



## PARUTION ANTICIPEE

### Détection du génome de virus influenza aviaire A de sous type H5 dans des échantillons d'air collectés à l'intérieur, à l'extérieur et sous le vent de bâtiments de volailles infectées par un virus d'influenza aviaire hautement pathogène de sous type H5N8

Axelle Scoizec<sup>1</sup>, Eric Niqueux<sup>2</sup>, Rodolphe Thomas<sup>1</sup>, Patrick Daniel<sup>3</sup>, Audrey Schmitz<sup>2</sup>, Sophie Le Bouquin<sup>1</sup>

Auteur correspondant : [axelle.scoizec@anses.fr](mailto:axelle.scoizec@anses.fr)

- <sup>1</sup> Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Unité d'Epidémiologie et bien-être en aviculture et cuniculture, Ploufragan, France
- <sup>2</sup> Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Unité Virologie immunologie parasitologie aviaires et cunicoles, Ploufragan, France
- <sup>3</sup> Laboratoire des Pyrénées et des Landes, Mont de Marsan, France.

#### Résumé

Lors de l'épizootie française d'IAHP H5N8 de l'hiver 2016-2017 en France, la propagation rapide des foyers malgré les mesures de contrôle mises en place, dans des zones de forte densité d'élevages, la perception des acteurs de terrain concernant la voie d'introduction du virus dans les élevages ainsi que l'augmentation de l'incidence dans le département des Landes après le passage de la tempête Marcel, ont soulevé la question de la possible contribution de la diffusion aéroportée à la dissémination de la maladie entre élevages. Comme première approche pour répondre à cette question, nous avons exploré la contamination de l'air dans et autour des bâtiments de lots infectés via des prélèvements effectués dans cinq foyers d'IAHP H5N8 de volailles lors de cette épizootie. L'étude a permis de mettre évidence la détection de génome viral IA H5 dans l'air à l'intérieur mais également à l'extérieur des bâtiments d'élevage dans des foyers d'IAHP H5N8, jusqu'à une distance de 50 à 100 m des bâtiments. Ces résultats vont dans le sens l'hypothèse d'une transmission aéroportée de virus IAHP H5N8.

**Mots clés :** influenza aviaire, IAHP; environnement, diffusion aérienne

## Abstract

### **Detection of the H5 subtype A avian influenza virus genome in air samples collected indoors, outdoors and downwind of poultry buildings infected with highly pathogenic avian influenza virus subtype H5N8**

During HPAI H5N8 winter 2016-2017 epizootic in France, the rapid spread of the infection between farms in high density zones despite the control measures implemented, the field stakeholders' perception on virus introduction route into farms and the incidence increase after storm Marcel, raised the issue of the possible airborne transmission contribution to the global farm to farm spread of the disease. As a first step to explore that question, we explored the air contamination inside, outside and downwind from five infected poultry flocks houses during that epizootic. This study evidenced the AI H5 viral RNA detection in air samples inside but also outside poultry flocks houses in HPAI H5N8 outbreaks, up to 50-100 m from poultry house. These results are in accordance with the hypothesis of airborne transmission of H5N8 HPAI viruses.

