

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE LA VIRULENCE D'UN INFLUENZAVIRUS AVIAIRE HAUTEMENT PATHOGÈNE H5N9 : CINÉTIQUES D'EXCRÉTION VIRALE, DE TRANSMISSION ET D'APPARITION DES ANTICORPS CHEZ LE CANARD DE BARBARIE

Niqueux Éric¹, Le Prioux Aurélie¹, Allée Chantal¹, Lebras Marie-Odile¹,
Pierre Isabelle¹, Guillou Cloarec Cécile¹, Ogor Katell¹, Guillemoto Carole¹,
Amelot Michel², Courtois David², Briand François-Xavier¹, Schmitz Audrey¹,
Keïta Alassane², Eterradosi Nicolas¹

¹Anses, unité VIPAC, LNR influenza aviaire - BP 53 - 22440 PLOUFRAGAN, France,

²Anses, SELEAC - BP 53 - 22440 PLOUFRAGAN, France,

^{1 et 2}Université Bretagne Loire, France

eric.niqueux@anses.fr

RÉSUMÉ

Depuis novembre 2015, 81 foyers d'infection à influenza virus aviaires hautement pathogènes (IAHP) de sous-type H5 ont été détectés en élevages de volailles (en majorité des palmipèdes domestiques) dans le Sud-Ouest de la France : des virus du sous-type H5N9 ont été le plus fréquemment identifiés. Une étude expérimentale de la réceptivité et de la sensibilité du canard de Barbarie à ces nouvelles souches a été entreprise afin de mieux comprendre la dynamique de l'infection, son tropisme et la cinétique d'induction des anticorps post-infectieux.

Un groupe de 6 canards de Barbarie exempts d'organismes pathogènes spécifiés (EOPS) a été infecté par voie oculaire avec le virus IAHP H5N9 A/duck/France/150236b/2015, et un second groupe de 12 sujets contacts naïfs a été introduit 24 heures plus tard. L'excrétion et la cinétique de transmission du virus ont été suivies par RT-PCR temps réel à partir d'écouvillons oropharyngés et cloacaux individuels. Tous les canards inclus dans l'étude ont été excréteurs dans les 24 heures suivant l'infection expérimentale ou la mise en contact, sans signe clinique majeur durant toute la durée de l'étude (20 jours). Cette excrétion a persisté de façon continue pendant 6 à 9 jours par voie oropharyngée et pendant 7 à 13 jours par voie intestinale. La séroconversion de la totalité des sujets a pu être démontré par ELISA NP à partir de 7 jours après l'inoculation, et à partir de 14 jours après l'inoculation chez la majorité des sujets, par ELISA H5 et par la technique d'inhibition de l'hémagglutination vis-à-vis de l'antigène homologue au virus d'épreuve.

Ces résultats d'analyses sérologiques et virologiques sont similaires aux données précédemment obtenues lors d'infections expérimentales du canard de Barbarie EOPS par des virus IA H5 faiblement pathogènes.

ABSTRACT

Experimental infection with H5N9 highly pathogenic avian influenza virus: virus shedding, transmission and antibody production patterns in Muscovy ducks

Since November 2015, 81 outbreaks of H5 highly pathogenic avian influenza virus (HPAI) infection have been detected in poultry (usually domestic waterfowl) in south-western France: H5N9 HPAI appeared to be the most frequent. The receptivity and sensitivity of Muscovy ducks to these novel strains were assessed experimentally, in order to characterize the dynamics of infection, the virus shedding tropism and pattern, and the kinetics of antibody production after infection.

6 specific pathogen free (SPF) Muscovy ducks were inoculated intra-ocularly with HPAI A/duck/France/150236b/2015, and 12 contact ducks were introduced 24 hours later. Virus shedding and transmission were monitored by real-time RT-PCR on individual oropharyngeal and cloacal swabs. All ducks began shedding the virus 24 hours after inoculation or contact, and no major clinical signs were observed up to the end of the study (20 days). Oropharyngeal shedding persisted for continuous periods of 6 to 9 days, and intestinal shedding for 7 to 13 days. As soon as 7 days after inoculation, seroconversion was detected by NP ELISA in all ducks; and at 14 days after inoculation, seroconversion was detected in a majority of birds by H5 ELISA and hemagglutination inhibition tests against the homologous HPAI H5N9 antigen.

These virological and serological results are similar to previous observations from experimental infections of SPF Muscovy ducks with low pathogenic H5 AI.

