

## MODÉLISATION DE LA TRANSMISSION DU VIRUS DE L'HÉPATITE E CHEZ LE PORC À PARTIR DE DONNÉES EXPÉRIMENTALES \*

Mathieu Andraud<sup>1</sup>, Marine Dumarest<sup>2</sup>, Roland Cariolet<sup>1</sup>, Elodie Barnaud<sup>2</sup>, Florent Eono<sup>1</sup>,  
Nicole Pavio<sup>2</sup> et Nicolas Rose<sup>1</sup>

### RÉSUMÉ

L'hépatite E est une zoonose dont l'espèce porcine est considérée comme principal réservoir dans les pays industrialisés. Un essai expérimental de transmission a été mis en place afin d'étudier les principales caractéristiques de l'infection par le virus de l'hépatite E chez le porc. Un modèle mathématique prenant en compte trois voies de transmission a permis de quantifier la transmission en fonction de la structure de contact entre les animaux (contacts directs et indirects) ainsi que le rôle joué par l'environnement dans le processus infectieux. Les résultats obtenus montrent que la transmission par contact direct peut être un facteur de persistance de l'infection en élevage porcin avec un nombre de reproduction partiel estimé à 1,06 [0,25 ; 2,13]. Cependant, cette voie de transmission seule ne permet pas d'expliquer les fortes prévalences observées en élevage, qui sont plus vraisemblablement dues à la persistance du virus dans l'environnement et une contamination par voie oro-fécale.

**Mots-clés :** hépatite E, modélisation mathématique, essai expérimental, transmission, environnement, estimation de paramètres.

### SUMMARY

Hepatitis E is a zoonosis for which domestic pigs are considered as the main reservoir in industrialized countries. An experimental trial was carried out to study the main characteristics of HEV transmission between orally inoculated pigs and naïve animals. A mathematical model was used to investigate three transmission routes, namely direct and indirect contacts between pigs and an environmental component to represent oro-fecal transmission. Our results showed that direct transmission alone, with a partial reproduction number of 1.06 (95% confidence interval: [0.25; 2.13]), can be considered as a factor of virus persistence within a population. However, this route of transmission alone cannot explain the high prevalences recorded in field studies, which are more likely due to virus persistence in the environment and oro-fecal contamination.

**Keywords:** Hepatitis E, Mathematical modeling, Transmission experiment, Environment, Parameter estimation.



\* Texte de la communication orale présentée au cours des Journées scientifiques AEEMA, 31 mai 2013

<sup>1</sup> Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, BP 53, 22440 Ploufragan, France

<sup>2</sup> UMR 1161 Anses/INRA/ENVA virologie, laboratoire de santé animale, École nationale vétérinaire d'Alfort, 7 Avenue du Général de Gaulle, 94704 Maisons-Alfort, France

---

## I - INTRODUCTION

---

Le virus de l'hépatite E (VHE) est un virus à ARN simple brin non enveloppé du genre *Hepevirus*, seul représentant de la famille des *Hepeviridae* [Panda *et al.*, 2007 ; Meng, 2010 ; Pavio *et al.*, 2010]. La maladie chez l'Homme est caractérisée par des symptômes similaires à ceux observés avec le virus de l'hépatite A, sans conséquence clinique à long terme. Cependant, une chronicité de l'infection a été montrée chez des individus immuno-déprimés et 1 à 2 % des cas présentent une forme plus sévère de la maladie pouvant induire une hépatite fulminante nécessitant parfois une greffe de foie [Gérolami *et al.*, 2008 ; Kamar *et al.*, 2008 ; Kamar *et al.*, 2012].

Quatre génotypes ont été identifiés chez l'homme (HEV1 – 4), les deux premiers étant principalement prévalents dans les pays en voie de développement (Afrique, Asie, Amérique de Sud) et exclusivement isolés chez l'Homme [Balayan 1997 ; Purcell et Emerson, 2008 ; Aggarwal et Naik, 2009]. Les cas autochtones d'hépatite E en Europe, aux Etats-Unis ou au Japon, causés par les génotypes 3 et 4, sont en recrudescence depuis une dizaine d'années [Dalton *et al.*, 2008]. Ces génotypes 3 et 4 ont été retrouvés chez de nombreuses espèces animales sauvages (sangliers, cerfs), mais aussi chez des animaux domestiques ; le porc constituant un réservoir majeur de ces virus avec, selon les pays, jusqu'à 90 % des élevages contaminés. Chez l'Homme, de nombreuses études ont permis de lier beaucoup de cas d'hépatite E à une consommation récente de viande, abats ou foies d'animaux crus ou insuffisamment cuits [Tei *et al.*, 2003 ; Masuda *et al.*, 2005 ; Colson *et al.*, 2012]. Ainsi, l'hépatite E dans les pays industrialisés est une zoonose dont l'espèce porcine est considérée comme le principal réservoir [Dalton *et al.*, 2008 ; Lewis *et al.*, 2010 ; Pavio *et al.*, 2010].

