

Vaccine developments and pharmacological treatment options against SARS-CoV-2 infection and the control of coronaviruses in domestic animals

Literature review

Gy. Balka¹
 Á. Bálint²
 A. Cságola³
 A. Farsang³
 Á. Jézsele⁴
 I. Kiss³
 Z. Zádori⁴

1. Állatorvostudományi Egyetem,
 Patológiai Tanszék,
 H-1078 Budapest István u. 2.

*e-mail: balka.gyula@univet.hu

2. Nemzeti Élelmiszerlánc-
 biztonsági Hivatal, Állategészségügyi
 Diagnosztikai Igazgatóság,
 Budapest

3. Ceva Phylaxia, Budapest

4. Állatorvostudományi Egyetem,
 Gyógyszertani és Méregtani Tanszék

5. Agrártudományi Kutatóközpont,
 Állatorvostudományi Kutatóintézet,
 Budapest

A háziállatok főbb coronavírusai, és a SARS-CoV-2 elleni vakcinás és gyógyszeres védekezés lehetőségei Irodalmi áttekintés

Balka Gyula^{1*}, Bálint Ádám², Cságola Attila³, Farsang Attila³, Jézsele Ákos⁴, Kiss István³, Zádori Zoltán⁵

ÖSSZEFOGLALÁS

Cikksorozatuk következő részében a szerzők bemutatják a háziállatokban meg-
 betegedést okozó coronavírusokat és az ellenük való vakcinás védekezés lehet-
 ségeit. Részletesen bemutatják a legjelentősebb coronavírus által okozott kór-
 képeket, a csirkék fertőző bronchitise, a macskák fertőző hashártyagyulladás (feline infectious peritonitis, FIP) és a sertések járványos hasmenése elleni vak-
 cinák főbb típusait, a vakcinák által nyújtott védelem lehetőségeit és korlátait. Kitérnek a COVID-19 során gyermekekben megfigyelt Kawasaki-szindróma és FIP granulomatosis formája során megfigyelt érgyulladásos elváltozások hasonlósá-
 gaira, továbbá a fertőzött macrophagok kiemelt szerepére a FIP kórfejlődé-
 sében. Ezt követően bemutatják a SARS-CoV-2 elleni vakcinafejlesztések fő irá-
 nyait, ismertetik az inaktivált, az alegység-, a vektor-, a nukleinsav-, ill. az élő,
 attenuált kórokozót tartalmazó vakcinák általános tulajdonságait és a jelenlegi
 kutatásokat. Végül ismertetik a gyógyszeres kezelések legfőbb célpontjait, a leg-
 jelentősebb fejlesztési irányvonalakat, valamint a jelenleg is kipróbálás alatt álló
 gyógyszereket és az eddig közölt eredményeket.

SUMMARY

In their second review, the authors summarise the knowledge on the most
 important coronaviral diseases of the domestic animals and their respective
 vaccination control strategies. They specify the benefits and limitations of the
 available vaccines in the case of the three most important coronaviral diseases:
 avian infectious bronchitis, feline infectious peritonitis (FIP) and porcine epi-
 demic diarrhea. They describe the similarities between the vasculitis observed in
 the granulomatous form of FIP and in the Kawasaki syndrome that has recently
 been described in children affected by COVID-19. In the next part they show the
 most important ongoing vaccine developments against SARS-CoV-2, the gen-
 eral properties of the inactivated, subunit, vector, nucleic acid, and modified live
 virus based vaccinations and the results published to date regarding the new,
 pandemic coronavirus. In the final part they present the most relevant targets
 of the pharmacological treatments, the most important drug developments and
 the treatment protocols that are being tested and published so far.

Cikksorozatunk előző részében ismertettük a koronavírusról, különös tekintettel a SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) biológiai tulajdonságait, az általa okozott fertőzés, valamint a fertőzés nyomán kialakuló kórkép, a COVID-19 (coronavirus disease 2019) kórfejlődésének legfontosabb elemeit (9). Jelen irodalmi összefoglalóban bemutatjuk az állatorvosi szempontból lényeges koronavírus-fertőzéseket, az azok ellen kifejlesztett vakcinák jellegzetességeit, azok előnyeit és korlátait, továbbá ismertetjük a SARS-CoV-2 elleni legfőbb vakcinafejlesztési törekvéseket, ill. a gyógyszeres védekezés lehetőségeit.

A SARS- és MERS-járványok kapcsán indult vakcinafejlesztések nagyrészt abbamaradtak

A SARS-CoV-2 felbukkanása nem előzmények nélküli a humán populációban. Az elmúlt évtizedekben először a SARS, majd a MERS (middle east respiratory syndrome) megjelenése nagyon jelentős immunológiai és vakcinafejlesztési kutatásokat indított be, azonban miután a két vírus járványszerű terjedését szigorú közigazgatási és járványügyi módszerekkel sikeresen megfékeztek, a törekvések alábbhagytak, és a források elapadása miatt ezek a kutatások nagyrészt abbamaradtak (31). Sajnos mind a mai napig nincs sem engedélyezett vakcina, sem specifikus koronavírus elleni szer ezek ellen a vírusok ellen. A forráshiány azonban csak egyik oka a humán koronavírus-vakcinák hiányának, a másik ok a koronavírusok biológiájában és immunológiai tulajdonságaiban rejlik, ahogy ezt előző közleményünkben részletesen bemutattuk.

Evolúciójuk során a koronavírusokban számos olyan, immunrendszert elkerülő vagy elnyomó funkció fejlődött ki, amelyek gátolják a gazda hatékony immunválaszának kialakulását. Ezek hatékonyságát az állatorvosi gyakorlatban ismert koronavírus-fertőzések is bizonyítják (42). Mielőtt rátérnénk a SARS-CoV-2 elleni vakcinák fejlesztési irányainak taglalására, áttekintjük a legjelentősebb állati koronavírusok elleni vakcinákkal kapcsolatos ismereteket.

A CSIRKÉK FERTŐZŐ BRONCHITISÉNEK VÍRUSA

A csirkék fertőző bronchitise jelentős károkat okoz a világ minden részén

A csirkék fertőző bronchitisét (FB) a múlt század 30-as éveiben ismerték fel az Amerikai Egyesült Államokban, majd a vírus a világ gyakorlatilag minden részén, változatos kórképekben megnyilvánuló, és jelentős gazdasági károkat okozó fertőzések formájában jelent meg. Hazánkban DERZSY és LOMNICZI írták le először az előfordulását 1963-ban (37). A kórokozó a *Gammacoronavirus* nemzetségbe tartozik (61).

A koronavírusokra jellemző nagyarányú mutációknak és rekombinációs eseményeknek köszönhető genetikai változékonyság az FB-vírus különféle – földrajzi elterjedtségükben is különbségeket mutató – geno- és szerotípusainak kialakulásához vezetett, amelyek kórokozóképességükben és szövetotropizmusuk tekintetében is jelentős eltéréseket mutatnak (11, 12, 19). Az egyes szerotípusok által okozott fertőzések csak korlátozott mértékű keresztvédelmet okoznak, ami megnehezíti az immunizáláson alapuló védekezést. Szerencsére ez a keresztvédelem immunológiai értelemben szélesíthető különböző szerotípusú vírusokat tartalmazó – jellemzően a Massachusetts- és a 793B-csoportba tartozó, de akár egyéb típusú – vakcinák megfelelő kombinációjával, ami hatékonyabb védelmet biztosít a vakcináktól eltérő, ún. variáns vírusokkal szemben is (14, 56, 67). Ezt figyelembe véve nem meglepő, hogy az FB ellen fejlesztették ki a legsikeresebb koronavírus elleni vakcinákat napjainkig. A tyúktojásban passzált élő, attenuált vírust tartalmazó vakcinákat a múlt század 50-es éveitől használják sikerrel, majd ezeket követték az inaktivált vakcinák, elsősorban az előbbiektől kiváltott immunválasz fokozása (boosterhatás) céljából, mivel az inaktivált vakcinák önmagukban alkalmazva nem nyújtanak megfelelő védelmet (20). Az FB elleni, egyébként is meglehetősen rövid ideig tartó, vakcinával kiváltott védelmet –

Az egyes FB-szerotípusok által okozott fertőzések csak korlátozott mértékű keresztvédelmet okoznak

**Tojó- és tenyész-
állományokban
többszöri vakcinázással
tartják fenn a védelmet**

elsősorban a tojó- és tenyészállományok esetében – többszöri vakcinázással lehet fenntartani, ill. meghosszabbítani, így a termelt ellenanyagok a maternalis immunitás (szikimmunitás) révén egy rövid ideig védelmet nyújtanak a következő generáció számára is.

Az FB vírusa (FBV) elleni immunválaszban meghatározó, de nem kizárólagos szerepe van a vírus tüske (spike, S) fehérjéjének, amely alapján a szerotípusokat is meghatározzák. A bakulovírusban termelt S1 fehérjealegység neutralizáló ellenanyagválaszt váltott ki a beoltott csirkékben, ugyanakkor az állatok kevesebb mint 50%-a volt védett a homológ FBV-ráfertőzéssel szemben (20). Mindenesetre a baromfi-adenovírusban kifejezett S1 elleni immunválasz már akár 100% védelmet is nyújtott kísérletes körülmények között mind homológ, mind pedig heterológ FBV-ráfertőzéssel szemben (66). Kiderült az is, hogy heterológ S1/S2 kombináció csak részleges klinikai védelmet biztosít rekombináns technológiával előállított vakcina alkalmazása esetén (40). Egy kísérletes S1 és nukleokapszid alegységvakcina szintén biztosított részleges védelmet a homológ FBV-ráfertőzéssel szemben, amelynek mértéke kisebb volt, mint az ebben a rendszerben heterológ H120-vakcina által nyújtott védelem. A nukleokapszid fehérjével való immunizálással is értek el biztató, ugyanakkor ellentmondásos eredményeket is, így az FBV elleni immunválasz pontos mechanizmusa még számos vonatkozásban nem ismert. Az mindenesetre kijelenthető, hogy a szérumszintek nem korrelálnak a védettséggel (20).

Az FB elleni élő és az inaktivált vakcinákat is egyelőre hagyományos gyártási technológiákkal, embrionált tyúktojásban történő szaporítással készítik, amelyeket aztán spray, ivóvíz vagy gél útján juttatnak a madarak szervezetébe. Rekombináns FB-vakcina egyelőre nincs forgalomban.

A koronavírusokra jellemző, előző cikkünkben bemutatott rekombinációs hajlam ellenére sem gyakori a vakcina és vad FB-vírusok közötti rekombinációs események észlelése, bár ilyenek előfordulását leírták már az USA-ban és Ausztráliában is (111, 137). Egy, a *Nidovirales* rend tagjaira potenciálisan általánosan alkalmazható megközelítés, amely a vírusok transzkripció mechanizmusát célozva megszüntetné azok rekombinációs képességét (52), nagyban hozzájárulhatna ennek a kockázati tényezőnek a kiküszöböléséhez is.

A MACSKÁK CORONAVÍRUSA

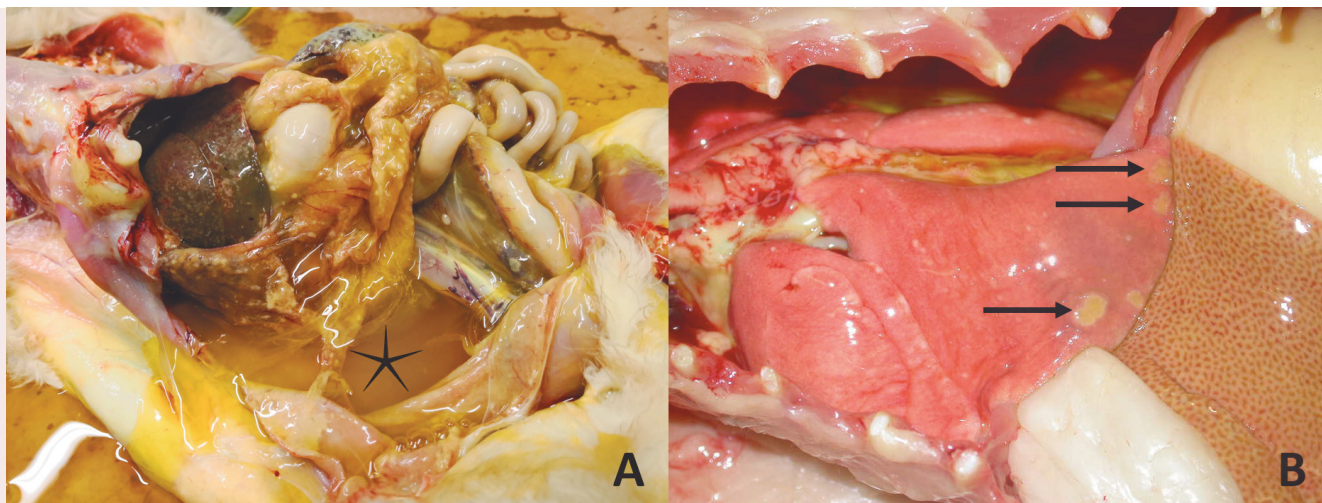
**A FIP-vírus a macska
enteralis coronavirusából
mutáció révén alakul ki
az állat szervezetében**

A macskák fertőző hashártyagyulladását (Feline Infectious Peritonitis, FIP) 1966-ban az Egyesült Államokban írták le először (158). A FIP házi és vadmacskákban egyaránt előfordul, jellemzően a választás előtti, fiatal állatokban, ill. az idős macskákban (2). A megbetegedést a macskák coronavirusa (feline coronavirus, FCoV) okozza (58), ami két biotípus formájában létezik: 1: a macskák enterális coronavirusa (feline enteric coronavirus, FECV), és 2: a macskák fertőző hashártyagyulladásának vírusa (FIPV).

**A mutáció nyomán
képes lesz macro-
phagokat is megfertőzni
és a szervezetben
szétterjedni**

A kórokozó coronavirus két biotípusa genetikailag 99,5%-os hasonlóságot mutat, és antigenitásukat tekintve is megegyeznek. Mai ismereteink szerint a FIPV a FECV-ből az adott állat szervezetében *in situ* mutációk révén alakul ki (102). Vélhetően az elszaporodás helyét és a fellépő mutációk számát is befolyásolja a gazdaszervezet immunválasza. Az egyik ilyen mutáció révén az addig bélcsatornához kötött, és csak enyhe gyomor-, béltüneteket okozó FECV már képes lesz macrophagokban is szaporodni, és a létrejövő FIPV egyrészt szisztémás, az egész szervezetre kiterjedő fertőzést alakít ki, másrészt pont az immunrendszer egyik olyan sejtjét használja szaporodási helyéül, amely a vírusfertőzés leküzdésére lenne hivatott (36). Azt feltételezik, hogy a FIP klinikai megjelenésében is alapvető szerepet tölt be a gazdaszervezet immunválasza. Ha a sejtes immunválasz nem megfelelő hatékonyságú, akkor a vírus okozta elváltozások

gyors kifejlődése mellett az ún. exsudatív (effusive) FIP jelentkezik (1A. ábra), míg erőteljesebb sejtes immunválasz mellett ezek az elváltozások lassabban fejlődnek ki, és inkább a (pyo)granulomaképződéssel kísért (noneffusive) forma jön létre (1B. ábra) (30).



1. ÁBRA. A FIP exsudatív formája (A, DR. SZILASI ANNA felvétele) során jelentős folyadékfelhalmozódás figyelhető meg a savós testüregekben (csillag), míg a betegség elhúzódó formája esetén (B) testszerte pyogranulomák figyelhetők meg a parenchymás szervekben (nyilak)

FIGURE 1. In the effusive form of FIP (A, courtesy of DR. ANNA SZILASI) marked exsudation can be observed in the serous body cavities (asterisk), whereas in the more prolonged, noneffusive form of the disease pyogranulomas can be observed in various organs (arrows)

A vírus szétterjedésével párhuzamosan a sejtes immunitás mellett a humorális immunitás is bekapcsolódik a fertőzés leküzdésébe (100), de amíg más kórokozók esetében neutralizáló ellenanyagok jelennek meg, amelyek képesek a kórokozó eliminálására, addig a FIP vírusa ún. segítő (enhancer) ellenanyagok képződését váltja ki a korábbi cikkünkben ismertetett ellenanyagfüggő fertőzésfokozódás (antibody dependent enhancement, ADE) révén (101). Az enhancer ellenanyagok révén a kórokozó rendellenes immunválaszt indít el, amely – noha minden részletében jelenleg még nem teljesen tisztázott módon – a betegség felerősödésén keresztül a gazdaállat elhullásához vezet.

