>	<b>+54</b>
Всего	18 427 133		381 056

Число новых заражений и смертей, Россия

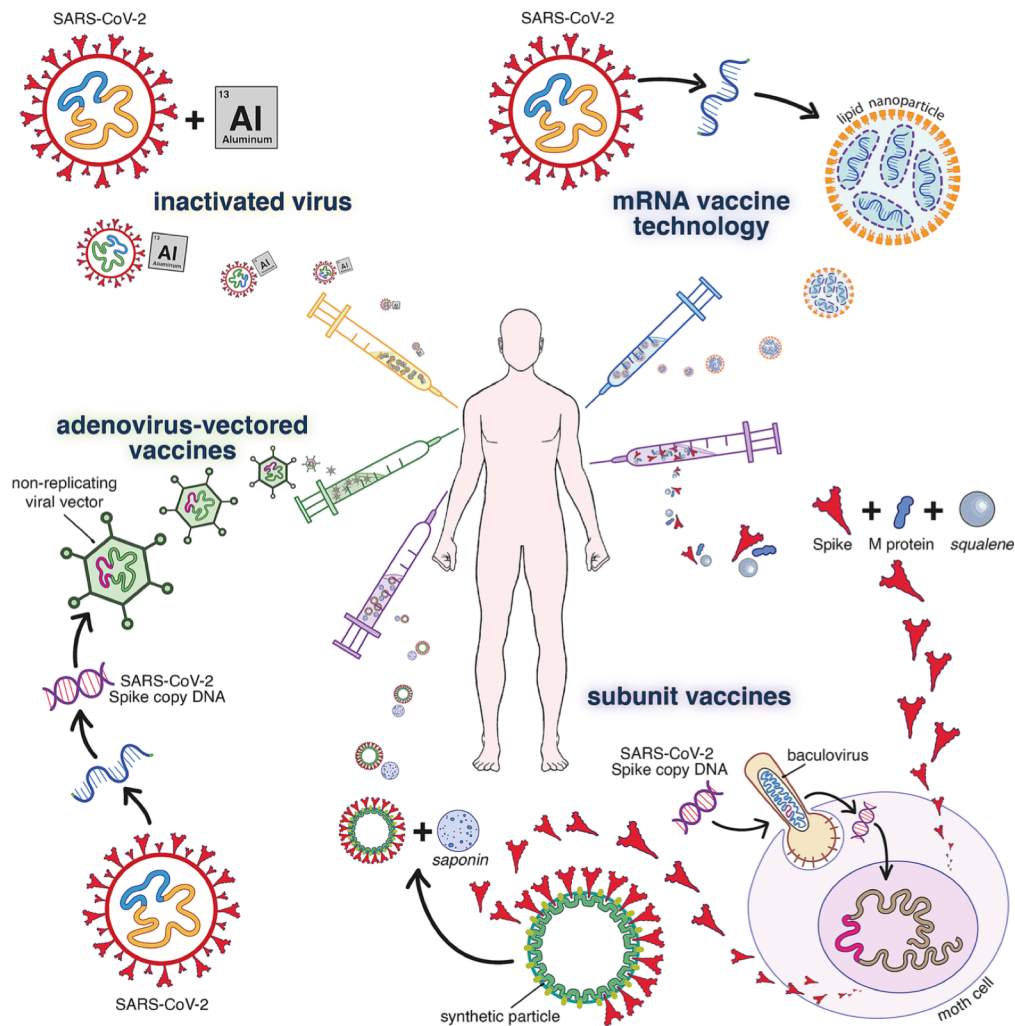


Число новых заражений в последние две недели, Россия