**Keywords :** Avian influenza, HPAI, Environment, Airborne transmission

La propagation rapide des foyers d'influenza aviaire (IA) hautement pathogène (IAHP) H5N8 et H5Nx de la lignée A/gs/Gd/1/96 clade 2.3.4.4 malgré les mesures de contrôle mises en place, dans des zones de forte densité d'élevages, la perception des acteurs de terrain concernant la voie d'introduction du virus dans les élevages (éleveurs, agents des services de l'Etat), la proportion élevée des élevages infectés dans certaines zones ainsi que l'augmentation de l'incidence dans le département des Landes après le passage de la tempête Marcel, ont soulevé la question de la possible contribution de la diffusion aéroportée dans l'épizootie d'IAHP H5N8 en France en 2016-2017. La capacité des volailles à transmettre par voie aéroportée des virus influenza a été mise en évidence précédemment par des essais expérimentaux sur des poulets avec des souches d'IAHP H5N1 (Spekreijse et al. 2011, Spekreijse et al. 2013) et a été fortement suggérée par des études de terrain qui ont permis la détection voire l'isolement de virus IA dans la fraction alvéolaire des aérosols (i.e. la fraction de l'air correspondant aux particules de diamètre inférieur à 5µm, pouvant pénétrer les voies respiratoires profondes) dans des marchés de volailles vivantes en Chine (Zhou et al. 2016, Chen et al. 2009, Kang et al. 2016) et lors de foyers d'IA à l'intérieur de bâtiments de volailles, jusqu'à une distance de 59 m pour des virus IA faiblement pathogènes (IAFP), jusqu'à une distance de 1 000 m pour la détection et de 70 à 150 m pour l'isolement avec des virus IAHP H5N2 de clade 2.3.4.4 (Torremorell et al. 2016, Jonges et al. 2015, Alonso et al. 2017). Des études épidémiologiques confortent également l'hypothèse de la voie aéroportée comme voie possible d'infection de lots de volailles. C'est ainsi l'hypothèse majeure avancée pour expliquer l'association entre la proximité géographique d'élevages de porcs et la séropositivité d'élevages de dindes à un virus d'influenza de type A d'origine porcine (Corzo et al. 2013). Les études par modélisation de l'épizootie d'IAHP H7N7 en 2003 aux Pays-Bas ont estimé que la contribution d'un mécanisme possible de diffusion liée au vent était aux alentours de 18 % des cas de contamination d'élevages de volailles (Ypma et al. 2013) et ont

montré que la diffusion liée au vent pouvait contribuer substantiellement à la diffusion à courte distance, expliquant par exemple 24 % des transmissions dans un rayon de 25 km (Ssematimba et al. 2012).

Afin de contribuer à l'évaluation de l'hypothèse de la voie de diffusion aéroportée lors de l'épizootie 2016-2017 d'IAHP H5N8 en France, l'objectif de cette étude était de déterminer si des virus IA étaient détectables sur des échantillons d'air collectés à l'intérieur, à l'extérieur et sous le vent de bâtiments de volailles infectées par un virus IAHP H5N8, dans des conditions de terrain. Cette étude a été conçue et réalisée dans le cadre d'investigations épidémiologiques menées en urgence lors de l'épizootie.

## **MATERIELS ET METHODES**

### **Sélection des lots de volailles**

L'étude a été réalisée en janvier et mars 2017. Le recrutement des lots a été mené en collaboration avec les services des DDecPP des départements concernés et les prélèvements réalisés avec l'accord des éleveurs. Trois lots de canards (nommés A, B et C) et deux lots de poulets (nommés D et E), situés dans les départements des Landes et des Pyrénées-Atlantiques ont été étudiés. Tous les lots étaient confirmés infectés par un virus IAHP H5N8 au moment de la visite. Les prélèvements de confirmation avaient été réalisés dans les deux à sept jours précédents. Les lots étaient confinés à 100 % dans trois cas sur cinq lors de la réalisation des prélèvements d'air. Pour un lot de poulets (E), le chargement des volailles dans les caissons à CO<sub>2</sub> situés à l'extérieur du bâtiment dans le cadre de la dépopulation du foyer a démarré durant la visite. Les caractéristiques des lots sont résumées dans le tableau 1.

### **Protocole et méthodes d'échantillonnage d'air**

Afin de détecter du génome de virus IA dans les aérosols, des prélèvements d'air ont été réalisés en utilisant l'échantillonneur d'air Coriolis® microbial (Bertin Technologies, St-Quentin en Yvelines, France) selon les réglages suivants : débit d'aspiration de 300L /min, 10 min/échantillon, échantillon collecté dans 10 à 12 mL de solution Triton à 0,005 %. Après chaque prélèvement, l'échantillonneur était nettoyé et désinfecté et les échantillons stockés entre 0 et +4°C. Les échantillons étaient transportés dans les 12 heures suivant leur réalisation au laboratoire agréé le plus proche où ils étaient stockés à une température  $\leq 65^{\circ}\text{C}$  dans l'attente de leur analyse.

