

Aan de minister van
Infrastructuur en Waterstaat
drs. C. van Nieuwenhuizen-Wijbenga
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 18 juni 2021
KENMERK CGM/210618-02
ONDERWERP Advies Pathogeniteitsklasse vleermuisvirussen H17N10 en H18N11

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,


Naar aanleiding van een verzoek van het Bureau GGO (COG 21-011_000) om een pathogeniteitsklasse toe te kennen aan de influenza A virussen H17N10 en H18N11, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van twee influenza A virussen, afkomstig uit vleermuizen: H17N10 en H18N1. Ook is de COGEM gevraagd of deze virussen als strikt dierpathogeen beschouwd kunnen worden.

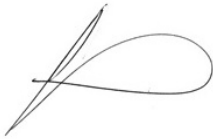
Influenza A virussen zijn RNA virussen en komen voor onder wilde watervogels circuleren ook onder honden, varkens, paarden en mensen. De vleermuisvirussen H17N10 en H18N11 worden beschreven als 'influenza-achtig', aangezien deze virussen deels andere eigenschappen bezitten dan kenmerkend voor influenza A virussen. Zo dringen H17N10 en H18N11 hun gastheercellen binnen via een andere celreceptor, het 'major histocompatibility complex II', dan gebruikelijk. De virussen H17N10 en H18N11 kunnen zich vermeerderen in cellen van vleermuizen, honden en mensen. Experimenten in proefdieren tonen aan dat de virussen kunnen worden overgedragen tussen individuele vleermuizen, maar niet kunnen spreiden naar muizen of fretten. Daarbij vertonen de fretten geen ziektesymptomen na blootstelling aan de virussen. Influenza A virussen kunnen door de uitwisseling van genoomsegmenten hun eigenschappen veranderen, echter gezien de verschillen met H17N10 en H18N11 is de uitwisseling met deze virussen en kans op verandering van eigenschappen, gering. De COGEM is niet bekend met infectie van de mens met H17N10 of H18N11.

Het bovenstaande in overweging nemende, adviseert de COGEM om H17N10 en H18N11 in te delen in pathogeniteitsklasse 2 als strikt dierpathogene virussen. Ook adviseert zij deze virussen op te nemen op Bijlage 4 van de Regeling ggo.



De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Met vriendelijke groet,



Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c. - Dr. J. Westra, Hoofd Bureau ggo
 - Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG
 Milieu en Internationaal

Pathogeniteitsclassificatie van de vleermuis influenza A virussen H17N10 en H18N11

COGEM advies CGM/210618-02

1. Inleiding

Naar aanleiding van een uitgebracht advies van de COGEM getiteld 'Heroverweging pathogeniteitsclassificatie influenza A virussen'¹ is door het Bureau GGO een aanvullende adviesvraag opgesteld (COG 21-001). In deze aanvullende adviesvraag is de COGEM onder andere gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van twee influenza A virussen afkomstig uit vleermuissoorten, H17N10 en H18N1, en opname van deze virussen op Bijlage 4 van de Regeling ggo.² Bijlage 4 van de Regeling ggo betreft de lijst met pathogene virussen, bacteriën, schimmels en parasieten van pathogeniteitsklassen 2 tot en met 4. Tevens is de COGEM gevraagd of deze virussen als strikt dierpathogeen beschouwd kunnen worden. De overige vragen van de aanvullende adviesvraag COG 21-001 zijn behandeld in advies CGM/210618-01.³

2. Pathogeniteitsclassificatie Regeling genetisch gemodificeerde organismen (ggo)

Onder de ggo-regelgeving worden bij de pathogeniteitsclassificatie van een micro-organisme de risico's voor mens en milieu in ogenschouw genomen. Daartoe worden de micro-organismen ingedeeld in vier pathogeniteitsklassen. Deze indeling start met pathogeniteitsklasse 1, die gevormd wordt door apathogene micro-organismen en loopt op tot pathogeniteitsklasse 4, de groep van hoog pathogene micro-organismen. Iedere pathogeniteitsklasse is gekoppeld aan een inperkingsniveau voor werkzaamheden met ggo's van die klasse.

