

Stellungnahme zur
**Impfung gegen
Hochpathogene Aviäre
Influenzaviren**



Stellungnahme zur Impfung gegen HPAI

I.	Einleitung.....	3
II.	Informationen zum Erreger.....	3
III.	Epizootiologie/ die aktuelle Seuchensituation.....	5
IV.	Die Immunantwort auf das Influenza Virus.....	9
V.	Impfstoffe gegen hochpathogene, aviäre Influenzaviren.....	12
VI.	Erfahrungen mit HPAI-Impfungen/ Modellierungsstudien.....	15
VII.	Bekämpfungstrategien/ gesetzliche Vorgaben.....	18
VIII.	Erwägungen zum praktischen Einsatz der Impfung.....	19
IX.	Quellen.....	22

Zusammenfassung

Seit dem Jahr 2005 ist es in Europa in immer kürzeren Abständen zu Ausbrüchen hochpathogener, aviärer Influenza (HPAI) gekommen. Während die Ausbrüche in den ersten Jahren, bedingt durch Vogelzug, saisonal im Frühjahr und Herbst auftraten, zeichnet sich mittlerweile eine Enzootisierung in Wildvögeln und eine ganzjährige Übertragungsaktivität ab. Durch rigorose, klassische Tierseuchenbekämpfung ist es gelungen, Ausbruchsketten im Geflügelbereich zu unterbrechen. Dadurch wurden zwar auch Infektionen von Wildvögeln durch Rückübertragungen aus infiziertem Geflügel unterbunden, die Zirkulation der Viren in Wildvögeln lässt sich so aber nicht beeinflussen. Gerade in Bereichen der Geflügelwirtschaft, die strukturell Schwierigkeiten haben, ein ausreichendes Biosicherheitsniveau zu erreichen, führt der hohe Infektionsdruck aus der Wildvogelpopulation immer wieder zu Viruseinträgen.

Die millionenfache Tötung und unschädliche Beseitigung von Geflügel ist -angesichts der Häufung von Ausbrüchen und der fortschreitenden Enzootisierung in Wildvögeln- aus Gründen des Tierschutzes und der Nachhaltigkeit immer schwerer zu rechtfertigen. In der EU gibt es daher Anzeichen für einen Paradigmenwechsel von der reinen „test-and-slaughter“ Strategie hin zu impfbasierten Kontrollmaßnahmen. Die StIKo Vet begrüßt ausdrücklich die Möglichkeit zur Impfung gegen HPAI, die mit der delegierten Verordnung (EU) 2023/361 geschaffen wurde.

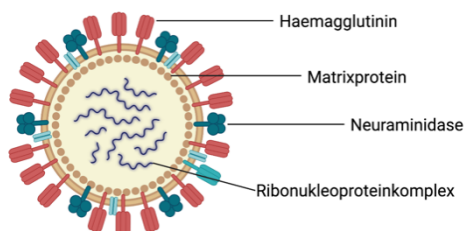
Gleichzeitig birgt eine unkontrollierte, lückenhafte Impfung gegen HPAI ein hohes Risiko der Maskierung von Ausbrüchen. Für den Erfolg der Immunprophylaxe ist es essentiell, dass (i) für die jeweilige Tierart geeignete, möglichst gegen aktuell zirkulierende Virusstämme gerichtete Impfstoffe und Impfstrategien eingesetzt werden; dass (ii) impfbegleitend ausgeschlossen wird, dass es unter der „Impfdecke“ zu einer inapparenter Viruszirkulation kommt; dass (iii) die Impfmaßnahmen bei Wirtschaftspartnern und Endverbrauchern auf volle Akzeptanz stoßen.

Mit der vorliegenden Stellungnahme benennt die StIKo Vet verschiedene Aspekte, die es bei der Impfung gegen HPAI zu beachten gilt. Angesichts der Dynamik im Bereich der HPAI-Impfung kann eine abschließende Empfehlung derzeit nicht ausgesprochen werden. Die StIKo Vet behält sich daher vor, diese Stellungnahme kontinuierlich weiterzuentwickeln und zu aktualisieren.

I. Einleitung

Seit dem ersten Auftreten hochpathogener, aviärer H5-Virusvarianten in Europa im Jahr 2005 ist es in immer kürzeren Abständen zu teils großflächigen Ausbrüchen und Seuchenzügen aviärer Influenza gekommen. Obwohl es mit klassischen Ansätzen der Tierseuchenbekämpfung gelingt, Ausbrüche in einzelnen Betrieben schnell und sicher zu beenden, kann die Panzootie auf diese Weise nicht unter Kontrolle gebracht werden. Durch die Ausbreitung der Viren in der Wildvogelpopulation ist die Haltung bestimmter Geflügelarten in manchen, geographischen Regionen wirtschaftlich ernsthaft gefährdet. Gleichzeitig haben sich die Anforderungen an die Geflügelwirtschaft deutlich verändert: Extensive Freilandhaltungen, die den Tieren ein artgemäßes Verhalten ermöglichen, sind gesellschaftlich erwünscht. Dieser Strukturwandel stellt Landwirte und Betreiber der Anlagen vor große Herausforderungen in puncto Biosicherheit. Durch die gesteigerte Interaktion zwischen Wildvögeln und Hausgeflügel ist sowohl das Risiko eines Viruseintrages aus Wildvögeln ins Hausgeflügel, wie auch das des umgekehrten Falles, des Austrages in Wildvögel, deutlich erhöht. Letztlich steigt dadurch auch das Risiko eines Übergangs vom Vogel auf den Menschen. Impfungen gegen hochpathogene, aviäre Influenzaviren bieten theoretisch die Möglichkeit, diese Risiken zu reduzieren. Die Hoffnung ist, dass sich so die Übertragung zwischen Wildvögeln und Geflügel und natürlich zwischen Geflügel und dem Menschen unterbinden lässt, dass im Sinne des Tierschutzgedankens Tötungsmaßnahmen nicht ergriffen werden müssen, und dass geimpftes Geflügel von Aufstallungspflichten ausgenommen werden kann. Diesen möglichen Vorzügen stehen hohe Kosten der Impfung und des begleitenden Monitorings gegenüber. In der vorliegenden Stellungnahme sollen die Möglichkeiten und Grenzen der Impfung gegen hochpathogene, aviäre Influenzaviren basierend auf dem aktuellen Stand der einschlägigen, wissenschaftlichen Literatur dargestellt werden. Entscheidungsträgern in Politik und Veterinärbehörden soll damit eine wissenschaftlich fundierte Entscheidungshilfe an die Hand gegeben werden.

II. Informationen zum Erreger



Die Aviäre Influenza wird durch Influenza-A-Viren hervorgerufen. Die Viren gehören zur Familie der *Orthomyxoviridae*. Sie sind behüllt, haben eine unregelmäßige Form und weisen einen Durchmesser von ca. 80-120 nm auf. Die Viren besitzen ein in acht Segmente unterteiltes Einzelstrang RNA-Genom negativer Orientierung. Während die ersten drei Segmente für den viralen Polymerasekomplex kodieren,

kodiert das vierte Segment das auf der Virusoberfläche lokalisierte Hämagglutinin, das u.a. für die Anheftung an die Wirtszelle verantwortlich ist. Das fünfte Segment enthält die Information für das Nukleoprotein, während das sechste die Information für das zweite Oberflächenprotein, die Neuraminidase, kodiert. Das Matrixprotein, das die Virushülle von innen auskleidet, ist auf dem siebten Segment kodiert. Das achte Segment enthält die Information für Nichtstrukturproteine, die für die Hemmung der angeborenen Immunantwort auf Virusinfektionen bzw. für intrazelluläre Abläufe während der Virusreplikation verantwortlich sind. Durch unterschiedliches Spleißen der RNA (vor allem Segmente 7 und 8) wird das Repertoire an kodierten Proteinen vergrößert.

Die Segmentierung des Virusgenoms ist für die genetische Variabilität von Influenza-Viren von großer Bedeutung. Wenn eine Zelle eines Individuums zeitgleich mit verschiedenen Influenza-Viren infiziert ist, kann es zu einer Neukombination der Genomsegmente der Ausgangsviren, zu einer sogenannten

Reassortierung, kommen. Insbesondere wenn dabei Virusgenome, die eigentlich an unterschiedliche Wirtsspezies angepasst sind, neu kombiniert werden, können so neue Funktionsvarianten entstehen, die bislang unbekannte biologische Eigenschaften aufweisen. Sind bei der Reassortierung die Segmente 4 und/oder 6 betroffen, können Antigenvarianten entstehen, mit denen sich eine Wirtspopulation noch nicht immunologisch auseinandergesetzt hat. In solchen Fällen kann sich die neu entstandene Variante möglicherweise seuchenhaft ausbreiten. Dieses auf dem Mechanismus der Reassortierung beruhende Phänomen, der *antigenic shift*, ist ein Hauptgrund für das wiederkehrende Auftreten neuartiger Influenzavirus-Varianten, die dann unter Umständen Epi- oder gar Pandemien verursachen können. Homologe Rekombination scheint bei Influenza A Viren dabei eine untergeordnete Rolle zu spielen (1). Ein weiterer Mechanismus, der die Antigenvielfalt von Influenzaviren erhöht, ist in der Fehlerrate des viralen Polymerasekomplexes begründet. Durch fehlerhaftes Ablesen und/oder den fehlerhaften Einbau von Nukleotiden kommt es zu zufälligen Punktmutationen während der Virusreplikation. Sind davon Oberflächenantigene des Virus betroffen, kann sich das antigene „Makeup“ des Virus verändern. Einzelne Mutationen können dem Virus so in der Auseinandersetzung mit dem Wirtsimmunsystem bzw. der Populationsimmunität einen Vorteil verschaffen, z.B. indem neutralisierende Antikörper schlechter mit den Antigenvarianten kreuzreagieren. Dieser Prozess verläuft sukzessive und wird als *antigenic drift* bezeichnet.

Beim Eindringen in eine Wirtszelle bindet das virale Hämagglutinin zunächst an Sialinsäure-Rezeptoren auf der Zelloberfläche. In der Folge wird das so gebundene Viruspartikel mittels Endozytose in die Zelle aufgenommen. Durch das Absinken des pH-Wertes innerhalb des Endosoms kommt es zu einer Konformationsänderung des Hämagglutinins, die eine Verschmelzung der Virushülle mit der Membran des Endosoms einleitet. Dadurch gelangen die acht viralen Ribonukleoproteinkomplexe zunächst ins Zytoplasma und anschließend durch aktiven, von zellulären Proteinen vermittelten Transport in den Zellkern, wo schließlich die Transkription und Replikation der Ribonukleoproteinkomplexe erfolgt. Die neugebildeten Oberflächenproteine, Hämagglutinin und Neuraminidase, gelangen über den Golgi-Apparat an die Zelloberfläche, wo sie sich mit neugebildeten Ribonukleoproteinkomplexen verbinden. Anschließend werden die neugebildeten Viruspartikel von der Zelloberfläche der Wirtszelle abgeschnürt. Dabei verhindert die Neuraminidase, dass neugebildete Viren die Wirtszelle, von der sie abgeschnürt werden, re-infizieren.

Bei aviären Influenzaviren (AIV) sind bislang 16 verschiedene Hämagglutinin- und neun verschiedene Neuraminidase-Subtypen bekannt. Die meisten dieser Viren verursachen bei Vögeln nur milde oder subklinische Infektionen. Die aufgrund ihrer Eigenschaften in einem biologischen Testverfahren mit einem intravenösen Pathogenitätsindex (IVPI, Indexwert >1,2) als hochpathogen eingestuftes Influenzavirus (HPAIV), welche als Erreger für die klassische Geflügelpest verantwortlich sind, treten bisher ausschließlich in den Subtypen H5 und H7 auf. Entscheidend für die Einstufung der Pathogenität der Viren ist die Struktur des Hämagglutinins (2): Um funktionell agieren zu können, muss das Hämagglutinin durch eine zelleigene Endoprotease gespalten werden. Das Hämagglutinin von als niedrig-pathogen eingestuftes Influenzavirus (LPAIV) weist eine monobasische Spaltstelle auf, die nur von trypsinähnlichen Proteasen, wie sie vor allem im Respirations- und Gastrointestinaltrakt vorkommen, gespalten werden können. Hochpathogene Influenza Viren weisen dagegen polybasische Schnittstellen auf, die von ubiquitär vorkommenden Enzymen gespalten werden. Damit können diese Viren auch außerhalb des Respirations- und Gastrointestinaltraktes, z.B. im Gehirn oder anderen inneren Organen, replizieren und damit schwere systemische Erkrankungen verursachen. Von klassischer Geflügelpest (syn. Hochpathogene aviäre Influenza, HPAI) ist auch im tierseuchenrechtlichen Sinne bei Infektionen mit Influenzaviren des H5- oder H7-Subtyps die Rede, die eine polybasische Schnittstelle aufweisen sowie (theoretisch) alle anderen AIV mit einem IVPI

Indexwert > 1,2. Zur Unterscheidung zu niedrig pathogenen AIV können Infektionsversuche in sechs-Wochen-alten Hühnern durchgeführt werden. Aus der Anzahl erkrankter und gestorbener Tiere nach intravenöser Inokulation der Probe über einen definierten Beobachtungszeitraum von zehn Tagen wird der IVPI berechnet. Ab einem IVPI von 1,2 gelten aviäre Influenzaviren als hochpathogen (3). Da niedrig-pathogene Viren des H5 oder H7-Subtyps durch Spontan-Mutationen im Bereich der Spaltstelle zu hochpathogenen Viren werden können, werden Infektionen sowohl mit niedrig- wie auch hochpathogenen Vertretern dieser Subtypen in Deutschland als bekämpfungswürdig angesehen. Weitere Subtypen, z.B. H6 oder H9, können bei hoher Vulnerabilität bestimmter Vogelarten (Puten) oder im Zusammenspiel mit anderen Co-Pathogenen ebenfalls mit dem Auftreten schwerwiegender Erkrankungen in Verbindung gebracht werden.

In Abhängigkeit u.a. vom HPAI Virus, der Art, dem Alter, der Funktionalität angeborener und erworbener Immunfaktoren sowie der Konstitution des Vogels kommt es innerhalb weniger Stunden bis Tage nach der Infektion zum Auftreten klinischer Symptome. Infektionen mit niedrig-pathogenen Viren bleiben nicht selten subklinisch. Dagegen verursachen hochpathogene Influenzaviren, insbesondere unter Hühnervögeln (Hühnern, Puten und Wachteln), schwere perakute Verläufe, die durch eine hohe Morbidität und Mortalität gekennzeichnet sind. Dies kann klinisch mit Zyanosen der Kämme und Kehllappen, neurologischen Ausfällen und schweren Durchfällen einhergehen (4). Gemäß Tierseuchenrecht ist der Besitzer eines Geflügelbestandes verpflichtet bei ungewöhnlicher Erkrankungsfrequenz und/oder Sterblichkeit des Geflügels einen Verdacht auf HPAI auszusprechen und die Tiere labordiagnostisch auf aviäre Influenza untersuchen zu lassen (3).