Chez le porc, l'infection par le virus de l'hépatite E est asymptomatique et ce virus est très répandu dans la population porcine [de Deus *et al.*, 2008 ; Seminati *et al.*, 2008 ; Casas *et al.*, 2011 ; Rose *et al.*, 2011]. Des études épidémiologiques ont démontré de fortes prévalences d'infection des élevages, avec de larges variations pour les individus [de Deus *et al.*, 2008 ; Seminati *et al.*, 2008 ; Casas *et al.*, 2011 ; Rose *et al.*, 2011]. Ainsi, une étude récente menée en France a montré des séroprévalences de 65 % et 31 % respectivement aux niveaux élevage et individu, [Rose *et al.*, 2011]. Les fortes variations observées de séroprévalence

intra-élevage suggèrent une relation entre la dynamique d'infection et des caractéristiques spécifiques de chaque élevage. En outre, bien que l'excrétion du virus dans les fèces ait été démontrée chez des porcs de tous âges, le pic de prévalence est généralement observé entre 3 et 4 mois d'âge, suggérant des infections pouvant survenir précocement avec une propagation plus ou moins efficace entre animaux de différents groupes [Fernandez-Barredo *et al.*, 2006 ; de Deus *et al.*, 2008 ; Kanai *et al.*, 2010]. Dans les modèles mathématiques, l'intensité de la transmission est régie par le taux de transmission, noté  $\beta$  et défini comme le nombre de nouvelles infections générées par un individu infectieux par unité de temps. Ce paramètre, ainsi que la durée moyenne de la période infectieuse, sont les paramètres clés des modèles épidémiologiques, permettant de définir le nombre de reproduction de base ( $R_0$ ), nombre de nouvelles infections générées par un individu infectieux au cours de sa période infectieuse dans une population entièrement sensible. Des estimations du  $R_0$  pour le virus de l'hépatite E ont été obtenues en utilisant différents types de données (données de terrain ou expérimentales). Ainsi, Satou et Nishiura [2007] ont développé un modèle permettant de déterminer l'âge à l'infection de chaque individu et la force d'infection exercée en fonction de l'âge des individus à partir de données sérologiques par classes d'âge obtenues dans des élevages de porcs au Japon. Le nombre de reproduction de base a ainsi été estimé entre 4,02 et 5,17 en fonction de la localisation des élevages. Récemment, Backer *et al.* [2012] ont obtenu des valeurs similaires en utilisant un modèle bayésien appliqué à des données de prévalences d'excrétion du virus en fonction de l'âge des animaux dans des élevages britanniques. Les valeurs estimées par Bouwknegt *et al.* [2008] sont plus élevées ; cependant, les données utilisées dans cette étude, contrairement aux résultats précédents, étaient issues d'essais expérimentaux. De plus, ces expérimentations consistaient en la mise en contact d'un porc sensible avec un porc infecté par voie intraveineuse. Bien que ce mode d'inoculation soit plus efficace qu'une inoculation par voie orale, il est assez éloigné des conditions réelles de contamination (voie oro-fécale). L'impact de la voie d'inoculation sur la transmission pourrait, par conséquent, expliquer les différences obtenues en termes de  $R_0$ . L'ensemble de ces résultats apporte de nombreuses informations

quant à la transmission du virus de l'hépatite E en élevage porcin. Cependant, les estimations obtenues sont difficilement transposables aux conditions réelles d'élevage où les animaux sont répartis en groupes ayant des contacts restreints. De plus, la voie de contamination principale, voie oro-fécale, est peu envisagée car nécessiterait une évaluation du rôle joué par l'environnement dans la transmission.