Apathogene micro-organismen worden ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1. Dergelijke micro-organismen dienen minimaal aan één van de volgende criteria te voldoen:

- a) het micro-organisme behoort niet tot een soort waarvan vertegenwoordigers bekend zijn die ziekteverwekkend zijn voor mens, dier of plant;
- b) het micro-organisme heeft een lange historie van veilig gebruik onder omstandigheden waarbij geen bijzondere inperkende maatregelen worden getroffen;
- c) het micro-organisme behoort tot een soort die vertegenwoordigers bevat van klasse 2, 3 of 4, maar de stam in kwestie bevat geen genetisch materiaal dat verantwoordelijk is voor de virulentie;
- d) van het micro-organisme is het niet-virulente karakter door middel van adequate tests aangetoond.

Een indeling in pathogeniteitsklasse 2 is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een ziekte kan veroorzaken, waarvan het onwaarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is, alsmede een micro-organisme dat bij planten een ziekte kan veroorzaken.

Een indeling in pathogeniteitsklasse 3 is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is.

Een indeling in pathogeniteitsklasse 4 is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een zeer ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er geen effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is.

2.1 Strikt dierpathogene virussen

In 2014 heeft de COGEM in een advies beschreven aan welke criteria een virus moet voldoen om als strikt dierpathogeen virus aangemerkt te worden.⁴ De definitie die zij hiervoor hanteert, luidt als volgt: *Een strikt dierpathogeen virus is een virus met een dier als primaire gastheer waarbij infectie, al dan niet gevolgd door ziekte, bij de mens nooit is waargenomen, tenzij onder uitzonderlijke omstandigheden.*

De overweging die de COGEM hanteert om dierpathogenen te classificeren wijkt op enkele punten af van die van humaanpathogenen. In 2014 heeft de COGEM in een signalering inzicht geboden in haar overweging bij de classificatie van dierpathogene micro-organismen, en aangegeven welke aspecten een rol spelen in haar oordeel.⁵ De classificatie van dierpathogene micro-organismen is gebaseerd op vier elementen:

- a) het ziekmakende potentieel,
- b) de enzoötische aanwezigheid,
- c) het verspreidingspotentieel van het betreffende micro-organisme,
- d) de mogelijkheden om verspreiding in te perken.

Deze elementen belichten specifieke kenmerken van het betreffende micro-organisme en vormen ieder een onderdeel van de totale classificatie. De COGEM benadrukt hierbij dat geen van de elementen afzonderlijk een doorslaggevende rol heeft, maar altijd in samenhang met elkaar tot een classificatie leidt.

3. Influenza A virus

Influenza A virussen behoren tot het genus *Alphainfluenzavirus* binnen de familie *Orthomyxoviridae*.⁶ De virussen in deze familie bezitten een enkelstrengs RNA genoom bestaande uit segmenten, die uitgewisseld kunnen worden tussen virussen van hetzelfde genus ('reassortment').⁷ Het influenza A virusgenoom bestaat uit acht segmenten die coderen voor de drie eiwitten (PB1, PB2 en PA) die het RNA-polymerase vormen, het nucleoproteïne (NP), de matrixeiwitten (M1 en M2), de niet-structurele eiwitten (NS1 en NEP) en de oppervlakte-eiwitten (HA en NA).^{7,8} Het oppervlakte-eiwit HA, haemagglutinine, is verantwoordelijk voor de aanhechting en het binnendringen van het virusdeeltje in de gastheer cel.⁷ Hiervoor bindt het HA eiwit aan sialzuurgroepen (neuraminezuren), die onderdeel uitmaken van glycoproteïnen en glycolipiden (glycoconjugaten) die zich aan het oppervlak van de gastheer cel bevinden. De structuur van de glycoconjugaten verschilt tussen verschillende gastheren, waardoor het virus soort-specifiek is. Het virale oppervlakte-eiwit NA, neuraminidase, heeft een sialidase activiteit waardoor nieuwe virusdeeltjes zich niet blijven hechten aan de gastheer cel. Influenza