INTRODUCTION

L'influenza aviaire est une maladie infectieuse pouvant toucher toutes les espèces d'oiseaux sauvages et domestiques, qui est classée comme danger sanitaire de première catégorie. Depuis novembre 2015, le Sud-Ouest de la France connaît un épisode d'infections chez les volailles par des virus influenza aviaries hautement pathogènes (IAHP) de sous-type H5, sans précédent au niveau national. 66 des 81 foyers déclarés jusqu'en août 2016 ont concerné des élevages de palmipèdes domestiques, et des signes cliniques et de la mortalité n'ont été signalés que pour 15 d'entre eux. Le caractère HP des virus IA H5 mis en évidence a toutefois été confirmé par séquençage du gène de l'hémagglutinine et par des tests *in vivo* de pathogénicité par voie intra-veineuse chez le poulet. Au moins trois sous-types de neuraminidase différents (N1, N2 et N9) ont été associés aux virus en cause : les virus IAHP H5N9 ont été le plus fréquemment identifiés, dans 31 foyers dont 6 foyers en co-infection avec l'un des deux autres sous-types (Le Bouquin *et al.*, 2016 ; données non publiées). Compte tenu de la présentation clinique modérée, observée sur le terrain chez les palmipèdes, une étude d'infection expérimentale par l'un de ces nouveaux virus a été mise en place afin de caractériser la réceptivité et la sensibilité du canard de Barbarie. Cette espèce a été retenue comme modèle d'étude, puisqu'elle constitue une partie du cheptel reproducteur de la filière de production de canard gras et qu'elle représente environ 80% de la filière de production du canard de chair. Une meilleure connaissance de la cinétique d'infection et de son tropisme, de l'excrétion et de la transmission du virus, et de la cinétique de production des anticorps chez l'animal infecté contribuera à l'interprétation des analyses de laboratoire et à l'évaluation du risque lié à l'infection par ces virus chez les palmipèdes.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1. Procédure d'expérimentation animale

Animaux

Les canards de Barbaries exempts d'organismes pathogènes spécifiés (EOPS) proviennent de l'élevage de l'Anses – laboratoire de Ploufragan. Les animaux sont élevés en conditions confinées, atmosphère filtrée, et contrôlés vis-à-vis de l'infection par 20 bactéries ou virus aviaries, incluant les virus IA.

Dispositif expérimental

2 groupes de canards de Barbarie EOPS de 3 semaines (mâles et femelles) ont été constitués :
- 6 canards ont été infectés par instillation oculaire d'une dose de 10^6 DIE₅₀ (dans un volume de 100 µl) du virus H5N9 HP A/duck/France/150236b/2015 ;
- 12 canards contacts non infectés sont introduits dans le même enclos 24 heures après inoculation.

Le statut séronégatif et vironégatif individuel des canards a été préalablement vérifié vis-à-vis des virus IA, en ELISA NP, en ELISA H5 et en RT-PCR temps réel (r-RT-PCR) selon les méthodes décrites en 1.2.

Les animaux occupaient un enclos de 10 m² paillé au sol, et avaient un accès libre à l'eau et à la nourriture.

La procédure d'expérimentation animale a fait l'objet d'un avis favorable du comité d'éthique institutionnel (ComEth Anses/ENVA/UPEC, avis 11/12/14 sur le projet 12-061) et a été conduite en accord avec les législations européennes et françaises.

Prélèvements et examen clinique

Des écouvillons oropharyngés et cloacaux ont été prélevés individuellement quotidiennement après l'inoculation (sauf le 12^e et le 18^e jour) et jusqu'à la fin de l'étude au 20^e jour. Les animaux ont également fait l'objet d'un examen clinique quotidien (observation des signes généraux, respiratoires, nerveux et cutanés éventuels). Des prélèvements sanguins individuels sans anticoagulants ont été réalisés 7, 14 et 20 jours après l'inoculation.

1.2. Analyses de laboratoire

Les écouvillons individuels ont été repris, lysés et extraits comme décrit précédemment (Niqueux *et al.*, 2014). Le génome du virus influenza aviaire de type A a été recherché par RT-PCR temps réel (rRT-PCR) ciblant le gène M selon une méthode dérivée du manuel de diagnostic européen (Cherbonnel *et al.*, 2013 ; JOCE, 2006). Une valeur-seuil de positivité a été établie à partir des valeurs brutes de Ct en rRT-PCR obtenues à partir d'une série de dilutions de raison 10 d'un stock de virus H5N9 HP A/duck/France/150236b/2015 titrés en parallèle sur œufs embryonnés de poules EOPS : soit une dose équivalente à 2 DIE₅₀ / réaction PCR (Niqueux *et al.*, 2014).