Pour chaque lot de volailles, les échantillons d'air étaient collectés dans un ordre précis : le premier sous le vent du bâtiment à une distance comprise entre 50 et 110 m, le second à 5 m du bâtiment, le troisième au niveau des sorties d'air à l'extérieur du bâtiment et le dernier à l'intérieur. Pour le lot E, le chargement des volailles ayant débuté au cours de la visite, les échantillons ont été prélevés à 110 m et à l'intérieur du bâtiment ainsi qu'à une distance d'un mètre du camion en cours de chargement. Un échantillon témoin négatif a été collecté à une distance de plus de 5 km de tout élevage de volailles.

Tableau 1. Caractéristiques des lots de volailles étudiés et des conditions environnementales au moment de la réalisation des prélèvements d'air

Lot	Dép.	Espèce/ prod.	Bât.	Effectif initial du lot	Densité de volailles en bât. <sup>A</sup>	Date de confirmation <sup>B</sup> (jj/mm/aaaa)	Proportion de pools positifs <sup>C</sup>	Signes cliniques	Date des prélèvements (jj/mm/aaaa)	Lieu du prélèvement / distance (mètres)	Temp. ambiante (°C)	Vitesse du vent (km/h)
A	40	Canard/ PAG <sup>D</sup>	Tunnel <sup>G</sup>	2 500	7/m <sup>2</sup>	29/01/2017	2/2	Mortalité/ signes cliniques	31/01/2017	Intérieur	NR <sup>E</sup>	
										Sorties d'air	NR	
										Extérieur à 5 m	NR	
										Sous le vent 50 m	20	< 5
B	64	Canard/ PAG	Tunnel	3 000	0.5/m <sup>2</sup>	09/03/2017	5/24	Aucun	16/03/2017	Intérieur	NR	
										Sorties d'air	NR	
										Extérieur à 5 m	NR	
										Sous le vent 80 m	24	10
C	64	Canard/ gavage	Classique	800	2.5/m <sup>2</sup>	11/03/2017	12/12	Aucun	16/03/2017	Intérieur	NR	
										Sorties d'air	NR	
										Extérieur à 5 m	NR	
										Sous le vent 60 m	17	< 5
D	40	Poulet/ chair	Classique	4 000	1/m <sup>2</sup>	14/03/2017	2/2	Mortalité/ signes cliniques	21/03/2017	Intérieur	NR	
										Sorties d'air	NR	
										Extérieur à 5 m	NR	
										Sous le vent 50 m	12	< 5
E	64	Poulet/ chair	Classique	4 400	8/m <sup>2</sup>	18/03/2017	8/8	Mortalité/ signes cliniques	22/03/2017	Intérieur	NR	
										Chargement	NR	
										Sous le vent 110 m	2	≈ 0

<sup>A</sup> Au moment de la réalisation des prélèvements

<sup>B</sup> Date de réalisation des prélèvements ayant conduits à la confirmation de l'infection par un virus IAHP H5N8

<sup>C</sup> Proportion de pools de cinq écouvillons (cloacaux ou oropharyngés) positifs par rRT-PCR vis-à-vis du gène M lors des prélèvements officiels

## Détection et quantification de l'ARN génomique de virus IA

Après concentration puis extraction de l'ARN, les échantillons ont été testés par RT-PCR temps réel (rRT-PCR) gène M. Les échantillons avec détection d'un signal gène M étaient testés ensuite par rRT-PCR gène H5. Nous nous référerons dans la suite du texte aux échantillons avec détection d'un signal de génome viral par rRT-PCR en tant qu'échantillons positifs. Le nombre de copies de gène M par mètre cube d'air a été estimé à partir des valeurs brutes de Ct obtenues en rRT-PCR gène M, d'après une calibration obtenue par dilution sériée d'une suspension de virus H5N8 HP de clade 2.3.4.4 isolé en France.