A virussen worden in subtypen geclassificeerd op basis van de HA en NA oppervlakte-eiwitten, zoals bijvoorbeeld influenzavirussen H1N1, H2N2, etc. Tot op heden zijn er 16 typen HA typen en 9 typen NA geïdentificeerd.^{7,9}

Influenza A virussen komen voor onder wilde watervogels. Vanuit deze gastheer kan overdracht plaatsvinden naar pluimvee.⁸ Daarnaast circuleren influenza A virus-subtypen bij varkens, paarden, honden en als seizoensgebonden influenzavirussen bij mensen.¹⁰ Het overgrote deel van de influenzavirussen is laagpathogeen voor hun natuurlijke gastheer, slechts enkele subtypen kunnen een ernstiger ziektebeeld veroorzaken. Een influenzavirus kan leiden tot een pandemie, wanneer een ‘nieuw’ dierlijk of humaan-dierlijk (‘reassortant’) influenzavirus in de humane populatie wordt geïntroduceerd, het virus gemakkelijk van mens-op-mens wordt overgedragen en er weinig of geen immuniteit is tegen dit virus. Er zijn in het verleden influenzapandemieën ontstaan onder de humane populatie door de 1918 H1N1 ‘Spaanse griep’, 1957 H2N2 ‘Aziatische griep’, 1968 H3N2 ‘HongKonggriep’, 1977 H1N1 ‘Russische griep’ en de 2009 H1N1 ‘Mexicaanse griep’ ((H1N1)pdm09).^{10,11}

3.1 Vleermuis influenza A virussen H17N10 en H18N11

Tot op heden zijn er drie influenza A virusvarianten gevonden in vleermuissoorten. In 2012 is, met behulp van ‘pan-influenza RT-PCR’, RNA van het H17N10 virus gedetecteerd in rectale monsters van geelschoudervleermuizen (*Sturnira lilium*) in Guatemala.¹² In 2013 werd, eveneens met RT-PCR, het subtype H18N11 gedetecteerd in rectale monsters van ‘flat-faced fruit bat’ vleermuizen (*Artibeus jamaicensis planirostris*) in Peru.¹³ H18N11 is daarnaast ook aangetroffen in twee Braziliaanse vleermuizen (*Artibeus lituratus*).¹⁴ In 2017 is in Egypte een derde influenza A virusvariant gedetecteerd in vleermuizen.¹⁵ Dit derde virus is gelijkend aan een influenza A virus afkomstig van vogels (H9N2)¹⁵, dit in tegenstelling tot H17N10 en H18N11.

H17N10 en H18N11 worden ook beschreven als ‘influenza-achtig’, aangezien de HA en NA eiwitten van deze virussen andere eigenschappen bezitten dan die van de HA en NA eiwitten van de conventionele influenza A virussen. Hierdoor zijn H17N10 en H18N11 ook bekend als respectievelijk HL17NL10 en HL18NL11: ‘HA-like’ en ‘NA-like’ eiwitten.¹⁶ Het HA-like eiwit van H17N10 en H18N11 bindt, in tegenstelling tot het HA-eiwit, niet aan sialzuur-groepen.^{13,17,18} En het NA-like eiwit bezit, in tegenstelling tot NA, geen sialidase-activiteit.¹⁹