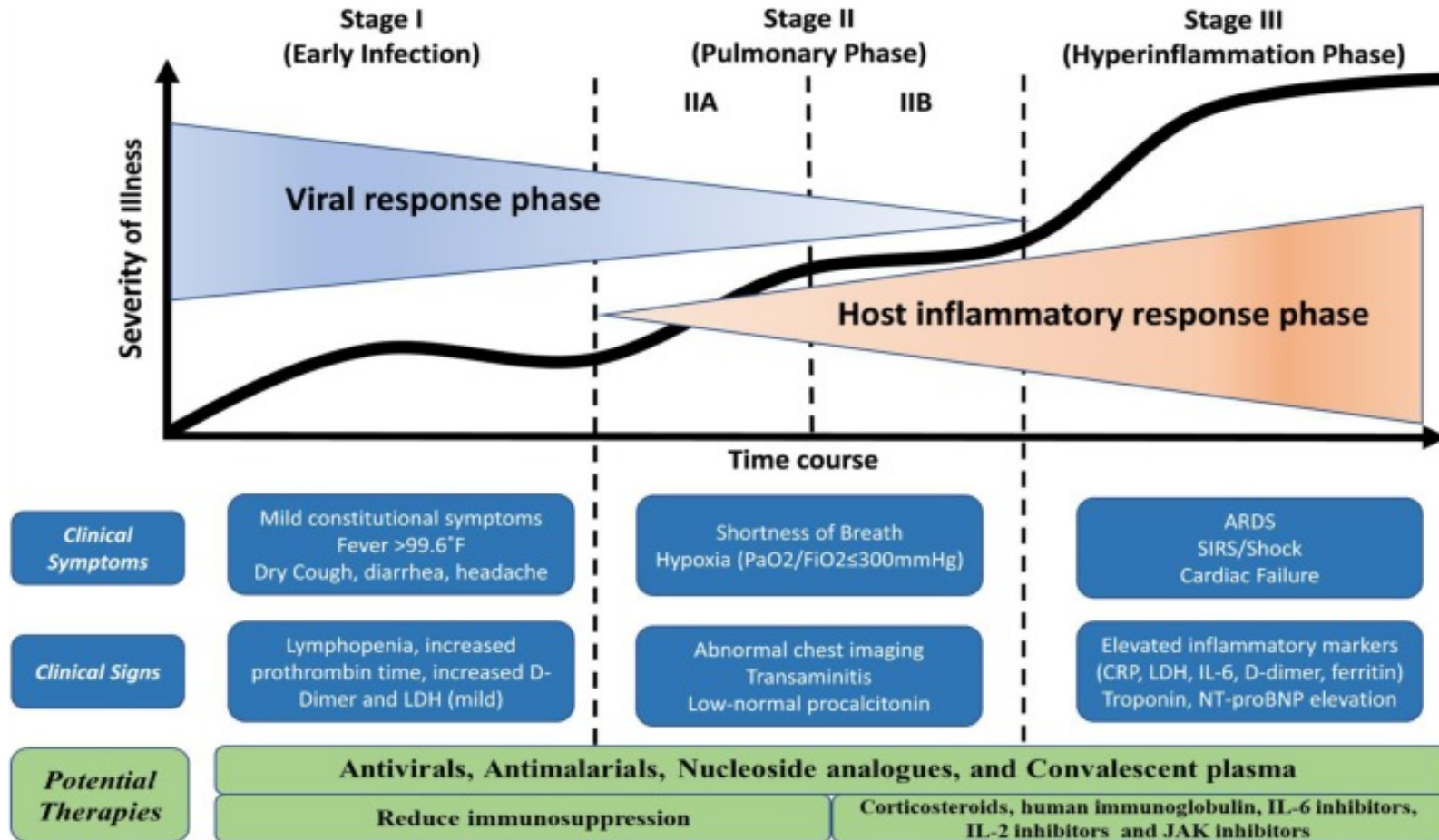
Яндекс

# Многообразие вакцин против COVID-19



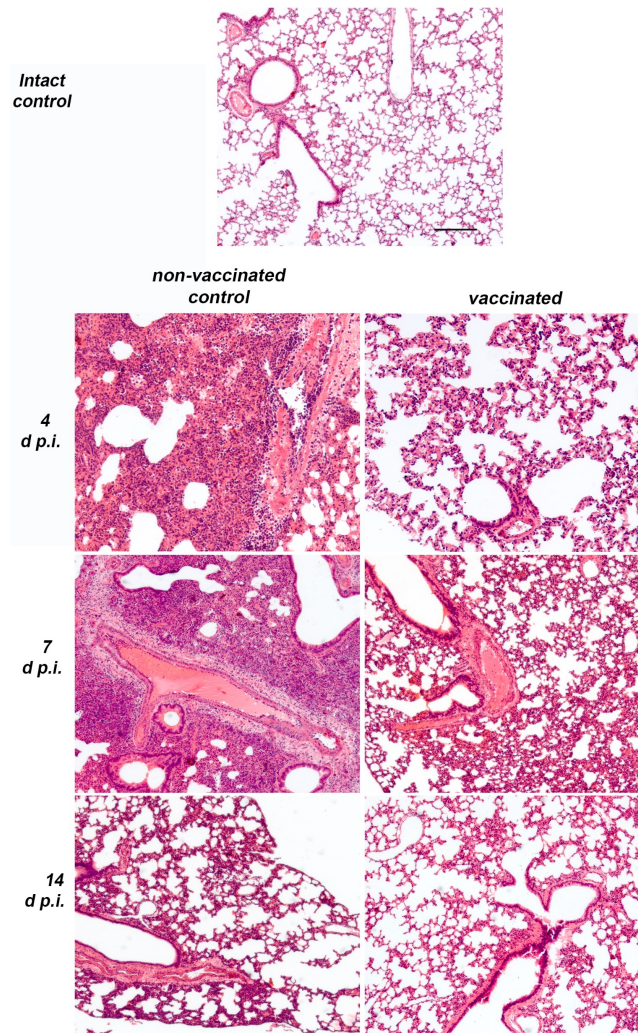
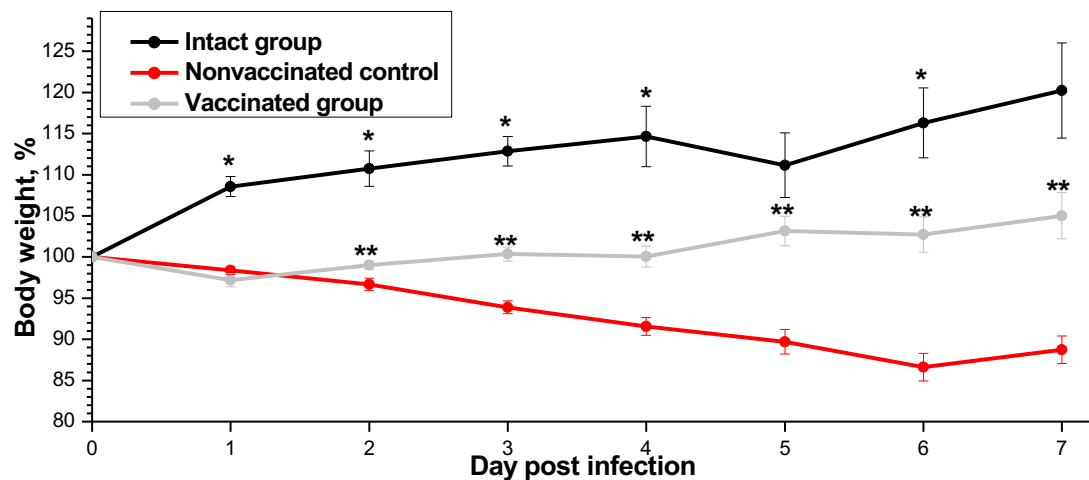


