



Projektleder KU/SSI	Yuan Liang
Projektgruppe	Lars Erik Larsen, Charlotte Hjulsager
Fagfællebedømmer	-
Kontaktperson i FVST	Sten Mortensen, Pernille Dahl Nielsen, Lone Thing Mortensen

Dato for henvendelse	Dato for svarfrist	Dato for afsendelse	Versionsnummer
2. februar 2022	23/2-2022; udskudt til start april	06/04-2022	1

Journalnummer/sagsnummer	FVST 2022-14-81-18441	KU 061-0274/22-3680	SSI 22/00730
--------------------------	--------------------------	------------------------	-----------------

Bestilling vedr.

› Vacciner mod aviær influenza

Der ønskes en redegørelse for hvilke vacciner mod aviær influenza til brug i fjerkræ og fugle der findes.

Resumé og sammenfatning

Inden for de sidste år har flere europæiske lande oplevet massive dødsfalder af vilde fugle smittet med højpatogen aviær influenza virus (HPAIV). Disse virus har også ramt tusindevis af fjerkræbesætninger og hobbyfarme. På baggrund af den økonomiske og velfærdsmæssige byrde, er der blevet sat fokus på implementeringen af flere AIV-smitteforebyggende strategier blandt fjerkræ.

I denne bestilling redegør DK-VET for forskellige tilgængelige typer af AIV-vacciner og giver et overblik over de nuværende, registrerede AIV-vacciner samt eksperimentelt undersøgt vacciner. De vigtigste vaccinetyper, som er inaktiverede vacciner, levende AIV-virusvacciner, virusvektormæssige vacciner, nukleinsyrerevacciner og virus-lignende partikelvacciner omtales. De vacciner der er gennemgået fremgår af Tabel 1 (registrerede AIV-vacciner til anvendelse i fjerkræ eller ved nødvaccination), Bilag 1 (oversigt over afprøvninger af de registrerede, kommersielle AIV-vacciner) og Bilag 2 (eksperimentelt undersøgte vacciner mod AIV som ikke er registreret til kommersielt brug).

Der er i dag mange forskellige AIV-vacciner på markedet, dog med betydelige forskelle i beskyttelseseffektivitet og varighed. De fleste vacciner, der er registreret i dag, er inaktiverede vacciner. Det er estimeret at 95.5% af alle AIV vaccinatedoser, der blev produceret og administreret mellem 2002-2010, var inaktiverede virusvacciner. Disse vacciner har generelt en høj effektivitet og specificitet, hvilket kan betyde mindre krydsbeskyttelse i sammenhænge, hvor der er mange forskellige cirkulerende AIV. Udskillelse af virus bliver reduceret af alle kommersielle vacciner, men de yder ikke fuldstændig steriliserende immunitet blandt forsøgsfugle.

På trods af at der de seneste 25 år har været fokus på udvikling af vacciner mod influenza A virus i fjerkræ, svin samt mennesker, er der endnu ikke udviklet en vaccine, der giver bred beskyttelse mod alle relevante virussubtyper og -varianter. Da det ikke er muligt at forudsige hvilke virusvarianter, der vil give anledning til kommende epidemier og udbrud, er det ikke muligt at forudsige effekten af forebyggende vaccination på dødelighed, graden af kliniske tegn, virusudskillelse mm. I nogle situationer vil vaccination beskytte mod kliniske tegn, men de smittede fugle vil stadig kunne udskille virus og kunne smitte andre fugle og mennesker. Dette betyder at overvågning for HPAI i tamfjerkræ ikke som nu kan baseres på klinisk overvågning. Vaccineret fjerkræ vil endvidere udvikle antistoffer, hvilket vil besværliggøre overvågning baseret på serologi, hvis vaccinerne ikke har et robust DIVA-element. Forebyggende vaccination vil derfor



indebære en række udfordringer vedr. overvågning, deklaration af negativ status samt indebære en risiko spredning af virus til andre besætninger samt mennesker.



Indholdsfortegnelse

Resumé og sammenfatning	1
Baggrund	4
Aviær influenza vaccineplatforme	4
Inaktiverede virusvacciner.....	4
Levende AIV-virusvacciner	4
Virusvektorvacciner.....	5
Nukleinsyrevacciner	5
Virus-lignende partikelvacciner	5
Andre vaccineplatforme	5
DIVA-strategi.....	6
Diskussion	8
Konklusion.....	10
Referencer	11
Bilag	15



Baggrund

I de seneste år, har højpatogen aviær influenza virus (HPAIV) vist sig at være en stor økonomisk og velfærdsmæssig byrde for fjerkræsektoren. Danmark oplevede det første udbrud af HPAIV i en kommercial fjerkræbesætning i november 2020 og siden har der været yderligere udbrud i både kommercielle og hobby fjerkræbesætninger. Inden for de seneste to år er mere end 400.000 fjerkræ døde eller blevet aflivet i Danmark som følge af HPAIV-udbrud.

Den nuværende strategi for forebyggelse og bekæmpelse af fugleinfluenza i Europa og i Danmark er baseret på smittebeskyttelse i de enkelte fjerkræbesætninger og en ikke-vaccinationspolitik. HPAIV i vilde fugle har været et tilbagevendende problem i hver vintersæson i Europa siden 2014 og har ført til mange udbrud i fjerkræbesætninger i Europa, inklusiv i Danmark. Da denne epidemiologiske situation kan forventes at fortsætte, er det nødvendigt at undersøge om vaccination af fjerkræbesætninger, kan blive en del af en fremtidig strategi med henblik på at reducere antallet af udbrud i fjerkræbesætninger. Den nuværende fælles-europæiske lovgivning giver mulighed for en vaccinationsstrategi ved brug af vacciner, hvor der fortsat kan overvåges for spredning af aviær influenza virus (AIV) blandt vaccinerede fugle. I nogle lande hvor HPAIV er endemisk (Egypten, Mexico, Vietnam, Bangladesh, Kina og Indonesien) er vaccinationsstrategien allerede taget i brug. Disse lande har generelt oplevet nedsat dødelighed blandt vaccineret fjerkræ og færre tilfælde af AIV-infektioner i mennesker (Peyre et al., 2009; David E. Swayne, 2012).

I denne besvarelse gives et overblik over hidtil anvendte og registrerede vacciner imod AIV samt en beskrivelse af vaccinationsteknologier, der er relevante for AIV-vacciner. Der kan være flere vacciner end de, der er omtalt i denne besvarelse.

Aviær influenza vaccineplatforme

Inaktiverede virusvacciner

En inaktiveret virusvaccine indeholder hele eller dele af viruspartikler, som er blevet enten kemisk eller fysisk inaktiveret. For AIV-vacciner af denne type bliver virus typisk dyrket i embryonerede hønseæg. Virus inaktiveres herefter kemisk med f.eks. β -propiolactone, formalin eller binær ethyleneimine, og emulgeres med alum eller mineralsk olie som adjuvans. Denne type vaccine inducerer generelt en høj antistofbeskyttelse og mindsker udskillelse af virus (Tabel 2) (Bilag 1). I dag er de fleste registrerede vacciner mod AIV inaktiverede vacciner (Tabel 1).

Levende AIV-virusvacciner

Levende vacciner indeholder levende, infektiøse viruspartikler. Vaccinestammen er enten ikke patogen i sig selv, eller virus er genetisk attenueret. Attenueringen kan f.eks. opnås ved gentagen passage af virus i æg til det muterer til en ikke-patogen form, ved at designe specifikke rekombinante AIV, ved at ændre det polybasiske kløvningssted i HPAIV haemagglutinin (HA)-genet til at blive monobasisk, eller ved trunkering af nonstructural protein 1 (NS1)-genet. Det er før blevet vist, at levende, attenuerede vacciner kan inducere en bredere og længerevarende immunitet end inaktiverede vacciner (Gambaryan et al., 2012). På grund af risikoen for reassortering mellem vaccinestamme og feltvirus samt risiko for ikke at bibringe attenueringen, bliver denne type af vacciner ikke kommercielt anvendt til at vaccinere fjerkræ, men er blevet undersøgt under eksperimentelle forhold (Bilag 2).