III. Epizootiologie/ die aktuelle Seuchensituation

Wildlebende Wasservögel, z.B. Enten oder Gänse, sind die natürlichen Wirte aviärer Influenzaviren. Die Übertragung kann durch direkten Kontakt, über Aerosole, kontaminierten Staub oder fäko-oral bei der Futterraufnahme oder über kontaminiertes Oberflächenwasser erfolgen. Insbesondere Enten scheiden das Virus über den Kot aus, bevor klinische Symptome auftreten. Die Viren zirkulieren ganzjährig mit saisonaler Häufung im Herbst in den Wildvogelpopulationen. In einem Strategiepapier der Weltorganisation für Tiergesundheit (WOAH) aus dem Jahr 2000 wurde davon ausgegangen, dass die in Wildvögeln vorkommenden Influenzaviren zwar sehr weit verbreitet aber grundsätzlich nur von geringer Pathogenität (Virulenz) seien. Allenfalls assoziiert mit der spontanen Entstehung und Verbreitung von HPAIV im Geflügel war es bis dato zu transienten Einträgen hochpathogener Viren in die Wildvogelpopulation gekommen. Hochpathogene Influenzaviren waren zuvor stets in Folge einer Zirkulation niedrigpathogener Viren der Subtypen H5 und H7 im Geflügel in Verbindung mit Mutationen in der Sequenz der Hämagglutinin-Schnittstelle aufgetreten. Entsprechend war es bis in die 1990er Jahre gelungen, durch konsequente Merzung infizierter Vögel sämtliche bekannt gewordene HPAI-Ausbrüche unter Kontrolle zu bekommen und eine weitere Zirkulation der hochpathogenen Viren zu unterbinden (5). Seit Ende der 1990er Jahre änderte sich diese Situation: Die Linie eines erstmals in Südchina bei Geflügel aufgetretenen hochpathogenen Influenzavirus fand weite Verbreitung im südostasiatischen Raum und wurde mehrfach auf Wildvogelpopulationen übertragen (6). Manche Wildentenarten zeigen nach Infektion mit diesen für Hühnervögel letalen Viren nur relativ milde Symptome. Dieser Umstand hat zur weiteren Verbreitung von HPAIV mit migrierenden Wildenten entscheidend beigetragen. Die Viren konnten damit entlang der Zugrouten migrierender Wasservogelarten über viele tausende von Kilometern verbreitet werden. Zum Teil überlappen sich europäische und asiatische Zugrouten und Rastgebiete, so dass es zu Vermischungen von Virustypen und entsprechenden Reassortierungsereignissen kam. Für die in Europa seit 2005 aufgetretenen hochpathogenen aviären H5-Virusvarianten sind die genetischen Zusammenhänge mit ursprünglich in

Ostasien bei Wasservögeln vorkommenden Influenzaviren gut dokumentiert (7). Die Ursprungsvariante dieses pandemischen H5-Hämagglutinins wurde 1996 aus einer domestizierten Gans in der südostchinesischen Provinz Guangdong isoliert (8). HPAIV, die sich auf diese Viruslinie zurückführen lassen, werden als gs (goose)/GD (Guandong)-ähnlich bezeichnet. 1997 kam es zu einem Ausbruch der gs/GD-Geflügelpest in Hongkong, die auf diesem Isolat basierte. Dabei kam es auch zur Infektion von Menschen, was das zoonotische Risiko dieser Influenzaviren belegt (9). In den folgenden Jahren zirkulierte die gs/GD- Viruslinie auf niedrigem, epizootischem Niveau in Wassergeflügel Asiens. 2003 kam es wieder zu verlustreichen Ausbrüchen in Ostasien. Zudem kam es zum Übertritt des Virus in Zugvögel. Im Frühjahr 2005 war eine eng verwandte gs/GD H5N1-Variante für einen Ausbruch mit einer hohen Mortalität bei Wasservögeln in einem Brutgebiet in Nordwest-China verantwortlich (10). Über entsprechende Zugrouten erreichte diese Variante innerhalb eines Jahres über Zentralasien und Russland schließlich Europa, Afrika und auch den amerikanischen Kontinent (11). Seither zirkulieren diese Viren weltweit in Wildvögeln und Geflügel. Immer wieder kommt es auch zu Spill-over-Infektionen in Fleischfressern, z.B. Füchsen und Seehunden, ohne dass sich bisher ein eigenes Infektionsgeschehen in Säugetieren entwickelt hat. Seit dem ersten Auftreten im Winter 2005-2006 ist es in Europa im Winter 2014-2015, 2016-2017, 2020-2021 und 2021-2022 zu großen Ausbrüchen gekommen.

Saison	Subtypen	H5 clade
2006-2007	H5N1	2.2.1/2
2014-2015	H5N8	clade 2.3.4.4a
2016-2017	H5N8, -N1, N2, N4, N5, N6,	clade 2.3.4.4b
2020-2021	H5N8	clade 2.3.4.4b
2021-2022	H5N1	clade 2.3.4.4b

Tbl. 1 - Virussubtypen und H5-Kladen der dominanten HPAI-Viren in Deutschland nach entsprechender HPAI Saison. Entnommen aus (7, 12, 13).

Durch *genetic drift* und verschiedene Selektionsmechanismen, wie z.B. Immunevasion (14), hat sich die Sequenz des Hämagglutinins kontinuierlich verändert. Entsprechend werden von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) und der WOAH derzeit 10 H5-clades, die ihrerseits in etliche subclades unterteilt sind, unterschieden (15). Durch Reassortierung kam es bei den Virusvarianten überdies zu etlichen Segmentaustauschen. Die Viren sind genetisch nicht einheitlich. Zum Teil treten zeitgleich mehrere Genotypen auf, wobei in der Regel eine Variante dominiert: Die dominanten Virustypen sind für die jeweiligen Ausbruchsgeschehen in Tabelle 1 nach Antigenformel und H5-Klade aufgelistet.

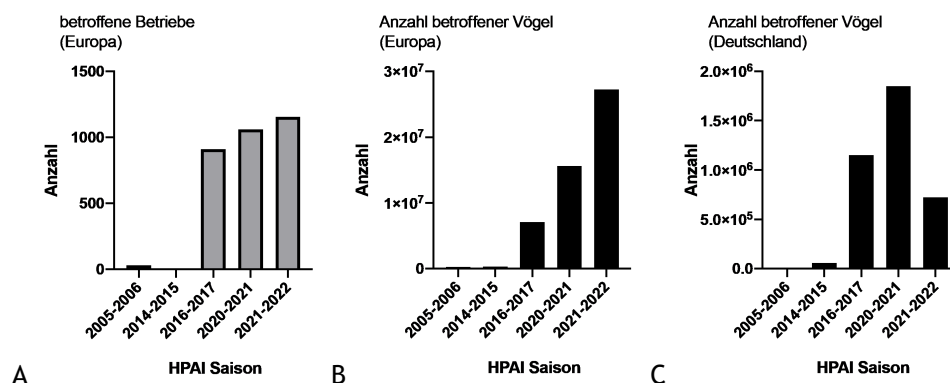


Abb. 1 - HPAI-Ausbrüche beim Geflügel nach HPAI Saison (A) Anzahl betroffener Betriebe in Europa, (B) Anzahl der im Zuge der HPAI-Bekämpfung getöteten und unschädlich beseitigten Vögel in Europa, bzw. (C) in Deutschland. Aus (12, 16).

Insgesamt haben die HPAI-Ausbrüche und insbesondere die Verluste im Bereich des Geflügels seit 2006 europaweit stark zugenommen (Abb. 1). Das Muster der Einträge aus Zentral- und Ostasien nach Europa ähnelt dabei dem des ursprünglichen Eintrages der ersten H5N1-Variante im Jahr 2005: In der Regel lassen sich die Viren, die dann in der nachfolgenden „HPAI-Saison“ in Europa zu Ausbrüchen führen, zunächst in den Zwischenrastgebieten in Zentralasien nachweisen. In Europa, bzw. in Deutschland, traten die ersten Totfunde bei Wildvögeln auf, wenn die Zugvögel im Herbst aus den Sommerquartieren in die Zwischenrastplätze an Nord- und Ostsee kommen, bzw. wenn sie im Frühjahr aus den Winterquartieren zurückkehren. In der Folge kommt es dann häufig mit einem Zeitversatz von einigen Wochen entlang der Zugrouten zu Einträgen in die Geflügelpopulation. Wie sich beispielhaft an der HPAI-Saison 2020- 2021 zeigen lässt, kam es bei Wildvögeln zu einer Häufung von HPAI-Fällen von Ende Oktober bis Anfang Dezember und dann wieder von Ende Februar bis Anfang April (Abb 2). Beim Geflügel traten die Fälle mit einem Versatz von wenigen Wochen zwischen Anfang und Ende Dezember und dann wieder von Ende März bis Ende April auf. Nach Primäreinträgen aus der Wildvogelpopulation kann es je nach Biosicherheitsniveau der betroffenen Betriebe zu Sekundärausbrüchen kommen. Die Berichte der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit, EFSA, weisen für Deutschland für die Saison 2020-2021 insgesamt 253 Ausbrüche von HPAI aus, davon ließen sich etwa 60 % auf einen direkten oder indirekten Viruseintrag aus der Wildvogelpopulation zurückführen. Das übrige Drittel waren Sekundärausbrüche. Hierbei war insbesondere bei Kleinhaltungen ein Eintrag durch den Zukauf infizierter Vögel aus einer gemeinsamen Quelle im ambulanten Geflügelhandel beobachtet worden (17).

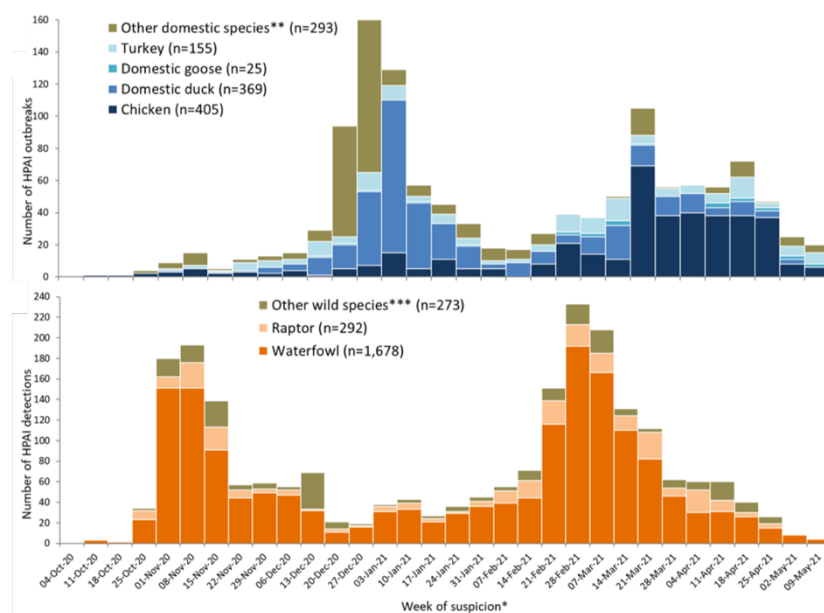


Abb. 2 - HPAI-Ausbrüche beim Geflügel (oben), bzw. HPAI-Nachweise bei Wildvögeln (unten) in Europa im Zeitraum zwischen Oktober 2020 und Mai 2021. Entnommen aus (13).

Generell können durch Ausbruchsuntersuchungen die einzelnen Faktoren, die eine sekundäre Ausbreitung im Geflügel begünstigen, nicht in allen Fällen identifiziert werden. Gemeinsam genutztes Material (z.B. Radlader zur Kadaverentsorgung) sowie gemeinsam bewirtschaftete Räumlichkeiten (z.B. Kadaverräume, Futterlager etc.) beinhalten jedoch ein hohes Risiko. Ebenso sind bei einigen der betroffenen Bestände Mängel in der Biosicherheit festzustellen. Windverschleppungen von Virus spielen eine Rolle, insbesondere im Zuge der Räumung infizierter Bestände, können aber nicht immer im Einzelnen abschließend geklärt werden (18). In der HPAI-Saison 2020-2021 waren etwa 67 % der betroffenen Betriebe kommerzielle Geflügelhaltungen. Das übrige Drittel waren nicht-kommerzielle Kleinhaltungen, wie z.B. auch Zoos. Von August 2020 bis Mai 2021 wurden in Deutschland 1,8 Mio

Vögel (Hühner, Puten, Enten und Gänse) im Zuge der HPAI-Bekämpfung getötet und unschädlich beseitigt (13, 19-21). Im Erfassungsjahr 2017 setzte sich nach Angaben des statistischen Bundesamtes der Geflügelbestand in Deutschland folgendermaßen zusammen: Hühnern - 184 Mio Vögel; Puten - 13,4 Mio Vögel; Enten und Gänse - 3 Mio Vögel (22). Damit wurde in der Saison 2020-2021 für die Tierseuchenbekämpfung in Deutschland rein rechnerisch etwa 1% des Geflügelbestandes für die HPAI-Bekämpfung getötet. Putenbetriebe waren dabei proportional häufiger betroffen als hühnerhaltende Betriebe (Abb 3). In Frankreich stellte sich die Situation im gleichen Zeitraum etwas anders dar: Hier waren vor allem Betriebe der *foie gras*-Produktion betroffen. Dieser Produktionszweig ist durch eine geringe Mechanisierung gekennzeichnet und eher kleinbäuerlich organisiert. Die Tiere werden häufig im Freien gehalten und vor allem zwischen Betrieben, die auf einzelne Produktionsschritte spezialisiert sind, hin und her transportiert. Von 476 Betrieben, die in der Saison 2020-2021 in Frankreich von HPAI betroffen waren, waren 363 dem *foie gras*-Bereich zuzuordnen. Dabei war ausweislich des entsprechenden Berichtes der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit, EFSA, nur ein geringer Teil der Ausbrüche auf einen Primäreintrag zurückzuführen. Die Mehrzahl waren Sekundärausbrüche infolge von Übertragungsketten zwischen den Betrieben. Durch Anwendung der entsprechenden Bekämpfungsmaßnahmen gelang es den französischen Behörden, das Geschehen innerhalb von zwei Monaten zu beenden (20).

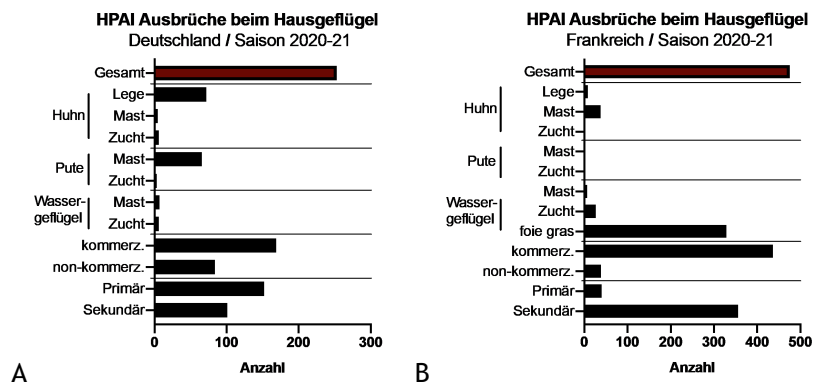


Abb. 3 - HPAI-Ausbrüche beim Geflügel nach Betriebs- und Ausbruchsart (A) in Deutschland, (B) in Frankreich. Entnommen aus (13, 19-21).