H17N10 en H18N11 virusdeeltjes zijn tot op heden niet uit wilde vleermuizen geïsoleerd. Bij onderzoek naar deze virussen wordt er onder meer gebruik gemaakt van ‘reporter minigenome’ systemen, waardoor genomereplicatie en transcriptie van de virale sequenties mogelijk is in humane en primatencellen en de functionaliteit van de virale polymerase-eiwitten bestudeerd kan worden.^{12,13} Onderzoek aan de virussen wordt ook uitgevoerd met chimere virussen, bestaande uit bijvoorbeeld het ‘Indiana vesiculovirus’ (ook bekend als vesicular stomatitis virus (VSV) of ‘vesicular stomatitis Indiana virus’ (VSIV)²⁰) met een HA-like eiwit (HL17 of HL18) in plaats van het G-eiwit, waarmee vleermuiszellen²¹ maar ook cellen van honden of mensen²² geïnfecteerd kunnen worden. In cellijnen die vatbaar bleken voor infectie met de chimere virussen, konden H17N10 en H18N11 virusdeeltjes worden gepropageerd die met behulp van ‘reverse-genetics’ tot stand waren gekomen.²² Niet alle cellijnen die vatbaar waren voor de VSV-chimeren met HA-like eiwitten, waren ook vatbaar voor de H17N10 en/of H18N11 virusdeeltjes.²²

Seriële passage van H18N11 virusdeeltjes in cellen afkomstig van honden (cellijn RIE1495) leidde tot mutaties in zowel het HA-like als het NA-like eiwit, wat resulteerde in hogere virustiters.²³ Het RNA van dit gemuteerde virus kon gedetecteerd worden in blootgestelde fretten, wat impliceert dat er beperkte replicatie plaatsvindt in de dieren, in vergelijking met wildtype H18N11 virus waarvan geen RNA gedetecteerd kon worden.²³ De fretten, die veelal gebruikt worden als modelorganisme voor infecties met humane influenzavirussen, bevatten wel virus-specifieke antilichamen, maar geen van alle blootgestelde dieren vertoonden klinische symptomen.^{23,24,27} Via reverse-genetics geproduceerd H18N11 repliceert in vleermuizen en kan worden overgedragen op andere individuen, maar spreiding naar muizen en fretten is niet aangetoond.²³

De vleermuisvirussen H17N10 en H18N11 dringen de gastheercel binnen via een interactie tussen het HA-like eiwit en het ‘major histocompatibility complex’ klasse II (MHC-II) eiwit.^{25,26} Tevens is aangetoond dat H17N10 gebruik kan maken van de humane MHC-II homoloog HLA-DR (humane leukocyt antigeen-DR) als receptor.^{26,27} Het is nog onbekend of MHC-II de enige bindingsreceptor is of fungeert als essentiële cofactor voor het binnendringen van de gastheercel door H17N10 en H18N11.^{25,26,28}

Door de uitwisseling of ‘reassortment’ van RNA genoomsegmenten van verschillende influenza A virussen kunnen nieuwe virussen ontstaan met een andere virulentie of gastheertropisme. Het creëren van een chimeer virus bestaande uit segmenten van H17N10 en SC35M, een aan muis-geadapteerd H7N7 influenza A virus, was enkel mogelijk als de HA- en NA-eiwitten van SC35M de 3’ en 5’ terminale sequenties van H17 en N10 bevatten.²⁹ Dit toonde aan dat het RNA ‘packaging signal’ van het vleermuisvirus verschilt van dat van de conventionele influenza A virussen.²⁹ ‘Reassortment’ tussen de vleermuisvirussen H17N10 en H18N11 was wel mogelijk.³⁰ Omdat de ‘influenza-achtige’ vleermuisvirussen incompatibel zijn met de conventionele influenzavirussen, zijn ze interessant voor vaccinontwikkeling tegen bijvoorbeeld varkens-influenzavirussen³¹ en hoogpathogene aviaire influenzavirussen.³²

4. Eerder COGEM advies

In 2020 heeft de COGEM een advies uitgebracht betreffende de heroverweging van de pathogeniteitsclassificatie van influenza A virussen.¹ In dit advies heeft de COGEM na heroverweging geconcludeerd om alle influenza A virussen omlaag te schalen naar pathogeniteitsklasse 2. Een aantal influenzavirussen zijn uitgezonderd van deze omlaagschaling en blijven gehandhaafd in klasse 3, namelijk de hoogvirulente aviaire influenzavirussen van subtypen H5 en H7, humaanpathogene laagpathogene aviaire influenza virussen (H7N9), pandemische virulente virussen (1918 H1N1 ‘Spaanse griep’ en 1957 H2N2 ‘Aziatische griep’), en ‘nieuwe’ influenzavirussen met een pandemisch potentieel.