Virusvektorvacciner

Rekombinante virusvektorvacciner, er baseret på ekspression af et AIV-gen i en virusvektor, såsom kalkunherpesvirus (HVT), hønsekoppevirus (FPV), ande-enteritisvirus (DEV), og fjerkræpestvirus (NDV) (Tabel 1). Andre rekombinante virusvektorvacciner er blevet undersøgt i eksperimentel sammenhæng (Bilag 2). Virusvektorvacciner er især i stand til at inducere en høj celleimmunitet, som kan bevirke en god krydsbeskyttelse overfor AIV med forskellig sub- eller genotype. Ingen AIV virusvektorvacciner er imidlertid godkendt til kommersIELT brug i Europa, men de anvendes i lande uden for EU (Tabel 1).

Nukleinsyrevacciner

Nukleinsyrevacciner kan enten være DNA- eller RNA-vacciner. DNA-vacciner fremstilles ved at indsætte et eller flere relevante gener i et plasmid, som for influenzavacciner er HA- og/eller neuraminidase (NA)-generne. I værtscellerne kan disse transkriberes til messenger RNA (mRNA), og derefter translateres til virale proteiner, som derefter præsenteres for immunsystemet. RNA-vacciner indeholder mRNA som direkte i værtscellerne kan translateres til proteiner. RNA-vacciner kan enten være i stand til at replikere sig i cellerne eller være replikationsinkompetente.

Nukleinsyrevacciner mod AIV er blevet undersøgt eksperimentelt (Bilag 2).

Virus-lignende partikelvacciner

Virus-lignende partikler, VLP, er en vaccinestrategi med høj sikkerhed samt effektivitet. VLP'er består af virale proteinkomplekser, ofte capsid- eller membranproteiner, der kan samles i partikler med samme konformation som forældrevirusset. Den høje sikkerhed skyldes at disse partikelkomplekser ikke er infektiøse. VLP-vacciner mod AIV produceres med forskellige kombinationer af matrix protein 1 (M1), matrix protein 2 (M2), HA og NA-proteinerne, og er blevet undersøgt i flere eksperimentelle sammenhænge (Bilag 2). Kombinationen af HA-stem-domænet og M2-ektodomæner i VLP'er har vist sig at være stærkt immunogene og er i stand til at inducere en bred beskyttende effekt (Steel et al., 2010; Yong et al., 2015; Ong et al., 2019; Smith et al., 2020). Bakterie-lignende partikler (BLP) er også blevet undersøgt (Song et al., 2021). Denne vaccine var i stand til at elicitere en kraftig humoral reaktion i både mus og høns uden tilføjelse af adjuvanser.

Flere forskellige VLP-vacciner er indtil videre blevet undersøgt under eksperimentelle forhold (Bilag 2). Generelt er det blevet vist, at denne type vacciner er effektive og sikre (Tabel 2).

Andre vaccineplatforme

Andre typer af vacciner er blevet testet eksperimentelt, men er ikke registreret til kommersIELT brug (Bilag 2). Et studie testede en rekombinant *Salmonella typhimurium* DNA vaccine mod AIV H9N2 (Pan et al., 2009). Især i kombination med en inaktivert vaccine som booster, inducerede vaccinen både et robust antistof- og cellulært respons. Et andet studie undersøgte et HA-gen udtrykt i *Lemna minor* (Bertran et al., 2015). Mod en homolog virus challenge var der 100% beskyttelse af vaccinerede høns, hvorimod beskyttelsen var suboptimal ved heterolog virus challenge. Andre plante-baserede ekspressionssystemer til fremstillelse af AIV-vacciner er også blevet undersøgt (Bilag 2).

RNA-partikler som AIV-vaccineplatform er også blevet undersøgt. En alphavirus replicon RNA-partikelvaccine har således i dag en betinget godkendelse i USA (Bilag 2). I denne vaccine bliver de strukturelle gener i en Venezuelan equine encephalitis virus erstattet med et AIV HA-gen (Ladman et al., 2019). I et studie hvor effektiviteten af vaccinen blev undersøgt, blev en gruppe æglæggere vaccineret og 18 uger efter inficeret med en homolog virus. Alle vaccinerede høns overlevede infektionen, og 8/25 dyr udviste milde kliniske tegn. En H7-udgave af vaccinen er også blevet undersøgt, hvor vaccinerede høns kun



var 85% beskyttede efter infektion med en homolog virus (Spackman et al., 2021). Ved sammenligning af udskillelse af virus mellem immuniserede og naïve høns, var der ingen signifikant forskel.

DIVA-strategi

"Differentiating Infected from Vaccinated Animals" (DIVA), er en strategi hvormed der kan skelnes mellem vaccinerede og naturligt inficerede fugle (Hasan et al., 2016). Med en DIVA vaccinationsstrategi kan man adskille om et antistofrespons er induceret af vaccinen og ikke skyldes naturlig infektion. Det er derfor påkrævet af DIVA-programmerne er sensitive, specifikke og omkostningseffektive.

En af DIVA-strategierne for AIV-vacciner baseres på den manglende krydsreaktivitet mellem NA-subtyperne. Ved at forsikre at HA-subtypen i vaccinestammen er den samme subtype som det virus der vaccineres mod, mens NA-subtypen i vaccinen er en anden end i vildtypevirus, kan der dermed differentieres mellem antistofrespons induceret af vaccinen eller ved naturlig infektion. Denne strategi blev første gang brugt i feltet i Italien, hvor en inaktiveret heterolog vaccine blev brugt til at kontrollere lavpatogen aviær influenza virus (LPAIV) H7N1 i 1999-2000 (Ilaria Capua et al., 2003). Denne vaccine var baseret på den samme HA-subtype (H7) som vildtypevirus, men indeholdt en anden NA-subtype (N3). Den tilknyttede DIVA-test, var en indirekte immunfluorescensantistoftest (IFAT), som var designet til at kunne påvise antistoffer mod vildtype NA-subtypen N1. Med den heterologe NA-strategi fik den italienske fjerkræbranche kontrolleret LPAIV H7N1 udbruddene. Denne strategi er imidlertid ikke egnet ved samtidig cirkulation af vildtypevirus med mange forskellige NA-subtyper, som har været tilfældet i de seneste AIV-sæsoner.

Sammen med vaccinationsstrategien mod LPAIV H7N1 i 1999/2000 i Italien, blev der også anvendt sentinelfugle i de overvågede fjerkræflokke for at detektere AIV-infektion (I. Capua et al., 2009). Det anbefales at sentinelfuglene udgør 1% af en fjerkræbestand. Disse fugle efterlades uvaccinerede og bliver rutinemæssigt serologisk testet ved haemagglutinininhibitions (HI)-test og/eller enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) rettet mod NP- eller HA-antistoffer, for at påvise om flokkene har været eksponeret for AIV. Denne strategi er den mest simple metode til påvisning af AIV-infektion.

I vacciner indeholdende hele virus, kan HA2, M2e og NS1 benyttes som infektionsmarkører, da inaktiverede vacciner indeholdende hele virus, typisk ikke vil inducere et antistofrespons mod disse (Suarez, 2012; Hasan et al., 2016). Her bør der tages højde for immunogeniciteten, hvor den f.eks. mod NS1 har vist sig også at være lav ved naturlig infektion, og at antistoffer der dermed produceres mod denne markør, ikke altid opnår et påviseligt niveau (Avellaneda et al., 2010). Modstridende observationer om varigheden af antistofresponset mod M2e og NS1 kan også være en begrænsende faktor for, at disse bliver benyttet som positivmarkører (Suarez, 2012; Hasan et al., 2016).