En regard de la forte prévalence observée en élevage porcin et de la nature zoonotique du virus, la compréhension de la dynamique d'infection par

le virus de l'hépatite E pourrait permettre l'identification de mesures de maîtrise en élevage permettant de limiter la transmission entre animaux. L'objectif de cette étude est d'identifier les principales caractéristiques de l'infection à l'échelle de l'individu (distributions des périodes latente et infectieuse) et de quantifier la transmission du virus au sein d'une population de porcs à partir de données expérimentales en prenant en compte une composante environnementale.

---

## II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

---

### 1. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Soixante-huit porcelets EOPS âgés de 6 semaines et indemnes de VHE ont été utilisés pour cette expérimentation. Huit porcelets ont été gardés comme contrôles négatifs (Salle 0, figure 1); les porcelets restants sont répartis dans six salles indépendantes contenant deux cases par salle. Les salles 1 à 3 ont été utilisées afin d'évaluer la transmission par contact direct et environnementale. Dans chacune de ces salles, les cases étaient séparées par des cloisons afin d'éviter toute transmission inter-cases. Six porcelets ont été répartis dans chaque case, dont trois ont été infectés à  $J_0$ . Les salles 4 à 6 sont dédiées à l'étude de la transmission indirecte (transmission inter-cases). Dans chacune de ces salles, deux cases adjacentes, séparées de 10 cm, contenaient quatre porcs infectés et quatre porcs contacts, respectivement. Suite à une étude préliminaire de comparaison de plusieurs doses d'inoculation *per os*, une suspension virale titrant  $10^8$  ge/ml (génomes équivalents par ml) a été utilisée pour les inoculations. La suspension a été administrée en utilisant un cathéter stérile introduit délicatement dans l'œsophage des porcelets afin de prévenir toute régurgitation et une contamination environnementale liée à l'inoculation.

Des prélèvements de matière fécale ont été collectés individuellement quatre jours avant inoculation, afin de vérifier le statut des porcelets vis-à-vis du virus de l'hépatite E, puis à raison de trois fois par semaine de  $J_0$  (jour de l'inoculation) à  $J_{39}$  (39 jours post-inoculation (jpi)), jour auquel les animaux ont été euthanasiés pour autopsie. Des

prélèvements sanguins ont également été effectués deux fois par semaine sur la même période; les signes cliniques et températures rectales ont été relevés quotidiennement. Les euthanasies ont été effectuées par anesthésie (1g/50kg de thiopental sodique [Nesdonal®; Merial, Lyon, France]) suivie d'une saignée. L'hépatite E présentant un risque zoonotique, des mesures strictes de biosécurité ont été mises en œuvre afin de prévenir toute transmission des porcelets vers les techniciens animaliers. D'autre part, bottes et cuissardes étaient nettoyées entre chaque parc afin d'éviter le transfert de matière fécale.

Le protocole expérimental a été approuvé (avis 14/06/2011-3) par le Comité d'éthique Anses/ENVA/UPEC (agrément #16 du Comité National pour l'éthique en expérimentation animale).

### 2. ANALYSES

La quantification de l'ARN du virus de l'hépatite E a été adaptée de la méthode décrite par Jothikumar *et al.* [2006] et réalisée comme décrite par Barnaud *et al.* [2012].

### 3. MODÈLES MATHÉMATIQUES

#### 3.1. DISTRIBUTIONS DES PÉRIODES LATENTES ET INFECTIEUSES

Les distributions des durées des périodes latentes et infectieuses ont été estimées. Pour chaque animal, le premier prélèvement fécal positif pour

l'ARN du virus de l'hépatite E est considéré comme le début de la période infectieuse et les résultats obtenus chez les porcs inoculés ont permis de définir les durées individuelles des périodes latentes (intervalle inoculation-première excrétion). Les porcs sont ensuite considérés infectieux jusqu'au prochain prélèvement fécal négatif. Deux distributions gamma ont été considérées pour ces deux durées et les paramètres ont été estimés par maximum de vraisemblance. Une procédure de type bootstrap non-paramétrique a été utilisée pour déterminer les intervalles de confiance à 95 %. Mille jeux de données sont créés par ré-échantillonnage du jeu de données initial et l'estimation des paramètres a été effectuée pour chaque jeu de données généré. L'intervalle de confiance à 95 % est construit à partir des 2,5 et 97,5<sup>ième</sup> percentiles pour chaque paramètre [Efron et Tibshirani, 1993 ; Hens *et al.*, 2012].