5. Overweging en advies

Van de virussen H17N10 en H18N11 is het genetisch materiaal aangetroffen in wilde vleermuizen, maar virusdeeltjes zijn tot op heden niet geïsoleerd.^{12,13,14} H17N10 en H18N11 dringen de cellen van de gastheer binnen via een interactie tussen het HA-like eiwit en de MHC-II receptor van de

gastheer cel.^{25,26,27} MHC-II receptoren bevinden zich op veel celtypen en komen voor bij een groot aantal vertebraten, waaronder de mens en dieren waarmee de mens regelmatig in contact komt, zoals vee.²⁵ Desalniettemin tonen studies naar H17N10 en H18N11 aan dat deze virussen slecht aangepast zijn aan andere zoogdieren dan de vleermuis, zo kunnen de virussen niet repliceren in muizen of fretten.^{23,24,29} Adapterende mutaties kunnen optreden in de virussen, waardoor zij beperkt kunnen repliceren in fretten, desondanks veroorzaakten de geadapteerde virussen geen ziekte in fretten en is de overdracht naar andere dieren niet waargenomen.^{23,24} Daarbij verschilt het RNA ‘packaging signal’ van de ‘influenza-achtige’ vleermuisvirussen met dat van conventionele influenza A virussen, waardoor de kans op het ontstaan van gereassorteerde virussen onwaarschijnlijk is.²⁹ Voor zover bij de COGEM bekend, zijn er tot op heden geen meldingen van de detectie van H17N10 of H18N11 virusdeeltjes of sequenties in andere zoogdieren dan vleermuizen. Voor zover bij de COGEM bekend is infectie van de mens met H17N10 ofwel H18N11, al dan niet gevolgd door ziekte, nooit waargenomen.

Het bovenstaande in overweging nemende, adviseert de COGEM om beide influenza A virussen H17N10 en H18N11, afkomstig uit vleermuizen, in te delen in pathogeniteitsklasse 2 als strikt dierpathogene virussen. Zij adviseert deze virussen tevens op te nemen op Bijlage 4 van de Regeling ggo.

De COGEM merkt hierbij op dat voor werkzaamheden met beide vleermuis influenza A virussen geldt, dat al het onderzoek dat gericht is op het verhogen van de pathogeniteit, de virulentie of de transmissie, of op het veranderen van het gastheerbereik (bijvoorbeeld door het inbrengen van sequenties waarvan bekend is dat deze de pathogeniteit/virulentie verhogen) op inperkingsniveau III uitgevoerd moet worden.’ Dit komt overeen met de voorwaarden voor laboratoriumwerkzaamheden met gg-influenza A virussen, zoals beschreven in paragraaf 8.1 van het advies ‘Heroverweging pathogeniteitsclassificatie influenza A virussen,¹ en verder toegelicht in de antwoorden op de vervolgvragen van Bureau GGO.³

Referenties

1. COGEM (2020) Heroverweging pathogeniteitsclassificatie influenza A virussen. COGEM advies CGM/201006-02
2. Ministerie van Infrastructuur en Milieu. Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2021-04-01> (bezoekt: 31 mei 2021)
3. COGEM (2021). Vervolgadvies heroverweging pathogeniteitsclassificatie Influenza A virussen. COGEM advies CGM/210618-01
4. COGEM (2014) Inventarisatie van strikt dierpathogene virussen. COGEM advies CGM/141216-02
5. COGEM (2014) Criteria voor de classificatie van dierpathogene micro-organismen. COGEM signalering CGM/141013-02
6. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (bezoekt: 3 juni 2021)
7. Brown EG (2000). Influenza virus genetics. Biomed. Pharmacother. 54: 196-209