Während es in den Ländern der Europäischen Union bislang durch Anpassung der Biosicherheitsmaßnahmen und mit großangelegten Keulungsmaßnahmen gelungen ist, die HPAI-Ausbrüche unter Kontrolle zu bringen, stellt sich die Situation in Afrika und Ostasien zum Teil anders dar: In Ägypten ist es beispielsweise nicht gelungen, die HPAI-Ausbrüche infolge des H5N1-Eintrages unter Kontrolle zu bekommen. Das liegt u.a. an den limitierten Ressourcen, der kleinteiligen Struktur des Geflügelsektors, den traditionellen Vermarktungswegen über Lebendgeflügelmärkte und der nicht ausreichend konsequenten Verwendung von HPAI-Impfstoffen (23). Es ist stattdessen zu einer eigenständigen Weiterentwicklung der eingetragenen Virusstämme mit der Entstehung epizootischer und auch zoonotischer Virusvarianten gekommen (24). Andere Länder, besonders in Asien und dem mittleren Osten, sind in ähnlicher Weise von endemischen Infektionen der gs/GD-Viruslinie und ihren Abkömmlingen betroffen. China spielt aufgrund der Größe der dortigen Geflügelpopulationen sowie der großen Zahl von im Freiland mit offenem Wasserzugang gehaltenen Enten und anderen Wasservögeln sowie großer, stark frequentierter Lebendtiermärkte eine begünstigende Rolle für die endemische Zirkulation und den genetischen Austausch zwischen verschiedenen Influenza Viren. Immer wieder kam es in den vergangenen Jahren auch zu Fällen von AIV-Infektionen beim Menschen, die zum Teil tödlich verliefen (25). Es ist also davon auszugehen, dass es in Gegenden mit endemischer Viruszirkulation auch weiterhin zur Entstehung neuer Virusvarianten und zu Einträgen in Zugvogelpopulationen kommen wird.

IV. Die Immunantwort auf das Influenza Virus

Die Immunantwort auf eine Infektion mit Influenzaviren umfasst ein breites Spektrum an angeborenen und adaptiven Immunmechanismen. Untersuchungen in verschiedenen Säugetiermodellen, wie z.B. Mäusen, Meerschweinchen und Frettchen, haben das allgemeine Verständnis der Immunantwort auf Influenzaviren entscheidend geprägt (26): Insbesondere beim ersten Kontakt eines immunologisch naiven Individuums mit dem Virus ist die schnelle, intrinsische, antivirale Reaktion infizierter Epithel- und Immunzellen entscheidend, die durch verschiedene Detektionssysteme, wie z.B. Toll-like-Rezeptoren (TLRs) oder RIG-I-like Rezeptoren (RLRs), ausgelöst werden kann. Funktionale Detektionssysteme initiieren die Sekretion von Typ-I und Typ-III Interferonen, die ihrerseits die Virusreplikation blockieren (27). Welche Bedeutung diese Systeme haben, zeigt die Tatsache, dass das Virus z.B. mit dem Nichtstrukturprotein NS1 Gegenstrategien entwickelt hat, um eine IFN-Induktion zu verhindern (28).

Das Immunsystem hat daher weitere Strategien entwickelt, um sich gegen Pathogene zu schützen: Im Zuge der Infektion kommt es zunächst zur Aktivierung von Zellen des angeborenen Immunsystems, wie Makrophagen und gewebständigen, dendritischen Zellen, die eine adaptive Immunantwort initiieren (29). Für die Ausbildung einer Gedächtnisreaktion bedarf es anschließend der Aktivierung antigenspezifischer T- und B-Zellen. T-Zellen erkennen ihr Antigen im Zusammenhang mit antigenpräsentierenden Molekülen auf der Oberfläche anderer Zellen. Bei CD4-positiven T-Helferzellen sind das MHC-II Moleküle auf sogenannten professionellen, antigenpräsentierenden Zellen, wie Makrophagen, dendritischen Zellen und B-Zellen. CD8-positive, zytotoxische T-Zellen erkennen ihr Epitop dagegen im Zusammenhang mit MHC-I Molekülen, die ubiquitär auf allen zellkernhaltigen Körperzellen vorhanden sind. Durch die Erkennung virus-spezifischer Epitope, die auf infizierten Zellen präsentiert werden, werden zytotoxische, CD8-positive T Zellen aktiviert und können zytotoxische Effektormoleküle ausschütten, wodurch die infizierte Zelle abstirbt und damit keine weiteren Virionen bilden kann. Gerade bei hochpathogenen Influenzaviren, die systemische Infektionen induzieren, muss eine gute Balance zwischen einer ausreichenden Immunantwort, die zur Eliminierung des Virus führt, und einer möglichst geringen Gewebeerstörung erreicht werden. Neben zahlreichen proinflammatorischen Signalkaskaden existieren daher auch etliche Regulationsmechanismen, die ein Überschießen der zytotoxischen Immunantwort verhindern sollen (30).

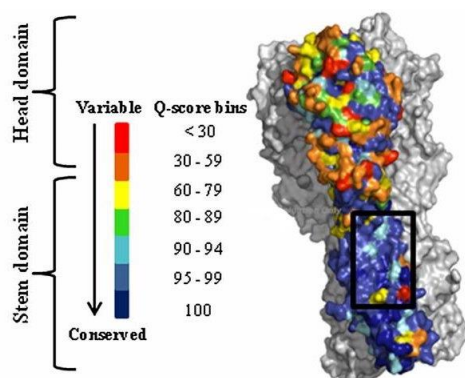


Abb. 4 - Die Abbildung zeigt ein Modell eines Influenzavirus-Hämagglutintrimers. Durch Sequenzvergleiche verschiedener, verwandter Virusisolate wurde für jede einzelne Aminosäureposition ein Variabilitätsquotient gebildet. Entsprechend der Farbskala auf der linken Seite sind die Aminosäuren im apikalen Kopfbereich, in dem die meisten neutralisierenden Antikörper binden, hochvariabel. Im Gegensatz dazu sind die Aminosäuren im Stammbereich deutlich konservierter. Mit dem schwarzen Rechteck ist ein Bereich markiert, der von einem breit kreuzneutralisierenden, monoklonalen Antikörper erkannt wird. Entnommen aus (31).

Im Zusammenhang mit Influenzavirus-Infektionen liegt die Aufgabe der T-Helferzellen primär darin, in Kooperation mit follikulären dendritischen Zellen die humorale, von B-Zellen ausgeführte Antikörperantwort zu orchestrieren: Der vermutlich wichtigste, adaptive Immunmechanismus, der nachhaltig zum Schutz vor einer Influenza-Infektion beiträgt, ist die Bildung virusneutralisierender Antikörper. Das immundominante, virale Zielantigen ist das Hämagglutinin. Die meisten neutralisierenden Antikörper erkennen die rezeptorbindende Region des Hämagglutinins und

verhindern die Bindung des Virus an die zu infizierende Zelle. Allerdings sind Antikörper, die diese Epitope erkennen, häufig spezifisch für eine HA-Variante. Punktmutationen werden in diesem Sequenzbereich besonders häufig selektiert, da sie die Bindungsstärke der neutralisierenden Antikörper entscheidend herabsetzen können. Durch diesen als *antigenic drift* bezeichneten Mechanismus entwickeln sich Escape-Mutanten, die der Immunantwort des einzelnen Individuums ausweichen und letztlich eine Populationsimmunität unterlaufen können. Im Gegensatz zum Kopf- ist der Stiel- oder Stammbereich des HA-Moleküls stärker konserviert. Antikörper, die in diesem Bereich binden, können den Proteaseverdau, der für die Aktivierung der HA Funktionen erforderlich ist, verhindern. In der Regel zeigen diese Antikörper eine breitere Kreuzreaktivität gegenüber verschiedenen Virusvarianten. Allerdings ist dieser Bereich weniger immunogen und auch unzugänglicher für Antikörper. Neben dem Haemagglutinin sind auch andere Strukturproteine des Virus Ziel von Antikörperantworten. Durch eine spezifische Bindung können Antikörper z.B. die enzymatische Aktivität der Neuraminidase hemmen, was ebenfalls zu einer Neutralisierung des Virus führt (32). Daneben können Antikörper, die entweder an das Virus selbst oder an Virusantigene auf der Zelloberfläche infizierter Zellen gebunden sind, durch Aktivierung von Fc-Rezeptoren auf Makrophagen die Phagozytose anregen und damit zu einer beschleunigten Zerstörung der Viren beitragen. Durch Aktivierung von Fc-Rezeptoren auf Natürlichen Killerzellen kann es auch zur ADCC, der antikörperabhängigen, zellvermittelten Zytotoxizität, kommen. Entscheidend ist für diese Funktionen, dass die Antikörper im Bereich der mukosalen Eintrittspforten des Virus vorhanden sind. Systemisch zirkulierende Antikörper des IgG-Isotyps werden -zumindest bei Säugetieren- im tieferen Respirationstrakt durch ein spezialisiertes Transportsystem, den sogenannten neonatalen Fc-Rezeptor über die epitheliale Barriere auf die mukosale Seite transportiert (33). Die mukosale Antikörperzusammensetzung entspricht dort damit im Wesentlichen der Zusammensetzung im Serum. Mukosale Antikörper im oberen Respirationstrakt entsprechen dagegen vor allem dem IgA-Isotyp und werden von spezialisierten Plasmazellen gebildet, die Teil des Mukosa-assoziierten, lymphoiden Gewebes (MALT) sind (34). Die meisten grundlegenden Erkenntnisse zur Funktionsweise des Immunsystems wurden durch Untersuchungen am Menschen, bzw. in Mäusen gewonnen.

Bei Vögeln werden viele ähnliche Immunmechanismen und -strukturen wie bei Säugetieren beobachtet, allerdings liegen zwischen den beiden Tierstämmen 300 Millionen Jahre getrennter Evolution. Es ist daher nicht überraschend, dass es auch grundlegende Unterschiede im Aufbau und in der genetischen Ausstattung der Immunsysteme gibt (35). Augenfällig sind die anatomischen Unterschiede: So existieren bei Vögeln eine Reihe mukosa-assoziiierter lymphatischer Organe, wie die Bursa fabricii, das Meckel'sche Divertikel sowie die Pineal- und die Harder'sche Drüse, die bei Säugetieren in dieser Form nicht vorkommen. Dafür gibt es bei Vögeln keine typischen Lymphknoten, die wie bei Säugetieren von der Lymphe durchströmt werden, sondern allenfalls Ansammlungen lymphatischen Gewebes an und neben Lymphgefäßen (36). Funktionell sind dagegen weniger augenfällige Unterschiede möglicherweise von größerer Bedeutung: So ist z.B. das Gen für TLR-8 bei Vögeln nicht funktionell. Dieser Toll-like-Rezeptor ist -zusammen mit TLR-7, welcher bei Vögeln vorhanden ist- für die Detektion viraler Einzelstrang RNA zuständig. Welche Relevanz der Verlust von TLR-8 hat, ist derzeit nicht vollständig verstanden (37). Dagegen wurde beobachtet, dass Hühner -im Gegensatz zu Enten- nicht über ein funktionelles RIG-I-Gen verfügen. Wie oben ausgeführt, ist RIG-I das Hauptsensorprotein einer intrazellulären Signalkaskade, die nach Detektion viraler RNA zur Aktivierung des Interferonsystems führt (38). Da auch bei Vögeln sowohl Typ-I wie auch Typ-III Interferone, d.h. IFN- λ , bei der Immunabwehr gegen Influenzaviren eine wichtige Rolle spielen (39), wird vermutet, dass dieser Unterschied einen möglichen Grund darstellt, weshalb Hühnervögel eine höhere Empfänglichkeit gegenüber hochpathogenen Influenzaviren aufweisen als Wasservögel (40, 41).

Ein weiterer Unterschied auf molekularer Ebene ist, dass der für die wichtigen antigen-präsentierenden Moleküle kodierende MHC-Genombereich, der bei Hühnern auf Chromosom 16 liegt, wesentlich kleiner und einfacher strukturiert als bei Säugetieren. Damit geht einher, dass pro Haplotyp im Huhn jeweils nur ein dominantes und ein subdominantes MHC-I und MHC-II Analogon exprimiert wird. Das Bindungsrepertoire an möglichen, antigenen Peptiden kann je nach Haplotyp damit beim Huhn wesentlich eingeschränkter als beim Säuger sein. Entsprechend kann es geschehen, dass ein Huhn aufgrund des Peptid-Bindungsmusters seiner individuellen MHC-Moleküle nicht mit einer adäquaten T Zellantwort auf eine Impfung oder ein Pathogen reagiert (42). Gerade bei neueren Impfkonzepthen muss auf diesen Umstand in besonderer Weise geachtet werden, denn T Zellen spielen auch bei Hühnern in der Immunabwehr gegen hochpathogene Influenzaviren eine entscheidende Rolle. Bei dem ersten HPAI Ausbruch des H5N1-Subtyps 1997 in Hongkong wurde beobachtet, dass kreuzreaktive, zytotoxische T Zellen, die durch einen gleichzeitig zirkulierenden H9N2-Virusstamm induziert worden waren, Hühner vor einem letalen Infektionsverlauf nach einer H5N1-Infektion schützten (43). Als kreuzreaktive Antigene wurden später Epitope im Nukleokapsid-Protein sowie in der Stielregion des Haemagglutinins identifiziert (44).

Neben der zellulären Immunantwort spielen auch bei Vögeln neutralisierende Antikörper die entscheidende Rolle bei der Immunabwehr von hochpathogenen Influenzaviren. Dabei verfügen Vögel im Gegensatz zu Säugetieren nur über drei verschiedene Antikörperisotypen. IgM und IgA entsprechen in Sequenz und Funktion den Isotypen bei Säugetieren. IgY ist der im Serum dominierende Isotyp und ähnelt in seiner Funktion dem IgG-Isotyp beim Säugetier. Zum Teil wird in der Literatur daher auch der Begriff IgG verwendet, Sequenzunterschiede scheinen aber die eigene Bezeichnung zu rechtfertigen (45). Interessanterweise verfügt die Ente im Gegensatz zum Huhn über verkürzte IgY-Varianten, die entsprechend nicht an Fc-Rezeptoren binden können (35). Auch dies könnte mit der geringeren Suszeptibilität von Enten gegenüber hochpathogenen Influenzaviren im Zusammenhang stehen. IgY Antikörper sind nicht nur die dominierende Antikörperform im Serum, sie scheinen auch im tiefen Respirationstrakt am stärksten vertreten zu sein. Bereits zu einem frühen Zeitpunkt nach Inokulation werden sie dort im Mukosa-assoziierten lymphatischen Gewebe gebildet (46). Im oberen Respirationstrakt dominieren dagegen -wie bei Säugetieren- Antikörper vom IgA-Isotyp, die vornehmlich in der Harder'schen Drüse gebildet werden (47). Die oben beschriebenen Mechanismen, die zur antikörperabhängigen Neutralisation von Influenzaviren führen, gelten auch für Vögel. Sowohl in *in-vitro* Kulturen als auch *in-vivo* führt die Anwesenheit von neutralisierenden Antikörpern zur Selektion von Escape-Mutanten, die entsprechende Mutationen in den Zielstrukturen, d.h. insbesondere im Haemagglutinin, aufweisen (48, 49). Diese Mutationen können zum Teil profunden Einfluss auf die Funktion der betroffenen Proteine und das Replikationsverhalten der Virusvarianten haben (50). Dabei zeigte sich in einer vergleichenden Studie, bei der zahlreiche Virusvarianten des H5N1-Typs untersucht wurden, die zwischen 2003 und 2011 in Indonesien zirkulierten, dass sich das Muster der Antigenvariation ähnlich wie bei saisonalen Grippeviren darstellte. Die meisten Mutationen bei diesen durch natürliche Immunselektion entstandenen hochpathogenen Influenzaviren fanden sich in der Kopfgruppe des Haemagglutinins in der Nähe der Rezeptorbindungsstelle (51). Die Beobachtung, dass Influenzaviren einer Populationsimmunität durch Entstehung entsprechender Escapemutanten ausweichen, ist auch für die Impfung gegen HPAI von Bedeutung. Je geringer die Übereinstimmung der Antigene zwischen Impfstamm und infizierendem Virus ist, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit einer fehlenden Wirksamkeit (52, 53). Insofern muss darauf geachtet werden, dass der verwendete Impfstamm auf Antigenebene eine möglichst enge Verwandtschaft zu zirkulierenden Virusstämmen aufweist. Innerhalb gewisser Grenzen ist allerdings die Höhe der durch eine Impfung erzeugten Antikörpertiter von größerer Bedeutung als die Antigenhomologie. D.h. bei einer guten Durchimpfungsrate und hohen Impftitern führen vereinzelt auftretende Punktmutationen nicht

notwendigerweise zu veränderten Transmissionsraten und zu einer entsprechenden Selektion von Escapemutanten (54).