**3.2. CHARGE VIRALE DANS L'ENVIRONNEMENT**

La charge virale dans l'environnement correspond à l'accumulation de particules virales dans

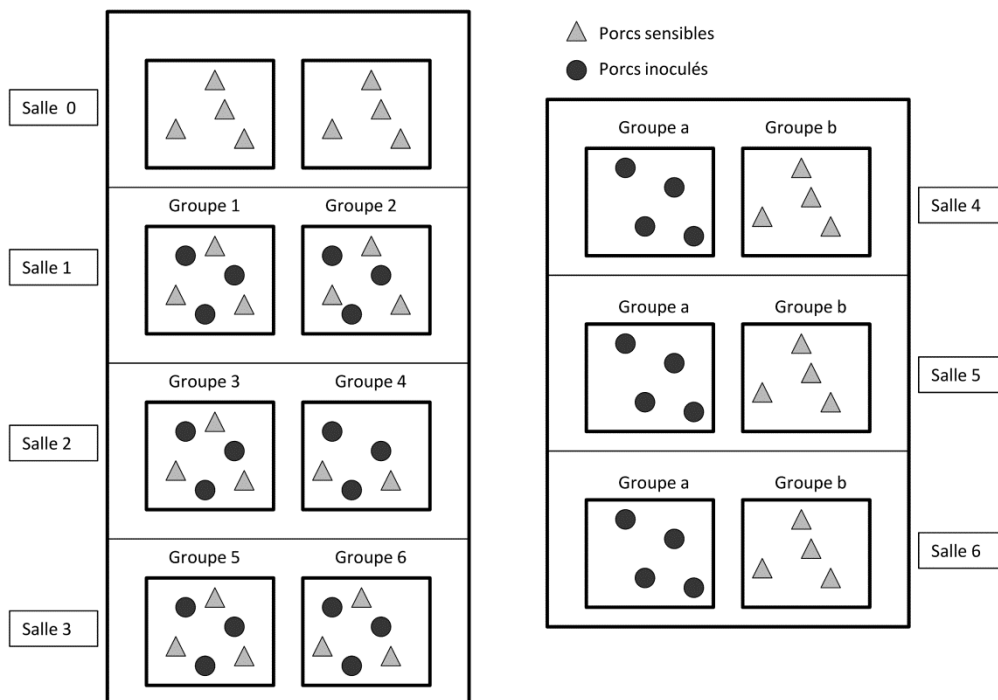
l'environnement due à l'excrétion fécale des animaux infectieux, et partiellement compensée par un taux de clairance ( $\delta$ ). Bien que le taux d'inactivation du virus de l'hépatite E soit relativement faible, nous avons fixé  $\delta$  à 30 % par jour en considérant la perte de matière fécale au travers des caillebotis. Pour chaque cas ( $k$ ) et chaque temps de prélèvement ( $t_j$ ), la quantité moyenne de particules virales par gramme de fèces excrétée par les individus infectieux dans l'environnement est calculée par  $V_k(t_j) = \sum_i V_k^i(t_j)/N_k$ , où  $V_k^i(t_j)$  représente la charge génomique virale en génomes équivalents (ge) excrétée dans le parc  $k$  par le porc  $i$  au temps  $t_j$ , et  $N_k$  le nombre de porcs présent dans le parc  $k$ . Par conséquent, la quantité cumulée dans l'environnement du parc  $k$  entre deux temps de prélèvement  $t_j$  et  $t_{j+1}$  est régie par la relation :

$$E_k(t_{j+1}) = \left( E_k(t_j) + \int_0^{\Delta t} V_k(t_j + u) e^{\delta u} du \right) e^{-\delta \Delta t},$$

avec  $\Delta t = t_{j+1} - t_j$ . Le terme intégral dans cette relation a été approché par la méthode des trapèzes.

Figure 1

**Représentation schématique du protocole expérimental**



### 3.3. QUANTIFICATION DE LA TRANSMISSION

Trois voies de transmission ont été considérées dans cette étude : (i) transmission par contact direct ; (ii) transmission oro-fécale *via* l'environnement ; (iii) transmission indirecte entre porcs de cases adjacentes. Les deux premières voies de transmission ont été étudiées en utilisant les données issues des expérimentations en salles 1 à 3 (figure 1). Les animaux sont considérés infectieux lorsque leurs prélèvements fécaux sont positifs. Cependant, le moment exact auquel les infections ont lieu chez les animaux contacts n'étant pas observable, mille jeu de données ont été générés en tirant la durée de la période latente pour chaque individu infecté dans la distribution estimée précédemment à partir des individus inoculés. Pour chaque jeu de données, les paramètres de transmission sont estimés par la méthode du maximum de vraisemblance [Klinkenberg *et al.*, 2002 ; Andraud *et al.*, 2008]. Brièvement, la probabilité pour un individu sensible d'échapper à l'infection au cours d'un intervalle de temps de durée  $d$  dépend du nombre de porcs infectieux dans le même parc. De plus, nous avons fait l'hypothèse que la charge virale présente dans l'environnement contribue de façon