Az oltóanyagok az esetek nagy többségében a neutralizáló ellenanyagok képződésén keresztül fejtik ki jótékony hatásukat, és mivel a FIP esetében az említettek szerint inkább fertőzésfokozódást előidéző ellenanyagok képződnek, a FIP elleni hatékony oltás kifejlesztése komoly nehézségekbe ütközik. Itt meg kell jegyeznünk, hogy több évtizedes macskacoronavírus-kutatásban eltöltött idő után, a téma néhai kiváló szakértője, PROF. MARIAN HORZINEK (1936–2016) (Utrecht Egyetem, Állatorvostudományi Kar) arra a következtetésre jutott, hogy a FIP ellen nagy valószínűséggel lehetetlen vakcinát kifejleszteni (PROF. HORZINEK szóbeli közlés). Jelenleg a piacon egyetlen FIP-vakcina érhető el, amelyet 16 hetes korban, egészséges állatok 3–4 hetes időközzel való, kétszeri intranasalis oltására ajánl a gyártó. Bár ez a vakcina ártalmatlan, hatékonyságát tekintve sem az Amerikai Macskaszakértői Állatorvosok Szövetsége (AAFP), sem az Európai Macskaegészségügyi Tanácsadói Testület (ABCD) nem ajánlja a termék rutinszerű használatát (1).

A FIP ellen nincs hatékony vakcina

**Számos vakcina-
fejlesztési kísérlet
zárult sikertelenül**

Ennek a cikknek a szerzői maguk is többéves FIP-vakcinafejlesztési tapasztalattal rendelkeznek, amelyek során több különböző fejlesztési irányt vizsgáltak. Először a korábban a FECV-FIPV átalakulásban szerepet játszó ORF3 és ORF7 génszakaszok (36), ill. a vírus nukleokapszid (114) és S (136) génjére készítették ún. DNS-vakcinát. Egy ártalmatlan, hordozó genetikai elembe (plazmid) ültették be a vírusgenom ezen szakaszait, amelyeket a szakirodalom alapján immunogénnek gondoltak.

Az oltóanyaggal BALB/C-egereket oltottak, hogy ellenőrizték az *in vivo* hatást, ami ahhoz nem igazolt elégséges hatékonyságot vissza, hogy további, célállaton (macska) elvégzett kísérlethez lépjenek tovább. Ezt követően a DF-2 FIPV-törzs S proteinjét tartalmazó ún. ISCOM-vakcinajelöltet (Immune Stimulating Complex) (95) készítették el, és vizsgáltak meg SPF-macskákban. Habár itt már célállaton végzett vizsgálatig is eljutottak a vakcinajelöltek, ezek a klinikai vizsgálatok sem vezettek átütő eredményre, de alkalmasak voltak a modell további finomítására. A további vizsgálatokban a BAC mesterséges kromoszómában felszaporítva egy olyan speciális kiméra FIP-víruspárt hoztak létre, amelyekben az eredeti DF-2 „csonka” ORF3 szabályzó régióját egy ún. FCov-szerű kutya-coronavírus (Elmo/02 törzs) intakt ORF3 régiójára cserélték (PBFIPV-DF-2-R3i). Az ezzel a kimérápárral fertőzött speciális sejtvonalakon (CrFK and FCWF-4) az intakt ORF3 régióval rendelkező kiméra kb. 2 nagyságrenddel lassabban szaporodott, ami tovább erősítette az alapkoncepciót, amely szerint az ORF3 régió jelentős szerepet játszik a FIPV macrophag-tropizmusában (57), és megfelelő célpontja lehet a jövőbeli oltóanyag-fejlesztéseknek (8).

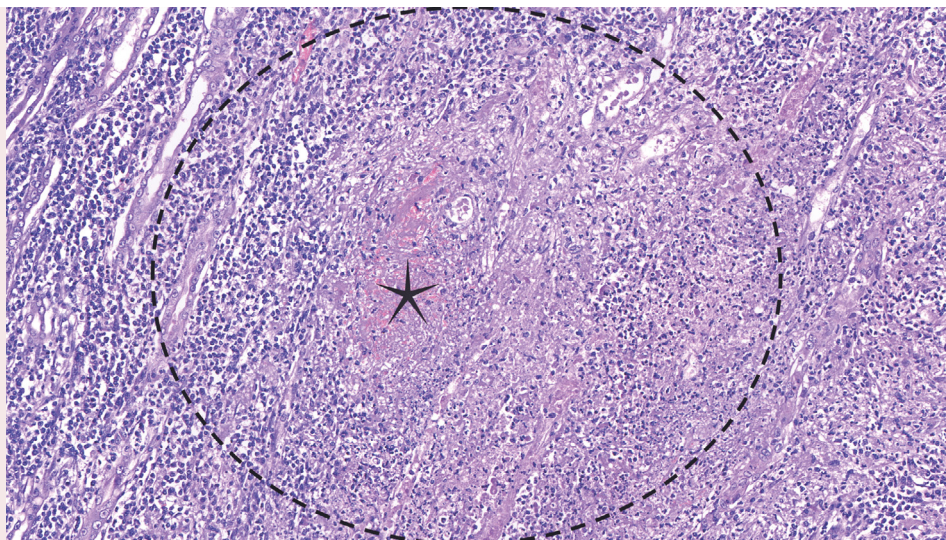
Végül az *in vitro* vizsgálatok után az intakt ORF3 régiót tartalmazó kimérát SPF- és nem SPF-macskákban is vizsgáltuk (6, 7), és amíg a teljes ORF3-mal rendelkező konstrukció ígéretesnek bizonyult az SPF-macskákban, addig nem SPF-állatokban ezt a hatást már nem sikerült bizonyítani.

**A FIP heveny és
elhúzódó formájában
is testszerte jelentkező
érgyulladás figyel-
hető meg**

A FIP nedves, ún. exsudatív formája mögött elégtelen immunválasz áll, ami a kórkép súlyosabb formájához vezet. Itt jelentős mennyiségű gyulladásos izzadásmány felhalmozódása tapasztalható a mell- és hasüregben, esetenként a szívüregben. Ennek a hátterében a testüreget kibélelő savóshártyák és az erek gyulladása áll, amittől azok áteresztőképessége fokozódik, lehetővé téve a fokozott exsudatum-kilépést. A FIP granulomaképződéssel járó formájánál az erősebb sejtes immunválaszból adódóan elhúzódó, idült gyulladás kialakulása a jellemző, ami több szervet is érinthet. Az érintett szervek többnyire a máj és a vese, amelyek működésükben is zavart szenvedhetnek, de gyakran a központi idegrendszerben és a szemben is megfigyelhetők az elváltozások (88) (2. ábra).

2. ÁBRA. A FIP nyomán kialakuló súlyos érgyulladás (csillag) és következményes pyogranuloma-képződés (körvonal) macska veséjében (Dr. SZILASI ANNA esete) H.-E., 150×

FIGURE 2. Severe vasculitis and pyogranuloma formation in the kidney of a cat affected by FIP (slide provided by Dr. ANNA SZILASI)



SPF-macskák vakcinázása és FIP-vírussal való kísérletes ráfertőzése után azt találták, hogy a fertőzés kimenetele összefügg az IFN γ - és a TNF α -válaszok mértékével, amely szerint nagy TNF α /IFN γ -arány a betegség megjelenése, míg ennek fordítottja inkább a védettség irányába mutat (70).

A FIPV okozta elváltozásokról, az azok hátterében álló virológiai és immunológiai folyamatokról, továbbá a fertőzött macrophagok szerepéről már sok mindent tudunk, és ezek ismerete elősegítheti a SARS-CoV-2-fertőzés során fellépő tünetek hátterének jobb megértését, és a mögöttes mechanizmusok további kísérletes vizsgálatához elengedhetetlen null-hipotézisek kialakítását.

Gyermekekben a SARS-CoV-2-fertőzést eddig úgy tekintették, hogy gyakran tünetmentes, enyhe lefolyású megbetegedést, és sokkal inkább az emésztőszervi érintettség révén hányásos, hasmenéses tüneteket okoz (138). Legújabbban azonban az ún. Kawasaki-szindrómára emlékeztető, több szervre kiterjedő gyulladásos kórkép jelent meg a bizonyítottan SARS-CoV-2-fertőzésen átesett gyermekek egy részében (150).

A Kawasaki-szindróma a kis- és közepes méretű vérerek gyulladásával járó, ismeretlen oktanú megbetegedés (113, 150), legfőbb veszélyét azonban a szív érintettsége okozza, a szív minden rétegét érintő gyulladása, ill. a szívkoszorúerek károsodása miatt. Heveny esetekben – hasonlóan a FIP-hez – számos szervet érintő gyulladás figyelhető meg, úgymint szívbelhártya-, szívbillentyű-, aszeptikus jellegű agyhártya-, tüdő-, kötőhártya-, nyirokcsomó- és májgyulladás, macrophagokban gazdag gyulladásos sejtes beszűrődésekkel. Ezek a tünetek nagyon hasonlóak a FIP granulomaképződéssel járó formájánál tapasztaltakkal (47). Noha az érgyulladás oka a Kawasaki-szindróma esetében nem teljesen ismert (90), a FIP során az aktivált macrophagok játszanak fontos szerepet az érgyulladásban (69).

Habár több bizonyítékra van szükség a Kawasaki-szindróma és a SARS-CoV-2 közötti pontosabb összefüggések feltárására, a FIP-es és a súlyos COVID-19-es esetekben tapasztalható egyes hasonló elváltozások felvetik a kérdést, hogy a SARS-CoV-2 képes-e a humán macrophagokban vagy egyéb immunsejtekben szaporodni, és ha igen, milyen körülmények között. Annál is inkább fel kell tenni ezt a kérdést, mivel emberben a macrophagok kifejezik az angiotenzin-konvertáló enzim 2-t (ACE2), a SARS-CoV-2 egyik fő receptorát (68), és a SARS-CoV-t ki is mutatták alveolaris macrophagokban (123). Mindezek abba az irányba mutatnak, hogy a FIP-hez hasonlóan a COVID-19 is az immunrendszer kóros működése nyomán kialakuló betegség, ez pedig alapvetően befolyásolhatja a jövőbeli oltóanyag-fejlesztések sikerének esélyeit.

A KUTYÁK CORONAVÍRUSA

A kutyák coronavírussai (CCoV) közül az emésztőszervi megbetegedést okozó vírust 1971-ben izolálták hadseregben szolgáló kutyák járványos hasmenéses eseteiből. A vírus a macskák coronavírussával, a sertések transzmisszibilis gastroenteritis vírusával, és a sertések légzőszervi coronavírussával együtt az *Alphacoronavirus* 1 fajba tartozik. Genetikai vizsgálatokkal két típusát különböztetik meg a CCoV-I-et és a CCoV-II-t, amelyek leginkább S fehérjéjüket kódoló génszakaszaikban mutatnak különbséget, és ez alapján a I-es típus nagyban hasonlít a macska-coronavírusra (34, 35). 2003-ban, Olaszországban a CCoV-II egyik mutáns változatát, a korábban kizárólag enterális fertőzést okozó kutya-coronavírusoktól eltérően, a fertőzött állatok parenchymás szerveiből is kimutatták, és ezért a korábbi enteropatogén coronavírustól való elkülönítés érdekében „pantropikus” coronavírusrnak nevezték el (canine pantropic coronavirus – CPCoV) (15, 74). Ezek mellett kutyákat fertőz még a *Betacoronavirus* 1 fajba tartozó, légzőszervi megbetegedést okozó coronavirus (canine respiratory coronavirus – CRCoV),

A gyermekekben SARS-CoV-2-fertőzés nyomán esetenként megfigyelhető Kawasaki-szindróma hátterében is érgyulladás áll

A macrophagok szerepe a COVID-19-ben és fogékonyságuk a SARS-CoV-2-fertőzésre még nem tisztázott

A kutyáknak emésztőszervi, légzőszervi és ún. pantropikus coronavírusa is van

**A kutyáknak emésztő-
szervi, légzőszervi és
ún. pantropikus
coronavírusa is van**

amely nagyfokú hasonlóságot mutat a humán OC43-as jelű coronavírussal, ill. a szarvasmarha-coronavírussal (44). A kutyák coronavírusa ellen inaktivált és élő, legyengített kórokozót (modified live virus, MLV) tartalmazó vakcinák is elérhetők a világ több országában. Az inaktivált változatok hatékonysága megkérdőjelezhető, de az MLV-vakcinák alkalmazásával megfelelő védekezést értek el kísérletes ráfertőzést követően (107). Hazánkban jelenleg nem érhetőek el ilyen készítmények.

A SZARVASMARHÁK CORONAVÍRUSAI

A szarvasmarhát fertőző coronavirusok a *Betacoronavirus 1* fajba tartoznak. Jelentős gazdasági károkat képesek előidézni fiatal borjak hasmenéses megbetegedésének, valamint a felnőtt szarvasmarhák ún. téli hasmenésének okozójaként. A légzőszervi fertőzést okozó változatok számos egyéb kórokozó mellett szerepet játszanak a szarvasmarhák légzőszervi tünetegyüttesének kialakításában (13). Több országban, így hazánkban is forgalomban vannak *Escherichia coli* antigének, ill. inaktivált rota- és coronavírust tartalmazó vakcinák, amelyekkel a vemhes teheneket oltják egymás után kétszer a vemhesség utolsó harmadában, a colostrum ellenanyag-tartalmának növelése érdekében (149).

A SERTÉSEK JÁRVÁNYOS HASMENÉSÉNEK VÍRUSA

**A sertések járványos
hasmenése néhány
éve legalább 7 millió
malac halálát okozta
Észak-Amerikában**

A ma sertések járványos hasmenéseként (porcine epidemic diarrhea, PED) ismert megbetegedést első alkalommal Angliában írták le, amikor 1971-ben heveny hasmenéses megbetegedés terjedt el növendék és hízó sertések körében (99). A megbetegedés hamarosan járványos méreteket öltött Európában, ezért a kórképet először elnevezték „epidemic viral diarrhea”-nak, azaz járványos hasmenésnek. Néhány évvel később, 1976-ban újabb járványkitörés történt, amikor már minden korosztály érintett volt, és főleg szopós malacokban okozott komoly veszteségeket (33, 105, 159). A vírus által okozott fertőzést ezt követően a világ számos országából jelentették (18, 21, 32, 135), hazánkban elsőként 1977-ben BENYEDA JÁNOS és mtsai írták le (10). A vírus 2013–2014-ben, nagy valószínűséggel Kínából, fertőzött takarmányösszetevők útján érkezve végigsöpört az USA-n és Kanadán, legalább 7 millió szopós malac halálát és óriási gazdasági károkat okozva (60, 98). Azóta Európa számos országában, többek között Olaszországban, Angliában, Portugáliában, Németországban, Ausztriában, Szlovéniában, Ukrajnában (18, 29, 89, 92, 97, 106, 108, 129, 130) és hazánkban is (147, 148) leírtak a vírus által okozott járványkitöréseket.

A PEDV főleg a vékonybél bolyhainak és kriptáinak hámsejtjeit, valamint kehelysejtjeit fertőzi, de a vastagbél hámsejtjeiben is képes szaporodni (104, 145). Sokáig azt feltételezték, hogy a vírus a sejtek felületén lévő aminosavak N (APN) receptorokon keresztül jut a sejtekbe, de nemrég kiderült, hogy az APN nem receptora a PEDV-nek, de az S protein hasítása révén elősegíti a vírus sejtbe jutását (125).

A PEDV a fogékony sejtek citoplazmájában szaporodik, a bélbolyhok megrövidülését, azok enzimatis és felszívó aktivitásának csökkenését okozva, aminek következtében vízszűrő hasmenés, hányás és kiszáradás alakul ki. A sertés minden életkorban fogékony, de súlyos megbetegedések és elhullás főleg fiatal korban fordul elő; az 1 hetes kor alatti szopós malacokban a mortalitás 50–100%-ot is eléri. A tünetek súlyossága az életkor előrehaladtával jelentősen csökken, idősebb egyedek tünetmentesen is átvészelték a fertőzést (104).