# Лабораторные животные модели для изучения эффективности вакцин против COVID-19



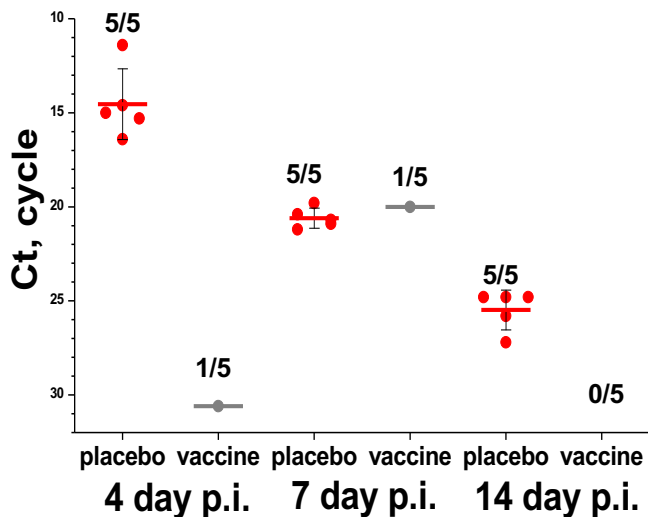
# Модель сирийских хомяков (1)

Вид животного	Сирийский хомяк ( <i>Mesocricetus auratus</i> )
Вирус	SARS-CoV-2
Доза вируса	$10^5$ TCID <sub>50</sub>
Эффект	Снижение веса, повреждения легких, выздоровление



# Модель сирийских хомяков (2)

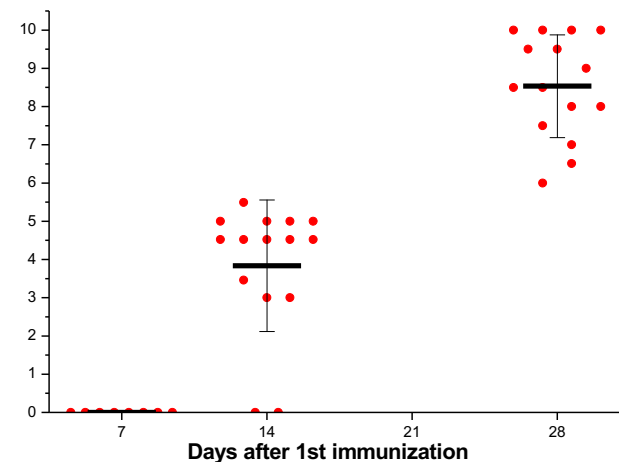
Вирусная РНК в легких



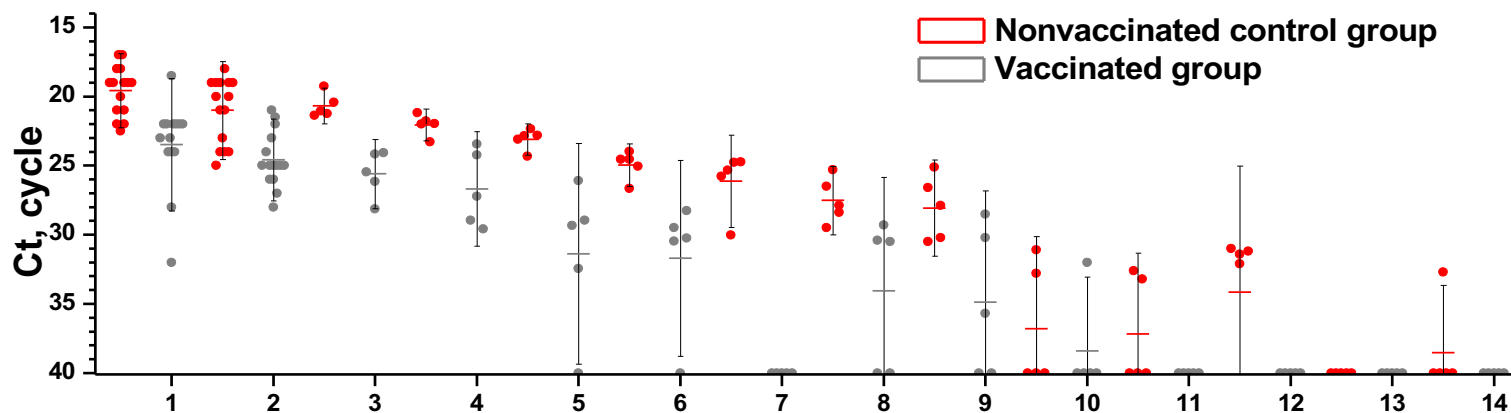
Вирусная РНК в других органах

Орган	Группа	День после заражения		
		4	7	14
Мозг	контроль	3/5	3/5	0/5
	вакцина	0/5	0/5	0/5
Печень	контроль	1/5	0/5	0/5
	вакцина	0/5	0/5	0/5
Селезёнка	контроль	1/5	0/5	0/5
	вакцина	0/5	0/5	0/5
Почки	контроль	0/5	0/5	0/5
	вакцина	0/5	0/5	0/5
Сердце	контроль	4/5	0/5	0/5
	вакцина	0/5	0/5	0/5