similaire à la force d'infection. Cette probabilité peut donc s'écrire  $q = \exp\left(-d\left(\frac{\beta_w I}{N} + \frac{\beta_E E}{N}\right)\right)$  où  $\beta_w$  est le taux de transmission intra-case,  $I$  le nombre d'individus infectieux,  $\beta_E$  le taux de transmission lié à l'environnement,  $E$  la charge virale dans l'environnement et  $N$  le nombre total d'animaux dans la case considérée. Le nombre de nouvelles infections dans chaque groupe au cours d'un intervalle de temps entre deux prélèvements  $[t_i, t_{i+1}]$  suit une loi binomiale de paramètres  $S_i$ , nombre d'individus sensibles à  $t_i$ , et  $p_i = 1 - q_i$ .

La transmission indirecte a été évaluée à partir des données issues des expérimentations conduites en salles 4 à 6 (figure 1). La méthodologie est similaire à celle exposée précédemment, la probabilité d'échapper à l'infection étant donnée par  $q = \exp\left(-d\left(\frac{\beta_b I_b}{N} + \frac{\beta_w I_w}{N} + \frac{\beta_E E}{N}\right)\right)$ , avec  $\beta_b$  le taux de transmission indirecte et  $I_b$  le nombre d'individus dans le parc adjacent. Les valeurs de  $\beta_w$  et  $\beta_E$  estimées précédemment sont utilisées et seul le taux de transmission indirecte est estimé. L'intervalle de confiance à 95 % est construit à partir des 2,5 et 97,5<sup>ième</sup> percentiles pour chaque paramètre.

## III - RÉSULTATS

### 1. ESSAI EXPÉRIMENTAL ET DURÉES DES PÉRIODES LATENTE ET INFECTIEUSE

Les porcs ont été inoculés par voie orale afin d'être au plus proche des conditions réelles d'infection (voie oro-fécale). Deux porcs inoculés n'ont pas été infectés avec succès : l'ensemble des prélèvements fécaux effectués sur ces deux porcs étaient négatifs pour la recherche d'ARN du virus de l'hépatite E (figures 2 et 3). De plus, ces deux porcs étaient séronégatifs à la fin de l'essai démontrant qu'ils n'avaient pas été infectés au cours de l'expérimentation. Excepté ces deux porcs, l'ensemble des porcs inoculés ont excrété du virus dans leurs fèces après une période latente variant entre 2 et 11,5 jours. Les durées de la période latente ont été ajustées à une distribution gamma de paramètres  $\alpha = 5,19$  [3,46 ; 10,06] et  $r = 0,75$  [0,52 ; 1,39] (figure 4,a). La durée moyenne de la période latente est estimée à 6,9 jours [5,8 ; 7,9] et, selon la même méthode, la durée moyenne de la période infectieuse est de 9,7

jours [8,2 ; 11,2] (figure 4,b). Tous les porcs inoculés avec succès ont excrété le virus par voie fécale selon une courbe unimodale, mais montrant cependant une forte variabilité inter-individus. Le pic d'excrétion est observé entre 8 et 17 jours post infection (jpi). Bien que la majorité des animaux montre une excrétion modérée ( $<5 \cdot 10^5$  ge/g), deux d'entre eux excrètent plus abondamment ( $>10^6$  ge/g) contribuant à un accroissement rapide de la charge virale de l'environnement dans leurs groupes respectifs (figure 5, groupes 3 et 5).