Ezekből az következik, hogy főleg a szopós malacok emésztőcsatornáját kell megvédeni a fertőzés következményeitől, ami a leghatékonyabban a kocákon keresztül a colostrummal, majd tejjel lehetséges. A koca colostrumában és a tejében megjelenő PEDV-specifikus szekréciónak IgA (sIgA) termelődését kell

**A PED 1 hetes kor alatti
szopós malacokban
akár 100%-os elhullást
is okozhat**

*A vakcinás védekezés
célja a colostrum és
a tej IgA-tartalmának
növelése*

indukálni oly módon, hogy a kocát lokálisan, pl. nyálkahártyán keresztül immunizáljuk úgy, ahogy a természetes fertőzés is történik. Ilyenkor ugyanis a nyálkahártya-asszociált nyirokszövetekben az antigénprezentáló sejtek és T-helper sejtek citokinek termelése révén olyan mikrokörnyezetet teremtenek az aktiválódott és fejlődő, PEDV-specifikus B-lymphocyták számára, aminek eredményeként IgA-típusú ellenanyagokat fognak termelni a nyálkahártyában. Az így termelődött IgA a nyálkahártya hámsejtjei által termelt poli-Ig-receptorhoz (plgR, polymeric immunoglobulin receptor vagy más néven szekrécións komponens) kapcsolódva jut ki a nyálkahártya felszínére. Ez a szekrécións komponens védi meg az immunglobulint a nyálkahártyák felszínén lévő emésztőenzimektől. Az aktiválódás helyén (PEDV esetében az emésztőcsatornában) létrejött specifikus lymphocyták (aktiválódott B- és T-sejtek, valamint memóriasejtek) az úgynevezett immunológiai hidak segítségével jutnak el a tejmirigybe, ahol a tejben fog megjelenni a termelt ellenanyag. Amíg a malac elegendő PEDV-specifikus sIgA-t tartalmazó kocatejhez jut, megfelelő védettséget élvez a fertőzéssel szemben. A választást követően a tej ellenanyagai által nyújtott passzív immunitás a bélben megszűnik, és a malac teljes mértékben a saját immunrendszerére lesz utalva. Mivel PEDV esetében a kor előrehaladtával a természetes rezisztencia gyorsan és jelentősen nő, elhullások már nem, vagy csak elvétve fordulnak elő, azonban a fertőzés okozta gazdasági károk jelentősek lehetnek, ami indokoltá teszi a lokálisan történő hatékony vakcinázást.

Kínában inaktivált, monovalens PEDV-vakcinát (84), majd TGEV-vel kombinálva bivalens vakcinát fejlesztettek (25, 85). Tong és mtsai (140) attenuált PEDV-vakcinát állítottak elő, amit később szintén bivalenssé fejlesztettek TGEV hozzáadásával (141). Mind az inaktivált, mind pedig az attenuált vakcina a klasszikus CV777-es PEDV-törzset tartalmazza. Ezeket a vakcinákat 2010 előtt széles körben alkalmazták a kínai sertésállományokban, és nagyon fontos szerepet játszottak a PEDV- és TGEV-fertőzések okozta károk csökkentésében. A hatékonyságukat illetően pontos információk nem érhetők el. A Kínában 2010-ben megjelent, magas patogenitású PEDV-törzsekkel kapcsolatban végzett vizsgálatok során kiderült, hogy ezekkel szemben az addig alkalmazott vakcinázási módszerek nem voltak kellően hatékonyak (154, 155), tehát a PEDV esetében a hatékony védekezést a vírus nagyfokú változékonysága is nehezíti.

Japánban 1997 óta használják im. adva a klasszikus 83P-5-törzsön alapuló, kereskedelmi forgalomban levő PEDV-vakcinát (117). A magas patogenitású PEDV-vel való ráfertőzést követően minden malacban súlyos, vízszerű hasmenés alakult ki, azonban a vakcinázott kocák malacainak 80%-a túlélte a ráfertőzést, míg a nem vakcinázott kocák malacai közül az összes elpusztult (116). Koreában a KPEDV-9-törzsön (73) vagy a DR13-törzsön alapuló (128) attenuált vakcinákat 1999-ben, ill. 2004-ben hozták forgalomba. A DR13 attenuált PEDV-törzset szájon át alkalmazva a colostrumban lényegesen nagyobb sIgA-mennyiség volt kimutatható, mint az im. immunizált csoportban. Az elhullás az orálisan immunizált kocák malacai esetében 13%, az im. immunizált kocák malacaiban 60%, míg a nem vakcinázott kontroll csoportba tartozó kocák malacai között 100% volt (128). Annak ellenére, hogy a szájon át vakcinázott kocákból származó malacok elhullási aránya kisebb volt, a vírusürítés időtartama és a hasmenés súlyossága nem csökkent a kontroll kocáktól származó malacokhoz képest. Az eredmények alapján úgy tűnik, hogy nem minden vakcinázott kocában alakul ki védő, laktogén immunitás (127). Az ázsiai vakcinák hatékonyságát és ártalmatlanságát azonban számos tanulmány megkérdőjelezi (5, 127, 133, 139).

Az Amerikai Egyesült Államokban az első PEDV-vakcinát 2013-ban engedélyezték feltételesen (51). Ez az oltóanyag alphavírus-vektoron alapuló RNS-vakcina (SirraVaxSM RNA Particle Technology platform, 93, 51), és a PEDV S fehérjéjének

csak a protektivitás szempontjából fontos részét tartalmazza. A vakcina második generációs változatával, amely a Sgén hosszabb darabját tartalmazza, a kocákat 4 hetes időközzel kétszer vakcinázták, majd malacaikat kb. 5 napos korban fertőzték a PEDV Colorado/2013 vírustörzsszel. A vakcinázott kocák malacaiban az elhullás aránya 20%, míg a nem vakcinázott kocák malacaiban 82% volt (26, 51).

A PEDV-vakcina, amelyet 2014-ben hoztak kereskedelmi forgalomba az USA-ban, adjuvánssal kevert, inaktivált, teljes PEDV-et tartalmaz. A hatékonysági vizsgálathoz, a kocákat telepi körülmények között, fialás előtt 5 és 2 héttel vakcinázták. A kontroll csoportban a választás előtti mortalitás 6,3% volt, míg a vakcinázott csoportban az elhullás 0,6%-ra csökkent (51, 112).

MAKADIYA és mtsai a PEDV S fehérje S1-doménjét állították elő HEK-293 T-sejtvonalon. Ezzel az alegységvakcinával háromszor oltottak kocákat, majd a malacaikat 4 napos korban fertőzték PEDV-vel. A ráfertőzés után a vakcinázott kocák malacaiban enyhébb tünetek alakultak ki, és a mortalitás is szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a kontroll csoportban. A vakcinának a szerzők szerint elhanyagolható hatása volt a hasmenés megelőzésére, a PEDV által okozott testtömegcsökkenés megakadályozására, de részleges védelmet adott a klinikai tünetek súlyossága szempontjából, valamint jelentősen csökkentette a mortalitást (87).

A szisztémásan alkalmazott vakcinák nem képesek a kocák IgA-tartalmának megnövelésére

Az említettekből kitűnik, hogy hatékony oltóanyag előállítása a PEDV-vel szemben meglehetősen nehéz feladat. Az im. (szisztémás alkalmazási mód) alkalmazott vakcinák antigénjeit az antigénprezentáló sejtek a regionális nyirokcsomókba szállítják, ahol olyan mikrokörnyezetet teremtenek az aktiválódó B- és T-sejtek számára, aminek hatására a plazmasejtek IgG-típusú ellenanyagot fognak termelni. Az IgG hatékony szisztémás védelmet tud biztosítani, de nem jut ki a nyálkahártyák felszínére. Mivel a szisztémás immunizálás során nem, vagy csak kis mennyiségű szekréción IgA-típusú ellenanyag termelődik így a bél-nyálkahártya felszíne védtelen marad a PEDV-fertőzéstől.

A SARS-COV-2 ELLENI VAKCINAFEJLESZTÉSEK

INAKTIVÁLT VÍRUSVAKCINÁK

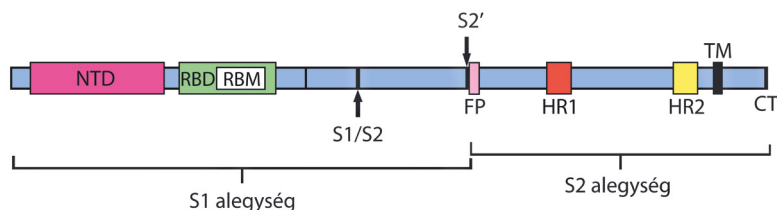
Noha a szövettenyészetben előállított, és kémiaiilag inaktivált vírusokat tartalmazó vakcinákat viszonylag könnyű előállítani és sok vírus esetében ezek nagyon hatékonyak is, az így készült humán és állati koronavírúsvakcinák hatékonysága és ártalmatlansága (nem csak az elégtelen inaktiválással járó hibalehetőség miatt) sok esetben problémásnak bizonyult. Inaktivált, sertés-coronavírus elleni vakcinák csak részleges védelmet adnak még homológ törzsek ellen is, és habár a veszteségeket csökkentik, a vírus ürítését nem akadályozzák meg (169). Inaktivált vakcinák egyes koronavírúsvakcinák esetében akár (pl. SARS és FIP) ADE-t is okozhatnak (lásd korábban) (6, 63). Egérmodellben SARS- és MERS-vírus esetében is inaktivált vírussal történő oltás és ráfertőzés után az inaktiválás és az adjuválás módjától függetlenül eosinophiliát figyeltek meg, amelynek fő kiváltó okát a SARS esetében a vírus nukleokapszidjában azonosították. Mindkét vírus esetében TLR- (toll like receptor) agonisták (CpG, poly(U), poly(I)/C) polinukleotidok vagy lipopoliszaharid, adjuvánsként való alkalmazása csökkentette az inaktivált vírussal kapcsolatos káros mellékhatásokat (118, 143).

Mindezeket figyelembe véve kijelenthetjük, hogy nagy valószínűséggel nem inaktivált vakcina alkalmazása fogja megoldani a SARS-CoV-2-járványt, habár jelenleg hét bejelentett kísérlet is folyik különböző inaktivált vírustartalmú készítményekkel – többségük Kínában –, és ezek közül három már korai (I/II) klinikai fázisba érkezett (<https://milkeninstitute.org/covid-19-tracker>).

ALEGYSÉGVACINÁK

Noha néhány, rágcsálómodellben végzett vakcinázási kísérlet arra utal, hogy a teljes S fehérje jó alapot szolgáltathat egy alegységvakcina fejlesztéséhez, más vizsgálatok óvatosságra intenek.

Egyes kísérletek alapján úgy tűnik, hogy a SARS-CoV esetében a teljes hosszúságú S fehérje számos nem neutralizáló immundomináns epitópot tartalmaz (csali vagy decoy antigén) (3. ábra), amelyek jelenléte rossz irányba téríti el az immunválaszt, és/vagy nem jelennek meg a neutralizáló epitópokra specifikus ellenanyagok, vagy ami még ennél is rosszabb, ADE-t indukálhatnak (63, 64).



3. ÁBRA. Az S fehérje főbb szerkezeti elemeinek elhelyezkedése a fehérjeláncon

S1: receptor kötő alegység; S2: fúziós alegység; NTD: N-terminális domén; RBD: receptor-kötő domén; RBM: receptorkötő motívum; S1/S2: furinhasítóhely; S2': TMPRSS2-hasítóhely; FP: fúziós peptid; HR1: heptádismétlődés 1; HR2: heptádismétlődés 2; TM: transzmembrán régió; CT: citoplazmatikus farok

FIGURE 3. Schematic representation of the SARS-CoV-2 spike protein

S1: attachment subunit; S2: fusion subunit; NTD: N-terminal domain; RBD: receptor-binding domain; RBM: receptor-binding motif; S1/S2: furin cutting site; S2': TMPRSS2 cutting site; FP: fusion peptide; HR1 and 2: heptad repeat 1 and 2; TM: transmembrane domain; CT: cytoplasmic tail

Az alegységvakcinák a vírus S fehérjét, ill. annak a receptorkötésben szerepet játszó szakaszait tartalmazzák

Az eddigi vizsgálatok MERS- és SARS-CoV-val azt bizonyítják, hogy leginkább a receptorkötésben közvetlenül érintett S fehérje egyes szakaszai, különösen az RBD (receptor binding domain, receptorkötő domén) és az RBM (receptor binding motif, receptorkötő motívum) lehetnek alkalmas jelöltek egy biztonságos alegységvakcina fejlesztéséhez, amelynek használatakor nem fenyeget az ADE-jelenség. Rekombináns MERS-CoV S fehérjén alapuló vakcinajelöltek közül az RBD részleges hatékonyságot mutatott makákóban MERS-CoV-ráfertőzés során, csökkentve a tüdőgyulladást és a vírustitert is (75), míg a receptorkötő motívum (RBM) (377–588) teljes védelmet adott a vírus ellen humán DPP4-receptort expresszáló transzgénikus egerekben (39). Egy, a napokban előzetesen közzétett, még nem lektorált (preprint) tanulmány igazolni látszik az RBM protektív képességét a SARS-CoV-2 esetében is, rágcsálómodellben. Mi több, a vizsgálatok itt sem tudtak kimutatni ADE-t az immunizált állatok szérumát vizsgálva (110).

Természetesen a coronavírusok elleni alegységvakcinák hatékonyságát és biztonságát döntően befolyásolja a vakcina alapját képző fehérje megfelelő megjelenítése az immunrendszer felé. Egy kísérletsorozatban az RBD-domén az IgG Fc-doménjéhez fúzionáltatva hatékonyabb antigénnek bizonyult, mint egyedül alkalmazva, valószínűleg azért, mert az Fc-domén elősegíti az antigén antigénprezentáló sejtekhez való kötődését. Ugyanez az antigén intranasalisán alkalmazva hatékonyabb nyálkahártya-immunválaszt váltott ki egerekben, mint az sc. injekció. Összehasonlító vizsgálatok azt mutatták, hogy míg a humorális immunválasz nem különbözött szignifikánsan, az intranasalis beadási mód sokkal erősebb, és inkább sejtes jellegű immunválaszt, valamint hosszabban tartó helyi nyálkahártya-immunitást indukált az egerek tüdejében, mint az sc. injekció (83).

**A vektorvakcinákban
más vírusokba építve
fejeztetik ki a SARS-
CoV-2 S fehérjét, vagy
annak egy részét**

VEKTORVAKCINÁK

Elvileg bármely élő, attenuált vírus, amely képes hatékony vakcinaként szolgálni saját virulens változata ellen, alkalmas lehet coronavírus elleni vektorvakcina fejlesztésére is. Az eddig bejelentett közel 30 vektorvakcina-fejlesztési kísérletben többek között poxvírust, adenovírust, kanyaróvírust, togavírust, sőt influenzavírust is kipróbálnak, mint vektorplatformot SARS-CoV-2-fertőzés ellen. Legtöbbször ezekben is az S fehérjét vagy annak egy doménjét (RBD) fejeztetik ki mint protektív antigént, de a vírus több fehérjéjéből származó elméleti (*in silico*, 45) és/vagy kísérletes úton szelektált, kombinált T- és B-lymphocytá-epitópok expressziójával is próbálkoznak (45).

A vektorok közül kettőt érdemes kiemelni. Az első az ún. ChAdOx1: április hónapban ChAdOx1-expresszált SARS-CoV-2 S fehérjével indultak az első humán klinikai kísérletek az Egyesült Királyságban. A ChAdOx1 egy élő szervezetben nem replikálódó majom-adenovíruson alapuló platform, amit eredetileg génterápiás vektornak fejlesztettek, azonban hamar kiderült, hogy ahhoz az alkalmazáshoz túlságosan immunogén. A vektor minden olyan emlőssejtet képes megfertőzni, amely hordozza a coxsackie- és adenovírus-receptort (CAR). A szülői adenovírusból kitörölték az E1 szabályozó fehérje génjét, amelynek helyére beépíthető a kifejezni kívánt antigénfehérje génje. A rekombináns vírus szaporodásához a szövettenyésztet sejtjeibe transzfektálva, így azok által termelve szolgáltatják az E1 fehérjét. Mivel az E1 nélkülözhetetlen a vírus produktív szaporodásához, de a génje nincs jelen a szövettenyésztetben képződött vírusrészecskékben, ezek állatba vagy emberbe oltva, és ott a célsejtekbe jutva nem képesek szaporodni. A megfelelő promóterrel rendelkező transzgén leíródása azonban aktiválja a gazda sejt és humorális immunrendszerét is. A MERS S fehérjét expresszált vektort viszonylagos sikerrel tesztelték tevékben a vírus ellen. A vakcinázás csökkentette a vírusürítést és a fertőzés tüneteit idősebb állatokban. A fiatalabb, előzetesen szeronegatív tevék azonban sokkal gyengébben reagáltak az oltásra, mint az idősebb állatok (3). Humán egyes fázisú kísérletben a vakcina nagy adagban is biztonságosnak bizonyult: T-sejt immunválasz volt kimutatható az összes oltott résztvevőben, míg szerológiai áthangolódás történt a 90%-ukban. Egy-szeri oltás után azonban még a legnagyobb dózist kapott csoport tagjainak is kevesebb mint felében (4/9) jelentek meg neutralizáló ellenanyagok (46).

A másik vektor a módosított Ankara vakcina vírus (MVA), amelyet csirkefibroblaszthoz adaptáltak, ezért emlőssejtbe jutva képtelen produktív szaporodásra. Ennek ellenére számos, a vektorban expresszált transzgén (pl. influenza HA, *M. tuberculosis* 85A) erősen immunnogénnek és protektívnek bizonyult emlősökben végzett klinikai kísérletekben (152). A MERS S fehérjét expresszált vektor tevékben nyálkahártya-immunitást indukált, és szignifikánsan csökkentette a MERS-vírus ürítését a ráfertőzött állatokban (55). Az első humán kísérletek mérsékelt eredményt hoztak. A vakcina biztonságosnak tűnik, azonban neutralizáló ellenanyagok csak a kísérletben résztvevők 48%-ában voltak kimutathatóak, és bennük is gyors csökkenés volt tapasztalható két héttel a második oltás után (71).