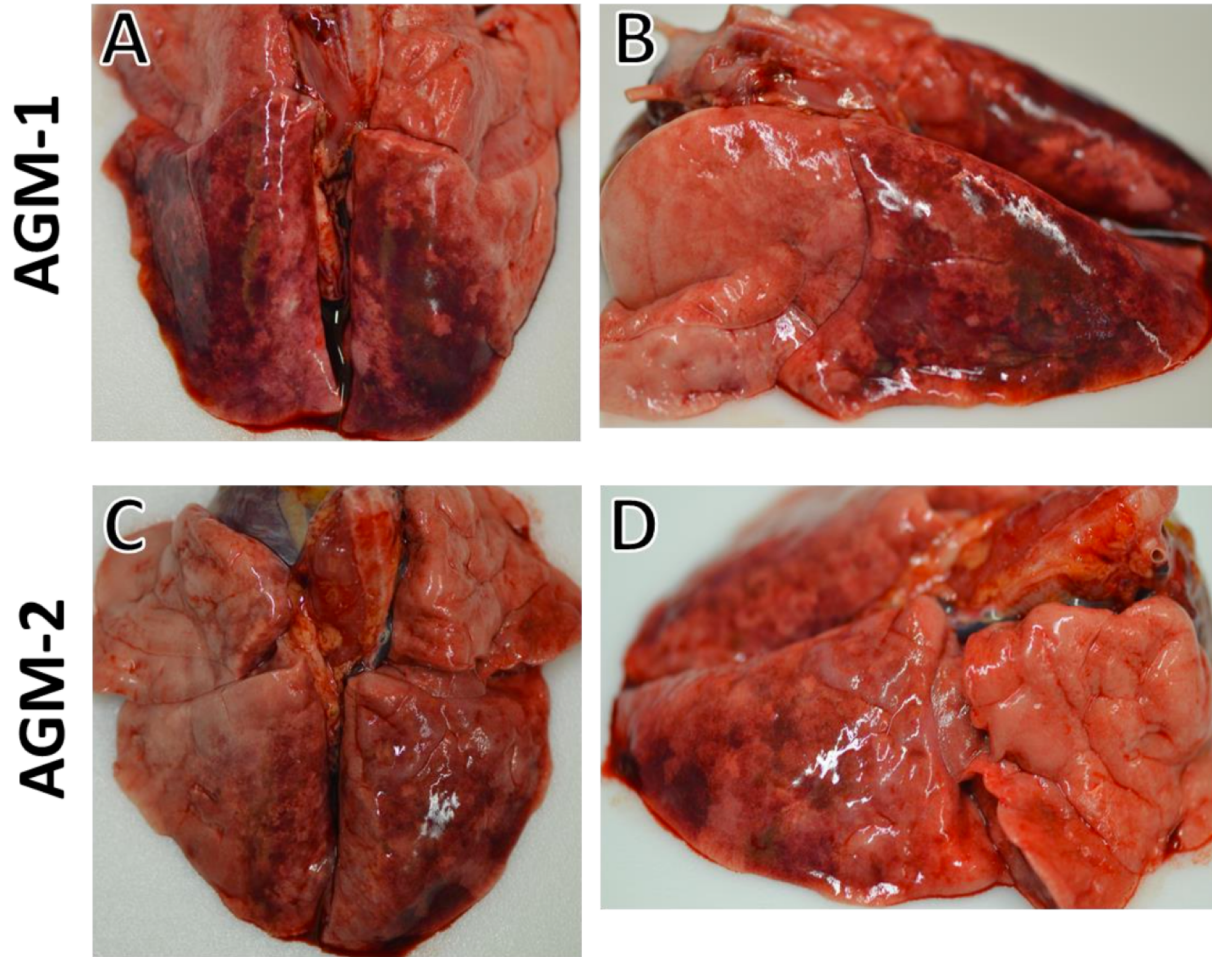
Титр поствакцинальных нАТ (log2)



Вирусная РНК в назофарингеальных мазках



# Модель зеленых мартышек (*Chlorocebus sabaeus*) (1)





# Различия в известных участках связывания ACE2 с RBD SARS-CoV-2 у разных видов млекопитающих

ID S19 Q24 T27 F28 D30 K31\* H34 E35\* E37 D38 Y41 Q42 L45 N53\* M82\* Y83 N90\* N322\* N330 K353\* G354 D355 R357 R393

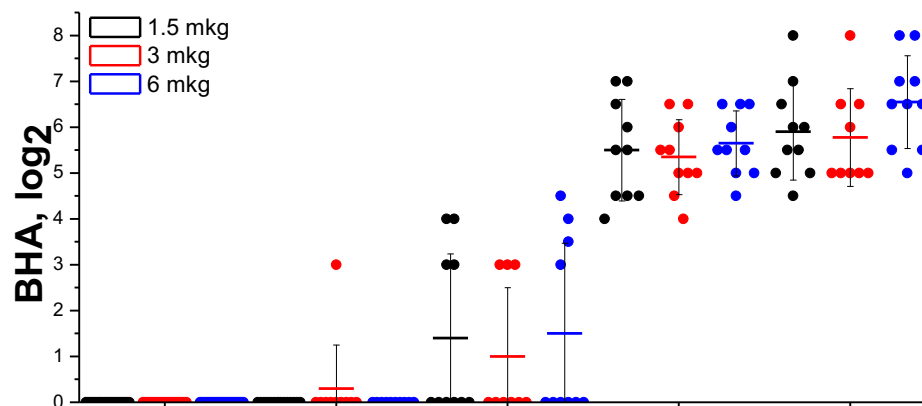
VERY HIGH	
<i>Homo sapiens</i> (Human)	25 . . . . .
<i>Gorilla gorilla gorilla</i> (Western lowland gorilla)	25 . . . . .
<i>Nomascus leucogenys</i> (Northern white-cheeked gibbon)	25 . . . . .
<i>Pongo abelii</i> (Sumatran orangutan)	25 . . . . .
<i>Macaca fascicularis</i> (Crab-eating macaque)	25 . . . . .
<i>Mandrillus leucophaeus</i> (Drill)	25 . . . . .
<i>Nasalis larvatus</i> (Proboscis monkey)	25 . . . . .
<i>Pan paniscus</i> (Bonobo)	25 . . . . .
<i>Pan troglodytes</i> (Chimpanzee)	25 . . . . .
<i>Ptilocolobus tephrosceles</i> (Ugandan red colobus)	25 . . . . .
<i>Pygathrix nemaeus</i> (Red-shanked douc)	25 . . . . .
<i>Rhinopithecus roxellana</i> (Golden snub-nosed monkey)	25 . . . . .
<i>Chlorocebus sabaeus</i> (Green monkey)	25 . . . . .
<i>Erythrocebus patas</i> (Patas monkey)	25 . . . . .
<i>Macaca mulatta</i> (Rhesus macaque)	25 . . . . .
<i>Papio anubis</i> (Olive baboon)	25 . . . . .