Adskillelsen af vaccinerede og inficerede dyr kan også være baseret på fraværet af et eller flere proteiner i vaccinen, som er til stede i vildtypevirus, dvs. vacciner der kun indeholder dele af virus. Strategien er at påvisning af antistoffer mod de proteiner, der er fraværende i vaccinen, er tegn på infektion med et virus der ikke er vaccinevirus. NP og MP er førhen blevet benyttet som positivmarkører, dvs. fraværende fra vaccinen, til identificering af en naturlig infektion (Suarez, 2012; Hasan et al., 2016). Imidlertid kan virusvacciner baseret på hele viruspartikler, typisk elicitere et mere bredspektret immunresponses end vacciner, der kun indeholder dele af virus.



En alternativ strategi er at indsætte en positivmarkør i vaccinen. Dette blev undersøgt for en inaktivert H7N9 DIVA-vaccine, hvor et epitop i HA2-proteinet fra H7N9 vaccinevirus blev erstattet med et epitop fra et H3N2 virus (Sun et al., 2021). Dette epitop kunne dermed bruges som positivmarkør til at skelne mellem vaccinerede og naturligt inficerede fugle.

Den oftest anvendte metode til differentiering af antistoffer er ELISA. Andre DIVA-test er baseret på IFAT, agar gel immunodiffusion tests (AGID) eller neuraminidaseinhibitions (NI)-tests, alt efter hvilken DIVA-vaccine der benyttes.

Tabel 1: Registrerede AIV vacciner til anvendelse i fjerkræ eller ved nødvaccination. Bemærk at der kan være flere vacciner end nævnt her.

Vaccinetype	Vaccine	Producent	Registreret i
Inaktivert vacciner	Nobilis Influenza H5N2	Merck	Egypten og Mexico
	Nobilis Influenza H7	Merck	-
	Nobilis Influenza H9	Merck	Mellemøsten og Nordamerika
	AI-VAC H5	Fatro	Egypten
	AI-VAC H9	Fatro	Egypten
	GALLIMUNE Flu H5N9	Merial	I Tyskland, Holland og Danmark til nødvaccination.
	GALLIMUNE 208	Merial	Mellemøsten
	BIO FLU H7N1+H5N9	Merial	Italien, Mexico og Vietnam
	Avian Influenza Vaccine, H5N1 subtype	Zoetis	Betinget godkendelse i USA
	EgyFlu	Harbin Veterinary Research Institute	Egypten
	CEVAC FLU-KEM	CEVA	Egypten
	MEFLUVAC H5N1	MEVAC	Egypten
	MEFLUVAC H9N2-16	MEVAC	Egypten
	SERA-VAC	Veterinary Serum and Vaccine Institute	Egypten
	Volvac (B.E.S.T.)	Boehringer Ingelheim	Egypten
	Reassortant AIV (strain Re-5)	Merial	Egypten
	Poulvac Flufend I AI H5N3 RG	Fort Dodge	I Portugal og Danmark til nødvaccination
	PA OLVAC PM+I (H6N2 og H9N2)	Fatro	Italien
	PA OLVAC I+E (H6N2 og H9N2)	Fatro	Italien
	Optimune AIV	Ceva Biomune	Egypten
	ITA-FLU	Laprovent	Egypten
	SER-VACC FLU	Veterinary Serum and Vaccine Institute	Egypten
	Bivalent H5/H7 vaccine	Ministry of Agricultural and Rural Affairs	Kina
	Trivalent H5-H5-H7 vaccine	Yebio	Kina
Virusvektorvacciner	Vectormune AI	CEVA	Egypten, Mexico, Bangladesh, Vietnam og USA
	TROVAC AIV H5	Merial	Mexico, Guatemala, El Salvador, Pakistan og USA. I Frankrig til nødvaccination
	Recombinant NDV-H5Nx	Avimex	Kina, Mexico og Egypten
	Recombinant NDV-H7Nx	Avimex	Kina, Mexico og Egypten
	Recombinant NDV-H9Nx	Avimex	Kina, Mexico og Egypten



Tabel 2: Fordeler og ulemper ved vaccinationsplatformene (kompileret fra de Vries et al., 2018; Yoo et al., 2018; Samia Metwally, Ahmed El Idrissi, 2021; Nurzijah et al., 2022).

Vaccineplatform	Fordele	Ulemper
Inaktiverede vacciner	<ul style="list-style-type: none"> ○ Høj sikkerhed ○ Robust antistofrespons 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Inducerer kun en svag cellulær immunitet ○ Én dosis inducerer en kortvarig beskyttelse ○ Kræver ofte flere doser
Levende AIV-virusvacciner	<ul style="list-style-type: none"> ○ Præsenterer epitoperne i deres native konformation ○ Inducerer også et cellulært respons 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Risiko for reassortering ○ Maternelle antistoffer kan påvirke responsen ○ Kan mutere tilbage til vildtypen ○ Mindre kompatibel med DIVA-strategier
Virusvektorvacciner	<ul style="list-style-type: none"> ○ Inducerer også et cellulært respons ○ Effektiv i heterolog prime-boost strategier ○ Specifik antigenpræsentation 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Kræver ofte flere doser ○ Vektor-specifik immunitet ○ Levende virus
Nukleinsyrevacciner	<ul style="list-style-type: none"> ○ Specifik antigenpræsentation ○ Inducerer også et cellulært respons 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Inducerer alene en svag beskyttelse ○ Kræver ofte flere doser eller må indgå i en prime-boost strategi
VLP-vacciner	<ul style="list-style-type: none"> ○ Høj sikkerhed ○ Præsenterer epitoperne i deres native konformation 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Kompliceret produktionsproces

Diskussion

De fleste vacciner, der er registreret i dag, er inaktiverede vacciner. Det er estimeret at 95.5% af alle AIV vaccinatedoser, der blev produceret og administreret mellem 2002-2010, var inaktiverede virusvacciner (D. E. Swayne et al., 2011). Disse vacciner har generelt en høj effektivitet og specificitet, hvilket kan betyde mindre krydsbeskyttelse i sammenhænge, hvor der er mange forskellige cirkulerende AIV. I situationer hvor fjerkræ bliver smittet med virus der er homolog med vaccinestammen, eller med et meget identisk virus, kan et specifikt respons yde en god og hurtig beskyttelse. Hvis virus derimod er meget anderledes fra vaccinevirus, kan en bredere, mere uspecifik immunrespons være mere effektiv. Udvikling af multivalente AIV-vacciner er et forsøg på samtidigt at forbedre effektiviteten mod virus af forskellige subtyper. I ét studie blev der udviklet en trivalent, inaktiveret vaccine, bestående af inaktiverede H5N1, H5N8 og H9N2 AIV, hvor en god beskyttende effekt kunne vises ved homolog challenge til alle tre virus (Gomaa et al., 2019). På tilsvarende vis kunne man producere en multivalent vaccine med flere forskellige H5-varianter, for at dække flere clades/subclades af H5 HPAIV. Selv med en bredt beskyttende vaccine, skal AIV-vacciner formentlig stadig opdateres løbende, for at elicitere den mest optimale beskyttelse, da den store genetiske variation mellem cirkulerende HPAIV hurtigt kan forælde vaccineen. Derudover er inaktiverede vacciner begrænset af produktionsmetoden, da nogle AIV ikke kan opformeres til mængder, der er tilstrækkelige til vaccineproduktion. Nyere vaccinestrategier er uafhængige af opformeringen af virus i hønseæg, så som f.eks. VLP-vacciner. De traditionelle vacciner der benyttes, har ikke været forbundet med betydelige bivirkninger.

På trods af at det under eksperimentelle forhold er vist, at adskillige AIV-vacciner inducerer et relativt robust immunrespons, der sænker morbiditeten, og i nogle tilfælde helt er i stand til at beskytte mod HPAIV-infektion (Bilag 1), skal der tages forbehold for, at der kan være større forskelle mellem vaccinationsstamme og cirkulerende virus i felten end under vaccineafprøvningen, samt at infektion af



forsøgsdyrene oftest foregår mellem 28-35 dage efter vaccination, hvor beskyttelsen endnu ikke er aftaget. Beskyttelsesniveauet i æglæggere, der kan leve op til 80-100 uger, er derfor ikke altid veldefineret.