NUKLEINSAV-VAKCINÁK

A nukleinsav-vakcinák lényegében hasonló elven működnek mint a vektorvakcinák, tehát a vírus fehérjeit vagy protektív epitópjait fejeztetik ki, csak nem vírusok, hanem „meztelen” RNS- vagy DNS-konstrukciók segítségével. A kilencvenes években nagy reményekkel indult a DNS-vakcinák fejlesztése rágcsálókban, azonban ezidáig nem sikerült a technológiát adaptálni nagyobb testű emlősökre. A ma forgalomban lévő engedélyezett, és valóban hatékony DNS-vakcinák a pisztrángokat és lazacokat megbetegítő járványos vérképzőszervi elhalás vírusa és a lazacok 3-as alphavírusa (salmonid alphavirus-3) ellen készültek (27). A jelenlegi legnagyobb nehézséget emlősökben

**A teljes S fehérjét
kifejező RNS-vakcina
emberi kipróbálásával
kapcsolatban egyelőre
nagyon biztatóak az
eredmények**

a nukleinsav hatékony bejuttatása jelenti a célsejtekbe, amely vagy elektroporációval, vagy pozitív töltésű lipidekkel, ill. szintetikus polimerekkel történik. Nagy hatékonyságú DNS-bejuttatás ugyanakkor oltásbiztonsági problémákat is eredményezhet (inzerációs mutagenézis miatti daganatképződés). Ennek ellenére a SARS-CoV-2 újra lendületet adott a nukleinsavalapú vakcinafejlesztésnek (több mint 20 projekt) (16), és az angol kormány kiemelten támogat egy ilyen programot, amelynél a klinikai kísérletek kezdetét júniusra ígérik. A vakcinajelölt egy önreplikálódó RNS- (self-amplifying RNA [sa-RNS]) platformon alapul, amelyik a teljes S fehérjét expresszálja. Az saRNS előnye, hogy a sejtbe jutva a transzgén (ebben az esetben S fehérje) átírása mellett replikálódni is képes, mivel hordoz egy alfavírus-eredetű replikázgént. A replikációs képesség miatt sokkal nagyobb transzgén-kifejeződés érhető el saRNS-sel, mint nem replikálódó RNS-sel. Influenza-hemagglutininnal végzett összehasonlító vizsgálatok szerint a nem replikálódó RNS-konstrukcióhoz képest (80 µg) 64-szer kevesebb (1,25 µg) saRNS-t kellett egerekbe oltani, hogy teljes védelmet adjon influenzavírus-ráfertőzés ellen (151). Az RNS-alapú vakcináknál nem kell tartani inzerációs mutagenézistől, és mivel *in vitro* rendszerben enzimatikusan szintetizálódnak, ezért a mikrobiális szennyeződés veszélye is elhanyagolható.

A napokban tették közzé az első, nem replikálódó RNS-sel (mRNA-1273) végzett 1-es fázisú, még nem befejezett klinikai kísérlet első eredményeit, amelyek nagyon biztatónak tűnnek. A három adagban (25 µg, 100 µg, 250 µg) kétszeri oltással (1. és 29. nap) im. beadott, lipid-nanopartikulumba csomagolt, SARS-CoV-2 S proteint kódoló mRNS két héttel a második oltás után ugyanolyan szintű anti-S-ellenanyagszintet váltott ki a 25 µg dózist kapott páciensekben, mint amelyet konvaleszens fázisú (a betegségből felgyógyult) betegek szérummintáiból lehet mérni. Az ebben az időpontban mért, 100 µg-t kapott kísérleti alanyok ($n = 15$) anti-S-ellenanyagszintje szignifikánsan meghaladta ezeket az értékeket. Mindkét csoportból 4–4 résztvevő neutralizálóellenanyag-szintjét is megmérték *in vitro* plakkredukciós módszerrel. Ezek az értékek is megegyeztek vagy meghaladták a konvaleszens fázisú szérumokból mért értékeket. A kísérletben eddig a vakcinázások során általánosan előforduló bőrpíron kívül más aggodalomra okot adó mellékhatást nem tapasztaltak. (<https://investors.modernatx.com/news-releases/news-release-details/moderna-announces-positive-interim-phase-1-data-its-mrna-vaccine>).

ÉLŐ, LEGYENGÍTETT VÍRUST TARTALMAZÓ VAKCINÁK

A leggyorsabb eredmények egy új kórokozó elleni vakcinafejlesztés során alegység-vakcinákkal, teljes, inaktivált vírusokkal vagy vírusvektoron alapuló vakcinák létrehozásával érhetőek el. Azonban az ilyen vakcinák sok esetben elégtelennek bizonyulnak a coronavírus-fertőzések megfékezésére, mivel általában gyenge sejtes és nyálkahártya-immunitást indukálnak, a hatásukra létrejövő neutralizáló ellenanyagok pedig viszonylag rövid életűek, néha pedig kóros reakciókat, pl. eoshinophiliát válthatnak ki.

Ezzel ellentétben az élő, legyengített (attenuált) vírust (modified live virus, MLV) tartalmazó vakcinák általában immunogénebbek, mint a nem replikálódó vírustörzseket tartalmazó vakcinák. Ennek oka, hogy képesek megjeleníteni a majdnem teljes natív virális antigén-repertoárt, és ezeket az antigéneket a természetes fertőzéshez nagyon hasonló módon mutatják be az immunrendszernek.

A humán coronavírusok több nsp-jéről (nsp1 [interferon antagonist], nsp3 [egyik doménja ADP-ribóz-1-foszfátáz enzim] és nsp16 [ribóz 2-O-metiltranszferáz]), és járulékos fehérjeiről (pl. SARS 3a) tudják, hogy mutációjuk attenuációval jár, és a mutánsok valószínűleg felhasználhatók MLV-vakcinák előállítására (42, 43).

A legnagyobb probléma az ilyen vakcinákkal, hogy a természetes úton (szövettenyésztési passzálassal) készült MLV-k akár több pontmutációt hordozva is

**Az élő, legyengített
vírustörzsek eseté-
ben fennáll a kórokozó
képesség visszanyeré-
sének esélye**

viszonylag nagy eséllyel revertálódhatnak (visszaalakulhatnak) virulens vírussá. Ami a coronavirusok esetében különösen aggasztó, hogy coronavirus-MLV-k bizonyítottan képesek a szövettenyészetben való passzálásuk során vagy akár *in vivo* olyan mutációkat összeszedni, amelyek pótolják az attenuáció során delécióval kiejtett virulenciafaktorok funkcióját (konverzió). Az E gén coronavirusokban egy olyan, ún. viroporin kódol, amelynek funkciója az intracelluláris kalciumion-koncentráció vírusreplikáció szempontjából kedvező szabályozása a fertőzés során. SARS és MERS vírusokban ez egy virulenciafaktor, a kalciumcsatorna aktivitásának nagy szerepe van az inflammaszómák aktiválódásában és az ehhez kapcsolódó súlyos gyulladás kiváltásában a tüdőparenchymában. Az ioncsatorna-aktivitás pontmutációval vagy delécióval való megszüntetése attenuálja a SARS-vírust. Az E fehérje azonban a karboxi-végén hordoz még egy másik funkcionális domént is, az ún. PBM-et (PDZ binding motif, PDZ-kötő motívum), amely elméletileg legalább 400 olyan sejtfehérjéhez képes kapcsolódni, amelyek rendelkeznek PDZ-doménnel. Ennek a doménnek az eltávolítása vagy megváltoztatása a kalciumcsatorna-aktivitástól függetlenül szintén attenuálja a vírust. Az E fehérjétől megfosztott vírussal végzett kísérletek részleges vagy majdnem teljes védelmet nyújtottak egérmodellben virulens SARS-CoV-ráfertőzés ellen. Azonban az E-deletált vírus sem szövettenyészetben, sem egerekben passzálva nem bizonyult stabilnak. A passzálások során több olyan változat jelent meg, amelyek visszanyerték virulenciájukat. A különböző konvertáns változatok szekvenálásával PBM-doméneket találtak két olyan vírusfehérjében (M és 8a) is, ahol azok eredetileg nem is fordultak elő (65).

Ez a példa nem jelenti azt, hogy minden deletált funkció helyreállítható coronavirusokban, de felhívja a figyelmet arra, hogy nagyon körültekintő vizsgálatokat kell végezni, mielőtt MLV-coronavirusokkal vakcináznánk embereket. A reverzió és konverzió esélye több funkciót érintő célzott mutációk alkalmazásával csökkenthető, azonban ezek halmozása olyan titercsökkenést eredményezhet, ami megakadályozza, hogy vakcinaként egyáltalán számításba vegyék a mutánst, vagy pedig az immunogenitás csökkenéséhez vezetnek. Természetesen minden előállított mutáns egyedi immunológiai és biztonsági vizsgálatot igényel, ami idő- és pénzigényes. Nem véletlen, hogy jelenleg csak két, kodon-deoptimalizáción alapuló kutatási stádiumban levő MLV fejlesztése folyik a SARS-CoV-2 ellen (<https://milkeninstitute.org/covid-19-tracker>).

**Valószínűleg az első,
biztonságos és kellően
hatékony SARS-CoV-2
elleni vakcinára még
sokat kell várni**

Áttekintve az eddigi állati és humán coronavirus-vakcinákkal szerzett tapasztalatokat, nincs sok okunk abban reménykedni, hogy a SARS-CoV-2 elleni hatékony vakcina kifejlesztése gyors folyamat lesz. Habár a coronavirus elleni vakcinák képesek csökkenteni a vírus szaporodását és a betegség tüneteit – tudásunk szerint – mindeztől egyetlen humán vagy állati coronavirus elleni vakcina vagy vakcinajelölt sincs, amely a gyakorlatban vagy ráfertőzési kísérletekben nagy hatékonysággal megakadályozná a vakcinázott állatok fertőződését és/vagy a vírusürítést, noha néhányuk jelentősen csökkenti a morbiditást és a mortalitást is. Feltételezhető, hogy az első engedélyezett SARS-CoV-2 elleni vakcinák csak korlátozott védelmet fognak nyújtani a vírus ellen, hasonlóan a jelenleg forgalomban lévő influenzavakcinákhoz. Forgalomba hozataluk idejét, hatékonyságuk fokát jelenleg lehetetlen megjósolni, de az szinte biztosnak látszik, hogy az első vakcina nem lesz másfél évnél előbb elérhető, és az is nagy kérdés, hogy akkor majd mennyi ember számára. Emiatt – figyelembe véve a SARS-CoV-2 fertőző képességét és jelenlegi elterjedtségét – egyáltalán nem zárható ki, hogy a vírus endémiássá válik a humán populációban. Amennyiben ez így történne, a hatékony vakcina hiányában a betegség kezelésében nagy szerephez juthatnak különböző, jelenleg fejlesztés alatt álló farmakoterápiás szerek.

PASSZÍV IMMUNTERÁPIA

HYPERIMMUNGLOBULIN-KEZELÉS

COVID-19-betegeken végzett klinikai vizsgálatok azt bizonyítják, hogy a betegekben mérhető IgM- és IgG-szint erősen korrelál a betegség súlyosságával (77). Ezért a súlyosabb tüneteket mutató betegek konvaleszcens szérumban általában nagy mennyiségű neutralizáló anti-S ellenanyag jelenik meg, amely elvileg alkalmassá teheti ezeket és az ebből tisztított ellenanyagokat arra, hogy hyperimmunglobulin-kezelésre használják őket (76).

A médiában számos hír hallható arról, hogy ilyen kezeléseket sikerrel alkalmaztak több országban is (pl. Magyarország, Kína, Olaszország), és COVID-19-betegek esetében a hyperimmunglobulin-kezelés csökkentette a halálozási arányt és a kórházi kezelés idejét. Nincs okunk ebben kételkedni, azonban az igazsághoz tartozik, hogy eddig egyetlen randomizált, placebo-kontrollal alátámasztott összehasonlító vizsgálat eredményeit sem közölték, amely egyértelműen bizonyítaná az ilyen kezelések hatékonyságát. Egy kontroll nélkül, kis létszámon ($n = 6$) végzett konvaleszcens plazma-transzfúziós klinikai kísérlet megerősíteni látszik a hyperimmunglobulin-kezelés jótékony hatását COVID-19 esetében is (166), míg egy publikált adatokon alapuló átfogó metaanalízis (8 vizsgálat, 32 páciens) nagyon csekély megbízhatóságúnak találta a konvaleszcens fázisú plazma jótékony hatására vonatkozó adatokat (146). Mivel jelenleg már 47 bejelentett, összehasonlító (ezek közül 22 randomizált kontrollal) kísérlet folyik a hyperimmunszérumban-kezelés hatékonyságának vizsgálatára, ezért 1–2 hónapon belül erről sokkal több és megbízhatóbb adat áll majd rendelkezésre (146). Magyarországon a közlemény benyújtásáig négy beteget kezeltek ezzel a módszerrel.

Ennek a módszernek egy alternatív megközelítése lehet, hogy nagyállatokban (szarvasmarha, juh, kecske) termelik nagy mennyiségben, majd tisztítják a vírus S fehérjeje ellen indukált poliklonális ellenanyagokat (119). Immunizált lovak szérumból tisztított ellenanyagokkal is folynak kísérletek, amelyek jelenleg preklinikai stádiumban vannak (<https://milkeninstitute.org/covid-19-tracker>).

VÍRUSNEUTRALIZÁLÓ MONOKLONÁLIS ELLENANYGOK

Neutralizáló monoklonális ellenanyagok (monoclonal antibody, mAb) elméletileg hatékony eszközként szolgálhatnak egy SARS-CoV-2 elleni gyógyszer kifejlesztéséhez (124). Az eddig kipróbálásra került összes mAb az S fehérje ellen készült. Azok az ellenanyagok, amelyek hatékonyan képesek blokkolni az S fehérje receptorkötő doménje és az ACE2-receptor közti kapcsolat létrejöttét potenciális gyógyszerjelöltek lehetnek. Mind a SARS mind a MERS ellen tízes nagyságrendben fejlesztettek mAb-okat, amelyek gátolni képesek az S fehérje-receptor (ACE2, DPP4) kapcsolat létrejöttét (25, 162), ezek közül többet rágcsálómódelben is kipróbáltak, és viszonylag hatékonyak találtak (168). A legfrissebb adatok szerint már több fejlesztő cég is rendelkezik anti-SARS-CoV-2 mAb-okkal, amelyekkel az első fázisú klinikai kísérletek valamikor nyáron indulhatnak (<https://milkeninstitute.org/covid-19-tracker>).

Az Egyesült Államokban arra irányulnak költséges és munkaigényes kísérletek, hogy betegségen átesett páciensek T-memória- és B-lymphocytáiból megpróbálják meghatározni a SARS-CoV-2 elleni ellenanyagok szekvenciáit annak érdekében, hogy megtalálják a vírusfertőzés elleni leghatékonyabb variánsokat. Ezt a módszert sikerrel alkalmazták a Nyugat-nílusi láz kezelésében (82, 144). Egyik ilyen monoklonális ellenanyag már elkészült, a 47D11 a SARS-CoV-2 S fehérje receptorkötő doménjének konzervatív részéhez kötődik, és *in vitro* gátolja a vírus replikációját (153).

Fertőzőmikrobiológiai ágensekellen alkalmazott monoklonális ellenanyagok használatánál mindig reális veszély a "szökési" mutánsok (escape mutant) megjelenése.

*A konvaleszcens savó-
készítményekkel végzett
kezelések kapcsán biz-
tatóak az eredmények*

*Az S fehérje elleni
monoklonális ellen-
anyagok képesek meg-
gátolni a vírus receptor-
hoz való kapcsolódását*

Elvileg az ilyen mutánsok szelektálódásának esélye csökkenthető, ha több, különböző mAb-ot használunk a vírus blokkolására. Habár a SARS-CoV-2 genetikailag viszonylag stabilnak tűnik, a SARS-vírussal végzett kísérletek mindenképpen óvatosságra kell, hogy intsenek bennünket. Előzetesen nagy reményeket fűztek két mAb alkalmazásához, amelyek a SARS-vírus S fehérje és az ACE2 illeszkedésénél elhelyezkedő két különböző epitópot ismertek fel, és széles spektrumú neutralizáló aktivitást mutattak különböző SARS-vírustörzsek ellen. Azonban sem egyedül, sem együttesen alkalmazva nem voltak képesek megakadályozni az escape-mutánsok megjelenését *in vivo* (132). Emiatt a különböző epitópokat célzó, de ugyanazon funkcionális egységet gátló (pl. ACE2-RBD kapcsolódási pont) mAb-ok együttes alkalmazását biztonsági okokból jobb elkerülni, és olyan koktélt készíteni, amelyben minél több funkcionális egységet célzó és azok működését gátló mAb szerepel. Coronavírusok esetében ilyen célpontok lehetnek az S fehérjén belül az S1 domén RBD-n kívüli részei, pl. az N-terminális domén és az S2 domén neutralizáló epitópjai (3. ábra), vagy az E fehérje is (lásd korábban).