V. Impfstoffe gegen hochpathogene, aviäre Influenzaviren

Rahn und Kollegen haben 2015 einen umfassenden Überblick über derzeit verfügbare Impfstoffkonzepte gegen veterinärmedizinisch bedeutsame Influenzaviren veröffentlicht. Der folgende Abschnitt wird sich in Inhalt und Struktur an diesem Übersichtsartikel orientieren (55): Im Veterinärbereich kommen seit vielen Jahren Impfstoffe gegen Influenzaviren bei Schweinen, Pferden und auch beim Geflügel zum Einsatz. Traditionell werden vor allem Vollvirus-Inaktivatvakzine verwendet. Die Viren werden häufig in embryonierten Hühnereiern angezüchtet, weil sich auf diese Weise mit einfachen Mitteln sehr hohe Virustiter erzielen lassen. Die Viren werden in der Regel chemisch inaktiviert und im Gegensatz zu den Spaltvakzinen, die in der Humanmedizin gebräuchlich sind, nicht aufgereinigt. Das inaktivierte Virusmaterial wird adjuvantiert. Im Geflügelbereich kommen verschiedene Adjuvansysteme zum Einsatz (56). Der bislang einzige, seit vielen Jahren in der EU zugelassene Impfstoff gegen aviäre Influenza ist nach diesem Muster hergestellt. Er erhielt 2006 die Marktzulassung und basiert auf einem niedrigpathogenen Virusisolat vom Subtyp H5N2 aus dem Jahr 1986. Auch wenn der Impfstamm nicht direkt mit Stämmen der Guangdong-Linie verwandt ist, wird in den Zulassungsdokumenten aus dem Jahr 2006 darauf hingewiesen, dass die Impfung bei Infektion mit aktuellen HPAI-Viren Schutz vor Mortalität vermittelt und zu einer verringerten Virusausscheidung führt (57). Es gibt keine aktuellen Studien, aus denen hervorgeht, ob der Impfstoff gegen derzeit zirkulierende Viren einen Schutz vermittelt.

Neben diesen klassischen Inaktivatimpfstoffen gibt es eine Reihe von Neuentwicklungen, die unterschiedlich vielversprechend sind: Impfstoffe auf Nukleotid-Basis haben generell den großen Vorzug, dass sie sehr flexibel zu produzieren sind, und damit grundsätzlich eine schnelle Anpassung an neue Virusvarianten erlauben. DNA-Impfstoffe lassen sich relativ leicht herstellen und können gute Antikörperantworten induzieren. Problematisch ist aber die Applikation, da die DNA nicht nur in die Zelle, sondern effizient in den Zellkern gelangen muss, um dort transkribiert zu werden (58, 59). Hinzu kommt die Gefahr der Integration der Impf-DNA in das Wirtsgenom, was möglicherweise zur Tumorbildung führen kann (60). Die Wirksamkeit von mRNA-Impfstoffen ist durch die massenweise Anwendung in SARS-CoV-2 Impfstoffen hinlänglich in das Bewusstsein der Öffentlichkeit gedrungen. In Pilotexperimenten konnte gezeigt werden, dass mRNA-Vakzinen bei Mäusen und Frettchen gute Antikörperantworten gegen hochpathogene Influenzaviren induzieren können (61). Allerdings ist die Herstellung durch die *in-vitro* Transkription, die Aufreinigung der mRNA und die anschließende Verpackung in Lipidnanopartikel ein relativ aufwendiger und damit teurer Prozess (62, 63). Insofern ist ungewiss, ob mRNA-Vakzine in absehbarer Zeit in der Nutztiermedizin zum Einsatz kommen werden. Im Gegensatz zur synthetischen mRNA, die nur für das *gene of interest* codiert, und die in den SARS-CoV-2 Impfstoffen zur Anwendung kam, wird bei Verwendung selbst-amplifizierender RNA-Replicons nur ein Bruchteil der RNA Menge benötigt, um den gleichen protektiven Effekt zu erzielen (64). Zum Einsatz kommen replikationsdefiziente Konstrukte, die auf dem Genom von Alphaviren, z.B. dem Venezuelan Equine Encephalitis Virus (VEE), oder einem Lyssavirus, dem Vesikulären Stomatitis Virus (VSV), basieren. RNA Replicons sind ebenso flexibel einsetzbar wie mRNA-Impfstoffe, aufgrund einer höheren Proteinausbeute kann aber mit geringeren RNA-Mengen eine äquivalente Immunantwort induziert werden. Zudem werden VEE-basierte, virusähnliche Partikel effizient von dendritischen Zellen (DCs) aufgenommen. Damit wird die immunstimulierende Wirkung zusätzlich potenziert (65). RNA Replicons lassen sich auch wesentlich kostengünstiger produzieren, und eignen sich damit grundsätzlich eher für veterinärmedizinische Applikationen. Dass sie tatsächlich in

Hühnervögeln eine protektive Immunität gegen hochpathogene Influenzaviren induzieren, konnte am Beispiel von Puten (66) sowie in Eintagsküken demonstriert werden (67). Hühner die einmal mit einem replikationsdefizienten VSV-Konstrukt immunisiert wurden, das für ein H5-Haemagglutinin kodierte, waren vor einer letalen Infektion mit einem hochpathogenen H5N1-Virus geschützt. Eine zweimalige Applikation verhinderte nach homologem Challenge die Virus-Ausscheidung und Übertragung an ungeimpfte Sentinel-Tiere (68). Ein auf diesem Prinzip basierender Impfstoff, der nicht in virusähnlichen Partikeln, sondern -wie auch die SARS-CoV-2 Impfstoffe- in Lipidnanopartikeln verpackt ist, wird aktuell in Feldversuchen in Frankreich an Enten getestet (69). Bislang sind in der EU jedoch keine derartigen Impfstoffe zugelassen. Es bleibt daher abzuwarten, ob sich dieser Ansatz mittelfristig durchsetzen wird.

Eine andere Alternative zu herkömmlichen Inaktivimpfstoffen bieten Vektorimpfstoffe, d.h. andere attenuierte Impfviren, denen rekombinant ein Schlüsselantigen des aviären Influenzavirus eingesetzt wird. Es sind in den vergangenen Jahren eine Vielzahl von Viren und Bakterien als Plattform für einen aviären Influenzaimpfstoff getestet worden. Dies umfasst aviäre Pockenviren, das Virus der Infektiösen Laryngotracheitis, Orthoavulaviren einschließlich des Newcastle Disease Virus und auch Putenherpesviren (70-73) sowie attenuierte Salmonellenspezies und Lactobazillen (74, 75). Es sind für Hühner in der EU bereits mehrere rekombinante Impfstoffe auf Basis des Putenherpesvirus (HVT) zugelassen, die z.B. zusätzlich Antigene des Newcastle Disease (ND) Virus oder seit Neuestem auch ein HA-Antigen eines niedrigpathogenen H9-Influenzavirus exprimieren. Die herpesbasierten Impfstoffe werden zellassoziiert verabreicht. So können sie bereits für die *in ovo* Applikation eingesetzt werden und eignen sich damit für automatisierte Hochdurchsatzanwendungen (76, 77). Als Herpesviren persistieren auch die Impfviren für eine lange Zeit in den geimpften Vögeln und verursachen so eine lang-andauernde Immunität, insbesondere wenn sie in einem heterologen Prime-Boost-Verfahren angewendet werden (31, 78). Auch wenn sie bislang in der EU nicht zugelassen sind, wird seit vielen Jahren an rekombinanten HVT-H5 Vektoren gearbeitet (70, 79-82). Die Impfstoffe vermitteln in Hühnern, unabhängig von der Anwesenheit maternaler Antikörper (83), auch gegen neuere HPAI-Virusvarianten einen robusten Schutz (84, 85). In Wasservögeln replizieren die Vektoren allerdings kaum (86) und schützen z.B. Enten nicht vor HPAI (87). Auch bei Puten induzieren die Vektoren keinen vollständigen Impfschutz (70).

Außerhalb der EU, vor allem in China, sind Vektorimpfstoffe auf Basis des ND-Virus auch gegen HPAI im Einsatz. Im Vergleich zu konventionellen Inaktivimpfstoffen machen sie aber nur einen Anteil von etwa 5% aus (88, 89). Ein grundsätzliches Problem stellt bei Vektorimpfstoffen eine präexistierende Immunität gegen den Vektor dar. Für einen rNDV-Vektorimpfstoff konnte dieses Problem durch Austausch der Oberflächenproteine des Vektorvirus vermindert werden (90). Eine besondere Form von Vektorimpfstoffen stellen Vakzinen auf Basis von Baculoviren dar, die bei Insekten vorkommen. Über dieses System können in Insektenzellen große Mengen von Protein gebildet werden, die in virusähnliche Partikel verpackt oder als Proteinvakzinen adjuvantiert werden können. Das Virus repliziert im geimpften Wirbeltier nicht. In Insektenzellen produziertes H5-Antigen wurde in einer Öl-Emulsion an Junghühner verimpft und zeigte im Infektionsversuch eine ähnliche Schutzwirkung gegen hochpathogene Influenzaviren verschiedener H5-Kladen wie sie mit herkömmlichen Inaktivimpfstoffen zu erwarten wäre (91). Dasselbe H5-Antigen wurde mit einem NDV Lebendimpfstoff kombiniert in Ägypten in Feldversuchen und auch kommerziell breit eingesetzt und erwies sich ebenfalls gegen beide Viren als wirksam (92). Es wird erwartet, dass Impfstoffe auf Basis des Baculovirus auch bei Wasservögeln eingesetzt werden können.

Impfstoffplattform	Handelsname	Hersteller	H5 clade	Zulassung
inaktiviertes Vollvirus	Nobilis Influenza H5N2	Intervet	nicht zur Guandong-Linie gehörig	EMA
HVT-Vektorimpfstoffe	Vectormune®AI N.N. N.N.	CEVA MSD Intervet Boehringer	clade 2.2 clade 2.2 (modifiziert) clade 2.3.4.4A (modifiziert)	in der EU bislang nicht zugelassen
RNA-Replicon	Response H5	CEVA	2.3.4.4	
Baculovirus-Subunit	Volvac®B.E.S.T. AI + ND	Boehringer	clade 2.3.2	

Tbl. 2 - Die Tabelle zeigt in der linken Spalte Impfstoffplattformen, die für den Einsatz gegen HPAI diskutiert werden. Die folgenden Spalten führen konkrete Beispiele an, die zum Teil in Drittländern zugelassen sind oder in Europa in Feldversuchen getestet werden. Die Tabelle erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

Die meisten Influenza-Impfstoffe induzieren Antikörper, die im Bereich des Rezeptorbinden Kopfbereichs des Hämagglutinins binden. Da dies der variabelste Bereich des Proteins ist (siehe Abbildung 4), kann es dadurch zur Selektion von Evasionsvarianten des Virus kommen, die ihrerseits die impfinduzierte Immunität unterlaufen können. Demgegenüber gibt es Bereiche in der Stielregion des Haemagglutinins, die zwischen den Virusvarianten stark konserviert sind. Antikörper, die derartige, konservierte Epitope binden, sind kreuzreaktiv und können z.T. verschiedene Virus-Subtypen neutralisieren (s.o.). In der Humanmedizin wird seit Langem an Ansätzen geforscht, solche kreuzreaktiven Immunantworten durch einen Impfstoff zu induzieren. Das Ziel ist, einen Impfstoff zu entwickeln, der einen breiten Kreuzschutz gegen neu auftretende, saisonale oder pandemische Influenzaviren induziert (93-95). Da die neutralisierende Wirkung der kreuzreaktiven Antikörper tendenziell schwächer ausfällt als die der subtypspezifischen, ist allenfalls ein Schutz vor klinischer Erkrankung aber nicht vor Virusausscheidung zu erwarten. In Abhängigkeit vom eigentlichen Ziel der Seuchenbekämpfung bleibt damit zu diskutieren, inwieweit ein derartiger Impfansatz für die Veterinärmedizin von Interesse sein kann. Jüngste Studien zeigen ferner, dass auch das Neuraminidaseprotein als Ziel breiter kreuzreagierender humoraler Immunität interessant werden kann (96).

Die Inaktivatimpfstoffe und auch die meisten der hier besprochenen alternativen Impfansätze gegen HPAI erfordern wiederholte, parenterale Applikationen. Gerade in großen Geflügelherden ist mit derartigen Impfungen ein hoher Aufwand verbunden. Massentaugliche Verabreichungsmethoden, wie z.B. die Verabreichung über das Tränkwasser oder die Verimpfung auf Schleimhäute per Aerosol/Spray, sind ein wesentlicher Vorteil von attenuierten Lebendimpfstoffen. Zudem wird durch die mukosale Aufnahme die Bildung lokaler, IgA-dominierter Immunantworten gestärkt, was wiederum zu einer stabileren Immunität im Vergleich zu parenteral verabreichten Inaktivatimpfstoffen führen kann (97). Aufgrund der Gefahr der Reassortierung und damit der Gefahr der *reversion to virulence* sind einfache, attenuierte Lebendimpfstoffe im Fall der HPAI keine Option. Einen möglichen Lösungsansatz bietet die Modifikation des viralen M-Segmentes. Durch Insertion einer autoproteolytischen Schnittstelle gelang es, ein humanpathogenes H1N1 Influenzavirus derart zu attenuieren, dass es nur noch bei 33°C zu replizieren vermag. Im Mausmodell erwies sich dieses Virus als deutlich attenuiert und vermittelte besseren Schutz vor einer homologen Belastungsinfektion als ein vergleichbar modifiziertes, temperatursensitives Virus (98). Ein anderer Ansatz besteht in der Entwicklung chimärer Influenzaviren, die das Hämagglutinin und die Neuraminidase von Influenza A Viren mit den übrigen Gensegmenten von Fledermaus-assoziierten Influenzaviren kombinieren. Aufgrund nichtkompatibler *packaging signals* sind diese chimären Viren nicht in der Lage mit Feldviren zu reassortieren (99). Ein solches chimäres Virus, das das Gen des Hämagglutinins und der Neuraminidase eines H5N1-Virus aus dem Jahr 2006 mit entsprechenden Fledermausvirus-Segmenten

kombinierte, wurde in einem Immunisierungsexperiment erfolgreich an Hühnern und Frettchen getestet. Indem die polybasische Schnittstelle des Haemagglutinins rekombinant durch eine monobasische ersetzt wurde, wurde das Virus zusätzlich attenuiert. Das Impfvirus erwies sich als apathogen in Eintags-Küken und 4-Wochen alten Junghühnern. Drei Wochen nach einmaliger Immunisierung waren alle geimpften Vögel vor einer Infektion mit dem korrespondierenden hochpathogenen H5N1-Virusstamm geschützt. Nicht-immunisierte Sentinel-Tiere zeigten keine Anzeichen einer Infektion, während alle infizierten Kontrolltiere innerhalb von 2 Tagen verstarben (100). Der Ansatz ist vielversprechend, hat aber noch keine Marktreife erlangt.