### RESULTATS

#### Détection d'ARN génomique viral d'influenza aviaire

Aucun signal n'a été détecté par rRT-PCR gène M dans l'échantillon d'air témoin négatif. Tous les échantillons d'air détectés positifs lors de l'étude étaient à la fois positifs par rRT-PCR gène M et gène H5. Tous les échantillons d'air collectés à l'intérieur (5/5), collectés au niveau des sorties d'air (4/4), à une distance de 5 m (4/4) étaient positifs. Trois des cinq échantillons collectés sous le vent à une distance de 50 à 110 m étaient positifs (Tableau 2). Ces trois lots (A, D, E) étaient soumis respectivement à des températures ambiantes lors de l'échantillonnage de 2, 12 et 20°C et présentaient des signes cliniques (mortalité). Les deux lots (B & C) sans détection de signal pour l'échantillon prélevé sous le vent, étaient soumis à des températures ambiantes de 17 et 24°C et ne présentaient pas de signes cliniques. En outre dans ces lots, la densité animale (nombre d'animaux par m<sup>2</sup>) intra-bâtiment était faible (Tableaux 1 et 2). La proportion d'animaux excréteurs était quant à elle comparable entre les trois lots A, D et E et le lot C, mais significativement inférieure dans le lot B ( $p \leq 0,05$ ). L'échantillon d'air collecté au niveau du chargement du lot E était positif.

Tableau 2. Détection de génome viral influenza dans des échantillons d'air par rRT-PCR à l'intérieur et à l'extérieur de bâtiments de volailles infectées par un virus IAHP H5N8 de clade 2.3.4.4 (France 2017)

Lot	Espèce/prod	Valeur de Ct <sup>A</sup> par rRT-PCR gène M / Valeur de Ct par rRT-PCR gène H5				
		Intérieur	Sorties d'air	Extérieur 5 m	Sous le vent (distance en mètres)	Point de chargement
A	Canard/PAG <sup>B</sup>	32,4 / 34,9	32,7 / 35,8	32,3 / 36,1	33,6 / 35,4 (50)	NR <sup>C</sup>
B	Canard/PAG	35,6 / 39,7	31,2 / 34,8	33,9 / 35,8	Non détecté (80)	NR
C	Canard/gavage	29,8 / 30	31 / 30,7	30,5 / 31,1	Non détecté (60)	NR
D	Poulet/chair	34,9 / 35,3	33,1 / 34,4	33,1 / 36,2	34,2 / 38,8 (50)	NR
E	Poulet/chair	31,5 / 32	NR	NR	34,2 / 37,5 (110)	28,7 / 29,3

<sup>A</sup> Ct: cycle threshold (cycle seuil)

<sup>B</sup> PAG: prêts à gaver

<sup>C</sup> NR: non réalisé

## Quantification du génome viral IAHP dans les échantillons d'air

La quantité de génome viral (exprimée en  $\log_{10}$  de copies d'ARN par  $m^3$ ) dans les échantillons d'air était comprise entre 4,33 et 6,09 pour les lots de canards et entre 4,54 et 6,43 pour les lots de poulets. La concentration maximale mesurée correspondait à l'échantillon prélevé dans l'élevage E à une distance de 1 m au niveau du camion en cours de chargement des animaux. Les concentrations mesurées à l'intérieur du bâtiment étaient légèrement inférieures à celles au niveau des sorties d'air pour deux lots sur quatre testés. Ce sont les concentrations à l'intérieur du bâtiment qui sont les plus variables d'un lot à l'autre comparativement aux autres lieux de prélèvements (Tableau 3). Les deux concentrations les plus faibles mesurées à l'intérieur du bâtiment correspondaient aux lots (B & D) avec les plus faibles densités d'animaux intra-bâtiment au moment de la réalisation des prélèvements (Tableau 1). De plus le lot avec la concentration intra-bâtiment la plus faible (lot B) était également celui avec la plus faible proportion de pools d'animaux positifs (Tableau 1). Les concentrations les plus élevées mesurées à l'intérieur et à courte distance du bâtiment (sortie d'air et à 5 m de distance) correspondaient au lot C, composé de canards en gavage. Pour les mesures à l'extérieur du bâtiment, on constate une diminution de la moyenne des concentrations mesurées avec l'augmentation de la distance au bâtiment (Tableau 3).