Les sérums ont été testés individuellement par techniques ELISA par compétition (trousses commerciales) pour la recherche d'anticorps anti-influenza aviaire de type A (Influenza A virus Antibody test kit, Idexx Laboratories) et anti-H5 (ID Screen Influenza H5 Antibody Competition, ID Vet). Les valeurs d'indice de densité optique obtenues ont été interprétées selon la notice en vigueur du fournisseur. Des analyses ont également été effectuées par technique d'inhibition de l'hémagglutination (IHA) selon la méthode normalisée (AFNOR, 2013) :

- avec des antigènes issus de souches IAHP isolées en 2015 en France : H5N9 A/duck/France/150236b/2015 et H5N1 A/chicken/France/150169a/2015 ;
- avec les antigènes recommandés pour les plans nationaux de surveillance, issus de souches IA faiblement pathogènes (FP) françaises : H5N3 A/Muscovy duck/France/070090b/2007 et H5N2 A/chicken/France/03426a/2003 ;
- et avec les antigènes recommandés par le LRUE pour le plan de surveillance européen annuel : H5N3 A/teal/England/7394-2805/2006, H5N1 A/chicken/Scotland/1959

et H5N8 A/duck/England/036254/2014.
Le seuil de positivité retenu est de 16.

1.3. Analyse des données

Les valeurs brutes de Ct obtenues en r-RT-PCR ont été interprétées qualitativement en fonction du seuil de positivité précédemment défini, afin d'estimer la période d'excrétion du virus. Cette durée a été déterminée séparément pour la voie oropharyngée et la voie cloacale comme le nombre de jours consécutifs où des résultats positifs sont détectés (incluant le cas échéant un résultat négatif isolé encadré par deux résultats positifs).

Les valeurs brutes de Ct ont également été normalisées en équivalents de DIE_{50} / réaction de PCR (en base log_{10}), en utilisant une gamme d'ARN étalon de concentration connue pour chaque essai et une courbe de calibration pour la transformation en équivalents de DIE_{50} . La quantité totale de virus excrété a été estimée en calculant l'aire sous la courbe (ASC) d'excrétion en fonction du temps, en ne retenant que l'intervalle de temps correspondant à la période d'excrétion précédemment définie : la méthode d'interpolation trapézoïdale définie par Brown *et al.* (2009) a été utilisée. Si nécessaire, la valeur-seuil de 2 DIE_{50} / réaction PCR a été attribuée aux éventuels résultats négatifs obtenus.

2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Signes cliniques (Tableau 1)

Au cours de l'étude expérimentale, seuls des symptômes respiratoires discrets (jetage ou râles et sifflements) ont été constatés très fréquemment du 3^e au 8^e jour après l'inoculation chez les canards infectés, et du 4^e au 8^e jour après mise en place chez les canards contacts. Des observations isolées ont également été notées aux 10^e, 11^e et 14^e jours.

Excrétion virale (Tableau 1 et Tableau 2)

L'excrétion virale chez les canards infectés a débuté par voie oropharyngée et cloacale dès 24 heures après inoculation. Cependant, l'excrétion intestinale a été légèrement retardée chez les canards contacts : tous les sujets excrétaient par voie oropharyngée 24 heures après leur mise en place, alors que seuls 7 canards contacts / 12 présentaient des charges virales détectables par voie cloacale. L'excrétion oropharyngée et cloacale a été complète à partir de 48 heures après la mise en contact.

Ce décalage a été également retrouvé au niveau de l'importance du délai entre le pic d'excrétion oropharyngée et le pic d'excrétion cloacale. Chez les canards inoculés, le pic d'excrétion cloacal était contemporain ou décalé d'au plus 24 heures par rapport au pic oropharyngé. Chez 9 canards contacts / 12, le retard du pic cloacal a atteint 3 à 7 jours.

Cependant, les autres indices de comparaison des profils d'excrétion du virus IAHP H5N9 ont présenté le même aspect entre le groupe de canards de Barbarie inoculés et le groupe de canards de Barbarie contacts.

Dans les deux groupes, aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les valeurs maximales de titres oropharyngés et cloacaux, la durée d'excrétion par voie cloacale était significativement plus longue que par voie oropharyngée et en conséquence, l'indice ASC cloacal était significativement plus élevé que l'ASC oropharyngée, indiquant une charge d'excrétion intestinale totale plus forte que l'excrétion respiratoire totale chez le canard de Barbarie.

L'ensemble des résultats obtenus a montré que le virus IAHP H5N9 testé n'a pas présenté de tropisme respiratoire préférentiel chez le canard de Barbarie EOPS de 3 semaines.