Udskillelse af virus bliver reduceret af alle kommersielle vacciner, men de yder ikke fuldstændig steriliserende immunitet blandt forsøgsfugle (Bilag 1). Tilsvarende resultater er observeret i feltet, hvor vaccinationsprogrammerne i f.eks. Mexico, Bangladesh, og Indonesien, har haft en sygdomsbeskyttende effekt på fjerkræbesætninger, men med stor variation i vaccineeffektiviteten og uden at forhindre virusudskillelse (Lee et al., 2004; Bouma et al., 2008; Tarigan et al., 2018; Durr et al., 2019; Rimi et al., 2019). Derfor kan smitte i vaccinerede fuglebestande stadig være en stor risiko for yderligere spredning af HPAIV til andre besætninger i området samt til mennesker. Implementeringen af vaccinationsprogrammer i kommersielle fjerkræ har alligevel i nogle tilfælde vist sig, at være en vellykket metode til lokalt at minimere cirkulationen af AIV, samt at eliminere humane AIV-infektioner, et eksempel herpå er H7N9 fjerkrævaccinationsprogrammet i Kina (Zeng et al., 2018). Mellem 2013-2017 var der i alt 1568 humane H7N9 tilfælde, hvoraf 616 var fatale (WHO, 2022). I forsøg på kontrollere transmissionen af H7N9, blev der i september 2017 indført en H5/H7 bivalent, inaktiveret vaccine til administrering i fjerkræ. Der har sidenhen ikke været nye humane tilfælde med H7N9. AIV H7N9 er dog ikke fuldkommen udryddet i Kina. En undersøgelse fra 2021 viste, at de stadigt cirkulerende H7N9 virus i fjerkræ er genetisk afvigende fra vaccinestammen, og at de samtidigt gradvist har mistet affiniteten for humane receptorer (α 2,6-sialinsyre) (Yin et al., 2021). Vaccination mod H5 og H7 virus, har i andre områder af Kina, været i stand til at minimere forekomsten af begge virussubtyper, mens prævalensen af AIV med H9-subtypen er steget (Guo et al., 2021). På trods af at H9 virus er klassificeret som lavpatogene, er der flere eksempler på infektion af mennesker også med dødelig udgang. Siden 2015 har der været 71 humane tilfælde med H9N2, hvor to har været fatale (WHO, 2022). For at formindske smitte med AIV, er det derfor essentielt at et vaccinationsprogram er i stand til at elicitere et bredt beskyttende immunrespons på tværs af alle cirkulerende AIV sub- og genotyper. Derudover kan vacciner der ikke er opdaterede, og blot eliciterer en partiell beskyttelse mod cirkulerende AIV, øge selektionspresset på virus og derved drive forekomsten af "immune escape"-varianter (Q. Ma et al., 2014). Ved sammenligning af lande der anvender AIV-vacciner i fjerkræ, i forhold til lande der ikke vaccinerer, var både substitutionsraten og positiv selektion højere i viruspopulationer i de lande der havde implementeret vaccinationsprogrammer (Cattoli et al., 2011). Ved AIV-vaccination, er det derudover stadig væsentligt at overvåge cirkulerende LPAIV, da de er i stand til at videreført sig til at blive højpatogene, både ved drift (punktmutationer) og reassortering med andre AIV-varianter (Abdelwhab et al., 2013).

Hvis der i Danmark vaccineres mod HPAIV, således at infektion ikke længere kan detekteres ved observation af kliniske tegn, skal der på anden vis kunne udelukkes smitte og cirkulation af feltvirus. I henhold til den nuværende lovgivning skal en godkendt vaccine kunne kobles til en DIVA-strategi. Den nuværende situation med co-cirkulation af virusvarianter af mange forskellige sub- og genotyper samt fortsatte fremkost af nye varianter, gør det uegnet at benytte en heterolog NA i vaccinen som DIVA-strategi. Udvælgelsen af infektionsmarkører i vacciner begrænses af kortvarige antistofrespons og lav immunogenicitet mod disse. Derudover er DIVA-metoderne, der anvendes i dag, baseret på det serologiske respons, hvor der i teorien kan være situationer, hvor nyligt smittet fjerkræ ikke vil have serokonverteret før transport eller slagtning. En velvaccineret fjerkræflok, kan formodentlig stadig blive inficeret med AIV, særligt ved eksponering for en høj virusbelastning. Vaccination vil højst sandsynligvis reducere virusreplikationen, hvilket kan resultere i lav serokonvertering til markøren i DIVA-vaccinen, som i visse tilfælde dermed ikke vil kunne detekteres.



Med de mange forskellige varianter af HPAIV, der har cirkuleret i de sidste AIV-sæsoner, er det væsentligt, at der hurtigt og effektivt kan foretages en opdatering af vaccinestammen. De forskellige vaccineplatforme har alle betydelige fordele og ulemper, men den væsentligste problemstilling ved AIV vacciner har generelt været manglen på bred krydsbeskyttelse samt pålidelige DIVA-strategier.

Konklusion

På trods af at der de seneste 25 år har været fokus på udvikling af vacciner mod influenza A virus i fjerkræ, svin samt mennesker, er der endnu ikke udviklet en vaccine, der giver bred beskyttelse mod alle relevante virussubtyper og varianter. Da det ikke er muligt at forudsige hvilke virusvarianter, der vil give anledning til kommende epidemier og udbrud, er det ikke muligt at forudsige effekten af forebyggende vaccination på dødelighed, graden af kliniske tegn, virus udskillelse, m.m. I nogle situationer vil vaccination beskytte mod kliniske tegn, men de smittede fugle vil stadig kunne udskille virus og kunne smitte andre fugle og mennesker. Dette betyder at overvågning for HPAIV i tamfjerkræ ikke som nu kan baseres på klinisk overvågning. Vaccineret fjerkræ vil endvidere udvikle antistoffer, hvilket vil besværliggøre overvågning baseret på serologi, hvis vaccinerne ikke har et robust DIVA-element. Forebyggende vaccination vil derfor indebære en række udfordringer vedr. overvågning, deklaration af negativ status samt indebære en risiko for spredning af virus til andre besætninger samt mennesker.