Insgesamt ist zu konstatieren, dass es zahlreiche Ansätze gibt, eine schützende Immunität gegen hochpathogene aviäre Influenzaviren aufzubauen. In der EU ist derzeit lediglich ein Inaktivimpfstoff zugelassen, der laut Zulassungsdokumenten die Virusausscheidung aktuell zirkulierender HPAI Viren nicht sicher unterbindet. Die Marktverfügbarkeit von HPAI-Impfstoffen, die z.B. nach einmaliger Anwendung sicher vor Klinik, Mortalität und Virusausscheidung schützen, die eine Unterscheidung zwischen geimpften und infizierten Vögeln erlauben, und die in Hochdurchsatzverfahren angewendet werden können, wäre ein wesentlicher Gesichtspunkt, um die Impfung als zusätzliches Mittel der Geflügelpest-Bekämpfung in Betracht ziehen zu können.

VI. Erfahrungen mit HPAI-Impfungen/ Modellierungsstudien

Bis Mitte der 1990er Jahre basierte die Geflügelpestkontrolle auch außerhalb Europas in erster Linie auf klassischen Bekämpfungsmethoden, d.h. Ausbildung der TierhalterInnen und TierärztInnen, Diagnostik, verbesserte Biosicherheit sowie Tötung und unschädliche Beseitigung infizierter Herden. Die Voraussetzung dafür waren und sind ausreichende ökonomische Ressourcen und ein funktionierendes, öffentliches Veterinärwesen. In den Jahren 1994-1995 kam es zu einem großen Ausbruch einer hochpathogenen H5N2-Variante in Mexico, der die Kapazitäten der mexikanischen Geflügelwirtschaft und des öffentlichen Veterinärwesens zu übersteigen drohte. Erst die Kombination herkömmlicher Bekämpfungsmaßnahmen mit einer angelegten Impfkampagne gelang es, zumindest temporär den Ausbruch zu kontrollieren. Seither ist die Impfung gegen HPAI zu einem festen Bestandteil der Kontrollstrategie in etlichen Ländern der Welt geworden. Der ganz überwiegende Teil der verwendeten Impfdosen kam dabei in vier Ländern zum Einsatz, in denen HPAIV H5-Subtypen mittlerweile enzootisch zirkulieren, d.h. China, Ägypten, Indonesien und Vietnam (88). In diesen Ländern ist der Bedarf an Fleisch und insbesondere an Geflügelfleisch in den vergangenen Jahrzehnten rasant angestiegen. Gerade in China werden enorme Tierzahlen an Wassergeflügel nach wie vor auf offenen Flächen, zum Teil auch mit Zugang zu natürlichen Gewässern gehalten. Weit verbreitet sind auch nach wie vor Lebendtiermärkte, bei denen Tiere aus verschiedenen Betrieben zusammen kommen und zum Teil auch zurück in andere Betriebe and Märkte verbracht werden (101). Das waren und sind ideale Bedingungen für eine Weiterverbreitung des Virus. Kontrollstrategien, die nur auf Biosicherheitsmaßnahmen beruhen, sind unter diesen Umständen nicht erfolgreich umzusetzen. Mit den Impfungen wurde daher versucht, eine Reduktion der Viruszirkulation zu erreichen, ohne allerdings grundlegende strukturelle Veränderungen umzusetzen. Die Impfung war insofern erfolgreich, als dass sie dazu beigetragen hat, wirtschaftliche Verluste zu reduzieren. Dagegen ist es nicht gelungen, die Zirkulation hochpathogener Subtypen tatsächlich zu unterbinden. Im Gegenteil, in allen vier Ländern ist HPAI im Wirtschaftsgeflügel endemisch. Dass die präventive Impfung dies nicht verhindert hat, hat mit einer Reihe von grundsätzlichen Herausforderungen zu tun:

(i) Impfquote: Gerade beim Mastgeflügel wird das Erreichen hoher Impfquoten durch die kurzen Durchlaufzeiten erschwert. Jedes Tier eines jeden Durchgangs ist ggf. wiederholt zu immunisieren,

um eine ausreichende Populationsimmunität aufzubauen. Gerade in kleinstrukturierten Freilandhaltungen ist das eine große Herausforderung. Nach einer Erhebung der WOAH für die Jahre 2002-2010 wurden in den genannten Ländern nur eingeschränkt ausreichende Impfquoten erreicht. In China wurde z.B. nur eine durchschnittliche Impfrate von 47 % gemeldet (102).

(ii) Tatsächlich erreichte Immunität nach Impfung: Die Impfstoffe, die in der Regel zum Einsatz kommen, sind in ihrer Zusammensetzung und Anwendung für das Huhn entwickelt. Andere Tierarten, z.B. Enten, reagieren je nach Rasse und Spezies unterschiedlich auf diese Impfstoffe. Bei Vektorimpfstoffen sind sie zum Teil nicht empfänglich für die Trägerviren. Aber auch bei Inaktivimpfstoffen sind sie nach Impfung zwar teilweise gegen klinische Erkrankung, nicht aber gegen Virusausscheidung geschützt (103). Hinzu kommen mögliche, generelle Störgrößen, wie z.B. Parasitenbefall, andere Viruserkrankungen oder maternale Antikörper, die zu einer schlechten Impfantwort nach Impfung beitragen können. Gerade bei Freilandhaltungen besteht die Schwierigkeit darin, tatsächlich alle zu impfenden Tiere zu erreichen, und je nach Applikationsart kann eine fehlerhafte Applikation die Ausbildung einer Immunität verhindern. Auch können in solchenhaltungen die für die Stabilität vieler Impfstoffe notwendigen Kühlketten oft nicht eingehalten werden.

(iii) Übereinstimmung des Impfantigens mit dem zirkulierenden Feldvirus: Grundsätzlich hinkt die Entwicklung, Zulassung und Marktverfügbarkeit von Influenzaimpfstoffen der Entwicklung der Antigenvarianten im Feld hinterher. Bei unzureichender Populationsimmunität kann es zur Selektion von Escape Mutanten kommen (104). Am Beispiel von Feldstämmen, die in Indonesien unter einem Impfselektionsdruck entstanden sind, konnte gezeigt werden, dass zunächst wirksame Impfstoffe aufgrund der Veränderung der Hauptantigene keine Schutzwirkung mehr gegen neu entstandene Varianten aufwiesen (105). Die Voraussetzung für die Entstehung solcher Escape Mutanten ist ein ausreichender Selektionsdruck, der paradoxerweise nur bei einigermaßen erfolgreichen Impfkampagnen entsteht. In einer chinesischen Studie konnte anhand der Populationsdynamik der Virusvarianten gezeigt werden, dass die 2006 initiierte Impfung gegen H5N1, die zu einem deutlichen Rückgang klinischer Ausbrüche geführt hat, diese Variante in einen „Flaschenhals“ geführt hat, aus dem entsprechende Escape Mutanten evolvieren konnten (106).

(iv) Maskierung von Ausbrüchen: Gerade bei suboptimaler Immunitätslage, bei beginnender *antigenic drift* und auch je nach betroffener Tierart kann eine Impfung möglicherweise relativ sicher vor einer klinischen Erkrankung aber nicht vor Infektion und vor allem Virusausscheidung schützen. Dadurch kann es zur Verschleierung von Ausbrüchen kommen. Das ist ganz besonders relevant bei Wassergeflügel, das nach einer HPAIV-Infektion oft ohnehin nur geringe klinische Erscheinungen zeigt (88). Entsprechend kann das Virus unerkannt -und dann unter einem gewissen Selektionsdruck- weiterzirkulieren. Entsprechend kommen andere Interventionsmaßnahmen wie verstärkte Biosicherheit nicht oder nur verzögert zum Einsatz. Eine impfbegleitende Surveillance, die solche „stumme Virusausbreitung“ rechtzeitig erkennt, ist daher von zentraler Bedeutung bei der Durchführung von Impfkampagnen.

Letztlich ist die Zielstellung der Bekämpfungsmaßnahme entscheidend. Geht es nur um die Verhinderung von wirtschaftlichen Verlusten in der geimpften Herde, kann die Impfung bei entsprechender Anpassung des Impfantigens sehr erfolgreich sein. Darüber hinaus kann die Zirkulation von HPAI Virus verringert werden, was insbesondere dort eine Rolle spielt, wo HPAIV zoonotische Bedeutung erlangt haben. Nicht zuletzt um den freien Warenaustausch zu gewährleisten, ist die Zielstellung in Europa aber die vollständige Kontrolle, bzw. Tilgung des Erregers. Während der großflächige, unkritische Einsatz von HPAI-Impfstoffen zusammen mit strukturellen Problemen eher die Gefahr einer Endemisierung birgt (107), kann der zielgerichtete Einsatz bei besonderen

Risikopopulationen gepaart mit ausreichenden Biosicherheitsvorkehrungen eine Ergänzung zu herkömmlichen Bekämpfungsmaßnahmen darstellen. Dieser Logik folgten Impfkampagnen in Frankreich und den Niederlanden im Jahr 2006. In beiden Ländern wurden Freilandherden immunisiert, die nicht aufgestellt werden konnten, und die einem besonders hohen Eintragsrisiko aus der Wildvogelpopulation ausgesetzt waren. In Frankreich betraf dies Tiere des *foie gras*-Sektors. In den Niederlanden ging es um nicht-integrierte, kleinere Freilandhaltungen in Regionen mit besonders hoher Geflügelpopulationsdichte. Nach Einführung der Impfung, die von einer engmaschigen Überwachung begleitet wurde, kam es in den genannten Produktionsbereichen zu keinen Ausbrüchen. Die Impfkampagnen wurden in Frankreich bereits 2006 und in den Niederlanden 2008 abgeschlossen. Auch weil die Produkte z.T. mit Akzeptanzproblemen konfrontiert waren, legten die beiden Länder bei den folgenden Influenza-Epizootien keine weiteren Impfprogramme auf (102).

Es ist nicht ganz klar, welchen Beitrag die Impfung in diesen relativ eng umgrenzten Produktionssegmenten tatsächlich bei der Bekämpfung des Seuchengeschehens geleistet hat. Die Studienlage zur Bedeutung von HPAI-Impfungen in Europa ist relativ dünn: In einer Simulationsstudie, die für Frankreich verschiedene Impfszenarien gegen HPAI untersuchte, kamen die Autoren zu dem Schluss, dass eine effiziente, impfbasierte HPAI-Kontrolle alle Produktionssegmente einschließen müsse. Bei dieser Simulation wurde als Hauptparameter aber die Populationsimmunität berücksichtigt, nicht-pharmazeutische Interventionen wurden weitgehend außer Acht gelassen (108). In einer komplexen niederländischen Simulationsstudie wurden für Regionen mit unterschiedlicher Geflügeldichte verschiedene Bekämpfungsszenarien, denen jeweils ein Minimalschema an Restriktionen (d.h. passive surveillance, Keulung aller Bestände im Umkreis von 1 km um den Indexfall sowie ein 72h standstill nach Ausbruch) zugrunde lag, miteinander verglichen. Der entscheidende Vergleich bezog sich auf den Unterschied zwischen einer vorsorglichen Räumung aller Betriebe im Umkreis von 2 km um einen Ausbruchsbetrieb, einer Ringimpfung im Umkreis von 3 km und Präventivimpfungen in benachbarten Regionen nach einem Ausbruch. Die Autoren kommen zu dem Schluss, dass sich die vorsorgliche Räumung unter Verzicht auf eine Ringimpfung auch im Vergleich zu den anderen vorgestellten Szenarien als am kostengünstigsten darstellte. Gleichzeitig verringert sich aber bei Ringimpfungen die Anzahl an Betrieben, die geräumt werden müssen, um ca. ein Drittel. Für das Szenario, das präventive Impfungen vorsah, ergaben sich etwas höhere Kosten und eine höhere Anzahl an geräumten Betrieben (109, 110). Obwohl die Studie sehr detailliert verschiedene Möglichkeiten durchspielt, wird nicht zwischen Freiland- und Stallhaltungen unterschieden, und es wird von einem einzelnen Indexbetrieb ausgegangen. Die Möglichkeit multipler Einträge aus der Wildvogelpopulation ist nicht berücksichtigt. Dies ist insbesondere im Hinblick auf die Rolle von präventiven Impfungen möglicherweise eine Schwachstelle der Studie, die insofern die aktuelle Bedrohungslage ausblendet. Darüber hinaus gehen die Autoren bezüglich des Eintritts einer impfinduzierten Immunität von einer günstigen Situation aus. Sie setzen in ihrer Studie voraus, dass eine Woche nach einmaliger Immunisierung 50% der Tiere und zwei Wochen nach Immunisierung 95% der Tiere eine ausreichende Immunität aufgebaut haben.

Studiendaten mit dem einzigen, derzeit in der EU zugelassenen Impfstoff gegen aviäre Influenza, Nobilis Influenza H5N2 (57), zeigen dagegen, dass nur 75% geimpfter Legehennen nach einer einmaligen Impfung einen zwei Wochen später durchgeführten Challenge mit einem hochpathogenen H5N1-Feldvirus aus dem Jahr 2006 überlebten. Alle ungeimpften Kontakttiere verendeten innerhalb von vier Tagen. In einem weiteren Challengeversuch zwei Wochen nach der zweiten Immunisierung überlebten alle geimpften Tiere die Infektion; dennoch wurde Virus auf alle ungeimpften Sentineltiere übertragen, die verendeten. Für Hühner ist damit gezeigt, dass der Impfstoff zumindest gegenüber dem dominierenden Virus aus dem Jahr 2006 Schutz vor Mortalität aber nicht vor Virusausscheidung

vermittelte (111). Sehr ähnliche Beobachtungen zur impfinduzierten Immunität wurden bei Gänsen gemacht. Peking-Enten erwiesen sich als nicht suszeptibel gegenüber dem Challengevirus (112). Keine Informationen liegen darüber vor, welchen Schutz der Impfstoff gegenüber aktuellen Virusstämmen vermittelt.

VII. Bekämpfungstrategien/ gesetzliche Vorgaben

Gerade im Sinne des One Health Gedankens wird die Bekämpfung der HPAI in Geflügelpopulationen auch in Zukunft integrale Aufgabe staatlicher Tierseuchenbekämpfung bleiben. Im Vordergrund stehen drei Zielkomplexe:

- (i) Die Verhinderung von Viruszirkulation zur Vermeidung einer Übertragung auf den Menschen und andere Tierspezies (Wildvögel, terrestrische Fleischfresser, Schweine);
- (ii) Die Verhinderung von Viruszirkulation zur Vermeidung von Tierleid;
- (iii) Die Vermeidung von wirtschaftlichen Einbußen durch unmittelbare Tierverluste und Produktionsausfälle sowie durch Handelsrestriktionen.

Seit dem 21. April 2021 ist das neue Tiergesundheitsrecht der EU, insbesondere Verordnung (EU) 2016/429 in Anwendung (113). Im Zuge der Neuordnung des EU-Tiergesundheitsrechtes wurde u.a. die Richtlinie 2005/94/EG und damit auch die Vorgaben der Geflügelpestverordnung aufgehoben. Die delegierte Verordnung (EU) 2023/361, die den Einsatz von bestimmten Tierarzneimitteln gegen bestimmte, gelistete Tierseuchen regelt und unmittelbar geltendes Recht darstellt, trat Ende März 2023 in Kraft (114). Artikel 7 des Entwurfs in Verbindung mit Anhang XVIII gibt den zuständigen Behörden die Möglichkeit, eine Impfung gegen HPAI ohne Genehmigungsvorbehalt der EU durchzuführen. Dabei werden u.a. folgende Bedingungen zugrunde gelegt:

(i) Es dürfen keine attenuierten Lebendimpfstoffe verwandt werden. Grundsätzlich dürfen gegen gelistete Tierseuchen auch keine bestandsspezifischen Impfstoffe zum Einsatz kommen.