Cinétique de l'immunité humorale spécifique (Tableau 3)

Tous les sérums prélevés au 20^e jour après l'inoculation étaient positifs en ELISA NP, en ELISA H5 et en test IHA vis-à-vis de l'antigène H5N9 HP homologue au virus d'épreuve. Bien que partielle pour les sérums prélevés au 14^e jour, la séroconversion a été détectée chez la majorité des canards testés en ELISA H5 (12 sérums positifs / 18) et en IHA homologue (16 sérums avec un titre IHA $\geq$ 16, pour 18 sérums testés).

Les tests IHA vis-à-vis des autres antigènes H5 utilisés ont présenté une proportion plus faible (moins de 12 sérums / 18) de sérums avec des titres IHA $\geq$ 16, lors de l'analyse des prélèvements au 14^e et au 20^e jour. De plus, aucun des sérums testés n'était détecté en IHA vis-à-vis de l'antigène H5N8 A/duck/England/036254/2014 (cet antigène étant connu a priori pour son faible croisement antigénique avec les autres virus IA H5).

Toutefois, l'ensemble des sérums testés étaient positifs en ELISA NP dès le 7^e jour après inoculation.

CONCLUSION

Les canards de Barbarie EOPS de 3 semaines étaient très réceptifs à l'infection par le virus IAHP H5N9 isolé en France en 2015, mais ont été très peu sensibles au développement de signe clinique. Toutefois, la transmission à des sujets contacts a été très efficace et très rapides : la totalité des animaux introduits ont été infectés et sont devenus excréteurs en moins de 24 heures après leur introduction.

De plus, l'excrétion du virus est restée majoritairement intestinale, bien que le niveau maximal d'excrétion par voie respiratoire ait été équivalent à celui observé par voie cloacale. Le profil de cinétique d'excrétion de ce virus est donc resté identique à celui observé pour certains virus H5 faiblement pathogène chez la même espèce (Niqueux *et al.*, 2014). L'infection de différentes espèces de canard, y compris le canard de Barbarie, par des virus IAHP H5N1 de la lignée A/goose/Guangdong/1/1996 se caractérisait au contraire par une excrétion respiratoire beaucoup plus marquée, en terme de titres

viraux détectés, que l'excrétion par voie cloacale (Guionie *et al.*, 2009 ; Pantin-Jacwood *et al.*, 2009 et 2013).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Le Bouquin S., Huneau-Salaün A., Hamon M., Moisson M.C., Scoizec A., Niqueux É., Schmitz A., Briand F.X., van de Wiele A., Bronner A., 2016. L'épisode d'influenza aviaire en France en 2015-2016 – Situation épidémiologique au 30 juin 2016. BE santé animale et alimentation, (75), 8 p.
- Cherbonnel M., Henry A., Ogor K., Jestin V., 2013. Validation of a duplex real-time RT-PCR assay to detect avian influenza virus matrix gene using armored RNA as an internal positive control. In : Book of abstracts, WVPAC 2013, 19-23 août 2013, Nantes, France. 466.
- Niqueux É., Picault J.P., Amelot M., Allée C., Lamandé J., Guillemoto C., Pierre I., Massin P., Blot G., Briand F.X., Rose N., Jestin V., 2014. Quantitative transmission characteristics of different H5 low pathogenic avian influenza viruses in Muscovy ducks. Vet Microbiol, (168), 78-87.
- AFNOR, 2013. NF U 47-036-1 et NF U 47-036-2, Méthodes d'analyse en santé animale – Recherche d'anticorps contre les orthomyxovirus (influenzavirus) aviaires de type A de sous-types H5 et H7 par la technique d'inhibition de l'hémagglutination – partie 1 : criblage et partie 2 : confirmation. 11 octobre 2013. AFNOR (Éd.), Paris, France.
- JOCE, 2006. Décision 2006/437/CE de la Commission du 4 août 2006 portant approbation d'un manuel de diagnostic pour l'influenza aviaire conformément à la directive 2005/94/CE du Conseil. (L237), 1-27.
- Brown J.D., Stallknecht D.E., Berghaus R.D., Swayne D.E., 2009. Infectious and lethal doses of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus for house sparrows (*Passer domesticus*) and rock pigeons (*Columbia livia*). J Vet Diagn Invest, (21), 437-445.
- Guionie O., Guillou Cloarec C., Courtois D., Bougeard S., Amelot M., Jestin V., 2009. Experimental infection of Muscovy ducks with highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) belonging to clade 2.2. Av Dis, (54 S1), 538-547.
- Pantin-Jackwood M.J., Swayne D.E., 2009. Pathogenesis and pathobiology of avian influenza virus infection in birds. OIE Rev Sci Tech, (28), 113-136.
- Pantin-Jackwood M.J., Swayne D.E.,