ID S19 Q24 T27 F28 D30 K31\* H34 E35\* E37 D38 Y41 Q42 L45 N53\* L79 M82\* Y83 N90\* N322\* N330 K353\* G354 D355 R357 R393

MEDIUM (continued)	
<i>Bos taurus</i> (Cattle)	21 . . . . E . . . . . M T . . Y . . . . .
<i>Bubalus bubalis</i> (Water buffalo)	21 . . . . E . . . . . M T . . Y . . . . .
<i>Callicebus donacophilus</i> (White-eared titi)	21 . . . . . . . . H E . . . . T . . . . . Q . . . .
<i>Callithrix jacchus</i> (Common marmoset)	21 . . . . . . . . H E . . . . T . . . . . Q . . . .

# Оценка иммуногенности вакцин против COVID-19 (1)

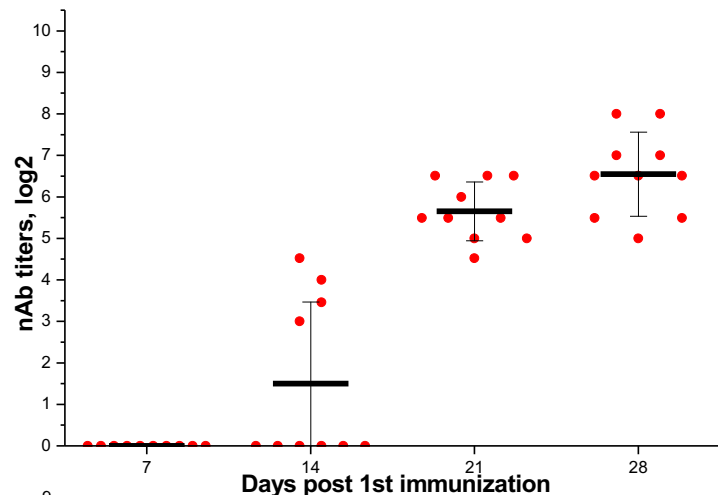
2-кратное введение инактивированной вакцины Ковивак мышам BALB/C (интервал 14 дней).  
Подбор дозы



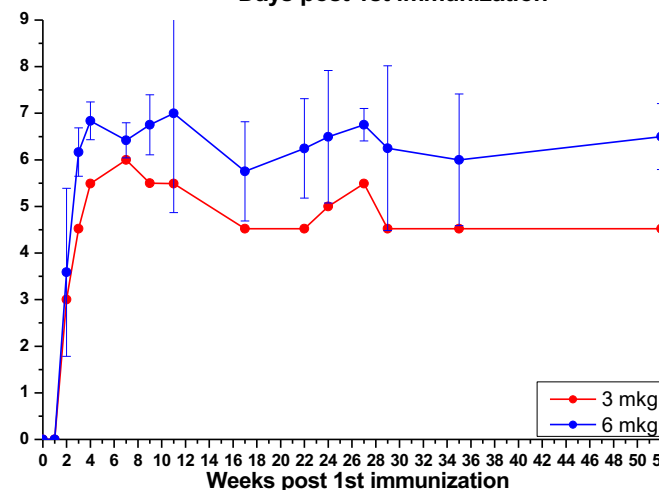
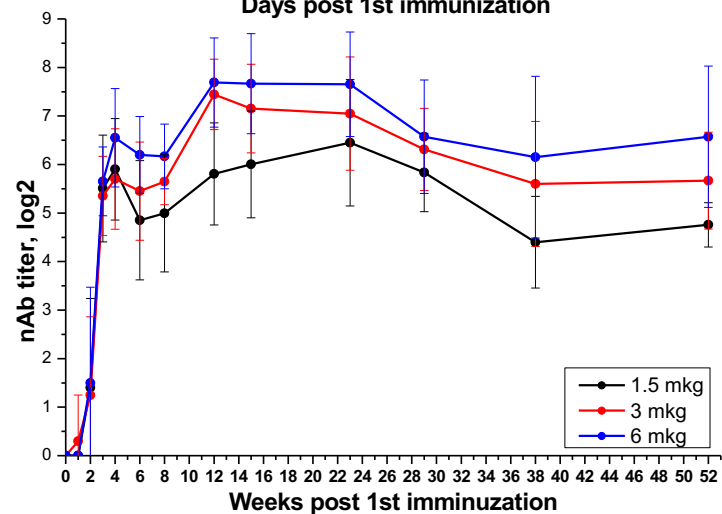
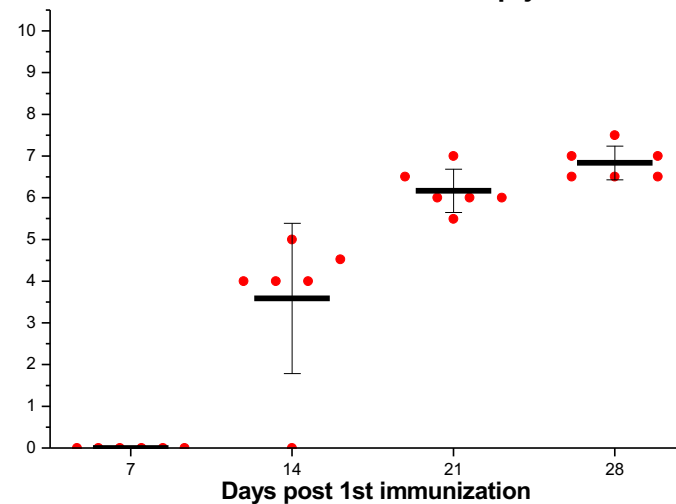
ИФА	Препарат	0	7	14	21	28
RBD	Плацебо	–	–	–	–	–
	1.5 мкг	–	–	–	>1:400	>1:400
	3 мкг	–	–	–	>1:400	>1:400
	6 мкг	–	–	–	>1:400	>1:400
S	Плацебо	–	–	–	–	–
	1.5 мкг	–	–	>1:400	>1:400	>1:400
	3 мкг	–	–	>1:400	>1:400	>1:400
	6 мкг	–	1:200	>1:400	>1:400	>1:400
N	Плацебо	–	–	–	–	–
	1.5 мкг	–	–	–	>1:400	–
	3 мкг	–	–	–	>1:400	1:100
	6 мкг	–	–	–	>1:400	–