Tableau 3. Concentration en ARN viral ( $\log_{10}$  copies d'ARN par  $m^3$ ) des échantillons d'air positifs par site de prélèvements (France 2017)

Site de prélèvement	Nombre de prélèvements	Moyenne	Ecart type
Zone de chargement	1	6,43	-
Intérieur du bâtiment	5	5,17	0,73
Sortie d'air	4	5,42	0,32
Distance de 5 m du bâtiment	4	5,29	0,44
Distance de 50 à 110 m du bâtiment	3	4,82	0,11

## DISCUSSION

L'étude a permis de mettre évidence la détection d'ARN de virus IA H5 dans l'air à l'intérieur, mais également à l'extérieur des bâtiments d'élevage dans des foyers d'IAHP H5N8. Ces résultats confortent l'hypothèse d'une transmission aéroportée.

La variabilité inter-lots importante des concentrations de génome viral dans l'air dans le bâtiment résulterait probablement de la variation inter-lots de la proportion de volailles excrétrices et de la densité animale au moment de la réalisation des prélèvements, tel que cela pouvait être logiquement attendu. La diminution de la proportion d'échantillons positifs et de la concentration dans les échantillons positifs entre ceux collectés à faible distance (sortie d'air et 5 m de distance) et ceux collectés à 50-110 m du bâtiment d'élevage, reflète probablement la

diminution de la concentration virale en fonction de la distance à la source d'émission, par un phénomène de dilution.

Les niveaux de détection de génome viral dans l'air (proportion d'échantillons positifs et concentration des échantillons positifs) sont comparables voire supérieurs à ceux trouvés dans et autour de bâtiments de volailles infectées par un virus IAHP H5N2 de clade 2.3.4.4 durant l'épizootie 2015 aux Etats-Unis (Torremorell et al. 2016) et sont nettement supérieurs à ceux trouvés dans le cadre de foyers IA faiblement pathogène aux Pays-Bas (Jonges et al. 2015) et dans des marchés de volailles vivantes en Chine avec des virus IA faiblement pathogènes (Zhou et al. 2016, Chen et al. 2009). Dans notre étude, la viabilité des virus dans les échantillons d'air collectés n'a pas pu être déterminée du fait de la nature du diluant utilisé lors de l'échantillonnage. L'hypothèse que les virus détectés dans les échantillons d'air de cette étude sont en partie viables peut être envisagée de par le niveau des concentrations mesurées. En effet, dans le cadre d'autres études, des isollements viraux sur des prélèvements d'air ont été possibles avec des concentrations sur prélèvement d'air comparables que ce soit avec des souches virales d'IA différentes (Zhou et al. 2016) ou bien avec une souche de même clade (Torremorell et al. 2016).

Afin de corroborer l'hypothèse d'une transmission aéroportée, il serait toutefois nécessaire de pouvoir s'assurer du caractère infectieux des virus détectés dans l'air en modifiant les méthodes d'échantillonnage pour permettre des essais d'isolement viral, mais également de déterminer à quelle fraction de l'air correspond cette détection. En effet, une détection sur la fraction alvéolaire de l'air (considérée comme la partie de l'air qui peut être inhalée jusque dans les voies respiratoires profondes, i.e. les particules fines) rend très plausible la possibilité d'infection par voie aéroportée, les particules infectieuses pouvant alors atteindre les alvéoles pulmonaires, et être ainsi plus susceptibles de causer une infection. Cependant, des études expérimentales antérieures ont montré la possibilité de diffusion virale entre lots de volailles par voie aéroportée avec un virus IAHP H5N1 (Spekreijse et al. 2011) avec des concentrations aériennes de génome viral comparables (Spekreijse et al. 2013) à celles de notre étude qui, exprimées en log<sub>10</sub> EID<sub>50</sub> par m<sup>3</sup>, se situaient entre 2,1 et 4,2. De plus, des études de terrain ont permis de démontrer que le génome de virus IAHP H5N2 de clade 2.3.4.4 était détecté à la fois sur les particules fines à forte pénétration pulmonaire et sur les particules de diamètre plus élevé (Torremorell et al. 2016, Alonso et al. 2017).