Referencer

- Abdelwhab, E.M., J. Veits, and T.C. Mettenleiter, 2013: Genetic changes that accompanied shifts of low pathogenic avian influenza viruses toward higher pathogenicity in poultry. *Virulence* **4**, 441–452, DOI: 10.4161/viru.25710.
- Alexander, D.J., and G. Parsons, 1980: Protection of chickens against challenge with virulent influenza A viruses of H5N1 subtype conferred by prior infection with influenza A viruses of H5N1 subtype. *Arch. Virol.* **66**, 265–269, DOI: 10.1007/BF01314740.
- Avellaneda, G., E. Mundt, C.W. Lee, S. Jadhao, and D.L. Suarez, 2010: Differentiation of infected and vaccinated animals (DIVA) using the NS1 protein of avian influenza virus. *Avian Dis.* **54**, 278–286, DOI: 10.1637/8644-020409-Reg.1.
- Beato, M.S., M. Realpe-Quintero, F. Bonfante, M. Mancin, S. Ormelli, C. Terregino, C. Gonzalez-Hernandez, and I. Capua, 2013: Cross-clade protection against H5N1 HPAI strains recently isolated from commercial poultry in Egypt with a single dose of a baculovirus based vaccine. *Vaccine* **31**, 5075–5081, DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.08.073.
- Bertelsen, M.F., J. Klausen, E. Holm, C. Grøndahl, and P.H. Jørgensen, 2007: Serological response to vaccination against avian influenza in zoo-birds using an inactivated H5N9 vaccine. *Vaccine* **25**, 4345–4349, DOI: 10.1016/j.vaccine.2007.03.043.
- Bertran, K., C. Thomas, X. Guo, M. Bublot, N. Pritchard, J.T. Regan, K.M. Cox, J.R. Gasdaska, L.F. Dickey, D.R. Kapczynski, and D.E. Swayne, 2015: Expression of H5 hemagglutinin vaccine antigen in common duckweed (*Lemna minor*) protects against H5N1 high pathogenicity avian influenza virus challenge in immunized chickens. *Vaccine* **33**, 3456–3462, DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.05.076.
- Bouma, A., A.T. Muljono, A. Jatikusumah, A.J. Nell, S. Mudjiartiningsih, I. Dharmayanti, E.S. Siregar, I. Claassen, G. Koch, and J.A. Stegeman, 2008: Field trial for assessment of avian influenza vaccination effectiveness in Indonesia. *OIE Rev. Sci. Tech.* **27**, 633–642, DOI: 10.20506/rst.27.3.1823.
- Bublot, M., F. Le Gros, D. Nieddu, N. Pritchard, T.R. Mickle, D.E. Swayne, M. Bublot, A.F. Le Gros, A.D. Nieddu, B.N. Pritchard, T.R. Mickle, D.E. Swayne, and A. Sas, 2007: Efficacy of Two H5N9-Inactivated Vaccines Against Challenge with a Recent H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza Isolate from a Chicken in Thailand. *Avian Dis.* **50**, 331–337, DOI: 10.1637/7623-042706R.1.
- Capua, I., A. Schmitz, V. Jestin, G. Koch, and S. Marangon, 2009: Vaccination as a tool to combat introductions of notifiable avian influenza viruses in Europe, 2000 to 2006. *OIE Rev. Sci. Tech.* **28**, 245–259, DOI: 10.20506/rst.28.1.1861.
- Capua, Ilaria, C. Terregino, G. Cattoli, F. Mutinelli, and J.F. Rodriguez, 2003: Development of a DIVA (Differentiating Infected from Vaccinated Animals) strategy using a vaccine containing a heterologous neuraminidase for the control of avian influenza. *Avian Pathol.* **32**, 47–55, DOI: 10.1080/0307945021000070714.
- Cattoli, G., A. Fusaro, I. Monne, F. Coven, T. Joannis, H.S.A. El-Hamid, A.A. Hussein, C. Cornelius, N.M. Amarin, M. Mancin, E.C. Holmes, and I. Capua, 2011: Evidence for differing evolutionary dynamics of A/H5N1 viruses among countries applying or not applying avian influenza vaccination in poultry. *Vaccine* **29**, 9368–9375, DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.09.127.
- Chambers, T.M., Y. Kawaoka, and R.G. Webster, 1988: Protection of chickens from lethal influenza infection by vaccinia-expressed hemagglutinin. *Virology* **167**, 414–421, DOI: 10.1016/0042-6822(88)90103-1.
- de Vries, R.D., S. Herfst, and M. Richard, 2018: Avian influenza A virus pandemic preparedness and vaccine development. *Vaccines* **6**, 1–16, DOI: 10.3390/vaccines6030046.
- Durr, P.A., R. Indriani, P. Selleck, A.R.M. Adjid, T. Syafriati, and J. Ignjatovic, 2019: Developing farm-level post-vaccination sero-monitoring systems for H5N1 highly pathogenic avian influenza in an endemically infected country. *Front. Vet. Sci.* **5**, 1–11, DOI: 10.3389/fvets.2018.00324.
- El-Shall, N.A., A.M. Awad, and M.E. Sedeik, 2021: Examination of the protective efficacy of two avian influenza H5 vaccines against clade 2.3.4.4b H5N8 highly pathogenic avian influenza virus in commercial broilers. *Res. Vet. Sci.* **140**, 125–133, DOI: 10.1016/j.rvsc.2021.08.012.
- Feldman, R.A., R. Fuhr, I. Smolenov, A. (Mick)Ribeiro, L. Panther, M. Watson, J.J. Senn, M. Smith, Örn Almarsson, H.S. Pujar, M.E. Laska, J. Thompson, T. Zaks, and G. Ciaramella, 2019: mRNA vaccines against H10N8 and H7N9 influenza viruses of pandemic potential are immunogenic and well tolerated in healthy adults in phase 1 randomized clinical trials. *Vaccine* **37**, 3326–3334, DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.04.074.
- Gambaryan, A.S., N.F. Lomakina, E.Y. Boravleva, E.A. Kropotkina, V. V. Mashin, I. V. Krasilnikov, A.I. Klimov, and L.G. Rudenko, 2012: Comparative safety, immunogenicity, and efficacy of several anti-H5N1 influenza experimental vaccines in a mouse and chicken models (Testing of killed and live H5 vaccine). *Influenza Other Respi. Viruses* **6**, 188–195, DOI: 10.1111/j.1750-



2659.2011.00291.x.