# Оценка иммуногенности вакцин против COVID-19 (2)

## Мыши BALB/c



## Обыкновенные игрушки



# Приматная модель для изучения иммуногенности и безопасности вакцин против COVID-19





# Преимущества и недостатки использования игрунок в биомедицинских исследованиях

---

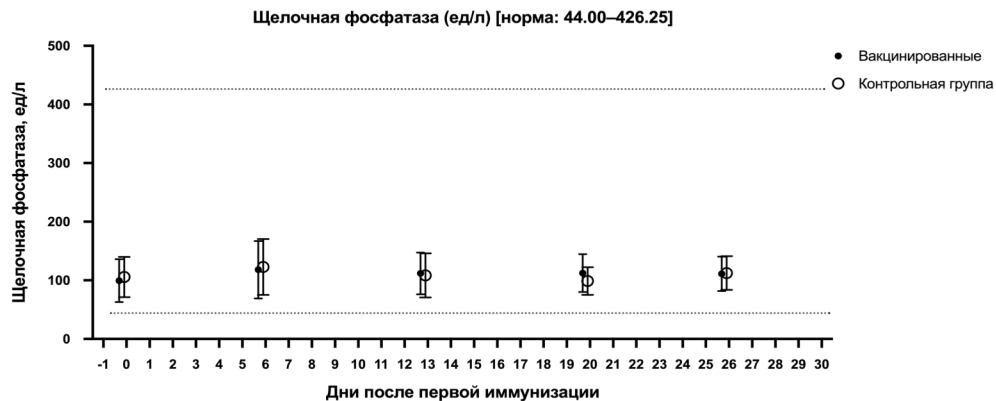
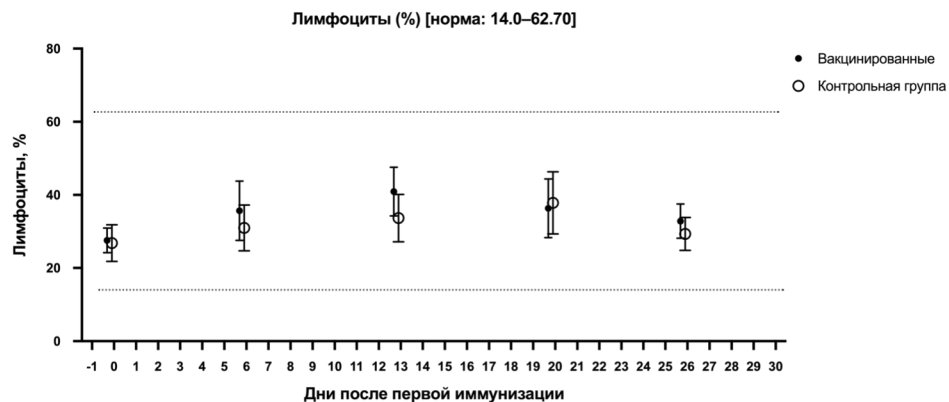
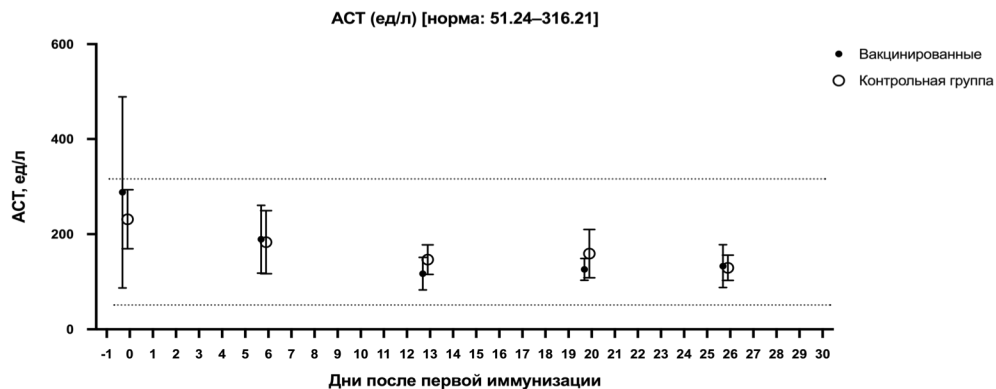
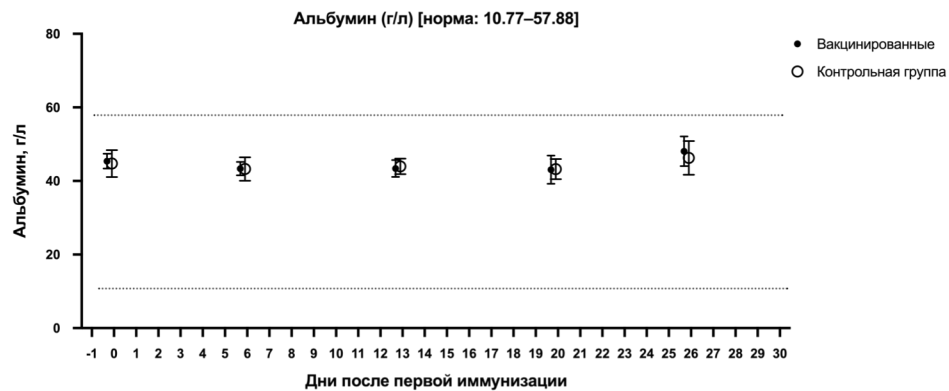
Advantage	
Proximity to humans	Genetics, (neuro) anatomy, immunology, physiology, microbiology.
Biology	Relatively small (300–350 grams) compared with other nonhuman primates (e.g., macaque species), high reproductive efficiency in captivity, lower caging and feeding costs compared with macaques, socially housed.
Conventional housing	Exposure of immune-shaping pathogens from the external milieu (e.g., gut microbionota and environment) and from the internal milieu (e.g., opportunistic infection with herpes viruses such as the marmoset counterparts of Epstein-Barr virus and cytomegalovirus).
Outbred nature	Comparable genetic heterogeneity to the human population. Wild populations are not endangered.
Cross-reactivity	Biological therapeutics developed for human diseases e.g., monoclonal antibodies and cytokines, can be assessed for preclinical evaluation of efficacy, safety, and mechanism of action.
Bone-marrow chimerism	Twins or triplets are immunologically highly similar, and hence can be used in pairs for therapeutics studies. Twin siblings are mutually allotolerant, enabling adoptive transfer of cells between siblings.
Drug development	Cheaper due to small size, 10- to 20-fold less of an experimental drug is needed compared to macaques.