Habár nem ellenanyag, az oldható, rekombináns, humán ACE2 (rhACE2) is hasonló hatásmechanizmussal működik. A SARS-CoV-2 felületi glikoproteinjeihez kötődve kompetitív módon gátolja a vírus sejtfelületi ACE2-receptorhoz való kötődését (94). Ennek továbbfejlesztett változata egy fúziós fehérje, amely az ACE2-receptor extracelluláris doménjét humán immunglobulin Fc doménjéhez kapcsolva tartalmazza. Ennek a komplex fehérjének felezési ideje az rhACE2 két órájával szemben egy hét is lehet, így nem csak terápiás céllal, de megelőzősképpen is lehet használni. A fúziós fehérje a már említett rhACE2 molekula előnyei mellett az Fc doménen keresztül indukálja a dendritikus sejtek, macrophagok és NK-sejtek antivirális aktivitását (72, 165). Magyarországon is zajlik egy ilyen elven működő gyógyszer fejlesztése, amiről cikksorozatunk előző részében már beszámoltunk.

TÜNETCSÖKKENTŐ ELLENANYAGOK

Számos gyógyszergyártó bejelentette, hogy más betegségekre fejlesztett, gazdafehérjékhez kötődő (tehát nem vírusspecifikus) ellenanyagait fogja vizsgálni, amelyek potenciálisan enyhíthetik a COVID-19 tüneteit (pl. tüdőgyulladás, citokinvihar), és ezáltal csökkenthetik a kórházi kezelés időtartamát és a halálozások számát. Néhányat ilyen gyógyszert bemutatunk a legígéretesebbek közül:

Ahogy az azt cikksorozatunk első részében részletesen bemutattuk, az IL-6-nak és receptorainak kulcsszerepe van a SARS-CoV-2-fertőzés során megfigyelt macrophag-aktivációban, valamint az általuk kontrolláltanul termelt, nagy mennyiségű citokin felszabadulásában (citokinvihar) (9).

Sarilumab: humán IgG1 mAb, amely a szolubilis és a membránhoz kötött interleukin 6 receptorokhoz (IL-6R) kötődve meggátolja ezek aktiválódását (81). A hazánkban is engedélyezett *tocilizumab* hasonló elven működik, kedvezően befolyásolta a vér oxigénellátottságát, a tüdőgyulladás kórfejlődését, a lázat, valamint fehérvérsejtszámot.

Egyéb IL-6-gátlók (*siltuximab*), valamint az IL-1-gátló *anakinra* (nem ellenanyag, hanem humán interleukin 1 receptor antagonist protein egy módosított formája) és a TNF- α -gátló *adalimumab* is kipróbálás alatt állnak.

Bevacizumab: angiogenezis elleni szer, amely az érrendszeri endothel növekedési faktor A-hoz (vascular endothelial growth factor A, VEGF-A) kötődve fejti ki hatását. Colorectalis, petefészek-, vese- és agydaganatok kezelésében hatásos. A VEGF-A gátlása jelentősen csökkenti az érfalak átjárhatóságát, ezért tüdőoedema kezelésére akarják használni heveny és kritikus állapotú COVID-19-betegek esetében (49).

Számos, más betegségekre fejlesztett ellenanyag képes lehet a COVID-19 tüneteit csökkenteni

Az *eculizumab* ellenanyagot eredetileg az időszakosan jelentkező éjszakai vérfestékvizelés (paroxysmalis nocturnal haemoglobinuria) kezelésére engedélyezték. Az ebben a betegségben szenvedők vörösvértestjeinek membránja fokozottan érzékeny a páciens saját komplementrendszerére, ami vörösvérsejtek líziséhez és trombózishoz is vezethet. Az ellenanyag a C5-ös komplementfaktorhoz kötődve gátolja a membránkárosító komplex (membrane attack complex) aktivitását (54). Úgy tűnik, hogy a súlyos tüneteket mutató COVID-19-betegek legalább egy részében a mikroerek sérülései a komplementrendszer, és specifikusan a membránkárosító komplex aktiválása miatt jönnek létre. Ennek az ellenanyagnak az alkalmazásával tehát szintén érsérüléseket akarnak kezelni/megelőzni súlyosan beteg fertőzöttekben. Az ellenanyaggal végzett első klinikai kísérletek, amelyeket négy, súlyos tüdőgyulladást vagy heveny légúti distressz szindrómát mutató COVID-19-betegen végeztek, rendkívül biztatóak. A kezelés hatására gyors csökkenés állt be a gyulladásos markerek szintjében, és mind a négyen két héten belül felépültek (38).

Az *emapalumab* specifikusan kötődik az interferon γ -hoz. Eddig ezt az ellenanyagot hemophagocytás lymphohistiocytosisok kezelésére engedélyezték. Az ilyen betegek csökkent citotoxikus aktivitása a célsejtek eliminációjának zavarához, ennek következtében a macrophagok és T-lymphocyták folyamatos és kontrollálatlan aktivációjához, és túlzott citokintermeléshez (köztük INF γ) vezet (4). Mivel az INF γ -túlermelés is valószínűleg szerepet játszik a COVID-19-indukált citokinvihar kialakulásában, ezért logikusnak tűnik klinikai kipróbálása COVID-19-betegen. Óvatosságra int azonban az interferon- vagy citokinalapú kezelésekkel, hogy összetett hatásmechanizmusuk az idegrendszert is érinti és más, súlyos betegségeknél (pl. melanoma) az interferonkezelések mellékhatásaként súlyos mentális zavarokat (pl. öngyilkossági hajlam) tapasztaltak (96).

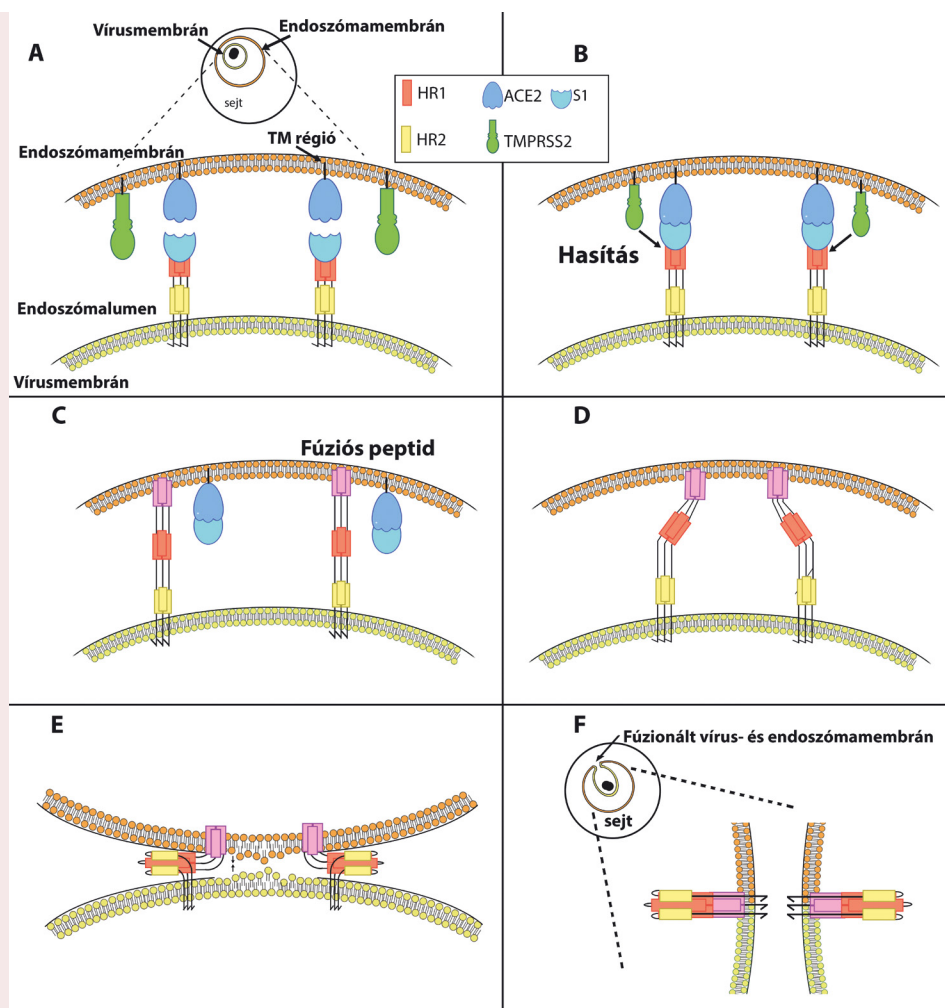
MEMBRÁNFÚZIÓT GÁTLÓ PEPTIDEK

Szoros értelemben a membránfúziót gátló peptidek alkalmazása sem tekinthető immunterápiának, de mivel hatásmechanizmusuk az ellenanyagokhoz hasonlóan specifikus kötődésen alapul, ezért itt tárgyaljuk őket.

Az S fehérje homotrimer szerkezetében az S2 alegység első heptádisméltódései (HR1) erősen konzervált hidrofób barázdákat képeznek, amelyek képesek erősen kötődni a második heptádisméltódés (HR2) aminosavjaihoz. A két heptádisméltódés kötődése a membránfúziós folyamat során alakul ki egy konformációváltozás eredményeként (4. ábra). A létrejövő spirális, hatszálú köteg (6-HB) miatt a fúziós peptid (sejtmembránba merülve) és a transzmembrán régió (vírusmembránban) távolsága megrövidül, amely elősegíti a vírusburok és a sejtmembrán közelítését, a fúzió létrejöttét, és ezen keresztül a vírus bejutását a sejtbe. Számos, a coronavírusokhoz hasonló fúziós fehérjével (Class I) rendelkező burkos vírusnál (HIV-1, Ebola, Nipah stb.) kimutatták, hogy a HR2-szekvencia alapján szintetizált peptidek hozzákötődnek a HR1-heptád isméltódésekhez, és gátolják a membránfúziót és a vírus bejutást (161).

Coronavírusok ellen sikerült olyan széles spektrumú fúziós inhibitort (EK1) fejleszteni, amely *in vitro* gátolta legalább öt coronavírus szaporodását, míg egérmódelben intranasalisan alkalmazva blokkolta a HCoV-OC43- és a MERS-CoV-fertőzést is. A peptid koleszterinkonjugált, továbbfejlesztett változata (EK14C) mindössze 4,3 nM koncentrációban hatékonyan blokkolta a SARS-CoV-2 fertőzést *in vitro*, míg *in vivo* intranasalisan alkalmazva, mindössze 0,5 mg/kg koncentrációban képes volt megvédeni az egereket a HCoV-OC43-fertőzéstől (160). Ezek az adatok arra utalnak, hogy az EK14C, vagy annak továbbfejlesztett változata, egyedül, vagy neutralizáló mAb-okkal kombinálva hatékony gyógyszerkomponens lehet.

**A membránfúzió
gátlásával a vírus
nem képes bejutni
a célsejtbe**



4. ÁBRA. A SARS-CoV-2 membránfúziójának folyamata

A: A vírusmembrán (sárga) S fehérjékkel, míg az endoszómamembrán (barna) receptorokkal (ACE2) és TMPRSS2-proteázokkal ábrázolva; B: A furinproteáz által már aktivált (hasított) S fehérje kötődik az ACE2-receptorhoz, és a TMPRSS2-proteáz lehasítja az S1 alegységet; C: A hasítások és az endoszomális pH-csökkenés okozta konformációváltozások az S2 domén fúziós peptidjének endoszómamembránba merülését váltják ki; D: A két homotrimer alkotta heptádisméltódásos (HR1 és HR2) régió egymással kölcsönhatásba kerülve újrendeződik, az S2 domén megrövidül; E: A HR1 és HR2 α -héliceiből egy stabil 6 szálú szerkezet képződik, amelynek eredményeként a vírus- és az endoszómamembrán egymáshoz közelebb kerül és destabilizálódik; F: A destabilizálódott membránok fuzionálnak, és a vírus magja, benne a genomális RNS-sel a citoplazmába kerül

FIGURE 4. Graphical model of SARS-Cov-2 membrane fusion

A: Viral (yellow) and endosomal target membrane (brown) with viral S proteins, ACE2 receptors and TMPRSS2 proteases; B: The earlier activated (cleaved by furin proteases) S proteins bind to the ACE2 receptors and are cleaved by the TMPRSS2 proteases that lead to S1 subunit separation; C: Followed by endosomal pH-drop-induced conformational changes, fusion peptides are inserted into target membrane; D: The restructuring and interaction of the two heptad repeats (HR1 and HR2) shorten the length of S2 domain; E: From the two heptad repeats a stable antiparallel six-helix bundle is formed, as a consequence the membranes are drawn together leading to membrane destabilization; F: Destabilized membranes fuse and the viral RNA genome in the core is transferred to the cytoplasm

FARMAKOTERÁPIÁS KEZELÉSEK, VÍRUSELLENES, CITOKINGÁTLÓ SZEREK

A COVID-19-betegség lefolyása jelenlegi ismereteink szerint három szakaszra osztható. A fertőzés korai időszaka eltérő súlyosságú légúti vagy emésztőszervi tünetekkel és lázzal jár, majd ezt követően, a második szakasz során tüdőgyulladás alakul ki. Ebben a szakaszban a vírusellenes kezelés elsődleges fontosságú lehet. Az első két szakaszt követheti a harmadik, a szisztémás gyulladás és a citokinvihar szakasza, amelyre jellemző a láz, csökkent vörsejtszámok, máj- és lépmegegyesbódás, magas ferritin, C-reaktív protein (CRP), D-dimer és több citokin (TNF- α , IL-2, IL-6, IL-7, G-CSF, kemokinek) jelentősen megemelkedett szintje. Ebben a fázisban a gyulladáscsökkentő szerek alkalmazása is szükséges lehet annak érdekében, hogy ne alakuljon ki a több szervet (tüdő, szív, máj, vese, idegrendszer, csontvelő) érintő, gyakran halálos, sokszervi elégtelenség.

Ugyan a SARS-CoV-2 elleni célzott gyógyszerfejlesztés a világ számos pontján megkezdődött, egy potenciálisan hatékony új szer kifejlesztése, tesztelése és engedélyezése éveket vehet igénybe. Ezen, ún. második generációs gyógyszerek helyett ezért a figyelem az első generációs hatóanyagokra irányul, amelyek már – más indikációval ugyan, de – engedélyezett vegyületek. A gyógyszer-repozíció – egy ismert gyógyszernek jelenlegi alkalmazásától eltérő új terápiás hasznosítása – számos előnnyel jár. Egy repozíciós gyógyszer bevezetésének idő- és költségigénye, valamint kockázata jóval kisebb, mint egy új készítmény engedélyeztetési eljárása. Ennek magyarázata, hogy ezeknek a vegyületeknek az ártalmatlanságát és biológiai jellemzőit hosszú, akár több évtizedes terápiás tapasztalat támasztja alá.

VÍRUSELLENES SZEREK***Virális RNS-polimeráz-gátlók***

A SARS-CoV-2 elleni legígéretesebb vegyületek közül az Ebola ellen kifejlesztett, iv. infúzióban alkalmazandó remdezivir és az influenzaellenes hatóanyag, a szájon át adható favipiravir tartoznak ebbe a csoportba. Mindkét gyógyszerrel kapcsolatosan egyre több információ kerül publikálásra, azonban hatékonyságuk minden kétséget kizáróan még nem bizonyított. Ennek (vagy ellenkezőjének) igazolására a világ számos pontján zajlanak nagy létszámú klinikai vizsgálatok.

A remdezivir (GS-5734) egy ún. pro-drug, amely nukleozidanalóg antivirális szerré (GS-441524) alakul a szervezetben. A hatóanyagot 2017-ben az Ebola-vírus ellen fejlesztették ki. *In vitro* és klinikai vizsgálatokban is hatékonynak bizonyult SARS-CoV és MERS-CoV ellen (122). A szer hatásmechanizmusa azon alapszik, hogy a SARS-CoV-2 RNS-függő RNS-polimeráz enzime és a vírus javító enzime is természetes nukleozidnak tekintik, így a vírus replikációja során beépül az újonnan szintetizált RNS-genomba. A beépült nukleozid érdekes módon tőle 5 nukleoziddal hátrább gátolja a további RNS-szintézist, így a vírus replikációját. A remdezivir biztonságos szer, ritkán átmeneti májkárosodást válthat ki. A rezisztencia kialakulásának gyakoriságáról még nincs információnk, de egerhepatitis vírus esetében már leírtak rezisztenciát a szerrel szemben. A szert sikeresen alkalmazták Ebola-vírussal fertőzött páciensen (62). Részuszajmok kísérleti SARS-CoV-2-fertőzésében alkalmazva a remdezivir jelentős javulást eredményezett a klinikai tünetek és a bronchoalveolaris folyadék citológiai képének tekintetében (157). Az emberi klinikai vizsgálatok eredményei között azonban még vannak ellentmondások.