Malgré les limites de l'étude, nos résultats suggèrent que l'air évacué de bâtiment de volailles infectées par un virus IAHP H5N8 pourrait être une source de contamination environnementale via les aérosols, par dépôt de poussière contaminée sur les surfaces à proximité des bâtiments générant ainsi de possibles vecteurs passifs (personnes, matériels, véhicules, faune). Ce phénomène serait très dépendant des facteurs climatiques pouvant influencer la survie des virus ainsi déposés ou transportés tels que la température, l'humidité relative et l'exposition aux ultraviolets. Ils suggèrent également que la possibilité d'une transmission aéroportée ne peut être exclue eu égard aux quantités de virus émises par un bâtiment de volailles infectées, en particulier si l'on considère l'ensemble de la période d'émission qui couvre généralement plusieurs jours (par exemple dans notre étude la durée pour le lot B peut être estimée à au moins

7 jours), et les concentrations mesurées dans cette étude. Néanmoins la possibilité d'une transmission aéroportée est non seulement dépendante des conditions climatiques mais également des facteurs influençant le mode de dispersion des aérosols infectieux tel que le vent et de la réceptivité des espèces exposées aux aérosols : à quelle dose peuvent être soumis les élevages voisins, en prenant en compte les phénomènes de dilution et dispersion et cette dose est-elle infectieuse pour l'espèce présente ?

Nos résultats et tout particulièrement celui concernant l'échantillon d'air au moment du chargement d'un lot infecté, questionnent également les mesures actuelles de gestion des foyers. Le confinement des volailles dans les bâtiments pourrait ne pas permettre de prévenir suffisamment la diffusion du virus dans l'environnement proche des bâtiments (surtout lors de conditions hivernales favorables à la survie des virus dans l'environnement) et le mode actuel de dépopulation des foyers qui nécessite la manipulation des oiseaux à l'extérieur des bâtiments pourrait être la source d'une émission importante de poussières et aérosols infectieux dans l'environnement

Ce risque potentiel de diffusion à partir du foyer justifie ainsi la nécessité de pratiquer un abattage le plus rapide possible des animaux en cas de foyer.

Pour réduire au maximum ces émissions, en plus de la rapidité de la réalisation de la dépopulation d'un foyer après confirmation de l'infection, il conviendrait d'envisager des méthodes de dépopulation limitant les émissions de poussières et d'aérosols vers l'extérieur des bâtiments. Par exemple, des méthodes telles que l'abattage d'urgence de masse de volailles intra-bâtiment par couverture des animaux par une mousse aqueuse et le compostage intra-bâtiment des carcasses et de la litière qui ont été développées aux Etats-Unis (Benson et al. 2007, Benson et al. 2008) peuvent contribuer à limiter largement l'émission de virus dans le milieu extérieur<sup>1</sup>.

## **CONCLUSION**

Nos résultats vont dans le sens de la possibilité d'une transmission aéroportée dans les cas de foyers d'IAHP H5N8 mais pour étayer cette hypothèse, des preuves ou indices de la viabilité des virus dans l'air et en particulier dans la fraction alvéolaire de l'air ainsi que des preuves ou indices épidémiologiques sont encore nécessaires.

## **Remerciements**

Aux éleveurs ayant accepté de participer à cette étude, aux directions départementales de protection des populations des Landes et du Gers pour leur appui et aux techniciens du Laboratoire des Pyrénées et des Landes pour la réalisation des analyses et leur disponibilité.

---

<sup>1</sup>Note de la rédaction : à noter que les méthodes proposées par Benson et al. sont actuellement non conformes à la réglementation européenne sur le bien-être animal (règlement 1099/2009).