---

Disadvantage	
Costs	Relatively high compared with rodents or other non-rodent species.
Cross-reactivity	Limited availability of diagnostic reagents such as monoclonal antibodies for flow cytometry and immunohistochemistry.
Ethical	Are closer to humans compared with rodents, limited possibilities for experimental manipulations (e.g., transgenic experiments).
Size	Small size, difficult or impossible to perform certain procedures or techniques (e.g., MRI of spinal cord), small volume of blood or organs (e.g., lymph nodes) can be obtained to perform <i>ex vivo</i> experiments.

---

# Использование игрунок для оценки влияния вакцин на гематологические и биохимические показатели крови

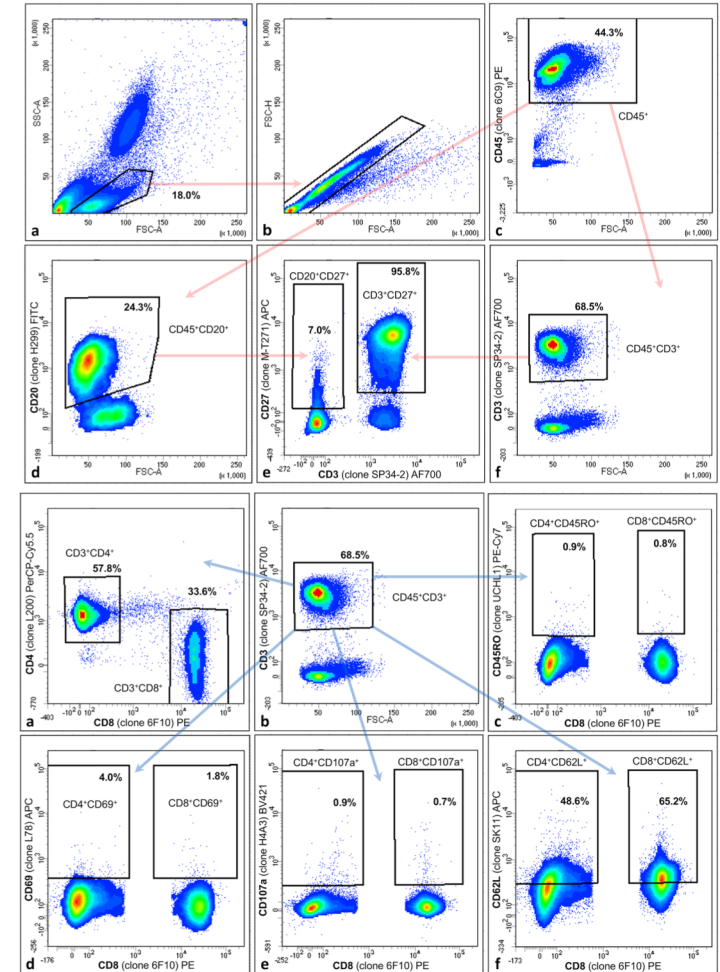


# Использование игрунок для оценки влияния вакцин на общее состояние здоровья

Группы показателей	Состояние животного	Баллы тяжести	Результат наблюдения (проставить балл)
Расположение в вольере	Норма	0	
	Прячется в верхних углах вольера	1	
	Не выходит из домика	3	
Двигательная активность, темперамент	Норма	0	
	Повышенная активность	1	
	Повышенная агрессивность	1	
	Пониженная активность	1	
	Атаксия, неврологические симптомы (тремор, изменение положения головы, стереотипные движения)	5	
	Нежелание двигаться, опора на клетку, сложность в доступе к воде и пище, судороги	10	
Поза	Положение на дне клетки/домика с минимальной реакцией на раздражители, кома	15	
	Норма	0	
	Опора не на все конечности	5	
	Сидит, поджав хвост	2	
Потребление пищи и воды	Травмы конечностей (в зависимости от выраженности)	1–10	
	Норма	0	
	Умеренно сниженное потребление (не потребляет корм между кормлениями)	1	
	Среднее снижение потребления пищи (потребляет менее половины рациона в сутки)	3	
	Полная потеря аппетита	5	
	Умеренное снижение потребления воды (менее 10 мл/сутки)	1	
	Полный отказ от воды	10	
	Умеренное повышение потребления воды (более 20 мл/сутки)	1	
Выраженное повышение потребления воды	4		
Дефекация и мочеиспускание	Норма	0	
	Уменьшение объема фекалий, сухость фекалий, диарея, обесцвеченные фекалии, уменьшение объема мочи и ее обесцвечивание	3	
	Отсутствие фекалий, анурия	8	
	Кровь в фекалиях или моче	10	
Кожа и шерсть	Норма	0	
	Растрепанная шерсть, выпадение шерсти, неухоженный внешний вид	3	
	Сыпь, покраснение, желтушность, петехии, абсцессы, язвы	8	
Нос, рот, глаза, голова	Норма	0	
	Назальные выделения, слюнотечение, слезотечение, покраснение глаз, воспаление ушей	3	
	Потеря зубов, незначительные раны ротовой полости, вправленный вывих нижней челюсти	3	
	Избыточное слюноотделение, слюноотделение со следами крови	2	
Дыхание	Норма	0	
	Учащенное или замедленное дыхание	3	
	Кашель, чихание	8	
	Одышка; свистящее, хрипящее дыхание	8	
	Неритмичное затрудненное дыхание с открытым ртом, цианоз, кашель с кровью	10	
Другие изменения	Описание: _____	1–15	