Az első amerikai COVID-19-esetben kedvező eredményekről számoltak be a remdezivirrel kapcsolatosan, annak ellenére, hogy a páciens súlyos tüdőgyulladás tüneteit mutatta (59). Egy, a gyártó által támogatott, 53 főn elvégzett kísérlet adatai alapján a remdezivir alkalmazása hozzávetőleg 70 százalékban volt hatékony, azonban komoly mellékhatásai lehetnek pl. a vesére nézve (53). Egyelőre – sajtóhírek alapján – a Chicagói Orvostudományi Egyetem két harmadik fázisú

A remdezivir beépül a replikáló vírus-RNS-genomba és meggátolja a további nukleinsav-szintézist

A remdezivir feltehetőleg rövidíti a felépülési időt és csökkenti a mortalitást, de ezt nem minden vizsgálat tudta igazolni

A favipiravir gátolja a vírus RNS-függő RNS-polimeráz enzimét, ezáltal a genom-replikációt

klinikai vizsgálatot folytatott 125 COVID-19-cel érintett beteg önkéntesen, akik közül 113 állapota volt súlyos. A betegek többsége meggyógyult, csupán ketten vesztették életüket. Ez annak fényében kiváló eredménynek tűnhet, hogy az eddigi adatok alapján a kritikus állapotú betegek átlagosan 15%-a nem élte túl a COVID-19-et.

Az eddigi legátfogóbb klinikai vizsgálat eredményei 2020. április 29-én jelentek meg. A vizsgálatba 237 önkéntest vontak be, akik közül 158 remdezivirkezelést, 79 placebo kapott. Az eredmények értékelésével nem sikerült a remdezivir klinikai hatásosságát bizonyítani, azonban a kezelt betegek felépülési ideje tendenciájában (de nem szignifikánsan) rövidebb volt. A mellékhatások előfordulása nem volt szignifikánsan több a kezelt, mint a placebo csoportban (66%, ill. 64%) (156).

Az Egyesült Államokban mindeközben zajló ún. Adaptive COVID-19 Treatment Trial (ACTT) szerint a 10 napig, naponta iv. adott remdezivir 31%-kal rövidítette le a felépülési időt ($p < 0,001$), 15 napról 11 napra csökkentve azt. A mortalitás (nem szignifikánsan) 11,6%-ról 8%-ra csökkent a kezelt csoportban. A kedvező eredmények miatt az USA élelmiszer- és gyógyszerfelügyelete (FDA) 2020. május 2-án engedélyezte a remdezivir használatát súlyos klinikai tüneteket mutató koronavírus-fertőzöttek gyógyítására. Hazánk is részt vesz a remdezivir klinikai kipróbálásában. A hatóanyag állatgyógyászati relevanciája, hogy a remdezivir aktív metabolitja, a GS-441524 kifejezett hatékonyságot mutatott a macskakoronavírus által okozott fertőző hashártyagyulladás (FIP, lásd korábban) ellen (103).

A favipiravir szintén nukleozidanalóg, amelyet pandémiás influenza ellen fejlesztettek ki. A szer a vírusok RNS-függő RNS-polimerázát gátolja azáltal, hogy a molekula sejten belül foszforibozilált, aktív változatát, a favipiravir-ribofuranozil-5'-trifoszfátot-ot a víruspolimeráz-enzim megköti, így az inaktiválódik. További lehetőség, hogy végzetes mutációkat okozva életképtelen vírusok kialakulásához vezet (48). Hatékony a legtöbb, más szerre rezisztens influenzavírus ellen, továbbá számos egyéb RNS-vírus ellen is. A szer teratogén (magzatkárosító) hatása miatt terhes nőknél nem alkalmazható. Gyermekek esetében az ártalmatlanság nem igazolt, ezért szoptató anyáknak és gyermekeknek nem adható. Leggyakoribb mellékhatásai (kb. 5% eséllyel) a hasmenés és a vérplazma húgysavszintjének a növekedése. Emellett – ritkábban – májenzimszint-emelkedéseket is tapasztaltak. Egy Kínában, nyolcvan betegen elvégzett klinikai vizsgálat azt mutatta, hogy a favipiravirral kezelt esetben a gyógyulás gyorsabb, és mellékhatásoktól mentes volt. Egy másik, 250 beteget magában foglaló klinikai vizsgálatban a favipiravir jelentősen csökkentette a láz és a felső légúti tünetek idejét (22). Ebben a vizsgálatban a kontrollcsoport umifenovir-kezelésben részesült, amelynek hatásosságát eddigi vizsgálatokban nem sikerült igazolni (79). QINGXIAN és mtsai a favipiravir hatékonyságát 80 fős klinikai vizsgálatban lopinavir-ritonavir (kontrollcsoport) kombinációval hasonlították össze. A favipiravirt azonban inhalációs interferon- α -kezeléssel kombinálták, amely árnyalja az eredmények hasznosíthatóságát. A favipiravir + interferon csoportban az átlagos vírusürítés ideje 4 nap volt, míg a kontrollcsoportban 11 nap. A mellkasröntgen-vizsgálati eredmények javulása is szignifikáns volt, 91,43% a kezelt, míg 62,22% a kontrollcsoportban (109).

Vírusproteáz-gátlók

A SARS-CoV-2 replikációjáért felelős enzimeket a vírus genomja poliprotein formájában kódolja, ebből a proteáz enzimek szabadítják fel a biológiailag aktív fehérjéket. A különböző proteázinhibitorok a vírus replikációját tehát elméletileg gátolhatják. A két fő proteáz, a papain-like proteáz és a 3CL virális proteáz (3CL^{Pro}) enzim közül elsősorban utóbbit tartják kedvező célpontnak. Az eddigi kísérleti adatok azonban arra utalnak, hogy a HIV, SARS-CoV és MERS-CoV esetében hatásosnak bizonyult virálisproteáz-gátlók,

mint a *lopinavir* és *ritonavir* klinikai tesztekben nem bizonyultak hatékonynak SARS-CoV-2 ellen (131). ZHANG és mtsai azonban röntgen-krisztallográfiás meghatározással azonosították a 3CL^{pro} natív szerkezetét, így megnyitva az utat új, specifikus proteázgátlók fejlesztéséhez. Peptidomimetikus α -ketoamidok fejlesztésével a szerzők meg is kezdték vizsgálataikat, amelyek közül az egyik kifejezett tüdőtropizmust mutatott, így inhalációban való alkalmazásának létjogosultságát feltételezik (167).

Nukleárisimport-gátlók

Az *ivermektin* a makrociklikus laktonok csoportjába tartozó, ún. endektocid antiparazitikum, amely az importin α/β útvonal gátlásán keresztül gátolja egyes sejt- és vírusfehérjék sejtmagba jutását. Fonálféreg és ektoparazitaelenes hatása mellett antivirális hatása is van. A HIV-1 integráz fehérjéjének, és az importin (IMP α/β 1) heterodimerjének kapcsolatát gátolja, így képes megakadályozni a vírusgenom sejtmagba jutását és ezáltal a replikációt (163). A Dengue-láz és a Nyugat-nílusi láz vírusa ellen is hatékonynak bizonyult, mikromoláris koncentrációban. Egy friss tanulmány szerint a SARS-CoV-2 replikációját 5000-ed részére volt képes lelassítani (17), vélhetően gátolva valamely, eddig nem azonosított vírusfehérjének az IMP α/β 1-hez való kötődését. A hatékony koncentráció azonban a kísérletekben mintegy 35-ször nagyobb volt, mint az emberi plazmában mérhető ivermektin-koncentráció, a más orvosi célra engedélyezett dózis szedése esetén (120). Emiatt nagy valószínűséggel további *in vitro* vizsgálatok lesznek szükségesek a szer SARS-CoV-2 elleni hatékonyságának klinikai kipróbálása előtt.

Membránfúzió-gátlók

Az autoimmun betegségek, valamint malária ellen alkalmazott, immunszuppresszív tulajdonságú *klorokin* és *hidroxiklorokin* SARS-CoV-2 elleni antivirális hatását *in vitro* kísérletekben igazolták. E hatásukat a vírus és a sejtmembrán fúziójához szükséges alacsony endoszómális pH megnövelésével érik el. Több klinikai vizsgálat történt e szerekkel önmagukban, vagy azitromicin antibiotikummal kombinációban az elmúlt hónapokban (50, 80, 164). Jóllehet e vizsgálatokat végzők szerint az eredmények a hidroxiklorokin hatásosságát támasztják alá, a kivitelezést számos kritika érheti, különösen a vizsgálatba bevont betegek csekély száma, a betegcsoport kiválasztása, a beválogatás módja és/vagy az alkalmazott dózis miatt. TRUMP elnök 2020. március 21-én határozottan javasolta ezen szerek használatát, valamint hazánk március végén megtiltotta a hidroxiklorokin-szulfát kivitelét az országból. Ugyanakkor, egy nemrégiben publikált amerikai vizsgálat (86) egyenesen hatástalannak minősíti a hidroxiklorokint, sőt megfigyelése szerint a halálozási arány még nőtt is a kezelt csoportban. E vizsgálat eredményei azonban szintén számos szempontból vitathatók, következtetése tehát éppúgy fenntartásokkal fogadható. Ugyancsak erősen kritizálható az a brazil klinikai vizsgálat (126), amelyben különösen nagy adagot alkalmaztak, továbbá nem vették kellően figyelembe a szer lehetséges veszélyes mellékhatásait, így nem meglepő, hogy bizonyos esetekben halálhoz vezető szívritmuszavar alakult ki, és a 440 emberen végzett vizsgálatot idő előtt le kellett állítani.

Az azitromicin széles spektrumú, makrolid típusú antibiotikum, amelyet elsősorban légzőszervi, ritkábban egyéb bakteriális fertőzések kezelésére használnak. Ezek mellett számos tanulmány szerint a szernek antivirális aktivitása is van, pl. a légúti fertőzések gyakori kórokozói, a rhinovírusok ellen (134). Ennek lehetséges magyarázata egyrészt a gyógyszer interferon-serkentő hatása, míg a SARS-CoV-2-fertőzések esetében a vírus ACE2-receptorhoz kötődésének gátlása (28).

A kézirat lezárását megelőző napokban jelent meg az eddigi legátfogóbb közlemény, amely világszerte hat kontinensen, 671 kórházban kezelt, összesen

Az ivermektin képes gátolni a a vírusgenom sejtmagba jutását, ezáltal megakadályozni a replikációt

Az eddigi adatok alapján a klorokin és a hidroxiklorokin nem váltotta be a hozzájuk fűzött reményeket

96 032 SARS-CoV-2-fertőzött beteg adatait dolgozta fel. A betegek közül 14 888 részesült (I) klorokin ($n = 1686$), (II) klorokin + makrolid antibiotikum ($n = 3783$), (III) hidroxiklorokin ($n = 3016$), ill. (IV) hidroxiklorokin + makrolid antibiotikum ($n = 6221$) kezelésben. Az adatok összesítésével és statisztikai feldolgozásával megállapították, hogy figyelembe véve a kimenetelt befolyásoló egyéb tényezőket is (életkor, nem, etnikum, kondíció, szív- és érrendszeri megbetegedések, cukorbetegség, tüdőbetegségek, dohányzás, immunszupprimált állapot és a COVID-19 alapvető súlyossága), valamennyi vizsgált kezelési forma szignifikánsan megnövelte mind az elhalálozás, mind pedig a kamrai ritmuszavarok megjelenésének kockázatát a kezelésben nem részesült betegek csoportjához képest (91). Az eredmények hatására a WHO leállította a hidroxiklorokinnal kapcsolatos kísérleteit.

Lapzártánk után érkezett a hír, miszerint ez utóbbi cikket a szerzők kérésére a Lancet visszavonta, mivel komoly kétségek merültek fel a tanulmány alapjául szolgáló adatok megbízhatóságával kapcsolatban.

(Mehra és mtsai 2020.; [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31324-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31324-6)).

A veleszületett immunitás fokozása

A természetes ölősejtek (natural killer, NK) az immunrendszer fontos elemei, amelyek a vírusfertőzésekre adott gyors választ teszik lehetővé (23). Számos gyógyszer gyártó daganatellenes, NK-alapú készítményeit veti alá klinikai vizsgálatoknak SARS-CoV-2-vel fertőzött betegeken.

A veleszületett immunitás serkentése által antivirális hatással rendelkező I-es típusú interferonok (interferon α -2a és -2b), amelyeket idült májgyulladások kezelésére engedélyeztek, gátolták a SARS-CoV és MERS-CoV szaporodását (122), azonban terápiás sávjuk rendkívül keskeny, nem megfelelő dózisban alkalmazva könnyen toxikussá válhatnak. A COVID-19 kezelésének hatékonyságára irányuló klinikai vizsgálatok már elkezdődtek.

Gyulladáscsökkentő szerek

Citokinjel-átviteli útvonalakat gátló szerek

A számos citokint gátló, ún. Janus-kináz (JAK) inhibitorok (baricitinib, tofacitinib) is ígéretesek, azonban ezen szerek esetlegesen erős immunszuppresszív hatása a kortikoszteroid-kezeléshez hasonlóan súlyosabb esetekben ronthatja a páciensek túlélési esélyeit (41).

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerzők szeretnék megköszönni PROF. MÁTYUS PÉTERnek a terápiás fejezeteknél nyújtott segítségét, és PROF. RUSVAI MIKLÓSNak a kézirat soron kívüli, gyors és alapos lektorálását. Köszönjük SCHICHNIK KRISZTIÁNNak (coincolors.hu) a nyelvi lektorálásban, SZALA RICHÁRDnak és TAMÁS VIVIENNEK az ábrák megrajzolásában nyújtott segítséget. BALKÁ GYULA munkáját a Bolyai János Kutatási Ösztöndíj támogatta.