- Gao, W., A.C. Soloff, X. Lu, A. Montecalvo, D.C. Nguyen, Y. Matsuoka, P.D. Robbins, D.E. Swayne, R.O. Donis, J.M. Katz, S.M. Barratt-Boyes, and A. Gambotto, 2006: Protection of Mice and Poultry from Lethal H5N1 Avian Influenza Virus through Adenovirus-Based Immunization. *J. Virol.* **80**, 1959–1964, DOI: 10.1128/jvi.80.4.1959-1964.2006.
- Gomaa, M.R., A.A. Khalil, A. Kandeil, J.S.M. Sabir, A. Kayed, Y. Moatasim, M.F. El saied, M.M. El-safty, G. Kayali, and M.A. Ali, 2019: Development of an effective contemporary trivalent avian influenza vaccine against circulating H5N1, H5N8, and H9N2 in Egypt. *Poul. Sci.* **98**, 6289–6295, DOI: 10.3382/ps/pez385.
- Guo, J., W. Song, X. Ni, W. Liu, J. Wu, W. Xia, X. Zhou, W. Wang, F. He, X. Wang, G. Fan, K. Zhou, H. Chen, and S. Chen, 2021: Pathogen change of avian influenza virus in the live poultry market before and after vaccination of poultry in southern China. *Virol. J.* **18**, 1–8, DOI: 10.1186/s12985-021-01683-0.
- Hasan, N.H., J. Ignjatovic, A. Peaston, and F. Hemmatzadeh, 2016: Avian influenza virus and DIVA strategies. *Viral Immunol.* **29**, 198–211, DOI: 10.1089/vim.2015.0127.
- Hu, J., P. Peng, J. Li, Q. Zhang, R. Li, X. Wang, M. Gu, Z. Hu, S. Hu, X. Liu, X. Jiao, D. Peng, and X. Liu, 2021: Single Dose of Bivalent H5 and H7 Influenza Virus-Like Particle Protects Chickens Against Highly Pathogenic H5N1 and H7N9 Avian Influenza Viruses. *Front. Vet. Sci.* **8**, 1–15, DOI: 10.3389/fvets.2021.774630.
- Hunt, L.A., D.W. Brown, H.L. Robinson, C.W. Naeve, and R.G. Webster, 1988: Retrovirus-expressed hemagglutinin protects against lethal influenza virus infections. *J. Virol.* **62**, 3014–3019, DOI: 10.1128/jvi.62.8.3014-3019.1988.
- Kandeil, A., J.S.M. Sabir, A. Abdelaal, E.H. Mattar, A.N. El-Taweel, M.J. Sabir, A.A. Khalil, R. Webby, G. Kayali, and M.A. Ali, 2018: Efficacy of commercial vaccines against newly emerging avian influenza H5N8 virus in Egypt. *Sci. Rep.* **8**, 1–6, DOI: 10.1038/s41598-018-28057-x.
- Kang, H.J., K.B. Chu, D.H. Lee, S.H. Lee, B.R. Park, M.C. Kim, S.M. Kang, and F.S. Quan, 2018: Influenza M2 virus-like particle vaccination enhances protection in combination with avian influenza HA VLPs. *PLoS One* **14**, 1–14, DOI: 10.1371/journal.pone.0216871.
- Kang, Y.M., H.K. Cho, J.H. Kim, S.J. Lee, S.J. Park, D.Y. Kim, S.Y. Kim, J. won Park, M.H. Lee, M.C. Kim, and H.M. Kang, 2021: Single dose of multi-clade virus-like particle vaccine protects chickens against clade 2.3.2.1 and clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza viruses. *Sci. Rep.* **11**, 1–10, DOI: 10.1038/s41598-021-93060-8.
- Kapczynski, D.R., M. Esaki, K.M. Dorsey, H. Jiang, M. Jackwood, M. Moraes, and Y. Gardin, 2015: Vaccine protection of chickens against antigenically diverse H5 highly pathogenic avian influenza isolates with a live HVT vector vaccine expressing the influenza hemagglutinin gene derived from a clade 2.2 avian influenza virus. *Vaccine* **33**, 1197–1205, DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.12.028.
- Ladman, B.S., J. Gelb, L.A. Sauble, M. V. Murphy, and E. Spackman, 2019: Protection afforded by avian influenza vaccination programmes consisting of a novel RNA particle and an inactivated avian influenza vaccine against a highly pathogenic avian influenza virus challenge in layer chickens up to 18 weeks post-vaccination. *Avian Pathol.* **48**, 371–381, DOI: 10.1080/03079457.2019.1605148.
- Lécu, A., C. De Langhe, T. Petit, F. Bernard, and H. Swam, 2009: Serologic response and safety to vaccination against avian influenza using inactivated H5N2 vaccine in zoo birds. *J. Zoo Wildl. Med.* **40**, 731–743, DOI: 10.1638/2008-0044.1.
- Lee, C.-W., D.A. Senne, and D.L. Suarez, 2004: Effect of Vaccine Use in the Evolution of Mexican Lineage H5N2 Avian Influenza Virus. *J. Virol.* **78**, 8372–8381, DOI: 10.1128/jvi.78.15.8372-8381.2004.
- Liu, J., P. Chen, Y. Jiang, L. Wu, X. Zeng, G. Tian, J. Ge, Y. Kawaoka, Z. Bu, and H. Chen, 2011: A Duck Enteritis Virus-Vectored Bivalent Live Vaccine Provides Fast and Complete Protection against H5N1 Avian Influenza Virus Infection in Ducks. *J. Virol.* **85**, 10989–10998, DOI: 10.1128/jvi.05420-11.
- Ma, J., J. Lee, H. Liu, I. Mena, A.S. Davis, S.Y. Sunwoo, Y. Lang, M. Duff, I. Morozov, Y. Li, J. Yang, A. García-Sastre, J.A. Richt, and W. Ma, 2017: Newcastle disease virus-based H5 influenza vaccine protects chickens from lethal challenge with a highly pathogenic H5N2 avian influenza virus. *npj Vaccines* **2**, 1–10, DOI: 10.1038/s41541-017-0034-4.
- Ma, Q., W. Jiang, S. Liu, X. Liu, and Z. Sui, 2014: Subclinical Highly Pathogenic Avian Influenza Virus Infection in Vaccinated Chickens, China. *Emerg. Infect. Dis.* **20**, 2152–2154.
- Nurzijah, I., O.A. Elbohy, K. Kanyuka, and J.M. Daly, 2022: Development of Plant-Based Vaccines for Prevention of Avian Influenza and Newcastle Disease in Poultry. *Vaccines* **10**, 1–21, DOI: 10.3390/vaccines10030478.



- Ong, H.K., C.Y. Yong, W.S. Tan, S.K. Yeap, A.R. Omar, M.A. Razak, and K.L. Ho, 2019: An influenza a vaccine based on the extracellular domain of matrix 2 protein protects BALB/C mice against H1N1 and H3N2. *Vaccines* **7**, DOI: 10.3390/vaccines7030091.
- Palya, V., T. Tatár-Kis, E.W. Kovács, I. Kiss, Z. Homonnay, Y. Gardin, K. Kertész, and Á. Dán, 2018: Efficacy of a recombinant Turkey herpesvirus AI (H5) Vaccine in preventing transmission of heterologous highly pathogenic H5N8 Clade 2.3.4.4b challenge virus in commercial broilers and layer pullets. *J. Immunol. Res.* **2018**, DOI: 10.1155/2018/3143189.
- Pan, Z., X. Zhang, S. Geng, N. Cheng, L. Sun, B. Liu, J. Huang, and X. Jiao, 2009: Priming with a DNA vaccine delivered by attenuated *Salmonella typhimurium* and boosting with a killed vaccine confers protection of chickens against infection with the H9 subtype of avian influenza virus. *Vaccine* **27**, 1018–1023, DOI: 10.1016/j.vaccine.2008.11.111.
- Pavlova, S.P., J. Veits, T.C. Mettenleiter, and W. Fuchs, 2009: Live vaccination with an H5-hemagglutinin-expressing infectious laryngotracheitis virus recombinant protects chickens against different highly pathogenic avian influenza viruses of the H5 subtype. *Vaccine* **27**, 5085–5090, DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.06.048.
- Peyre, M., G. Fusheng, S. Desvaux, and F. Roger, 2009: Avian influenza vaccines: A practical review in relation to their application in the field with a focus on the Asian experience. *Epidemiol. Infect.* **137**, 1–21, DOI: 10.1017/S0950268808001039.
- Prabakaran, M., F. He, T. Meng, S. Madhan, T. Yunrui, Q. Jia, and J. Kwang, 2010: Neutralizing Epitopes of Influenza Virus Hemagglutinin: Target for the Development of a Universal Vaccine against H5N1 Lineages. *J. Virol.* **84**, 11822–11830, DOI: 10.1128/jvi.00891-10.
- Quan, F.-S., C. Huang, R.W. Compans, and S.-M. Kang, 2007: Virus-Like Particle Vaccine Induces Protective Immunity against Homologous and Heterologous Strains of Influenza Virus. *J. Virol.* **81**, 3514–3524, DOI: 10.1128/jvi.02052-06.
- Rao, S., W.P. Kong, C.J. Wei, Z.Y. Yang, M. Nason, D. Styles, L.J. DeTolla, E.M. Sorrell, H. Song, H. Wan, G.C. Ramirez-Nieto, D. Perez, and G.J. Nabel, 2008: Multivalent HA DNA vaccination protects against highly pathogenic H5N1 avian influenza infection in chickens and mice. *PLoS One* **3**, DOI: 10.1371/journal.pone.0002432.
- Richard-Mazet, A., S. Goutebroze, F.X. Le Gros, D.E. Swayne, and M. Bublot, 2014: Immunogenicity and efficacy of fowlpox-vectored and inactivated avian influenza vaccines alone or in a prime-boost schedule in chickens with maternal antibodies. *Vet. Res.* **45**, 1–14, DOI: 10.1186/s13567-014-0107-6.
- Rimi, N.A., M.Z. Hassan, S. Chowdhury, M. Rahman, R. Sultana, P.K. Biswas, N.C. Debnath, S.K.S. Islam, and A.G. Ross, 2019: A decade of avian influenza in Bangladesh: Where are we now? *Trop. Med. Infect. Dis.* **4**, 1–19, DOI: 10.3390/tropicalmed4030119.
- Samia Metwally, Ahmed El Idrissi, G.V., 2021: Veterinary Vaccines: Principles and Applications, 1st edn.
- Smith, T., M.M. O'Kennedy, D.B.R. Wandrag, M. Adeyemi, and C. Abolnik, 2020: Efficacy of a plant-produced virus-like particle vaccine in chickens challenged with Influenza A H6N2 virus. *Plant Biotechnol. J.* **18**, 502–512, DOI: 10.1111/pbi.13219.
- Song, S.J., G.I. Shin, J. Noh, J. Lee, D.H. Kim, G. Ryu, G. Ahn, H. Jeon, H.P. Diao, Y. Park, M.G. Kim, W.Y. Kim, Y.J. Kim, E.J. Sohn, C.S. Song, and I. Hwang, 2021: Plant-based, adjuvant-free, potent multivalent vaccines for avian influenza virus via *Lactococcus* surface display. *J. Integr. Plant Biol.* **63**, 1505–1520, DOI: 10.1111/jipb.13141.
- Spackman, E., M.J. Pantin-Jackwood, I. Sitaras, C.B. Stephens, and D.L. Suarez, 2021: Identification of Efficacious Vaccines against Contemporary North American H7 Avian Influenza Viruses. *Avian Dis.* **65**, 113–121, DOI: 10.1637/aviandiseases-D-20-00109.
- Steel, J., A.C. Lowen, L. Pena, M. Angel, A. Solórzano, R. Albrecht, D.R. Perez, A. García-Sastre, and P. Palese, 2009: Live Attenuated Influenza Viruses Containing NS1 Truncations as Vaccine Candidates against H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza. *J. Virol.* **83**, 1742–1753, DOI: 10.1128/jvi.01920-08.
- Steel, J., A.C. Lowen, T.T. Wang, M. Yondola, Q. Gao, K. Haye, A. García-Sastre, and P. Palese, 2010: Influenza virus vaccine based on the conserved hemagglutinin stalk domain. *MBio* **1**, DOI: 10.1128/mBio.00018-10.
- Steensels, M., F. Rauw, T. Van Den Berg, S. Marché, Y. Gardin, V. Palya, and B. Lambrecht, 2016: Protection afforded by a recombinant Turkey herpesvirus-H5 vaccine against the 2014 european highly pathogenic H5N8 avian influenza strain. *Avian Dis.* **60**, 202–209, DOI: 10.1637/11126-050615-Reg.1.
- Suarez, D.L., 2012: DIVA Vaccination Strategies for Avian Influenza. *Avian Dis.* **56**, 836–844.
- Sun, Z., Q. Wang, G. Li, J. Li, S. Chen, T. Qin, H. Ma, D. Peng, and X. Liu, 2021: Development of an Inactivated H7N9 Subtype Avian Influenza Serological DIVA Vaccine Using the Chimeric HA Epitope Approach. *Microbiol. Spectr.* **9**, DOI: 10.1128/spectrum.00687-21.