# Использование обыкновенных игрушек для оценки Т-клеточного ответа на вакцинацию (1)

Parameter	Marmoset ID, parameter %										Total, $M \pm \sigma$ , %
	Female					Male					
	2996	2998	0519	3016	2997	$M \pm \sigma$	2994	4540	4520	$M \pm \sigma$	
Age, months	29	29	23	48	25	30.8 $\pm$ 10.0	30.0	25.0	25.0	26.7 $\pm$ 2.9	29.3 $\pm$ 8.0
*CD45 <sup>+</sup>	67.5	64.5	62.3	43.5	43.2	56.2 $\pm$ 11.9	42.1	44.3	66.6	51.0 $\pm$ 13.6	54.3 $\pm$ 11.8
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>-</sup> CD20 <sup>+</sup>	28.7	32.4	17.7	17.5	20.4	23.3 $\pm$ 6.8	22.3	24.3	18.4	21.7 $\pm$ 3.0	22.7 $\pm$ 5.5
CD45 <sup>+</sup> CD20 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup>	8.3	11.8	5.9	17	7.9	10.2 $\pm$ 4.4	8.9	7.0	4.7	6.9 $\pm$ 2.1	8.9 $\pm$ 3.9
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD20 <sup>-</sup>	62.4	57.6	69.6	74.7	64.4	65.7 $\pm$ 6.6	66.5	68.5	76.9	70.6 $\pm$ 5.5	67.6 $\pm$ 6.3
CD45 <sup>+</sup> CD3 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup>	93.9	93.2	96.2	98.4	93.2	95.0 $\pm$ 2.3	91.8	95.8	94.6	94.1 $\pm$ 2.1	94.6 $\pm$ 2.1
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup>	39.2	32.7	34.4	40	32.9	35.8 $\pm$ 3.5	33.2	33.6	28.5	31.8 $\pm$ 2.8	34.3 $\pm$ 3.7
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD62L <sup>+</sup>	72.7	81.2	89.3	86.7	51.8	76.3 $\pm$ 15.1	76.4	65.2	72.0	71.2 $\pm$ 5.6	74.4 $\pm$ 12.1
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD69 <sup>+</sup>	0.9	1.1	1.6	1.9	0.3	1.2 $\pm$ 0.6	1.2	1.8	1.0	1.3 $\pm$ 0.4	1.2 $\pm$ 0.5
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD45RO <sup>+</sup>	2	2.4	1.8	1.8	0.8	1.8 $\pm$ 0.6	2.0	0.8	0.7	1.2 $\pm$ 0.7	1.8 $\pm$ 0.7
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD107a <sup>+</sup>	0.9	0.5	0.8	0.5	0	0.5 $\pm$ 0.4	0.2	0.7	0.2	0.4 $\pm$ 0.3	0.5 $\pm$ 0.3
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup>	49.9	57.7	51.2	49.7	57.8	53.3 $\pm$ 4.1	55.5	57.8	66.1	59.8 $\pm$ 5.6	55.7 $\pm$ 5.5
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD62L <sup>+</sup>	47.3	56	73.8	66	43	57.2 $\pm$ 12.8	49.1	48.6	47.8	48.5 $\pm$ 0.7	54.0 $\pm$ 10.7
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD69 <sup>+</sup>	1.1	2.3	3.8	4.2	1.7	2.6 $\pm$ 1.3	2.0	4.0	2.7	2.9 $\pm$ 1.0	2.7 $\pm$ 1.2
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD45RO <sup>+</sup>	2	1.7	2.3	2.4	1.1	1.9 $\pm$ 0.5**	1.3	0.9	1.0	1.1 $\pm$ 0.2**	1.6 $\pm$ 0.6
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD107a <sup>+</sup>	1.2	0.6	1.5	0.9	0.2	0.9 $\pm$ 0.5	0.2	0.9	0.4	0.5 $\pm$ 0.4	0.7 $\pm$ 0.5



# Лабораторные животные модели для изучения токсичности вакцин против COVID-19

## Токсическое действие:

- Острая токсичность при однократном введении (мыши и морские свинки)
- Хроническая токсичность при повторном (многократном) введении (мыши и морские свинки)
- Пирогенность (кролики)

## Аллергизирующие свойства:

- Гиперчувствительность немедленного типа (морские свинки) – местная переносимость
- Гиперчувствительность замедленного типа (мыши BALB/c)
- Косвенное сенсibiliзирующее действие вакцины (мыши BALB/c) сенсibiliзация овальбумином, а также определение антител к овальбумину и к вакцинному антигену

## Эмбрио-, фетотоксичность и тератогенное действие (крысы)

## Репродуктивная токсичность (крысы)

# Заключение

- Изучение эффективности и безопасности новых вакцин против COVID-19 требует сочетанного использования нескольких лабораторных животных моделей: малых лабораторных животных и приматов для оценки иммуногенности и безопасности, а также сирийских хомяков, ACE2-трансгенных мышей или макак-резусов для оценки протективности.
- Высокая степень влияния изменчивости вируса SARS-CoV-2 на течение инфекции может потребовать повторной отработки условий экспериментов с лабораторными животными моделями при работе с новыми вариантами вируса.

# ФНЦИРИП им. М.П. Чумакова РАН (Институт полиомиелита)

- Лицензия на работу с ПБА II–IV группы опасности
- Условия для работы с широким спектром лабораторных животных от малых моделей до приматов
- Оснащен для проведения молекулярно-биологических, молекулярно-генетических, вирусологических, иммунологических, гистологических исследований
- Открыт к сотрудничеству

Спасибо потрясающему коллективу!