**模型名称：新型冠状病毒肺炎气管插管途径感染水貂模型**

**英文名称：Mink model for COVID-19 via the intratracheal route**

**申请单位：中国医学科学院医学实验动物研究所**

新型冠状病毒肺炎是2019年席卷全球的病毒性传染病，关系到全球性的健康问题，2020年多个国家病毒可在水貂之间，水貂与其他动物之间，水貂与养殖场人员之间传播，发生变异引发重大危害问题。鉴于突发问题，中国医学科学院医学实验动物研究所迅速开展了新型冠状病毒感染水貂的相关研究工作，并于2023年2月4日向中国实验动物学会动物模型鉴定与评价委员会申请鉴定（受理编号：IN-2023-001），中国实验动物学会动物模型鉴定与评价委员会组织来自国内从事传染病动物模型和基础研究的专家进行了书面评审、会评答辩，并请申请者按照专家们的意见建议进行回复修改，专家们再次核实，最终经实验动物模型鉴定与评价委员会投票通过。现将模型建立和评审结果公示如下：

1. **研究内容简介**
2. **动物模型的建立**
   1. **病毒毒株** 本实验新型冠状病毒SARS-CoV-2/WH-09/human/2020/CHN分离株。
   2. **实验动物** 清洁级，1-2岁龄雄性或雌性，0.8-1.6kg的水貂由中国医学科学院医学实验动物研究所北方中心提供。于中国医学科学院医学实验动物研究所动物生物安全二级实验室（ABSL-3）中进行实验。实验动物的使用严格遵循3R原则，本实验得到了中国医学科学院医学实验动物研究所动物使用和管理委员会的批准（批准号：IACUC-SZQ20001）。
   3. **模型建立**

实验动物分组：分为攻毒1、3、4、6、14天以及阴性对照组。攻毒前及攻毒后第1、3、4、6、14天动物采血，进行血常规、血生化、血清全谱代谢组学检测分析。攻毒后第1、2、3、4、7、8、10、12、14天收集动物鼻、咽和肛门拭子检测病毒载量。分别在攻毒后第1、3、4、6、14天安乐死3只并剖检。阴性对照组不攻毒安乐死并剖检，收集肺部组织并检测病毒载量和组织病理学分析等。该模型的感染方式气管插管。

1. **动物模型的评价与验证**
   1. **新型冠状病毒肺炎气管插管感染水貂临床症状观察**

连续观察并记录1-2岁龄水貂气管插管感染新型冠状病毒14天的临床表现包括动物的体重变化，生活状态观察，对外界刺激的反应能力和死亡率等，并进行临床指标评分。新冠肺炎水貂感染模型，可以观察到呼吸症状，其他临床症状不显著。

* 1. **新型冠状病毒肺炎气管插管感染水貂后的病毒学检测**

感染后分别收集动物的鼻、咽和肛拭子，第1,3,4,6,14天分别安乐死动物收集主要脏器，进行RNA抽提，利用RT-PCR技术，鉴定每组动物脏器中是否含有新型冠状病毒，用以观察分析病毒在水貂体内的分布和各脏器的病毒载量。RT-PCR结果显示，鼻拭子和咽拭子监测到病毒排毒持续10天，在1-2天时分别达到峰值（(7.15 log10 RNA copies/mL 和 6.73 log10 RNA copies/mL），肛拭子监测到病毒排毒持续8天，在6天时达到峰值（3.65 log10 RNA copies/mL），以上数据勾勒出水貂感染病毒后的排毒情况。进一步，可以在各个肺叶（各个肺叶的平均病毒载量水平较高，为5.02 log10 RNA copies/mL），在感染后6天，可以在2/3只水貂的大脑（平均病毒载量3.347 log10 RNA copies/mL）和眼球（平均病毒载量3.56 log10 RNA copies/mL）检测到病毒载量。

* 1. **新型冠状病毒肺炎气管插管感染水貂后的组织病理分析**

通过系统的免疫组织化学染色观察水貂全身各脏器和病毒S蛋白在组织脏器原位的分布和表达，观察到水貂模型不仅感染肺脏，也会感染肺外多脏器。水貂肺组织表现出急性炎症和间质增宽，在疾病发展过程中，4到6dpi病理损伤最严重，主要表现为重度间质性肺炎，肺泡间隔严重增宽，多个肺泡融合，肺泡上皮增生，肺泡腔内有弥漫的渗出液和炎性细胞渗出物以及脱落变性坏死的上皮细胞。

* 1. **新型冠状病毒肺炎气管插管感染水貂后的血清代谢组学分析**

血清定性定量全谱代谢组学表明，水貂在感染后6dpi的变化与临床重型和危重型COVID-19患者极为相似，且这种变化与其组织病理学改变息息相关。特别是代谢途径改变，维生素、脂类、胆固醇、类固醇、氨基酸和蛋白质的消化和吸收异常，肝功能障碍等，表明机体代谢和免疫失调。

1. **评审结果**

鉴于新型冠状病毒肺炎在全球引发的爆发性传染，申报团队采用1-2岁水貂通过气管插管制备了新性冠状病毒感染模型，并从病原学、病理学、分子机制等多方面进行了充分研究。主要创新点为通过气管插管感染的途径模拟了自然感染的方式，在技术上有一定新意。模型制备方法简单易行，评价指标较科学稳定，而且从致病到病毒的扩散、组织分布，再到组织的病理变化和基本表现，大部分和临床的吻合度较好，并在疫苗的研发中有较好的应用前景。实验的生物安全性、伦理方面均符合规范。该模型的建立将为手足口病相关机制、疫苗或药物的研究、评价提供有效的技术手段。申请材料编写规范，科学合理，操作性较强。答辩思路清晰。补充修改后的材料满足相关要求。

依据动物模型的创新性、应用价值和公认程度，专家经过书面评审、会评答辩和修改材料复核等，一致同意通过该模型的鉴定和评价，并建议进⼀步改进模型的部分评价指标，在今后的应用中积累更多的实验数据，更好地完善该模型。最终经实验动物模型鉴定与评价委员会投票通过。按照中国实验动物学会制定的《中国实验动物学会实验动物鉴定与评价管理管理办法（修订稿）》，授予新型冠状病毒肺炎气管插管感染水貂模型为A级动物模型。