Swayne, D. E., G. Pavade, K. Hamilton, B. Vailat, and K. Miyagishima, 2011: Assessment of national strategies for control of high-pathogenicity avian influenza and low-pathogenicity notifiable avian influenza in poultry, with emphasis on vaccines and vaccination. *OIE Rev. Sci. Tech.* **30**, 839–870, DOI: 10.20506/rst.30.3.2081.

Swayne, David E., 2012: Impact of vaccines and vaccination on global control of avian influenza. *Avian Dis.* **56**, 818–828, DOI: 10.1637/10183-041012-Review.1.

Talat, S., R.R. Abouelmaatti, R. Almeer, M.M. Abdel-Daim, and W.K. Elfeil, 2020: Comparison of the Effectiveness of Two Different Vaccination Regimes for Avian Influenza H9N2 in Broiler Chicken. *Animals* **10**, 1–12.

Tarigan, S., M.H. Wibowo, R. Indriani, S. Sumarningsih, S. Artanto, S. Idris, P.A. Durr, W. Asmara, E. Ebrahimie, M.A. Stevenson, and J. Ignjatovic, 2018: Field effectiveness of highly pathogenic avian influenza H5N1 vaccination in commercial layers in Indonesia. *PLoS One* **13**, 1–15, DOI: 10.1371/journal.pone.0190947.

WHO, 2022: Avian Influenza Weekly Update Number 474. .

Yin, X., G. Deng, X. Zeng, P. Cui, Y. Hou, Y. Liu, J. Fang, S. Pan, D. Wang, X. Chen, Y. Zhang, X. Wang, G. Tian, Y. Li, Y. Chen, L. Liu, Y. Suzuki, Y. Guan, C. Li, J. Shi, and H. Chen, 2021: Genetic and biological properties of H7N9 avian influenza viruses detected after application of the H7N9 poultry vaccine in China. *PLoS Pathog.* **17**, 1–19, DOI: 10.1371/journal.ppat.1009561.

Yong, C.Y., S.K. Yeap, K.L. Ho, A.R. Omar, and W.S. Tan, 2015: Potential recombinant vaccine against influenza A virus based on M2e displayed on nodaviral capsid nanoparticles. *Int. J. Nanomedicine* **10**, 2751–2763, DOI: 10.2147/IJN.S77405.

Yoo, S.J., T. Kwon, and Y.S. Lyoo, 2018: Challenges of influenza A viruses in humans and animals and current animal vaccines as an effective control measure. *Clin. Exp. Vaccine Res.* **7**, 1–15, DOI: 10.7774/cevr.2018.7.1.1.

Zeng, X., G. Tian, J. Shi, G. Deng, C. Li, and H. Chen, 2018: Vaccination of poultry successfully eliminated human infection with H7N9 virus in China. *Sci. China Life Sci.* **61**, 1465–1473, DOI: 10.1007/s11427-018-9420-1.

Zhang, W., J. Tu, Z. Zhao, H. Chen, and M. Jin, 2012: The new temperature-sensitive mutation PA-F35S for developing recombinant avian live attenuated H5N1 influenza vaccine. *Virol. J.* **9**, 1, DOI: 10.1186/1743-422X-9-97.



Bilag

Bilag 1: Oversigt over afprøvninger af de registrerede, kommersielle AIV vacciner fra Tabel 1.