IRODALOM

1. ADDIE, D. – BELÁK, S. et al.: Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. *J. Feline Med. Surg.*, 2009. 11. 594–604.
2. ADDIE, D. – HOUE, L. et al.: Effect of cat litters on feline coronavirus infection of cell culture and cats. *J. Feline Med. Surg.*, 2020. 22. 350–357.
3. ALHARBI, N. K. – QASIM, I. et al.: Humoral Immunogenicity and Efficacy of a Single Dose of ChAdOx1 MERS Vaccine Candidate in Dromedary Camels. *Sci Rep.*, 2019. 9. 16292.
4. AL-SALAMA, Z. T.: Emapalumab: First Global Approval. *Drugs*, 2019. 79. 99–103.
5. AYUDHYA, S. N. – ASSAVACHEEP, P. – THANAWONGNUWECH, R.: One world--one health: the threat of emerging swine diseases. An Asian perspective. *Transbound Emerg. Dis.*, 2012. 59. Suppl 1. 9–17.
6. BÁLINT, Á. – FARSANG, A. – SZEREDI, L. – ZÁDORI, Z. – BELÁK, S.: Recombinant feline coronaviruses as vaccine candidates confer protection in SPF but not in conventional cats. *Vet. Microbiol.*, 2014. 169. 154–162.
7. BÁLINT, Á. – FARSANG, A. – ZÁDORI, Z. – BELÁK, S.: Comparative *in vivo* analysis of recombinant type II feline coronaviruses with truncated and completed ORF3 region. *PLoS One*, 2014. 9:e88758.
8. BÁLINT, Á. – FARSANG, A. – ZÁDORI, Z. – HORNYÁK, Á. – DENCSE, L. – ALMAZÁN, F. – ENJUANES, L. – BELÁK, S.: Molecular characterization of feline infectious peritonitis virus strain DF-2 and studies of the role of ORF3abc in viral cell tropism. *J. Virol.*, 2012. 86. 6258–6267.
9. BALKÁ GY. – BÁLINT Á. – CSÁGOLA A. – FARSANG A. – KISS I. – ZÁDORI Z.: A koronavírusok biológiája, különös tekintettel a SARS-CoV-2-re és a COVID-19-re. Irodalmi összefoglaló. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2020. 142. 259–277.
10. BENYEDA J. D. – RÁVAI G. – GAJDÁCS G. – LÁZÁR I.: TGE-szerű megbetegedés előfordulása sertésállományainkban. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 1977. 32. 99–100
11. BENYEDA, Z. – MATÓ, T. – SÜVEGES, T. – SZABÓ, E. – KARDI, V. – ABONYI-TÓTH, Z. – RUSVAI, M. – PÁLYA, V.: Comparison of the pathogenicity of QX-like, M41 and 793/B infectious bronchitis strains from different pathological conditions. *Avian Pathol.* 2009. 38. 449–456.
12. BENYEDA, Z. – SZEREDI, L. – MATÓ, T. – SÜVEGES, T. – BALKÁ, G. – ABONYI-TÓTH, Z. – RUSVAI, M. – PÁLYA, V.: Comparative histopathology and immunohistochemistry of QX-like, Massachusetts and 793/B serotypes of infectious bronchitis virus infection in chickens. *J. Comp. Pathol.*, 2010. 143. 276–283.
13. BOILEAU, M. J. – KAPIL, S.: Bovine coronavirus associated syndromes. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 2010. 26. 123–146.
14. BRU, T. – VILA, R. et al.: Protection of chickens vaccinated with combinations of commercial live infectious bronchitis vaccines containing Massachusetts, Dutch and QX-like serotypes against challenge with virulent infectious bronchitis viruses 793B and IS/1494/06 Israel variant 2. *Avian Pathol.*, 2017. 46. 52–58.
15. BUONAVOGLIA, C. – DECARO, N. et al.: Canine coronavirus highly pathogenic for dogs. *Emerg. Inf. Dis.*, 2006. 12. 492–494.
16. CALLAWAY, E.: The race for coronavirus vaccines: a graphical guide. *Nature*, 2020. 580. 576–577.
17. CALY, L. – DRUCE, J. D. et al.: The FDA-approved Drug Ivermectin inhibits the replication of SARS-CoV-2 *in vitro*. *Antivir. Res.*, 2020. 104787.
18. CARVAJAL, A. – ARGÜELLO, H. et al.: Porcine epidemic diarrhoea: new insights into an old disease. *Porcine Health Manag.*, 2015. 29. 12.
19. CAVANAGH, D.: Coronaviruses in poultry and other birds. *Avian Pathol.*, 2005. 34. 439–448.
20. CAVANAGH, D.: Severe acute respiratory syndrome vaccine development: experiences of vaccination against avian infectious bronchitis coronavirus. *Avian Pathol.*, 2003. 32. 567–582.
21. CHASEY, D. – CARTWRIGHT, S. F.: Virus-like particles associated with porcine epidemic diarrhoea. *Res. Vet. Sci.*, 1978. 25. 255–256.
22. CHEN, C. – ZHANG, Y. et al.: Favipiravir versus Arbidol for COVID-19: A Randomized Clinical Trial. *medRxiv preprint*
23. CHEN, J. – LAU, Y. F. et al.: Cellular Immune Responses to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) Infection in Senescent BALB/c Mice: CD4+ T Cells Are Important in Control of SARS-CoV Infection. *J. Virol.*, 2009. 84. 1289–1301.
24. CHEN, J. F. – FENG, L. et al.: Update on vaccines of porcine epidemic diarrhea virus. *Swine Ind. Sci.*, 2010. 12. 51.
25. COUGHLIN, M. M. – PRABHAKAR, B. S.: Neutralizing human monoclonal antibodies to severe acute respiratory syndrome coronavirus: target, mechanism of action, and therapeutic potential. *Rev. Med. Virol.*, 2012. 22. 2–17.
26. CRAWFORD, K. – MOGLER, M. et al.: Protective efficacy of a replicon particle vaccine in both naïve and previously exposed gilts against porcine epidemic diarrhoea virus. *Ann. Proc. Am. Assoc. Swine Veterinarians*, 2015. 212–213.
27. DALMO, R. A.: DNA vaccines for fish: Review and perspectives on correlates of protection. *J. Fish. Dis.*, 2018. 41. 1–9.
28. DAMLE, B. – VOURVAHIS, M. et al.: Clinical Pharmacology Perspectives on the Antiviral Activity of Azithromycin and Use in COVID-19. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2020 Apr 17.
29. DASTJERDI, A. – CARR, J. et al.: Porcine Epidemic Diarrhoea Virus among Farmed Pigs, Ukraine. *Emerg. Infect. Dis.*, 2015. 21. 2235–2237.
30. DE GROOT-MIJNES, J. D. – VAN DUN, J. M. et al.: Natural history of a recurrent feline coronavirus infection and the role of cellular immunity in survival and disease. *J. Virol.*, 2005. 79. 1036–1044.
31. DE WIT, E. – VAN DOREMALEN, N. et al.: SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2016. 14. 523–534.
32. DEBOUCK, P. – CALLEBAUT, P. – PENSART, M.: Prevalence of porcine epidemic diarrhoea (PED) virus in the pig population of different countries. In: *Proceedings of the 7th International Pig Veterinary Congress*, 1982. 53.
33. DEBOUCK, P. – PENSART, M.: Experimental infection of pigs with a new porcine enteric coronavirus, CV 777. *Am. J. Vet. Res.*, 1980. 41. 219–223.
34. DECARO, N. – BUONAVOGLIA, C.: An update on canine coronaviruses: viral evolution and pathobiology. *Vet. Microbiol.*, 2008. 132. 221–234.
35. DECARO, N. – MARI, V. et al.: Recombinant canine coronaviruses in dogs, Europe. *Emerg. Infect. Dis.*, 2010. 16. 41–47.
36. DEDEURWAERDER, A. – DESMARETS, L. M. et al.: The role of accessory proteins in the replication of feline infectious peritonitis virus in peripheral blood monocytes. *Vet. Microbiol.*, 2013. 162. 447–455.

37. DERZSY D. – LOMNICZI B.: A tyúkok fertőző bronchitisének előfordulása Magyarországon. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 1966. 21. 194–196
38. DIURNO, F. – NUMIS, F. G. et al.: Eculizumab treatment in patients with COVID-19: preliminary results from real life ASL Napoli 2 Nord experience. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, 2020. 24. 4040–4047.
39. DU, L. – KOU, Z. et al.: A Truncated Receptor-Binding Domain of MERS-CoV Spike Protein Potently Inhibits MERS-CoV Infection and Induces Strong Neutralizing Antibody Responses: Implication for Developing Therapeutics and Vaccines. *PLoS One*, 2013. 8. e81587.
40. ELLIS, S. – KEEP, S. et al.: Recombinant Infectious Bronchitis Viruses Expressing Chimeric Spike Glycoproteins Induce Partial Protective Immunity against Homologous Challenge despite Limited Replication *In Vivo*. *J. Virol.*, 2018. 92(23):e01473–18.
41. Emberi Erőforrások Minisztériuma. A 2020. évben azonosított új koronavírus (SARS-CoV-2) okozta fertőzések (COVID-19) megelőzésének és terápiájának kézikönyve. Budapest, 2020.
42. ENJUANES, L. – ZUÑIGA, S. et al.: Molecular Basis of Coronavirus Virulence and Vaccine Development. *Adv. Virus. Res.*, 2016. 96. 245–286.
43. ERIKSSON, K. K. – MAKIA, D. – THIEL, V.: Generation of recombinant coronaviruses using vaccinia virus as the cloning vector and stable cell lines containing coronaviral replicon RNAs. *Methods Mol. Biol.*, 2008. 454. 237–254.
44. ERLES, K. – TOOMEY, C. et al.: Detection of a group 2 coronavirus in dogs with canine infectious respiratory disease. *Virology*, 2003. 310. 216–223.
45. FAST, E. – ALTMAN, R. B. – CHEN, B.: Potential T-cell and B-cell Epitopes of 2019-nCoV. *bioRxiv*, 10.1101/2020.02.19.955484.
46. FOLEGATTI, P. M. – BITTAYE, M. et al.: Safety and immunogenicity of a candidate Middle East respiratory syndrome coronavirus viral-vectored vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, uncontrolled, phase 1 trial. *Lancet Infect. Dis.*, 2020. S1473–3099. 30160–30162.
47. FUJIWARA, H. – FUJIWARA, T. et al.: Pathology of Kawasaki disease in the healed stage. Relationships between Typical and Atypical Cases of Kawasaki Disease. *Pathol. Int.*, 1986. 36. 857–867.
48. FURUTA, Y. – KOMENO, T. – NAKAMURA, T.: Favipiravir (T-705), a broad spectrum inhibitor of viral RNA polymerase. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B. Phys. Biol. Sci.*, 2017. 93. 449–463.
49. GARCIA, J. – HURWITZ, H. I. et al.: Bevacizumab (Avastin®) in cancer treatment: A review of 15 years of clinical experience and future outlook. *Cancer Treat. Rev.*, 2020. 86. 102017.
50. GAUTRET, P. – LAGIER, J. C. et al.: Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2020:105949.
51. GERDTS, V. – ZAKHARTCHOUK, A.: Vaccines for porcine epidemic diarrhea virus and other swine coronaviruses. *Vet. Microbiol.*, 2017. 206. 45–51.
52. GRAHAM, R. L. – DEMING, D. J. et al.: Evaluation of a recombination-resistant coronavirus as a broadly applicable, rapidly implementable vaccine platform. *Commun. Biol.*, 2018. 1. 179.
53. GREIN, J. – OHMAGARI, N. et al.: Compassionate Use of Remdesivir for Patients with Severe Covid-19. *New Engl. J. Med.*, [published online ahead of print, 2020 Apr 10].
54. GUO, R. F. – WARD, P. A.: Role of c5a in inflammatory responses. *Annu. Rev. Immunol.*, 2005. 23. 821–852.
55. HAAGMANS, B. L. – VAN DEN BRAND, J. M. et al.: An orthopoxvirus-based vaccine reduces virus excretion after MERS-CoV infection in dromedary camels. *Science*, 2016. 351. 77–81.
56. HABIBI, M. – KARIMI, V. et al.: Combination of H120 and 1/96 avian infectious bronchitis virus vaccine strains protect chickens against challenge with IS/1494/06 (variant 2)-like infectious bronchitis virus. *Acta Virol.*, 2017. 61. 150–160.
57. HAIJEMA, B. J. – VOLDERS, H. – ROTTIER, P. J.: Live, attenuated coronavirus vaccines through the directed deletion of group-specific genes provide protection against feline infectious peritonitis. *J. Virol.*, 2004. 78. 3863–3871.
58. HAYASHI, T. – GOTO, N. et al.: Detection of coronavirus-like particles in a spontaneous case of feline infectious peritonitis. *Nihon Juigaku Zasshi*, 1978. 40. 207–212.
59. HOLSHUE, M. L. – DEBOLT, C. et al.: First case of 2019 novel coronavirus in the United States. *N. Engl. J. Med.*, 2020. 382. 929–936.
60. HUANG, Y. W. – DICKERMAN, A. W. et al.: Origin, evolution, and genotyping of emergent porcine epidemic diarrhea virus strains in the United States. *mBio*, 2013. 4:e00737–13.
61. JACKWOOD, M. W. – HALL, D. – HANDEL, A.: Molecular evolution and emergence of avian gammacoronaviruses. *Infect. Genet. Evol.*, 2012. 12. 1305–1311.
62. JACOBS, M. – RODGER, A. et al.: A Late Ebola virus relapse causing meningoencephalitis: a case report. *Lancet*, 2016. 388. 498–503.
63. JAUME, M. – YIP, M. S. et al.: Anti-severe acute respiratory syndrome coronavirus spike antibodies trigger infection of human immune cells via a pH- and cysteine protease-independent FcγR pathway. *J. Virol.*, 2011. 85. 10582–10597.
64. JAUME, M. – YIP, M. S. et al.: SARS CoV subunit vaccine: antibody-mediated neutralisation and enhancement. *Hong Kong Med. J.*, 2012. 18. Suppl.2. 31–36.
65. JIMENEZ-GUARDEÑO, J. M. – REGLA-NAVA, J. A. et al.: Identification of the Mechanisms Causing Reversion to Virulence in an Attenuated SARS-CoV for the Design of a Genetically Stable Vaccine. *PLoS Pathog.*, 2015. 11. e1005215.
66. JOHNSON M. A. – POOLEY C. et al.: A recombinant fowl adenovirus expressing the S1 gene of infectious bronchitis virus protects against challenge with infectious bronchitis virus. *Vaccine*, 2003. 21. 2730–2736.
67. KARIMI, V. – MOHAMMADI, P. et al.: Including 793/B type avian infectious bronchitis vaccine in 1-day-old chicken increased the protection against QX genotype. *Trop. Anim. Health Prod.*, 2019. 51. 629–635. Epub 2018 Oct 29.
68. KEIDAR, S. – STRIZEVSKY, A. et al.: ACE2 activity is increased in monocyte-derived macrophages from prehypertensive subjects. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2007. 22. 597–601.
69. KIPAR, A. – MAY, H. et al.: Morphologic features and development of granulomatous vasculitis in feline infectious peritonitis. *Vet. Pathol.*, 2005. 42. 321–330.
70. KISS, I. – POLAND, A. M. – PEDERSEN, N. C.: Disease outcome and cytokine responses in cats immunized with an avirulent feline infectious peritonitis virus (FIPV)-UCD1 and challenge-exposed with virulent FIPV-UCD8. *J. Feline Med. Surg.*, 2004. 6. 89–97.
71. KOCH, T. – DAHLKE, C. et al.: Safety and immunogenicity of a modified vaccinia virus Ankara vector vaccine candidate for Middle East respiratory syndrome: an open-label, phase 1 trial. *Lancet Infect. Dis.*, 2020. Published Online April 20, 2020.:

72. KRUSE, R. L.: Therapeutic strategies in an outbreak scenario to treat the novel coronavirus originating in Wuhan, China. *F1000Research*, 2020. 9. 72.
73. KWEON, C. H. – KWON, B. J. et al.: Derivation of attenuated porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) as vaccine candidate. *Vaccine*, 1999. 17. 2546–2553.
74. LAKATOS B. – DEMETER Z. – PALADE, E. – SZILASI A. – MARI, V. – DECARO, N. – RUSVAI M.: A kutyák pantropikus koronavírus-fertőzésének kimutatása Magyarországon. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 2013. 135. 41–47.
75. LAN, J. – YAO, Y. et al.: Recombinant Receptor Binding Domain Protein Induces Partial Protective Immunity in Rhesus Macaques Against Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Challenge. *EBioMedicine*, 2015. 2. 1438–1446.
76. LAW, P. K.: Emergent Serum Therapy and Antibody Medicine to Counteract Sudden Attacks of COVID-19 and Other Pathogenic Epidemics. *Open J. Regenerative Med.*, 2020. 9. 1–7.
77. LEE, C. Y. – LIN, R. T. P. et al.: Serological Approaches for COVID-19: Epidemiologic Perspective on Surveillance and Control. *Front. Immunol.*, 2020. 11. 879.
78. LI, W. – LI, H. et al.: New variants of porcine epidemic diarrhea virus, China, 2011. *Emerg. Infect. Dis.*, 2012. 18. 1350–1353.
79. LIAN, N. – XIE, H. et al.: Umifenovir treatment is not associated with improved outcomes in patients with coronavirus disease 2019: a retrospective study. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2020.04 In Press.
80. LIU, J. – CAO, R. et al.: Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection *in vitro*. *Cell Discov.*, 2020.6.16. [PMID: 32194981]
81. LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012–. Sarilumab. [Updated 2017 Jul 31]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547964/>
82. LOVE, J. C. – GUPTA, N. T. et al.: Neutralizing antibodies against West Nile virus identified directly from human B cells by single-cell analysis and next generation sequencing. *Integr. Biol.*, 2015. 7. 1587–1597.
83. MA, C. – LI, Y. et al.: Intranasal vaccination with recombinant receptor-binding domain of MERS-CoV spike protein induces much stronger local mucosal immune responses than subcutaneous immunization: Implication for designing novel mucosal MERS vaccines. *Vaccine*, 2014. 32. 2100–2108.
84. MA, S. Q. – WANG, M. et al.: Adaptation of porcine epidemic diarrhea virus to Vero cells and evaluation of the inactivated vaccine against porcine epidemic diarrhea virus. *Chin. Anim. Infect. Dis.*, 1994. 2. 15–18
85. MA, S. Q. – WANG, M. et al.: Development of bi-combined inactivated vaccine against transmissible gastroenteritis virus and porcine epidemic diarrhea virus. *Chin. Anim. Infect. Dis.*, 1995. 6. 23–27.
86. MAGAGNOLI, J. – NARENDHAN, S. et al.: Outcomes of hydroxychloroquine usage in United States veterans hospitalized with Covid-19. *medRxiv preprint*, 2020. 04. 16. 20065920.
87. MAKADIYA, N. – BROWNLIE, R. et al.: S1 domain of the porcine epidemic diarrhea virus spike protein as a vaccine antigen. *Viol. J.*, 2016. 13. 57.
88. MALBON, A. J. – FONFARA, S. et al.: Feline Infectious Peritonitis as a Systemic Inflammatory Disease: Contribution of Liver and Heart to the Pathogenesis. *Viruses*, 2019. 11. 1144.
89. MARTELLI, P. – LAVAZZA, A. et al.: Epidemic of diarrhoea caused by porcine epidemic diarrhoea virus in Italy. *Vet. Rec.*, 2008. 162. 307–310.
90. MARTINS, A. – CONDE, M. et al.: Arthritis in Kawasaki disease: A poorly recognised manifestation. *J. Paediatr. Child Health.*, 2018. 54. 1371–1374.
91. MEHRA, M. R. – DESAI, S. S. et al.: Hydroxychloroquine or chloroquine with or without a macrolide for treatment of COVID-19: a multinational registry analysis. *Lancet*, Published online May 22, 2020 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31180-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31180-6)
92. MESQUITA, J. R. – HAKZE-VAN DER HONING, R. et al.: Outbreak of Porcine Epidemic Diarrhea Virus in Portugal, 2015. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2015. 62. 586–588.
93. MOGLER, M. A. – GANDER, J. – HARRIS, D. L. H.: Development of an alphavirus RNA particle vaccine against porcine epidemic diarrhoea virus. *Ann. Proc. Am. Assoc. Swine Vet.*, 2014. 63–64.
94. MONTEIL, V. – KWON, H. et al.: Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2. *Cell*, 2020. 181. 905–913.e7.
95. MOREIN, B. – HU, K. F. – ABUSUGRA, I.: Current status and potential application of ISCOMs in veterinary medicine. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2004. 56. 1367–1382.
96. MYINT, A. M. – SCHWARZ, M. J. et al.: Neuropsychiatric disorders related to interferon and interleukins treatment. *Metab. Brain. Dis.*, 2009. 24. 55–68.
97. NAGY, B. – NAGY, G. – MEDER, M. – MOCÁRI, E.: Enterotoxigenic *Escherichia coli*, rotavirus, porcine epidemic diarrhoea virus, adenovirus and calici-like virus in porcine postweaning diarrhoea in Hungary. *Acta Vet. Hung.*, 1996. 44. 9–19.
98. NIEDERWERDER, M. C. – HESSE, R. A.: Swine enteric coronavirus disease: A review of 4 years with porcine epidemic diarrhoea virus and porcine deltacoronavirus in the United States and Canada. *Transbound. Emerg. Dis.*, 2018. 65. 660–675.
99. OLDHAM, J.: Letter to the editor. *Pig Farming*. 1972. suppl:72–73.
100. PALTRINIERI, S. – CAMMARATA, M. P. et al.: Some aspects of humoral and cellular immunity in naturally occurring feline infectious peritonitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 1998. 65. 205–220.
101. PEDERSEN, N. C. – EVERMANN, J. F. et al.: Pathogenicity studies of feline coronavirus isolates 79-1146 and 79-1683. *Am. J. Vet. Res.*, 1984. 45. 2580–2585.
102. PEDERSEN, N. C. – LIU, H. et al.: A. Significance of coronavirus mutants in feces and diseased tissues of cats suffering from feline infectious peritonitis. *Viruses*, 2009. 1. 166–184.
103. PEDERSEN, N. C. – PERRON, M. et al.: Efficacy and safety of the nucleoside analog GS-441524 for treatment of cats with naturally occurring feline infectious peritonitis. *J. Feline Med. Surg.*, 2019. 21. 271–281.
104. PENSART, M. B. – MARTELLI, P.: Porcine epidemic diarrhea: A retrospect from Europe and matters of debate. *Virus Res.*, 2016. 226. 1–6.
105. PENSART, M. B. – DE BOUCK, P.: A new coronavirus-like particle associated with diarrhea in swine. *Arch. Virol.*, 1978. 58. 243–247.
106. PIJERS, A. – VAN NIEUWSTADT, A. P. et al.: Porcine epidemic diarrhoea virus as a cause of persistent diarrhoea in a herd of breeding and finishing pigs. *Vet Rec.*, 1993. 132(6):129–31.
107. PRATELLI, A. – TINELLI, A. et al.: Safety and efficacy of a modified-live canine coronavirus vaccine in dogs. *Vet. Microbiol.*, 2004. 99. 43–49.