(ii) Notimpfungen: In Regionen, in denen HPAI aufgetreten ist, kann die Behörde Notimpfungen zulassen. Die Tiere müssen dann engmaschig überwacht werden: Es muss alle zwei Wochen eine virologische Untersuchung durchgeführt werden, die das Auftreten von HPAI bei einer Prävalenz von 5% mit einem Konfidenzintervall von 95% festzustellen vermag. Zudem ist die Verbringung von Tieren sowie Schlachtprodukten stark reglementiert. Es gelten dabei die Maßgaben gemäß Artikel 28-31 sowie 33 der EU Verordnung 2020/687 (115).

(iii) Präventive Impfungen: In Regionen, in denen noch kein Ausbruch festgestellt wurde, wird der zuständigen Behörde die Möglichkeit gegeben, eine präventive Impfung von Vögeln gegen HPAI zuzulassen. Auch in diesem Fall müssen die Tiere engmaschig virologisch überwacht werden: Im Impfbetrieb müssen tote Vögel gesammelt werden. Die Totfunde sind einmal wöchentlich virologisch auf das Vorhandensein von HPAI-Viren zu untersuchen. Überdies muss die geimpfte Herde alle dreißig Tage durch einen Amtstierarzt klinisch untersucht und virologisch beprobt werden. Im Falle des Virusnachweises wird der Bestand behandelt wie ein ungeimpfter Ausbruchbestand. Es ist bislang ungeklärt, ob und ggf. durch wen die Kosten der Impfung sowie der virologischen Überwachung übernommen werden können¹. Auch nach Präventivimpfung ist die Verbringung reglementiert. Der

¹ Für die wöchentliche virologische Untersuchung gefallener Tiere sind für die Probennahme ca. 8,21 €/ Tier und ca. 30,- € pro Virus-PCR (hierbei können bis zu 5 Proben gepoolt werden) zu veranschlagen. Die Kosten für klinische, monatliche Bestandsuntersuchungen belaufen sich gemäß GOT bei einer Bestandsgröße von unter 1.000 Tieren auf 41,27 €, bei einem Bestand bis zu 10.000 Tieren auf 95,40 €. Die Gesundheitsbescheinigung schlägt mit 17,- € zu Buche. Für die Stichproben-Untersuchung mittels PCR sind -weitgehend unabhängig von der

Verordnungsentwurf ist deutlich detaillierter, grob zusammengefasst, dürfen Tiere aus den Impfbetrieben nur verbracht werden, wenn sich aus den Untersuchungen kein Hinweis auf ein HPAI-Geschehen ergibt. Im Ankunftsbetrieb dürfen die Vögel nur mit anderen geimpften Tieren zusammenstehen (für die ebenfalls Überwachungsmaßnahmen gelten) oder unmittelbar geschlachtet werden. Wenn sie nicht geschlachtet werden, dürfen sie aus dem Ankunftsbetrieb nicht vor Ablauf von 21 Tagen verbracht werden. Die Tiere dürfen -außer zur unmittelbaren Schlachtung- nicht in andere Mitgliedsländer verbracht werden. Etwas einfacher, aber ebenfalls reglementiert ist das Verbringen von Eiern oder Ein-Tages-Küken aus geimpften Lege- bzw. Elternbetrieben. Der Transport von Fleisch und Fleischprodukten geimpfter Tiere wird nicht reglementiert.

Mit diesen Vorgaben trägt der Verordnungsentwurf insbesondere der Sorge Rechnung, dass es unter Impfung zu einer unerkannten Viruszirkulation kommt. Unter Beachtung dieser Maßgaben wird es den jeweiligen Mitgliedstaaten jetzt ermöglicht, gegen HPAI zu impfen. Diese grundsätzliche Möglichkeit ist sehr zu begrüßen, denn die bisherige Nicht-Impfstrategie stammt aus Zeiten, in denen Einbrüche hochpathogener Virusvarianten in Geflügelhaltungen eine Ausnahmesituation darstellten (116). Die HPAI-Ausbrüche seit 2006 waren -zumindest in Europa- nicht die Folge einer endemischen Zirkulation im Geflügel, sondern überwiegend von Einträgen aus Wildvögeln. HPAI-Bekämpfung, die auf Test- und Eradikationsstrategien durch Merzung betroffener und möglicher Kontaktbestände setzt, hat im akuten Ausbruch ihre Berechtigung und verhindert die Endemisierung im Geflügel. Mittelfristig ist in der derzeitigen Situation einer beginnender Endemisierung der HPAIV in Wildvogelpopulationen eine reine Test- und Eradikationsstrategie allerdings wenig nachhaltig, da mit vermehrten zukünftigen Einträgen aus Wildvögeln zu rechnen ist. In der HPAI-Saison 2020-2021 sind in Deutschland 1,9 Mio Tiere, das ist ca. 1% des gesamten Geflügelbestandes, aufgrund von HPAI-Bekämpfungsmaßnahmen getötet und unschädlich beseitigt worden. Während diese Zahl die Wirtschaftlichkeit des kommerziellen Geflügelsektors in Deutschland nicht grundsätzlich in Frage stellt, werden angesichts einer veränderten, gesellschaftlichen Diskussion Forderungen nach alternativen, präventiven und partizipatorischen Lösungen lauter (117, 118). Präventive Impfmaßnahmen können da, wo die Aufrechterhaltung eines hohen Biosicherheitsniveaus aufgrund von kulturellen, technischen oder wirtschaftlichen Erwägungen nicht ohne weiteres möglich ist, Teil einer solchen Lösung sein. Die präventive Impfung von besonders vulnerablen Tierpopulationen -in Deutschland wären das z.B. Mastputen und Freilandbetriebe, in Frankreich Mastenten und -gänse- kann einen wichtigen Beitrag zu einer nachhaltigen HPAI-Bekämpfung leisten.

VIII. Erwägungen zum praktischen Einsatz der Impfung

Impfungen können konventionelle Bekämpfungsstrategien gegen HPAI sinnvoll ergänzen. Dabei geht es nicht nur um die Vermeidung von wirtschaftlichen Verlusten. Ein übergeordnetes Ziel ist generell die Vermeidung der Tötung und unschädlichen Beseitigung von Geflügelbeständen. Angesichts der ständigen Ausbrüche ist es gesellschaftlich kaum vermittelbar, weiterhin ausschließlich auf diese klassischen Methoden der Tierseuchenbekämpfung zu setzen. Ein weiteres, übergeordnetes Ziel ist die generelle Senkung der Viruslast, um das Risiko der Übertragung aus dem Geflügel auf den Menschen, aber auch zurück in Wildvogelpopulationen zu reduzieren. Aus Sicht der StIKo Vet ist dabei Folgendes ist zu beachten:

- a. Grundsätzlich muss ein HPAI-Impfstoff in der Lage sein, in geimpften Herden im Falle eines Eintrages den R_0 -Wert unter 1 zu halten. Der derzeit zugelassene Inaktivat-Impfstoff ist nicht

Bestandsgröße- monatlich 67 Proben zu untersuchen. Dafür sind monatlich bis zu 1.000,- € anzusetzen. Ggf. sind auch Anfahrtkosten zu berücksichtigen.

ausreichend gegen aktuell zirkulierende HPAI-Stämme sowie in möglichen zu impfenden Vogelspezies geprüft, und sollte nicht unkritisch eingesetzt werden. Es gibt eine Reihe von außerhalb der EU im Feld erprobten Impfstoffen, deren Einsatzfähigkeit und Lizenzierung in Europa schnellstmöglich geprüft werden sollten.

Generell bedarf es innovativer, flexibler Impfkonzeppte, um (i) Impfstoffe zeitnah an aktuell zirkulierende Feldviren anzupassen; (ii) möglichst rasch und (iii) mit möglichst wenigen, massentauglichen Applikationen eine schützende Immunität zu induzieren. Es ist zu beachten, dass Impfstoffe mindestens für die Tierarten Huhn, Pute, Ente und Gans benötigt werden.

Ein internationales Expertengremium könnte bei der WOAH oder der EFSA angesiedelt werden, das jährlich eine Empfehlung zur Stammzusammensetzung aktueller HPAI-Impfstoffe veröffentlicht. Die Regelung zu vereinfachtem Stammaustausch im Bereich Equiner Influenzaimpfstoffe sollte auf HPAI-Impfstoffe ausgedehnt werden (119).

- b. Die Impfung gegen HPAI birgt das Risiko einer Maskierung von Ausbrüchen und klinisch inapparenter Viruszirkulation. Ein engmaschiges, möglichst sensitives Virusmonitoring ist unverzichtbarer Bestandteil jeglicher Impfmaßnahmen gegen HPAI. Dabei ist die Sensitivität des Testsystems ebenso zu berücksichtigen wie die Kosteneffizienz und die Praktikabilität. Z.B. ist eine systematische Einzeltierbeprobung von Putenherden ab einem Alter von 10 Wochen nicht ohne erheblichen Stress für die Herde und entsprechende Schäden an den Tieren zu bewerkstelligen. Dagegen hat sich die Untersuchung mittels RT-qPCR von Sammelproben, z.B. aus Tränkebiofilm, zur Früherkennung eines HPAI-Ausbruchs in der Praxis sehr bewährt (120, 121). Auch bei einer entsprechenden Optimierung ist die Durchführbarkeit der Maßnahmen und die dabei entstehenden Kosten in die Abwägung zur Impfentscheidung miteinzubeziehen. Zu beachten ist auch, dass nach derzeitiger Rechtslage die Überwachungsmaßnahmen aufrechterhalten werden müssen, bis das letzte geimpfte Tier den Betrieb verlassen hat.
- c. In der Verordnung (EU) 2023/361 wird zwischen Notsuppressionsimpfungen, Notschutzimpfungen und Präventivimpfungen unterschieden (114). Angesichts der effizienten Eradikationssysteme, die in vergangenen Jahren aufgebaut wurden, und angesichts der Verzögerung bis zum Einsetzen einer Immunität sind **Suppressionsimpfungen** bei HPAI nicht sinnvoll. Ähnliches gilt für **Notschutzimpfungen**, wenn es bereits zu Ausbrüchen in Geflügelbeständen gekommen ist. Sie lassen sich zwar regional gut eingrenzen, aufgrund der zeitlichen Verzögerung bis zum Eintritt der Immunität kommen sie im Falle der HPAI und kurzlebiger Geflügelpopulationen in der Regel zu spät.

Dagegen können **präventive Impfungen** in Gegenden und Perioden mit einem hohen Eintragsrisiko aus Wildvogelpopulationen sinnvoll sein. Dies gilt insbesondere für kommerzielle Haltungsbereiche, die strukturell Schwierigkeiten haben, ein ausreichendes Maß an Biosicherheit aufzubauen (z.B. Putenmast in Louisiana-Ställen, Gänseeltern-tierhaltung, Freilandlegehennenhaltung). Davon sind ganz besonders extensive, artgerechte Haltungsformen (wie z.B. fahrbare Offenställe) betroffen. Obwohl sie eine hohe gesellschaftliche Akzeptanz erfahren, sind solche Betriebe z.B. durch Aufstallungspflichten strukturell in ihrer Existenz bedroht. Präventive Impfungen können auch bei wertvollen (seltenen) Tierbeständen (z.B. in Zoos, in besonderen Zuchtbeständen (Großeltern- oder Elterntieren etc.) sinnvoll sein. Wo möglich, sollten regionale Risikogeographien (z.B. anhand der Nähe zu Rast- oder Futterplätzen von ziehenden Wasservögeln) definiert werden. Betriebe innerhalb von Risikogebieten sollten prioritär immunisiert werden. Großflächige, präventive Impfungen im Kleinhalterbereich lassen sich

schwer kontrollieren und bergen auch aufgrund der zu erwartenden, hohen Überwachungskosten ein hohes Risiko an fehlender Haltercompliance sowie unerkannter Virusreplikation.

- d. Um in den genannten, strukturell besonders gefährdeten Produktionsbereichen Anreize zur Implementierung der Impfung zu schaffen, sollte in Abhängigkeit von der betroffenen Tierart und des verwendeten Impfstoffes erwogen werden, z.B. Aufstallungspflichten in Impfbetrieben auszusetzen. Auch wäre für Impfbetriebe eine finanzielle Unterstützung der Überwachungsmaßnahmen durch die Tierseuchenkassen zu prüfen.

Darüber hinaus muss der malusfreie Handel mit Produkten aus geimpften Geflügelbeständen auch international gewährleistet werden. Reglementierungen für das Verbringen von Bruteiern und Eintagsküken aus geimpften Beständen dürfen auch unter Berücksichtigung von Belangen des Tierwohls nicht zu einer Störung etablierter Handelsstrukturen führen. Da nach Notschutzimpfung an das Verbringen von geimpften Tieren sowie Erzeugnissen aus geimpften Tieren besonders hohe Hürden geknüpft sind, sollten Impfungen bei erhöhtem Eintragsrisiko aus der Wildvogelpopulation -solange es nicht zu Ausbrüchen in Geflügelbeständen gekommen ist- als Präventivimpfung im Sinne der Verordnung gewertet werden.

Es gibt derzeit eine ganze Reihe von Unwägbarkeiten, die konkretere Empfehlungen momentan noch verunmöglichen. Dazu gehört die Frage, welche Impfstoffe in absehbarer Zeit auf den Markt kommen werden, wie sich die Kosten der Impfung und der Überwachung verteilen lassen, und wie die Impfung durch Drittländer akzeptiert werden wird. Die StIKo Vet behält sich daher vor, die Stellungnahme in kurzen Abständen zu aktualisieren und den entsprechenden Entwicklungen anzupassen.