Vaccinetype	Vaccine	Referencer	Fuglear	Challenge virus	Beskyttel e (% fugle)	Virusudskillels e
Inaktiverede vacciner						
	Nobilis Influenza H5N2 (A/duck/Potsdam/1402/1986)	(Lécu et al., 2009)	Fugle af 19 forskellige ordener	-	-	-
		(Kandeil et al., 2018)	Høns	Intratracheal and intranasalt, 0.5 ml of $10^{7.5}$ EID ₅₀ clade 2.3.4.4b A/duck/Egypt/F13666A/2017(H5 N8)	60	Reduceret, alle fugle udskilte virus
	Nobilis Influenza H7	-	-	-	-	-
	Nobilis Influenza H9	-	-	-	-	-
	AI-VAC H5	-	-	-	-	-
	AI-VAC H9	-	-	-	-	-
	GALLIMUNE Flu H5N9	(Bertelsen et al., 2007)	Fugle af 17 forskellige ordener	-	-	-
		(Bublot et al., 2007)	Høns	Intranasalt, 10^6 EID ₅₀ clade 1.0 A/Chicken/Supranburi Thailand/2/2004(H5N1)	100	Reduceret
	GALLIMUNE 208 H9ND (clade A/chicken/Iran/Av1221/1998(H9N2))	(Talat et al., 2020)	Høns	Intranasalt, 0.5 ml of 10^6 EID ₅₀ A/chicken/Egypt/Elfeil-2626/2017(H9N2)	100	Reduceret, 10/20 fugle udskilte virus
	BIO FLU H7N1+H5N9	(Bublot et al., 2007)	Høns	Intranasalt, 10^6 EID ₅₀ clade 1.0 A/Chicken/Supranburi Thailand/2/2004(H5N1)	100	Reduceret
	Avian Influenza Vaccine, H5N1 subtype	-	-	-	-	-
	EgyFlu (Clade 2.2.1.1 RG A/duck/Egypt/18-H/2009(H5N1))	(Kandeil et al., 2018)	Høns	Intratrachealt og intranasalt, 0.5 ml of $10^{7.5}$ EID ₅₀ clade 2.3.4.4b A/duck/Egypt/F13666A/2017(H5 N8)	80	Reduceret, alle fugle udskilte virus
	CEVAC FLU-KEM (A/chicken/Mexico/232/1994 (H5N2))	(Kandeil et al., 2018)	Høns	Intratrachealt og intranasalt, 0.5 ml of $10^{7.5}$ EID ₅₀ clade 2.3.4.4b A/duck/Egypt/F13666A/2017(H5 N8)	80	Reduceret, alle fugle udskilte virus
	MEFLUVAC H5N1 (clade 2.2.1.2 RG A/duck/Egypt /M2583D /2010 (H5N1))	(Kandeil et al., 2018)	Høns	Intratrachealt og intranasalt, 0.5 ml of $10^{7.5}$ EID ₅₀ clade 2.3.4.4b A/duck/Egypt/F13666A/2017(H5 N8)	60	Reduceret, 4/5 fugle udskilte virus
	MEFLUVAC (clade A/chicken/Egypt/ME/543V/2016(H9N2))	(Talat et al., 2020)	Høns	Intranasalt, 0.5 ml of 10^6 EID ₅₀ A/chicken/Egypt/Elfeil-26/2017(H9N2)	100	Reduceret, 6/20 fugle udskilte virus
	Reassortant AIV (strain Re-5) (Clade 2.3.4 RG A/duck/Anhui/1/2006(H5N1) (Re-5))	(Kandeil et al., 2018)	Høns	Intratrachealt og intranasalt, 0.5 ml of $10^{7.5}$ EID ₅₀ clade 2.3.4.4b A/duck/Egypt/F13666A/2017(H5 N8)	100	Reduceret, 3/5 fugle udskilte virus
	SERA-VAC (Clade 2.2.1.2 RG A/chicken/Egypt/M2583D/2010(H5N1))	(Kandeil et al., 2018)	Høns	Intratrachealt og intranasalt, 0.5 ml of $10^{7.5}$ EID ₅₀ clade 2.3.4.4b A/duck/Egypt/F13666A/2017(H5 N8)	60	Reduceret, alle fugle udskilte virus
	Volvac (B.E.S.T.) (Clade 2.3.2 A/duck/China/E319-2/2003 (H5N1) + ND)	(Kandeil et al., 2018)	Høns	Intratrachealt og intranasalt, 0.5 ml of $10^{7.5}$ EID ₅₀ clade 2.3.4.4b A/duck/Egypt/F13666A/2017(H5 N8)	80	Reduceret, alle fugle udskilte virus
	Poulvac Flufend I AI H5N3 RG (RG A/chicken/Vietnam/C58/2004(H5N3))	(Kandeil et al., 2018)	Høns	Intratrachealt og intranasalt, 0.5 ml of $10^{7.5}$ EID ₅₀ clade 2.3.4.4b A/duck/Egypt/F13666A/2017(H5 N8)	100	Reduceret, alle fugle udskilte virus
	PA OLVAC PM+I (H6N2 og H9N2)	-	-	-	-	-
	PA OLVAC I+E (H6N2 og H9N2)	-	-	-	-	-
	Optimmune AIV	-	-	-	-	-



	ITA-FLU	-	-	-	-	-
	SER-VACC FLU	-	-	-	-	-
	Trivalent H5-H5-H7 vaccine	-	-	-	-	-
Virusvektor-vacciner	Vectormune AI (HVT indeholdende HA-gen fra clade 2.2 H5N1 A/swan/Hungary/4999/2006)	(El-Shall et al., 2021)	Høns	Intraoculart og intranasalt, 0.1 ml 10 ^{7.5} EID ₅₀ clade 2.3.4.4 A/chicken/Egypt/Alex-2/2017(H5N8)	50	Reduceret, 7/8 udskilte virus
		(Kapczynski et al., 2015)	Høns	Intranasalt, 0.1 ml 10 ⁶ EID ₅₀ , 1. clade 2.2 A/whooper swan/Mongolia/3/2005(H5N1), 2. clade 2.1.3. A/chicken/West Java Sbg/29/2007(H5N1) eller clade 3. A/chicken/Queretaro/14588-19/1995(H5N2)	80-100	Reduceret
		(Palya et al., 2018)	Høns	Intranasalt, 0.2 ml of 10 ⁶ EID ₅₀ clade 2.3.4.4b A/goose/Hungary/1030/2017(H5 N8)	90	Reduceret, 3/20 udskilte virus
		(Steensels et al., 2016)	Høns	Oculonasalt, 0.1 ml 10 ⁶ EID ₅₀ , clade 2.3.4.4 A/turkey/Germany-MV/R2472/2014(H5N8)	100	Reduceret, 9/19 udskilte virus
	TROVAC AIV H5 (FPV indeholdende HA af A/turkey/Ireland/1378/1983(H5N8))	(Richard-Mazet et al., 2014)	Høns	clade 2.1.3.2 A/chicken/West Java-Subang/29/2007 (H5N1)	100	Reduceret, 10/10 fugle udskilte virus
	Recombinant NDV-H5Nx (Clade A/chicken/Iowa/04-20/2015(H5N2))	(J. Ma et al., 2017)	Høns	Oculonasalt, 0.2 ml 10 ⁶ TCID ₅₀ clade 2.3.4.4 A/turkey/Minnesota/9845-4/2015 (H5N2)	100	Reduceret
	Recombinant NDV-H7Nx	-	-	-	-	-
	Recombinant NDV-H9Nx	-	-	-	-	-
	Baculo H5 AI+ND KV (clade 2.3.2, A/duck/China/E319-2/2003 (H5N1)	(Beato et al., 2013)	Høns	Intranasalt og oralt, 0.1 ml of 10 ⁶ EID ₅₀ 1. clade 2.2.1.1 A/chicken/Egypt/1553-2/2010(H5N1) og 2. clade 2.2.1. A/chicken/Egypt/3982-8/2010(H5N1)	100	Reduceret udskillelse af virus, 1. 6/10 høns udskilte viralt RNA 2. 0/10 udskilte virus



Bilag 2: Eksperimentelt undersøgte vacciner mod AIV som ikke er registreret til kommersIELT brug.

Vaccinetype	Vaccine	Kommentar	Referencer
Levende vacciner	Levende, vildtype LPAIV vaccine	Risiko for reassortering	(Alexander and Parsons, 1980)
	Levende, attenueret LPAIV vaccine	Risiko for reassortering	(Zhang et al., 2012)
	Levende, attenueret HPAIV vaccine	Risiko for reassortering	(Steel et al., 2009)
Virusvektorvacciner	Rd-Adenovirusvektorvaccine		(Gao et al., 2006)
	Avian leukosis virusvektorvaccine		(Hunt et al., 1988)
	Infectious laryngotracheitis virusvaccine		(Pavlova et al., 2009)
Nukleinsyrevacciner	Vaccinia virusvektorvaccine	Lavt antistofrespons	(Chambers et al., 1988)
	Ande enteritisvirusvektorvaccine		(Liu et al., 2011)
	Multivalent baculovirusvektorvaccine		(Prabakaran et al., 2010)
VLP-vacciner	Attenueret <i>Salmonella typhimurium</i> DNA-vaccine	Ikke i stand til at beskytte mod HPAIV challenge	(Pan et al., 2009)
	Multivalent DNA-vaccine		(Rao et al., 2008)
	mRNA vaccine		(Feldman et al., 2019)
Bakterie-lignende partikler	Bivalent H5-H7 VLP-vaccine		(Hu et al., 2021)
	Multiclade VLP-vaccine		(Y. M. Kang et al., 2021)
	M2-HA VLP-vaccine		(H. J. Kang et al., 2018)
Viral replicon partikel	M1-HA VLP-vaccine		(Quan et al., 2007)
	HA trimer-inaktiveret <i>Lactococcus</i>		(Song et al., 2021)
	Alphavirus replicon RNA partikel	Betinget godkendelse i USA	(Ladman et al., 2019; Spackman et al., 2021)
Plante-baseret ekspressionssystemer	<i>Lemna minor</i> Alfafa Soyabønner <i>Nicotiana benthamiana</i> <i>Zea mays</i> <i>Oryza sativa</i> M.fl.		(Bertran et al., 2015; Nurzijah et al., 2022)