## Références bibliographiques

- Alonso C, Raynor PC, Goyal S, Olson BA, Alba A, Davies PR and Torremorell M. Assessment of air sampling methods and size distribution of virus-laden aerosols in outbreaks in swine and poultry farms. *J Vet Diagn Invest*. 2017 May;29(3):298-304.
- Benson E, Malone GW, Alphin RL, Dawson MD, Pope CR, Van Wicklen GL. Foam-Based Mass Emergency Depopulation of Floor-Reared Meat-Type Poultry Operations. *Poult Sci*. 2007; 86(2):219–24.
- Benson ER, Malone GW, Alphin RL, Johnson K, Staicu E. Application of in-house mortality composting on viral inactivity of Newcastle disease virus. *Poult Sci*. 2008 Apr;87(4):627-35. doi: 10.3382/ps.2007-00308.
- Chen P-S, Lin CK, Tsai FT, Yang C-Y, Lee C-H, Liao Y-S, et al. Quantification of Airborne Influenza and Avian Influenza Virus in a Wet Poultry Market using a Filter/Real-time qPCR Method. *Aerosol Sci. Technol*. 2009; 43(4):290–7. doi: 10.1080/02786820802621232.
- Corzo CA, Culhane M, Dee S, Morrison RB, Torremorell M (2013) Airborne Detection and Quantification of Swine Influenza A Virus in Air Samples Collected Inside, Outside and Downwind from Swine Barns. *PLoS ONE* 8(8): e71444. doi:10.1371/journal.pone.0071444.
- Jonges M, van Leuken J, Wouters I, Koch G, Meijer A, Koopmans M. Wind-Mediated Spread of Low-Pathogenic Avian Influenza Virus into the Environment during Outbreaks at Commercial poultry farms. *PLoS ONE* 10(5): e0125401.
- Kang N, Chen M, Bi F-Y, Chen M-M, Tan Y. First Positive Detection of H9 Subtype of Avian Influenza Virus Nucleic Acid in Aerosol Samples from Live Poultry Markets in Guangxi, South of China. *Chinese Medical Journal*. 2016;129(11):1371-1373. doi:10.4103/0366-6999.182824.
- Spekreijse D, Bouma A, Koch G, Stegeman JA. Airborne transmission of a highly pathogenic avian influenza virus strain H5N1 between groups of chickens quantified in an experimental setting. *Vet Microbiol* 2011; 2:88–95.
- Spekreijse D, Bouma A, Koch G, Stegeman JA. Quantification of dust-borne transmission of highly pathogenic avian influenza virus between chickens. *Influenza and Other Respiratory Viruses* 2013; 7(2) 132-138.
- Ssematimba A, Hagenaars TJ, de Jong MCM. Modelling the Wind-Borne Spread of Highly Pathogenic Avian Influenza Virus between Farms. *Vespignani A, ed. PLoS ONE*. 2012;7(2):e31114. doi:10.1371/journal.pone.0031114.
- Torremorell M, Alonso C, Davies PR, Raynor PC, Patnayak D, Torchetti M, and McCluskey B. Investigation into the Airborne Dissemination of H5N2 Highly Pathogenic Avian Influenza Virus During the 2015 Spring Outbreaks in the Midwestern United States. *Avian Dis*. 2016 60 (3), 637-643.
- Ypma RJF, Jonges M, Bataille A, Stegeman A, Koch G, van Boven M, Koopmans M, van Ballegooijen WM, Wallinga J; Genetic Data Provide Evidence for Wind-Mediated Transmission of Highly Pathogenic Avian Influenza. *J Infect Dis* 2013; 207 (5): 730-735.

Zhou J, Wu J, Zeng X, Huang G, Zou L, Song Y, Gopinath D, Zhang X, Kang M, Lin J, Cowling BJ, Lindsley WG, Ke C, Peiris JSM, Yen H. Isolation of H5N6, H7N9 and H9N2 avian influenza A viruses from air sampled at live poultry markets in China, 2014 and 2015. *Euro Surveill.* 2016;21(35):pii=30331.