IX. Quellen

1. Boni MF, Zhou Y, Taubenberger JK, Holmes EC. Homologous recombination is very rare or absent in human influenza A virus. *J Virol.* 2008. 82(10):4807-11.
2. Bosch FX, Orlich M, Klenk HD, Rott R. The structure of the hemagglutinin, a determinant for the pathogenicity of influenza viruses. *Virology.* 1979. 95(1):197-207.
3. Geflügelpest-Verordnung in der Fassung der Bekanntmachung vom 15. Oktober 2018 vom 15. Oktober 2018 in der jeweils geltenden Fassung (Bundesgesetzblatt Teil I, S. 1665)
4. Beer M. Familie Orthomyxoviridae. In: Selbitz HJ, Truyen U, Valentin-Weigand P. Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre. 10. aktualisierte Auflage. Stuttgart: Enke Verlag; 2015. p. 546 ff.
5. Swayne DE, Suarez DL. Highly pathogenic avian influenza. *Rev Sci Tech.* 2000. 19(2):463-82.
6. Alexander DJ. An overview of the epidemiology of avian influenza. *Vaccine.* 2007. 25(30):5637-44.
7. King J, Harder T, Conraths FJ, Beer M, Pohlmann A. The genetics of highly pathogenic avian influenza viruses of subtype H5 in Germany, 2006-2020. *Transbound Emerg Dis.* 2021. 68(3):1136-50.
8. Xu X, Subbarao, Cox NJ, Guo Y. Genetic characterization of the pathogenic influenza A/Goose/Guangdong/1/96 (H5N1) virus: similarity of its hemagglutinin gene to those of H5N1 viruses from the 1997 outbreaks in Hong Kong. *Virology.* 1999. 261(1):15-9.
9. Claas EC, Osterhaus AD, van Beek R, De Jong JC, Rimmelzwaan GF, Senne DA, Krauss S, Shortridge KF, Webster RG. Human influenza A H5N1 virus related to a highly pathogenic avian influenza virus. *Lancet.* 1998. 351(9101):472-7.
10. Chen H, Smith GJ, Zhang SY, Qin K, Wang J, Li KS, Webster RG, Peiris JS, Guan Y. Avian flu: H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl. *Nature.* 2005. 436(7048):191-2.
11. Olsen B, Munster VJ, Wallensten A, Waldenstrom J, Osterhaus AD, Fouchier RA. Global patterns of influenza a virus in wild birds. *Science.* 2006. 312(5772):384-8.
12. European Food Safety A, European Centre for Disease P, Control, European Union Reference Laboratory for Avian I, Adlhoch C, Fusaro A, Gonzales JL, Kuiken T, Marangon S, Niqueux E, Staubach C, Terregino C, Aznar I, Munoz Guajardo I, Baldinelli F. Avian influenza overview December 2021 - March 2022. *EFSA J.* 2022. 20(4):e07289.
13. European Food Safety A, European Centre for Disease P, Control, European Union Reference Laboratory for Avian I, Adlhoch C, Fusaro A, Gonzales JL, Kuiken T, Marangon S, Niqueux E, Staubach C, Terregino C, Aznar I, Guajardo IM, Lima E, Baldinelli F. Avian influenza overview February - May 2021. *EFSA J.* 2021. 19(12):e06951.
14. Roche B, Drake JM, Brown J, Stallknecht DE, Bedford T, Rohani P. Adaptive evolution and environmental durability jointly structure phylodynamic patterns in avian influenza viruses. *PLoS Biol.* 2014. 12(8):e1001931.
15. Group WOFHNEW. Continued evolution of highly pathogenic avian influenza A (H5N1): updated nomenclature. *Influenza Other Respir Viruses.* 2012. 6(1):1-5.
16. Alarcon P, Brouwer A, Venkatesh D, Duncan D, Dovas CI, Georgiades G, Monne I, Fusaro A, Dan A, Smietanka K, Ragias V, Breed AC, Chassalevris T, Goujgoulova G, Hjulsager CK, Ryan E, Sanchez A, Niqueux E, Tammiranta N, Zohari S, Stroud DA, Savic V, Lewis NS, Brown IH. Comparison of 2016-17 and Previous Epizootics of Highly Pathogenic Avian Influenza H5 Guangdong Lineage in Europe. *Emerg Infect Dis.* 2018. 24(12):2270-83.
17. Denzin N, Bolling M, Pohlmann A, King J, Globig A, Conraths FJ. Investigation into a Superspreading Event of the German 2020-2021 Avian Influenza Epidemic. *Pathogens.* 2022. 11(3).
18. Hohmeier-Bachmann T, Schell S. Tiergesundheitsjahresbericht 2017. Greifswald - Insel Riems 2018.
19. European Food Safety A, European Centre for Disease Prevention CEURLfAI, Adlhoch C, Fusaro A, Gonzales JL, Kuiken T, Marangon S, Niqueux E, Staubach C, Terregino C, Aznar I, Munoz Guajardo I, Baldinelli F. Avian influenza overview May - September 2021. *EFSA J.* 2022. 20(1):e07122.
20. European Food Safety A, European Centre for Disease P, Control, European Union Reference Laboratory for Avian I, Adlhoch C, Fusaro A, Gonzales JL, Kuiken T, Marangon S, Niqueux E, Staubach C, Terregino C, Munoz Guajardo I, Lima E, Baldinelli F. Avian influenza overview December 2020 - February 2021. *EFSA J.* 2021. 19(3):e06497.
21. European Food Safety Authority ECfDP, Control, European Union Reference Laboratory for Avian I, Adlhoch C, Fusaro A, Gonzales JL, Kuiken T, Marangon S, Niqueux E, Staubach C, Terregino C, Baldinelli F. Avian influenza overview August - December 2020. *EFSA J.* 2020. 18(12):e06379.
22. Hohmeier-Bachmann T, Schell S. Tiergesundheitsjahresbericht 2020. Greifswald - Insel Riems 2021.
23. Abdelwhab EM, Abdel-Moneim AS. Epidemiology, ecology and gene pool of influenza A virus in Egypt: will Egypt be the epicentre of the next influenza pandemic? *Virulence.* 2015. 6(1):6-18.
24. Abdelwhab EM, Hassan MK, Abdel-Moneim AS, Naguib MM, Mostafa A, Hussein ITM, Arafa A, Erfan AM,

- Kilany WH, Agour MG, El-Kanawati Z, Hussein HA, Selim AA, Kholousy S, El-Naggar H, El-Zoghby EF, Samy A, Iqbal M, Eid A, Ibraheem EM, Pleschka S, Veits J, Nasef SA, Beer M, Mettenleiter TC, Grund C, Ali MM, Harder TC, Hafez HM. Introduction and enzootic of A/H5N1 in Egypt: Virus evolution, pathogenicity and vaccine efficacy ten years on. *Infect Genet Evol.* 2016. 40:80-90.
25. Su S, Bi Y, Wong G, Gray GC, Gao GF, Li S. Epidemiology, Evolution, and Recent Outbreaks of Avian Influenza Virus in China. *J Virol.* 2015. 89(17):8671-6.
26. Nguyen TQ, Rollon R, Choi YK. Animal Models for Influenza Research: Strengths and Weaknesses. *Viruses.* 2021. 13(6).
27. Killip MJ, Fodor E, Randall RE. Influenza virus activation of the interferon system. *Virus Res.* 2015. 209:11-22.
28. Munoz-Moreno R, Martinez-Romero C, Garcia-Sastre A. Induction and Evasion of Type-I Interferon Responses during Influenza A Virus Infection. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2021. 11(10).
29. Iwasaki A, Pillai PS. Innate immunity to influenza virus infection. *Nat Rev Immunol.* 2014. 14(5):315-28.
30. Braciale TJ, Sun J, Kim TS. Regulating the adaptive immune response to respiratory virus infection. *Nat Rev Immunol.* 2012. 12(4):295-305.
31. Mallajosyula VV, Citron M, Ferrara F, Lu X, Callahan C, Heidecker GJ, Sarma SP, Flynn JA, Temperton NJ, Liang X, Varadarajan R. Influenza hemagglutinin stem-fragment immunogen elicits broadly neutralizing antibodies and confers heterologous protection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2014. 111(25):E2514-23.
32. Krammer F. The human antibody response to influenza A virus infection and vaccination. *Nat Rev Immunol.* 2019. 19(6):383-97.
33. Spiekermann GM, Finn PW, Ward ES, Dumont J, Dickinson BL, Blumberg RS, Lencer WI. Receptor-mediated immunoglobulin G transport across mucosal barriers in adult life: functional expression of FcRn in the mammalian lung. *J Exp Med.* 2002. 196(3):303-10.
34. Pakkanen SH, Kantele JM, Moldoveanu Z, Hedges S, Hakkinen M, Mestecky J, Kantele A. Expression of homing receptors on IgA1 and IgA2 plasmablasts in blood reflects differential distribution of IgA1 and IgA2 in various body fluids. *Clin Vaccine Immunol.* 2010. 17(3):393-401.
35. Magor KE, Miranzo Navarro D, Barber MR, Petkau K, Fleming-Canepa X, Blyth GA, Blaine AH. Defense genes missing from the flight division. *Dev Comp Immunol.* 2013. 41(3):377-88.
36. Nagy N, Olah I, Vervelde L. Structure of the avian lymphoid system. In: Kaspers B, Schat K, Göbel T, Vervelde L. *Avian Immunology*. 3rd edition. London: Academic Press; 2022. p. 11 ff.
37. Smith A, Fiddaman S. Pattern recognition receptors. In: Kaspers B, Schat K, Göbel T, Vervelde L. *Avian Immunology*. 3rd edition. London: Academic Press; 2022. p. 231 ff.
38. Evseev D, Magor KE. Innate Immune Responses to Avian Influenza Viruses in Ducks and Chickens. *Vet Sci.* 2019. 6(1).
39. Reuter A, Soubies S, Hartle S, Schusser B, Kaspers B, Staeheli P, Rubbenstroth D. Antiviral activity of lambda interferon in chickens. *J Virol.* 2014. 88(5):2835-43.
40. Barber MR, Aldridge JR, Jr., Fleming-Canepa X, Wang YD, Webster RG, Magor KE. Identification of avian RIG-I responsive genes during influenza infection. *Mol Immunol.* 2013. 54(1):89-97.
41. Barber MR, Aldridge JR, Jr., Webster RG, Magor KE. Association of RIG-I with innate immunity of ducks to influenza. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010. 107(13):5913-8.
42. Kaufman J. The avian major histocompatibility complex. In: Kaspers B, Schat K, Göbel T, Vervelde L. *Avian Immunology*. 3rd edition. London: Academic Press; 2022. p. 135 ff.
43. Seo SH, Webster RG. Cross-reactive, cell-mediated immunity and protection of chickens from lethal H5N1 influenza virus infection in Hong Kong poultry markets. *J Virol.* 2001. 75(6):2516-25.
44. Singh S, Briles WE, Lupiani B, Collisson EW. Avian influenza viral nucleocapsid and hemagglutinin proteins induce chicken CD8+ memory T lymphocytes. *Virology.* 2010. 399(2):231-8.
45. Härtle S, Magor KE, Göbel T, Davison F, Kaspers B. Structure and evolution of avian immunoglobulins. In: Kaspers B, Schat K, Göbel T, Vervelde L. *Avian Immunology*. 3rd edition. London: Academic Press; 2022. p. 135 ff.
46. de Geus ED, Rebel JM, Vervelde L. Kinetics of the avian influenza-specific humoral responses in lung are indicative of local antibody production. *Dev Comp Immunol.* 2012. 36(2):317-22.
47. van Ginkel FW, Tang DC, Gulley SL, Toro H. Induction of mucosal immunity in the avian Harderian gland with a replication-deficient Ad5 vector expressing avian influenza H5 hemagglutinin. *Dev Comp Immunol.* 2009. 33(1):28-34.
48. Sitaras I, Kalthoff D, Beer M, Peeters B, de Jong MC. Immune escape mutants of Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1 selected using polyclonal sera: identification of key amino acids in the HA protein. *PLoS One.* 2014. 9(2):e84628.
49. Hinshaw VS, Sheerar MG, Larsen D. Specific antibody responses and generation of antigenic variants in chickens immunized against a virulent avian influenza virus. *Avian Dis.* 1990. 34(1):80-6.
50. Rudneva IA, Timofeeva TA, Ignatieva AV, Shilov AA, Krylov PS, Ilyushina NA, Kaverin NV. Pleiotropic effects of hemagglutinin amino acid substitutions of H5 influenza escape mutants. *Virology.* 2013. 447(1-2):233-9.
51. Koel BF, van der Vliet S, Burke DF, Bestebroer TM, Bharoto EE, Yasa IW, Herliana I, Laksono BM, Xu K, Skepner E, Russell CA, Rimmelzwaan GF, Perez DR, Osterhaus AD, Smith DJ, Prajitno TY, Fouchier RA. Antigenic variation of clade 2.1 H5N1 virus is

- determined by a few amino acid substitutions immediately adjacent to the receptor binding site. *mBio*. 2014. 5(3):e01070-14.
52. Grund C, Abdelwhab el SM, Arafa AS, Ziller M, Hassan MK, Aly MM, Hafez HM, Harder TC, Beer M. Highly pathogenic avian influenza virus H5N1 from Egypt escapes vaccine-induced immunity but confers clinical protection against a heterologous clade 2.2.1 Egyptian isolate. *Vaccine*. 2011. 29(33):5567-73.
53. Connie Leung YH, Luk G, Sia SF, Wu YO, Ho CK, Chow KC, Tang SC, Guan Y, Malik Peiris JS. Experimental challenge of chicken vaccinated with commercially available H5 vaccines reveals loss of protection to some highly pathogenic avian influenza H5N1 strains circulating in Hong Kong/China. *Vaccine*. 2013. 31(35):3536-42.
54. Sitaras I, Rousou X, Kalthoff D, Beer M, Peeters B, de Jong MC. Role of vaccination-induced immunity and antigenic distance in the transmission dynamics of highly pathogenic avian influenza H5N1. *J R Soc Interface*. 2016. 13(114):20150976.
55. Rahn J, Hoffmann D, Harder TC, Beer M. Vaccines against influenza A viruses in poultry and swine: Status and future developments. *Vaccine*. 2015. 33(21):2414-24.
56. Lone NA, Spackman E, Kapczynski D. Immunologic evaluation of 10 different adjuvants for use in vaccines for chickens against highly pathogenic avian influenza virus. *Vaccine*. 2017. 35(26):3401-8.
57. EMA: European Public Assessment Report - Nobilis Influenza H5N2. 25. März 2021. <https://www.ema.europa.eu/>
58. Pertmer TM, Eisenbraun MD, McCabe D, Prayaga SK, Fuller DH, Haynes JR. Gene gun-based nucleic acid immunization: elicitation of humoral and cytotoxic T lymphocyte responses following epidermal delivery of nanogram quantities of DNA. *Vaccine*. 1995. 13(15):1427-30.
59. Dhama K, Mahendran M, Gupta PK, Rai A. DNA vaccines and their applications in veterinary practice: current perspectives. *Vet Res Commun*. 2008. 32(5):341-56.
60. Wang Z, Troilo PJ, Wang X, Griffiths TG, Pacchione SJ, Barnum AB, Harper LB, Pauley CJ, Niu Z, Denisova L, Follmer TT, Rizzuto G, Ciliberto G, Fattori E, Monica NL, Manam S, Ledwith BJ. Detection of integration of plasmid DNA into host genomic DNA following intramuscular injection and electroporation. *Gene Ther*. 2004. 11(8):711-21.
61. Petsch B, Schnee M, Vogel AB, Lange E, Hoffmann B, Voss D, Schlake T, Thess A, Kallen KJ, Stitz L, Kramps T. Protective efficacy of in vitro synthesized, specific mRNA vaccines against influenza A virus infection. *Nat Biotechnol*. 2012. 30(12):1210-6.
62. Schoenmaker L, Witzigmann D, Kulkarni JA, Verbeke R, Kersten G, Jiskoot W, Crommelin DJA. mRNA-lipid nanoparticle COVID-19 vaccines: Structure and stability. *Int J Pharm*. 2021. 601:120586.
63. Pardi N, Hogan MJ, Weissman D. Recent advances in mRNA vaccine technology. *Curr Opin Immunol*. 2020. 65:14-20.
64. Vogel AB, Lambert L, Kinnear E, Busse D, Erbar S, Reuter KC, Wicke L, Perkovic M, Beissert T, Haas H, Reece ST, Sahin U, Tregoning JS. Self-Amplifying RNA Vaccines Give Equivalent Protection against Influenza to mRNA Vaccines but at Much Lower Doses. *Mol Ther*. 2018. 26(2):446-55.
65. Vander Veen RL, Harris DL, Kamrud KI. Alphavirus replicon vaccines. *Anim Health Res Rev*. 2012. 13(1):1-9.
66. Santos JJS, Obadan AO, Garcia SC, Carnaccini S, Kapczynski DR, Pantin-Jackwood M, Suarez DL, Perez DR. Short- and long-term protective efficacy against clade 2.3.4.4 H5N2 highly pathogenic avian influenza virus following prime-boost vaccination in turkeys. *Vaccine*. 2017. 35(42):5637-43.
67. Schultz-Cherry S, Dybing JK, Davis NL, Williamson C, Suarez DL, Johnston R, Perdue ML. Influenza virus (A/HK/156/97) hemagglutinin expressed by an alphavirus replicon system protects chickens against lethal infection with Hong Kong-origin H5N1 viruses. *Virology*. 2000. 278(1):55-9.
68. Halbherr SJ, Brostoff T, Tippenhauer M, Locher S, Berger Rentsch M, Zimmer G. Vaccination with recombinant RNA replicon particles protects chickens from H5N1 highly pathogenic avian influenza virus. *PLoS One*. 2013. 8(6):e66059.
69. Struna H: Deux vaccins contre la grippe aviaire en cours d'expérimentation en France. In: EURACTIV MEDIA NETWORK BV. 18. Mai 2022. <https://www.euractiv.fr/>
70. Kapczynski DR, Dorsey K, Chrzastek K, Moraes M, Jackwood M, Hilt D, Gardin Y. Vaccine Protection of Turkeys Against H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza Virus with a Recombinant Turkey Herpesvirus Expressing the Hemagglutinin Gene of Avian Influenza. *Avian Dis*. 2016. 60(2):413-7.
71. Pavlova SP, Veits J, Keil GM, Mettenleiter TC, Fuchs W. Protection of chickens against H5N1 highly pathogenic avian influenza virus infection by live vaccination with infectious laryngotracheitis virus recombinants expressing H5 hemagglutinin and N1 neuraminidase. *Vaccine*. 2009. 27(5):773-85.
72. Romer-Oberdorfer A, Veits J, Helferich D, Mettenleiter TC. Level of protection of chickens against highly pathogenic H5 avian influenza virus with Newcastle disease virus based live attenuated vector vaccine depends on homology of H5 sequence between vaccine and challenge virus. *Vaccine*. 2008. 26(19):2307-13.
73. Bublot M, Pritchard N, Swayne DE, Selleck P, Karaca K, Suarez DL, Audonnet JC, Mickle TR. Development and use of fowlpox vectored vaccines for avian influenza. *Ann N Y Acad Sci*. 2006. 1081:193-201.
74. Yang WT, Yang GL, Shi SH, Liu YY, Huang HB, Jiang YL, Wang JZ, Shi CW, Jing YB, Wang CF. Protection of chickens against H9N2 avian influenza virus challenge with recombinant *Lactobacillus plantarum* expressing conserved antigens. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2017. 101(11):4593-603.
75. Won G, Senevirathne A, Lee JH. Salmonella Enteritidis ghost vaccine carrying the hemagglutinin globular head (HA1) domain from H1N1 virus protects

against salmonellosis and influenza in chickens. *Vaccine*. 2020. 38(28):4387-94.