108. PRITCHARD, G. C. – PATON, D. J. et al.: Transmissible gastroenteritis and porcine epidemic diarrhoea in Britain. *Vet Rec.*, 1999. 144. 616–618.
109. QINGXIAN, C. – YANG, M. et al.: Experimental Treatment with Favipiravir for COVID-19: An Open-Label Control Study. *Engineering (Beijing)*, 2020. March 18. Online ahead of print.
110. QUINLAN, B. D. – MOU, H. et al.: The SARS-CoV-2 receptor-binding domain elicits a potent neutralizing response without antibody-dependent enhancement. *bioRxiv*, 2020.04.10.036418
111. QUINTEROS, J. A. – LEE, S. W. et al.: Full genome analysis of Australian infectious bronchitis viruses suggests frequent recombination events between vaccine strains and multiple phylogenetically distant avian coronaviruses of unknown origin. *Vet. Microbiol.*, 2016. 197. 27–38.
112. RAPP-GABRIELSON, V. J. – FREDERICKSON, D. F. et al.: Field efficacy of an experimental Porcine Epidemic Diarrhea (PED) vaccine administered to pregnant sows. *North American PRRS Symposium*, 2014. abstract 80.
113. RIVERA-FIGUEROA, E. I. – SANTOS, R. et al.: Incomplete Kawasaki Disease in a Child with Covid-19 [published online ahead of print, 2020 May 9]. *Indian Pediatr.*, 2020. S097475591600179.
114. ROSSI, G. – CORNARO, C. et al.: Production of IFN- γ in feline whole blood after incubation with potential T-cell epitopes of the nucleocapsid protein of feline coronavirus. *Vet. Microbiol.*, 2011. 150. 248–256.
115. SARDU, C. – GAMBARELLA, J. et al.: Hypertension, Thrombosis, Kidney Failure, and Diabetes: Is COVID-19 an Endothelial Disease? A Comprehensive Evaluation of Clinical and Basic Evidence. *J. Clin. Med.*, 2020. 9. E1417.
116. SATO, T. – OROKU, K. et al.: Efficacy of genogroup 1 based porcine epidemic diarrhoea live vaccine against genogroup 2 field strain in Japan. *Viral J.*, 2018. 15. 28.
117. SATO, T. – TAKEYAMA, N. et al.: Mutations in the spike gene of porcine epidemic diarrhoea virus associated with growth adaptation *in vitro* and attenuation of virulence *in vivo*. *Virus Genes.*, 2011. 43. 72–78.
118. SCHINDEWOLF, C. – MENACHERY, V. D.: Middle East Respiratory Syndrome Vaccine Candidates: Cautious Optimism. *Viruses*, 2019. 11. 74.
119. SCHMIDT, R. – BELTZIG, L. C. et al.: Generation of therapeutic antisera for emerging viral infections. *NPJ Vaccines*, 2018. 3. 42–10.
120. SCHMITH, V. D. – ZHOU, J. – LOHMER, L. R. L.: The Approved Dose of Ivermectin Alone is not the Ideal Dose for the Treatment of COVID-19. *medRxiv*, 2020.04.21. 20073262.
121. SHEAHAN, T. P. – SIMS, A. C. et al.: Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses. *Sci. Transl. Med.*, 2017. 9. eaal3653.
122. SHEAHAN, T. P. – SIMS, A. C. et al.: Comparative therapeutic efficacy of remdesivir and combination lopinavir, ritonavir, and interferon beta against MERS-CoV. *Nat. Commun.*, 2020. 11. 1–14.
123. SHIEH, W. J. – HSIAO, C. H. et al.: Immunohistochemical, *in situ* hybridization, and ultrastructural localization of SARS-associated coronavirus in lung of a fatal case of severe acute respiratory syndrome in Taiwan. *Hum. Pathol.*, 2005. 36. 303–309.
124. SHIN, Y. W. – CHANG, K. H. et al.: Selection of Vaccinia Virus-Neutralizing Antibody from a Phage-Display Human-Antibody Library. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2019. 29. 651–657.
125. SHIRATO, K. – MAEJIMA, M. et al.: Porcine aminopeptidase N is not a cellular receptor of porcine epidemic diarrhoea virus, but promotes its infectivity via aminopeptidase activity. *J. Gen. Virol.*, 2016. 97. 2528–2539.
126. SILVA BORBA, M. G. – DE ALMEIDA VAL, F. et al.: Chloroquine diphosphate in two different dosages as adjunctive therapy of hospitalized patients with severe respiratory syndrome in the context of coronavirus (SARS-CoV-2) infection: Preliminary safety results of a randomized, double-blinded, phase IIb clinical trial (CloroCovid-19 Study). *medRxiv preprint*, 2020.04.07. 20056424.
127. SONG, D. – MOON, H. – KANG, B.: Porcine epidemic diarrhoea: a review of current epidemiology and available vaccines. *Clin. Exp. Vaccine Res.*, 2015. 4. 166–176.
128. SONG, D. S. – OH, J. S. et al.: Oral efficacy of Vero cell attenuated porcine epidemic diarrhoea virus DR13 strain. *Res. Vet. Sci.* 2007. 82. 134–140.
129. STADLER, J. – ZOELS, S. et al.: Emergence of porcine epidemic diarrhoea virus in southern Germany. *BMC Vet. Res.*, 2015. 11. 142.
130. STEINRIGL, A. – FERNÁNDEZ, S. R. et al.: First detection, clinical presentation and phylogenetic characterization of Porcine epidemic diarrhoea virus in Austria. *BMC Vet. Res.*, 2015. 11. 310.
131. STOWER, H.: Lopinavir-ritonavir in severe COVID-19. *Nat. Med.*, 2020. 26. 465.
132. SUI, J. – DEMING, M. et al.: Effects of human anti-spike protein receptor binding domain antibodies on severe acute respiratory syndrome coronavirus neutralization escape and fitness. *J. Virol.*, 2014. 88. 13769–13780.
133. SUN, R. Q. – CAI, R. J. et al.: Outbreak of porcine epidemic diarrhoea in suckling piglets, China. *Emerg. Infect. Dis.*, 2012. 18. 161–163.
134. SUZUKI T. – YAMAYA, M.: et al.: Erythromycin inhibits rhinovirus infection in cultured human tracheal epithelial cells. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.*, 2002. 165. 1113–1118.
135. TAKAHASHI, K. – OKADA, K. – OHSHIMA, K.: An outbreak of swine diarrhoea of a new-type associated with coronavirus-like particles in Japan. *Nihon Juigaku Zasshi*, 1983.45. 829–832.
136. TAKANO, T. – MORIOKA, H. et al.: Screening and identification of T helper 1 and linear immunodominant antibody-binding epitopes in spike 1 domain and membrane protein of feline infectious peritonitis virus. *Vaccine*, 2014. 32. 1834–1840.
137. THOR, S. W. – HILT, D. A. et al.: Recombination in avian gamma-coronavirus infectious bronchitis virus. *Viruses*, 2011. 3. 1777–1799.
138. TIAN, Y. – RONG, L. et al.: Review article: gastrointestinal features in COVID-19 and the possibility of faecal transmission. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2020. 51. 843–851.
139. TIAN, Y. – YU, Z. et al.: Molecular characterization and phylogenetic analysis of new variants of the porcine epidemic diarrhoea virus in Gansu, China in 2012. *Viruses*, 2013. 5. 1991–2004.
140. TONG, Y. E. – FENG, L. – LI, W. J.: Development of attenuated vaccine strain of porcine epidemic diarrhoea virus. *Chin. Anim. Infect. Dis.*, 1998. 20. 329–332.
141. TONG, Y. E. – FENG, L. – LI, W. J.: Development of bi-combined attenuated vaccine against transmissible gastroenteritis virus and porcine epidemic diarrhoea virus. *Chin. J. Prev. Vet. Med.*, 1999. 21. 406–410.
142. TOPLAK, I. – IPAVEC, M. et al.: Complete Genome Sequence of the Porcine Epidemic Diarrhoea Virus Strain SLO/JH-11/2015. *Genome Announc.*, 2016. 4. pii: e01725–15.

143. TOTURA, A. L. – WHITMORE, A. et al.: Toll-Like Receptor 3 Signaling via TRIF Contributes to a Protective Innate Immune Response to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Infection. *mBio.*, 2015. 6(3):e00638–15.
144. TSIORIS, K. – GUPTA, N. T. et al.: Neutralizing antibodies against West Nile virus identified directly from human B cells by single-cell analysis and next generation sequencing. *Integr. Biol. (Camb.)*, 2015. 7. 1587–1597.
145. TUBOLY T.: Újabb ismeretek a sertések enterális koronavírusról. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 1996. 51. 361–365.
146. VALK, S. J. – PIECHOTTA, V. et al.: Convalescent plasma or hyperimmune immunoglobulin for people with COVID-19: a rapid review. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2020. 5:CD013600. Published 2020 May 14.
147. VALKÓ, A. – ALBERT, E. – CSÁGOLA, A. – VARGA, T. – KISS, K. – FARKAS, R. – RÓNAI, Z. – BIKSI, I. – DÁN, Á.: Isolation and characterisation of porcine epidemic diarrhoea virus in Hungary – Short communication. *Acta Vet Hung.*, 2019. 67. 307–313.
148. VALKÓ, A. – BIKSI, I. – CSÁGOLA, A. – TUBOLY, T. – KISS, K. – URSU, K. – DÁN, Á.: Porcine epidemic diarrhoea virus with a recombinant S gene detected in Hungary, 2016. *Acta Vet Hung.*, 2017. 65. 253–261.
149. VARGA J. – TUBOLY S. – MÉSZÁROS J.: A csirke fertőző bronchitis., in: VARGA, J. (Ed.): *A háziállatok fertőző betegségei*. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 1999. 481–486.
150. VINER, R. M. – WHITTAKER, E.: Kawasaki-like disease: emerging complication during the COVID-19 pandemic [published online ahead of print, 2020 May 13]. *Lancet*, 2020. 10.1016/S0140-6736(20)31129-6.
151. VOGEL, A. B. – LAMBERT, L. et al.: Self-Amplifying RNA Vaccines Give Equivalent Protection against Influenza to mRNA Vaccines but at Much Lower Doses. *Mol. Ther.*, 2018. 26. 446–455.
152. VOLZ, A. – SUTTER, G.: Modified Vaccinia Virus Ankara: History, Value in Basic Research, and Current Perspectives for Vaccine Development. *Adv. Virus Res.*, 2017. 97. 187–243.
153. WANG, C. – LI, W. et al.: A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection. *Nat. Commun.*, 2020. 11. 2251.
154. WANG, D. – FANG, L. – XIAO, S.: Porcine epidemic diarrhea in China. *Virus Res.*, 2016. 226. 7–13.
155. WANG, J. – ZHAO, P. et al.: Porcine epidemic diarrhea virus variants with high pathogenicity, China. *Emerg. Infect. Dis.*, 2013. 19. 2048–2049.
156. WANG, Y. – ZHANG, D. et al.: Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet*, 2020. 395. 1569–1578.
157. WILLIAMSON, B. N. – FELDMANN, F. et al.: Clinical benefit of remdesivir in rhesus macaques infected with SARS-CoV-2. *bioRxiv*, 2020. published online April 22.
158. WOLFE, L. G. – GRIESEMER, R. A.: Feline infectious peritonitis. *Pathol. Vet.*, 1966. 3. 255–270.
159. WOOD, E. N.: An apparently new syndrome of porcine epidemic diarrhoea. *Vet. Rec.*, 1977. 100. 243–244.
160. XIA, S. – LIU, M. et al.: Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion. *Cell Res.*, 2020. 30. 343–355.
161. XIA, S. – YAN, L. et al.: A pan-coronavirus fusion inhibitor targeting the HR1 domain of human coronavirus spike. *Sci. Adv.*, 2019. 5:eaav4580. Published 2019 Apr 10.
162. XU, J. – JIA, W. et al.: Antibodies and vaccines against Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Emerg. Microbes. Infect.*, 2019. 8. 841–856.
163. YANG, S. N. Y. – ATKINSON, S. C. – WANG, C.: The broad spectrum antiviral ivermectin targets the host nuclear transport importin α/β heterodimer. *Antiviral Res.*, 2020. 177:104760.
164. YAO, X. – YE, F. et al.: *In vitro* antiviral activity and projection of optimized dosing design of hydroxychloroquine for the treatment of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin. Infect. Dis.*, 2020. [PMID: 32150618]
165. YASUI, F. – KOHARA, M. et al.: Phagocytic cells contribute to the antibody-mediated elimination of pulmonary-infected SARS coronavirus. *Virology*, 2014. 454–455. 157–168.
166. YE, M. – FU, D. et al.: Treatment with convalescent plasma for COVID-19 patients in Wuhan, China [published online ahead of print, 2020 Apr 15]. *J. Med. Virol.*, 2020. 10.1002/jmv.25882.
167. ZHANG, L. – LIN, D. et al.: Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α -ketoamide inhibitors. *Science*, 2020. 368. 409–412.
168. ZHOU, G. – ZHAO, Q.: Perspectives on therapeutic neutralizing antibodies against the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Int. J. Biol. Sci.*, 2020. 16. 1718–1723.
169. ZUÑIGA, S. – PASCUAL-IGLESIAS, A. et al.: Virulence Factors in Porcine Coronaviruses and Vaccine Design. *Virus Res.*, 2016. 226. 142–151.

Közlésre érke.: 2020. máj. 26.