Quatorze parmi les dix-huit porcs contacts ont été infectés au cours de l'essai expérimental démontrant une transmission efficace après inoculation par voie orale. Le premier prélèvement fécal positif est détecté à 15 jpi dans le groupe 3, dans lequel les individus inoculés ont une période latente relativement courte (2 à 5 jours) et présentent des charges virales excrétées élevées. Dans les autres groupes, les infections parmi les porcs contacts se sont manifestées entre 21 et 30

ipi. Seul le groupe 4 montre une cinétique différente avec un délai de 14 jours entre le dernier prélèvement positif chez les porcs inoculés et le premier prélèvement positif chez les porcs contacts. Par conséquent, étant donnée la distribution de la période latente, il est peu probable que cette infection ait été causée par contact direct avec les animaux inoculés, ce qui révèle une contribution importante de

l'environnement dans le processus infectieux générant par la suite une propagation intra groupe. En effet, en fin d'essai expérimental, la totalité des porcs contacts de ce groupe ont été infectés. La transmission indirecte a été observée dans une seule salle (salle 4, groupe b) : un porc a été infecté induisant une transmission intra-groupe infectant la totalité des animaux de ce groupe.

Figure 2

### Résultats virologiques (RT-PCR quantitative) des prélèvements de matière fécale obtenus des porcs en contact direct

		eg/G de Fèces																
JPI		1	3	6	8	10	13	15	17	20	22	24	28	31	34	36	38	44
Salle1, Groupe 1	Inoculé	0	0	0	0	0	3,58E+04	2,07E+05	8,72E+04	1,27E+04	0	0	0	0	0	0	0	0
	Inoculé	0	0	4,39E+04	7,89E+04	5,54E+05	2,75E+05	5,40E+04	2,45E+04	2,14E+04	0	0	0	0	0	0	0	0
	Inoculé	0	0	0	0	0	2,39E+04	3,37E+04	2,98E+04	1,70E+04	1,10E+04	0	0	0	0	0	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,09E+04	1,20E+05	5,12E+04	6,55E+04	0	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,82E+03	4,47E+04	3,66E+04	7,80E+03	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,08E+04	1,25E+04	3,56E+04	0	0	0	0
Salle1, Groupe 2	Inoculé	0	0	0	0	1,33E+04	9,52E+04	1,27E+05	8,37E+04	7,41E+03	0	0	0	0	0	0	0	0
	Inoculé	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Inoculé	0	0	0	0	9,78E+04	2,99E+05	9,90E+04	2,56E+04	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,06E+04	0	0	0	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,53E+04	1,30E+04	0	0	0	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salle2, Groupe 3	Inoculé	0	0	0	0	3,03E+04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Inoculé	0	6,63E+03	3,86E+04	2,28E+05	9,77E+04	2,74E+05	1,43E+06	2,69E+04	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Inoculé	0	0	2,23E+04	0	3,65E+04	4,17E+04	2,58E+05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	9,03E+04	1,99E+05	3,03E+05	2,86E+05	0	0	0	0	0	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	2,16E+04	2,73E+05	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salle2, Groupe 4	Inoculé	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Inoculé	0	0	0	6,05E+04	5,51E+04	2,58E+04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Inoculé	0	0	0	1,79E+04	1,21E+04	1,83E+04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,15E+04	0	0	0	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9,05E+04	3,38E+04	0	0	0
Salle3, Groupe 5	Inoculé	0	0	0	0	1,97E+04	2,24E+05	3,68E+05	4,06E+04	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Inoculé	0	0	0	5,27E+04	3,34E+04	1,24E+05	2,59E+05	5,03E+05	1,57E+05	0	0	0	0	0	0	0	0
	Inoculé	0	0	0	7,16E+04	1,20E+05	7,47E+05	1,06E+06	4,51E+05	1,57E+05	2,72E+04	8,24E+03	0	0	0	0	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,78E+04	0	2,88E+04	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,75E+04	2,65E+04	0	0	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9,60E+03	0	1,07E+04	5,39E+04	0	0
Salle3, Groupe 6	Inoculé	0	0	0	0	0	7,20E+05	2,23E+04	4,01E+04	7,12E+04	1,66E+05	2,67E+04	0	0	0	0	0	0
	Inoculé	0	0	0	0	2,36E+03	7,73E+04	9,68E+04	3,06E+05	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Inoculé	0	0	0	8,82E+03	1,34E+05	3,71E+05	2,38E+05	1,94E+05	2,41E+04	0	0	0	0	0	0	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,03E+04	1,47E+05	6,08E+05	1,38E+06	1,17E+06	7,76E+04	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,12E+05	4,58E+04	1,15E+05	2,14E+05	4,65E+05	0	0	0
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Figure 3