76. EMA: European Public Assessment Report - Vectormune ND. 12. Oktober 2015. <https://www.ema.europa.eu/>.

77. EMA: European Public Assessment Report - Ultifend ND IBD. 12. Oktober 2015. <https://www.ema.europa.eu/>.

78. Palya V, Tatar-Kis T, Mato T, Felfoldi B, Kovacs E, Gardin Y. Onset and long-term duration of immunity provided by a single vaccination with a turkey herpesvirus vector ND vaccine in commercial layers. *Vet Immunol Immunopathol*. 2014. 158(1-2):105-15.

79. Reemers S, Versteegen I, Basten S, Hubers W, van de Zande S. A broad spectrum HVT-H5 avian influenza vector vaccine which induces a rapid onset of immunity. *Vaccine*. 2021. 39(7):1072-9.

80. Soejoedono RD, Murtini S, Palya V, Felfoldi B, Mato T, Gardin Y. Efficacy of a recombinant HVT-H5 vaccine against challenge with two genetically divergent Indonesian HPAI H5N1 strains. *Avian Dis*. 2012. 56(4 Suppl):923-7.

81. Rauw F, Palya V, Van Borm S, Welby S, Tatar-Kis T, Gardin Y, Dorsey KM, Aly MM, Hassan MK, Soliman MA, Lambrecht B, van den Berg T. Further evidence of antigenic drift and protective efficacy afforded by a recombinant HVT-H5 vaccine against challenge with two antigenically divergent Egyptian clade 2.2.1 HPAI H5N1 strains. *Vaccine*. 2011. 29(14):2590-600.

82. Kapczynski DR, Esaki M, Dorsey KM, Jiang H, Jackwood M, Moraes M, Gardin Y. 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*. 2015. 33(9):1197-205.

83. Rauw F, Palya V, Gardin Y, Tatar-Kis T, Dorsey KM, Lambrecht B, van den Berg T. Efficacy of rHVT-AI vector vaccine in broilers with passive immunity against challenge with two antigenically divergent Egyptian clade 2.2.1 HPAI H5N1 strains. *Avian Dis*. 2012. 56(4 Suppl):913-22.

84. Nassif S, Zaki F, Mourad A, Fouad E, Saad A, Setta A, Felfoldi B, Mato T, Kiss I, Palya V. Herpesvirus of turkey-vectored avian influenza vaccine offers cross-protection against antigenically drifted H5Nx highly pathogenic avian influenza virus strains. *Avian Pathol*. 2020. 49(6):547-56.

85. Palya V, Tatar-Kis T, Walkone Kovacs E, Kiss I, Homonnay Z, Gardin Y, Kertesz K, Dan A. 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. 2018:3143189.

86. Palya V, Kovacs EW, Tatar-Kis T, Felfoldi B, Homonnay ZG, Mato T, Sato T, Gardin Y. Recombinant Turkey Herpesvirus-AI Vaccine Virus Replication in Different Species of Waterfowl. *Avian Dis*. 2016. 60(1 Suppl):210-7.

87. Pantin-Jackwood MJ, Kapczynski DR, DeJesus E,

Costa-Hurtado M, Dauphin G, Tripodi A, Dunn JR, Swayne DE. Efficacy of a Recombinant Turkey Herpesvirus H5 Vaccine Against Challenge With H5N1 Clades 1.1.2 and 2.3.2.1 Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses in Domestic Ducks (*Anas platyrhynchos domesticus*). *Avian Dis*. 2016. 60(1):22-32.

88. Swayne DE, Spackman E, Pantin-Jackwood M. Success factors for avian influenza vaccine use in poultry and potential impact at the wild bird-agricultural interface. *Ecohealth*. 2014. 11(1):94-108.

89. Chen H, Bu Z. Development and application of avian influenza vaccines in China. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2009. 333:153-62.

90. Steglich C, Grund C, Ramp K, Breithaupt A, Hoper D, Keil G, Veits J, Ziller M, Granzow H, Mettenleiter TC, Romer-Oberdorfer A. Chimeric newcastle disease virus protects chickens against avian influenza in the presence of maternally derived NDV immunity. *PLoS One*. 2013. 8(9):e72530.

91. Oliveira Cavalcanti M, Vaughn E, Capua I, Cattoli G, Terregino C, Harder T, Grund C, Vega C, Robles F, Franco J, Darji A, Arafa AS, Mundt E. A genetically engineered H5 protein expressed in insect cells confers protection against different clades of H5N1 highly pathogenic avian influenza viruses in chickens. *Avian Pathol*. 2017. 46(2):224-33.

92. Said M, Soliman MA, Mousa S, Arafa A, Hussein HA, Amarín N, Mundt E. Efficacy of Bivalent Inactivated Vaccine Containing Insect Cell-Expressed Avian Influenza H5 and Egg-Based Newcastle Disease Virus (NDV) Against Dual Infection with Highly Pathogenic H5N1 and Velogenic NDV in Chickens. *Avian Dis*. 2019. 63(3):474-80.

93. Sautto GA, Kirchenbaum GA, Ross TM. Towards a universal influenza vaccine: different approaches for one goal. *Virology*. 2018. 15(1):17.

94. Berlanda Scorza F, Tsvetnitsky V, Donnelly JJ. Universal influenza vaccines: Shifting to better vaccines. *Vaccine*. 2016. 34(26):2926-33.

95. Krammer F. Emerging influenza viruses and the prospect of a universal influenza virus vaccine. *Biotechnol J*. 2015. 10(5):690-701.

96. Chen YQ, Wohlbold TJ, Zheng NY, Huang M, Huang Y, Neu KE, Lee J, Wan H, Rojas KT, Kirkpatrick E, Henry C, Palm AE, Stamper CT, Lan LY, Topham DJ, Treanor J, Wrasmert J, Ahmed R, Eichelberger MC, Georgiou G, Krammer F, Wilson PC. Influenza Infection in Humans Induces Broadly Cross-Reactive and Protective Neuraminidase-Reactive Antibodies. *Cell*. 2018. 173(2):417-29 e10.

97. Jang H, Elaish M, Kc M, Abundo MC, Ghorbani A, Ngunjiri JM, Lee CW. Efficacy and synergy of live-attenuated and inactivated influenza vaccines in young chickens. *PLoS One*. 2018. 13(4):e0195285.

98. Nogales A, DeDiego ML, Topham DJ, Martinez-Sobrido L. Rearrangement of Influenza Virus Spliced Segments for the Development of Live-Attenuated Vaccines. *J Virol*. 2016. 90(14):6291-302.

99. Juozapaitis M, Aguiar Moreira E, Mena I, Giese S, Riegger D, Pohlmann A, Hoper D, Zimmer G, Beer M,

- Garcia-Sastre A, Schwemmler M. An infectious bat-derived chimeric influenza virus harbouring the entry machinery of an influenza A virus. *Nat Commun*. 2014. 5:4448.
100. Schon J, Ran W, Gorka M, Schwemmler M, Beer M, Hoffmann D. A modified live bat influenza A virus-based vaccine prototype provides full protection against HPAIV H5N1. *NPJ Vaccines*. 2020. 5(1):40.
101. Liu S, Zhuang Q, Wang S, Jiang W, Jin J, Peng C, Hou G, Li J, Yu J, Yu X, Liu H, Sun S, Yuan L, Chen J. Control of avian influenza in China: Strategies and lessons. *Transbound Emerg Dis*. 2020. 67(4):1463-71.
102. Swayne DE, Pavade G, Hamilton K, Vallat B, Miyagishi K. 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. *Rev Sci Tech*. 2011. 30(3):839-70.
103. Steensels M, Van Borm S, Lambrecht B, De Vriese J, Le Gros FX, Bublöt M, van den Berg T. Efficacy of an inactivated and a fowlpox-vectored vaccine in Muscovy ducks against an Asian H5N1 highly pathogenic avian influenza viral challenge. *Avian Dis*. 2007. 51(1 Suppl):325-31.
104. Abdel-Moneim AS, Afifi MA, El-Kady MF. Genetic drift evolution under vaccination pressure among H5N1 Egyptian isolates. *Virol J*. 2011. 8:283.
105. Swayne DE, Suarez DL, Spackman E, Jadhao S, Dauphin G, Kim-Torchetti M, McGrane J, Weaver J, Daniels P, Wong F, Selleck P, Wiyono A, Indriani R, Yupiana Y, Sawitri Siregar E, Prajitno T, Smith D, Fouchier R. Antibody titer has positive predictive value for vaccine protection against challenge with natural antigenic-drift variants of H5N1 high-pathogenicity avian influenza viruses from Indonesia. *J Virol*. 2015. 89(7):3746-62.
106. Li YT, Su YCF, Smith GJD. H5Nx Viruses Emerged during the Suppression of H5N1 Virus Populations in Poultry. *Microbiol Spectr*. 2021. 9(2):e0130921.
107. Swayne DE, Spackman E. Current status and future needs in diagnostics and vaccines for high pathogenicity avian influenza. *Dev Biol (Basel)*. 2013. 135:79-94.
108. Hautefeuille C, Azzouguen B, Mouchel S, Dauphin G, Peyre M. Evaluation of vaccination strategies to control an avian influenza outbreak in French poultry production networks using EVACS tool. *Prev Vet Med*. 2020. 184:105129.
109. Longworth N, Mourits MC, Saatkamp HW. Economic analysis of HPAI control in the Netherlands I: epidemiological modelling to support economic analysis. *Transbound Emerg Dis*. 2014. 61(3):199-216.
110. Longworth N, Mourits MC, Saatkamp HW. Economic analysis of HPAI control in the Netherlands II: comparison of control strategies. *Transbound Emerg Dis*. 2014. 61(3):217-32.
111. Rudolf M, Poppel M, Frohlich A, Breithaupt A, Teifke J, Blohm U, Mettenleiter T, Beer M, Harder T. Longitudinal 2 years field study of conventional vaccination against highly pathogenic avian influenza H5N1 in layer hens. *Vaccine*. 2010. 28(42):6832-40.
112. Rudolf M, Poppel M, Frohlich A, Mettenleiter T, Beer M, Harder T. Efficacy of a commercial inactivated H5 influenza vaccine against highly pathogenic avian influenza H5N1 in waterfowl evaluated under field conditions. *Rev Sci Tech*. 2009. 28(1):275-91.
113. Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Europäischen Rates vom 9. März 2016 zu Tierseuchen und zur Änderung und Aufhebung einiger Rechtsakte im Bereich der Tiergesundheit („Tiergesundheitsrecht“) vom 31. März 2016 in der jeweils geltenden Fassung (Amtsblatt der Europäischen Union L 84, S. 1-208)
114. Delegierte Verordnung (EU) 2023/361 der Kommission vom 28. November 2022 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich Vorschriften für die Verwendung bestimmter Tierarzneimittel zur Prävention und Bekämpfung bestimmter gelisteter Seuchen vom 28. November 2022 in der jeweils geltenden Fassung (Amtsblatt der Europäischen Union S. 1 - 42)
115. Delegierte Verordnung (EU) 2020/687 der Kommission vom 17. Dezember 2019 zur Ergänzung der Verordnung (EU) 2016/429 des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich Vorschriften für die Prävention und Bekämpfung bestimmter gelisteter Seuchen vom 3. Juni 2020 in der jeweils geltenden Fassung (Amtsblatt der Europäischen Union L 174, S. 64-139)
116. Werner O, Harder TC. [Control and eradication strategies for classic fowl plague in Germany and the European Union]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. 2006. 119(3-4):151-9.
117. Degeling C, Lederman Z, Rock M. Culling and the Common Good: Re-evaluating Harms and Benefits under the One Health Paradigm. *Public Health Ethics*. 2016. 9(3):244-54.
118. Forster P. Ten years on: generating innovative responses to avian influenza. *Ecohealth*. 2014. 11(1):15-21.
119. CVMP: Note for Guidance: Harmonisation for Requirements for Equine Influenza Vaccines - Specific Requirements for Substitution or Addition of a Strain or of Strains EMA. 1998/12/01. <http://www.ema.europa.eu/>
120. Sieverding E. Ergebnisse und erste Erfahrungen eines Influenza-Monitorings über Tränkwasserproben (eDNA) in einer Geflügelintensivregion. In: 102. Fachgespräch über Geflügelkrankheiten. 7.-8.06.2022 Hannover
121. Munoz-Aguayo J, Flores-Figueroa C, VanBeusekom E, McComb B, Wileman B, Anderson J, Halvorson DA, Kromm M, Lauer D, Marusak R, Nezworski J, Voss S, Cardona C. Environmental Sampling for Influenza A Viruses in Turkey Barns. *Avian Dis*. 2019. 63(1):17-23.

Die Stellungnahme wurde vom Arbeitskreis Geflügel der StIKo Vet erarbeitet. Dem Arbeitskreis gehören an:

Prof. Dr. S. Rautenschlein; TiHo Hannover (Vors.)

Dr. C. Ahlers; TSK Thüringen

Prof. Dr. T. Harder; FLI

Prof. Dr. B. Kaspers; LMU München

Dr. I. Lehmann; LAVES, Hannover

Dr. C. Schwarzer; prakt. Tierarzt Freising

Dr. E. Sieverding; prakt. Tierarzt, Lohne

Prof. Dr. U. Truyen; Universität Leipzig

Ständige Impfkommission Veterinärmedizin (StIKo Vet)
am Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit

StIKo Vet Geschäftsstelle
Südufer 10
D-17493 Greifswald - Insel Riems

Leiter der Geschäftsstelle
Dr. Max Bastian
Telefon +49 (0) 38351 7-1026
E-Mail: stikovet@fli.de
Internet: www.stiko-vet.de