Tableau 1. Signes cliniques et profils individuels d'excrétion du virus IAHP H5N9 chez le canard de Barbarie EOPS de 3 semaines

		J-1	J0	J+1	J+2	J+3	J+4	J+5	J+6	J+7	J+8	J+9	J+10	J+11	J+12	J+13	J+14	J+15	J+16	J+17	J+18	J+19	J+20
canards de Barbarie inoculés (n = 6)	926	-/-	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/+	-/-	-/-	np	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	927	-/-	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/+	-/-	-/-	np	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	925	-/-	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/+	-/-	-/-	np	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	929	-/-	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/+	+/+	-/+	np	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	930	-/-	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/+	-/+	-/+	np	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	928	-/-	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/+	-/-	-/+	np	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
canards de Barbarie contacts (n = 12)	914	-/-	np	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	920	-/-	np	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	915	-/-	np	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	913	-/-	np	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	924	-/-	np	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	918	-/-	np	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/-	-/+	-/-	np	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	923	-/-	np	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/-	-/+	-/-	np	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	917	-/-	np	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/-	-/+	-/-	np	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	919	-/-	np	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/-	-/+	-/-	np	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	916	-/-	np	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/-	-/+	-/-	np	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	921	-/-	np	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/-	-/+	-/-	np	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-
	922	-/-	np	np	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	-/+	-/-	-/+	-/-	np	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-	np	-/-	-/-

Détection du génome IA par r-RT-PCR à partir d'ARN extrait respectivement de surnageants d'écouvillons oropharyngés et cloacaux individuels.

Les résultats bruts en Ct sont interprétés qualitativement par rapport au seuil de positivité de 2 D_{IE50} / réaction PCR.

La détection des signes cliniques est représentée en gris clair (jetage seul) ou gris foncé (râles associés ou non à du jetage).

np : absence de prélèvements.

Tableau 2. Profils quantitatifs d'excrétion du virus IAHP H5N9 chez le canard de Barbarie EOPS de 3 semaines

		pic d'excrétion (jour post-infection)		titre viral maximum (log ₁₀ D _{IE50} / réaction PCR)		durée d'excrétion (jours)		ASC
		min	max	M. ± E.T. *		min	max	M. ± E.T.
canards de Barbarie inoculés (n = 6)	excrétion oropharyngée	1	2	3,43 ± 0,61		6	7	13,04 ± 1,43
	excrétion cloacale	1	2	3,29 ± 0,45		9	13	17,81 ± 3,03
canards de Barbarie contacts (n = 12)	excrétion oropharyngée	2		3,19 ± 0,48		6	9	13,32 ± 1,74
	excrétion cloacale	2	9	2,95 ± 0,34		7	12	17,04 ± 2,74

* : moyenne ± écart-type

Tableau 3. Nombre de sérums positifs en ELISA et nombre de sérums présentant un titre IHA ≥ 16, par type d'antigène et par date de prélèvement

	nombre de sérums positifs à J + 7 après inoculation							
	IHA							
	ELISA NP	ELISA H5	LRUE	LRUE	FP fr.	FP fr.	HP fr.	HP fr.
			Ag H5N3	Ag H5N1	Ag H5N3	Ag H5N2	Ag H5N9	Ag H5N1
canards de Barbarie inoculés (n=6)	6	4	0	0	1	0	1	0
canards de Barbarie contacts (n=12)	12	3	0	0	0	0	0	0

	nombre de sérums positifs à J + 14 après inoculation							
	IHA							
	ELISA NP	ELISA H5	LRUE	LRUE	FP fr.	FP fr.	HP fr.	HP fr.
			Ag H5N3	Ag H5N1	Ag H5N3	Ag H5N2	Ag H5N9	Ag H5N1
canards de Barbarie inoculés (n=6)	6	5	1	1	2	2	5	3
canards de Barbarie contacts (n=12)	12	7	3	0	4	1	11	5

	nombre de sérums positifs à J + 20 après inoculation							
	IHA							
	ELISA NP	ELISA H5	LRUE	LRUE	FP fr.	FP fr.	HP fr.	HP fr.
			Ag H5N3	Ag H5N1	Ag H5N3	Ag H5N2	Ag H5N9	Ag H5N1
canards de Barbarie inoculés (n=6)	6	6	4	1	3	3	12	4
canards de Barbarie contacts (n=12)	12	12	5	1	3	2	6	8