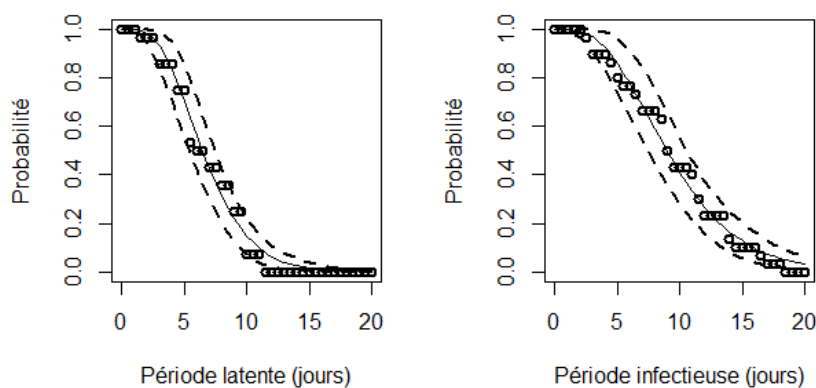
### Résultats virologiques (RT-PCR quantitative) des prélèvements de matière fécale obtenus des porcs en contact indirect

		eg/G de fèces																		
JPI		1	3	6	8	10	13	15	17	20	22	24	28	31	34	36	38	44		
Salle 4, Groupe a	Inoculé	0	0	3,34E+04	0	2,63E+04	2,86E+04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Inoculé	0	0	1,77E+04	2,57E+04	1,58E+04	1,01E+05	4,52E+04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Inoculé	0	4,90E+03	4,72E+04	8,69E+04	2,09E+05	9,25E+05	1,75E+05	2,13E+04	5,46E+04	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Inoculé	0	3,86E+03	1,15E+05	2,18E+05	1,37E+05	5,98E+05	2,39E+06	6,44E+05	1,70E+05	1,23E+05	4,81E+04	0	0	0	0	0	0		
Salle 4, Groupe b	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,16E+04	2,75E+04	0	0	0		
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,77E+03		
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,90E+04		
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9,50E+03		
Salle 5, Groupe a	Inoculé	0	1,30E+04	1,30E+04	1,30E+04	1,30E+04	1,30E+04	1,30E+04	1,30E+04	1,30E+04	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Inoculé	0	0	0	0	7,60E+04	6,34E+05	3,55E+05	3,27E+04	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Inoculé	0	0	7,25E+04	2,40E+04	2,47E+05	1,08E+06	4,87E+05	1,47E+04	1,10E+04	0	3,48E+04	0	0	0	0	0	0		
	Inoculé	0	0	8,41E+04	2,70E+05	6,63E+05	4,09E+05	4,10E+05	1,05E+05	1,46E+04	0	0	0	0	0	0	0	0		
Salle 5, Groupe b	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Salle 6, Groupe a	Inoculé	0	0	0	0	1,14E+05	5,64E+05	2,54E+06	7,22E+05	7,33E+04	1,40E+05	9,96E+04	5,19E+04	4,39E+04	0	0	0	0		
	Inoculé	0	0	0	0	1,37E+05	1,69E+04	4,46E+04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Inoculé	0	0	0	0	7,70E+02	9,08E+05	1,64E+05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Inoculé	0	0	1,10E+05	1,61E+05	4,85E+06	2,04E+06	4,74E+04	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Salle 6, Groupe b	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Contact	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

Figure 4

### Ajustement des distributions des périodes latente (gauche) et infectieuse (droite)

Sous l'hypothèse de distributions gamma pour les deux périodes, la durée moyenne de la période latente est estimée à 6,9 jours [5,8 ; 7,9] et la durée moyenne de la période infectieuse à 9,7 jours [8,2 ; 11,2].