8. Wright PF *et al.* (2013). Chapter 41 Orthomyxoviruses. In: Fields Virology, volume 1, sixth edition. Edited by Knipe DM *et al.* Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia
9. Fouchier RA *et al.* (2005). Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. *J. Virol.* 79: 2814–2822
10. Short K *et al.* (2015). One health, multiple challenges: The inter-species transmission of influenza A virus. *One health.* 1:1–13
11. COGEM (2020) Heroverweging pathogeniteitsclassificatie influenza A virussen. COGEM advies CGM/201006-02
12. Tong S *et al.* (2012). A distinct lineage of influenza A virus from bats. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 109: 4269–4274
13. Tong S *et al.* (2013). New world bats harbor diverse influenza A viruses. *PLoS Pathog.* 9: e1003657
14. Campos, A *et al.* (2019). Bat Influenza A(HL18N11) Virus in Fruit Bats, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* 25: 333–337
15. Kandeil A *et al.* (2019). Isolation and Characterization of a Distinct Influenza A Virus from Egyptian Bats. *J. Virol.* 93:e01059-18
16. Ma W *et al.* (2015). Expected and Unexpected Features of the Newly Discovered Bat Influenza A-like Viruses. *PLoS Pathog.* 11: e1004819
17. Sun X *et al.* (2013). Bat-derived influenza hemagglutinin H17 does not bind canonical avian or human receptors and most likely uses a unique entry mechanism. *Cell Rep.* 3: 769–778
18. Zhu X *et al.* (2013) Hemagglutinin homologue from H17N10 bat influenza virus exhibits divergent receptor-binding and pH-dependent fusion activities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110: 1458–63
19. Li Q *et al.* (2012). Structural and functional characterization of neuraminidase-like molecule N10 derived from bat influenza A virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109: 18897–18902
20. International Committee of the Taxonomy on Viruses, taxonomy history of Indiana vesiculovirus https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=202001794 (bezoekt op 2juni 2021)
21. Hoffmann M *et al.* (2016). The hemagglutinin of bat-associated Influenza viruses is activated by TMPRSS2 for pH-dependent entry into bat but not human cells. *PloS One.* 11: e0152134
22. Moreira EA *et al.* (2016). Synthetically derived bat influenza A-like viruses reveal a cell type- but not species-specific tropism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 113: 12797–12802
23. Ciminski K *et al.* (2019). Bat influenza viruses transmit among bats but are poorly adapted to non-bat species. *Nat. Microbiol.* 4: 2298–2309
24. Zhong, G *et al.* (2020). Mutations in the Neuraminidase-Like Protein of Bat Influenza H18N11 Enhance Virus Replication in Mammalian Cells, Mice, and Ferrets. *J. Virol.* 94: e01416-19
25. Karakus U *et al.* (2019). MHC class II proteins mediate cross-species entry of bat influenza viruses. *Nature* 567: 109–112
26. Giotis ES *et al.* (2019). Entry of the bat influenza H17N10 virus into mammalian cells is enabled by the MHC class II HLA-DR receptor. *Nat. Microbiol.* 4: 2035–2038
27. Ciminski K *et al.* (2020). Bats reveal the true power of influenza A virus adaptability. *PLoS Pathog.* 16: e1008384
28. Yang W *et al.* (2021). Bat Influenza Viruses: Current Status and Perspective. *Viruses* 13: 547

29. Juozapaitis M *et al.* (2014). An infectious bat-derived chimeric influenza virus harbouring the entry machinery of an influenza A virus. *Nat. Commun.* 5: 4448
30. Zhou B *et al.* (2014). Characterization of uncultivable bat influenza virus using a replicative synthetic virus. *PLoS Pathog.* 10: e1004420
31. Lee J *et al.* (2021). Bat influenza vectored NS1-truncated live vaccine protects pigs against heterologous virus challenge. *Vaccine* 39: 1943–1950
32. Schön J *et al.* (2020). A modified live bat influenza A virus-based vaccine prototype provides full protection against HPAIV H5N1. *NPJ Vaccines* 5: 40