## 2. CHARGE VIRALE DANS L'ENVIRONNEMENT

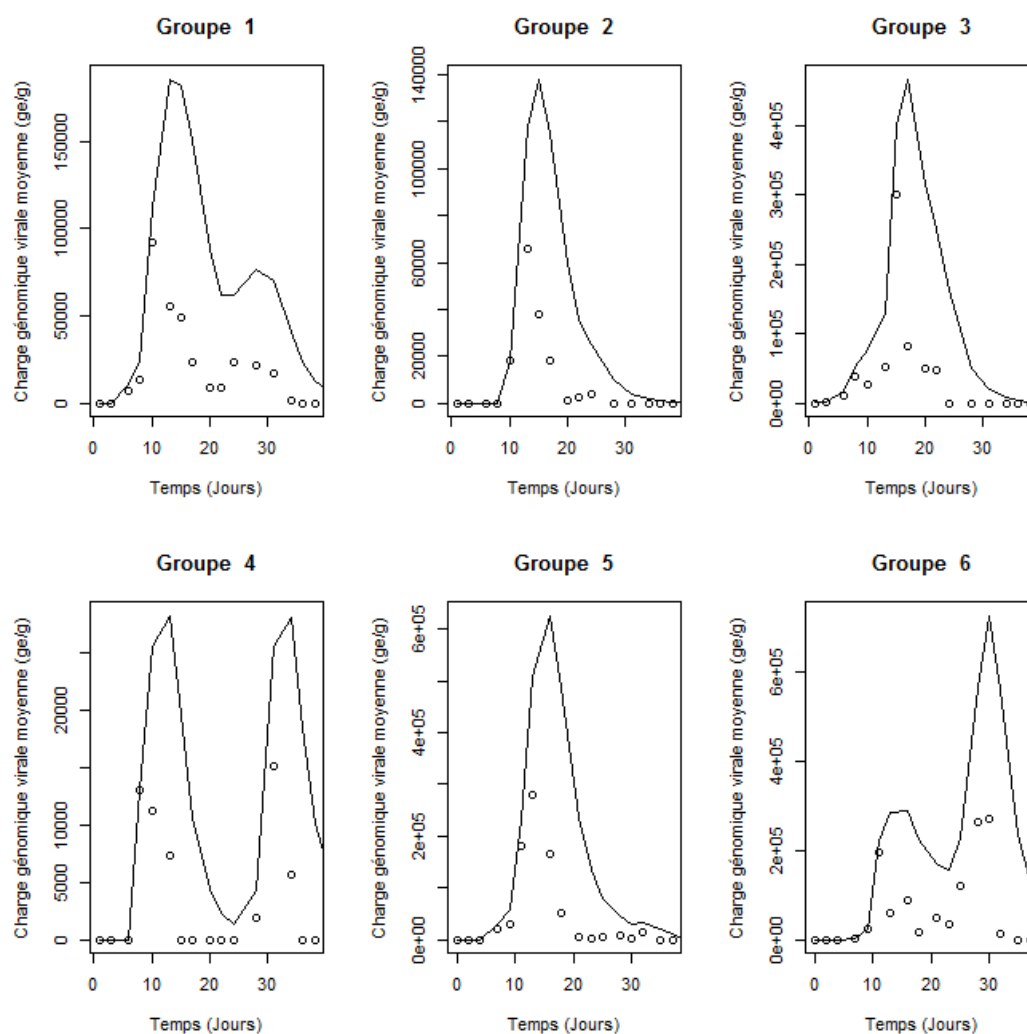
Dans chaque groupe, la quantité de virus présente dans l'environnement est évaluée en fonction de la charge génomique virale excrétée dans les fèces des animaux infectés. Trois profils distincts sont observés (figure 5). Les groupes 2, 3 et 5 sont caractérisés par des profils unimodaux reflétant les fortes quantités de virus excrétées par les porcs inoculés ainsi qu'une rapide diffusion parmi les porcs contacts. Les animaux contacts des groupes 1 et 6 montrent une période infectieuse plus longue induisant une augmentation de la charge virale dans l'environnement vers 30 jpi. De plus, les résultats virologiques individuels montrent une

forte excrétion ( $>10^6$  ge/g) des porcs contacts dans le groupe 6, induisant une accumulation accrue de la charge virale environnementale. Le profil obtenu pour le groupe 4 est totalement différent avec deux pics distincts séparés d'un intervalle de 20 jours. Ce résultat est dû au délai observé (14 jours) entre le dernier prélèvement positif chez les animaux inoculés et le premier prélèvement positif chez les porcs contacts. Bien que la charge virale de l'environnement apparaisse plus faible que dans les autres groupes, une transmission par voie oro-fécale causée par l'exposition à un environnement contaminé est très vraisemblable.

Figure 5

### Estimation de la charge virale dans l'environnement pour l'ensemble des groupes en contact direct (groupes 1 à 6)

La quantité moyenne de virus excrétée par les porcs infectieux dans l'environnement a été évaluée dans un premier temps (ligne discontinue). La charge virale présente dans l'environnement (ligne pleine) correspond au cumul des quantités excrétées dans chaque parc entre deux prélèvements, partiellement compensé par un taux de clairance correspondant à la fois à l'inactivation du virus et à la perte de matière fécale au travers du caillebotis.



### 3. QUANTIFICATION DE LA TRANSMISSION

Les résultats obtenus montrent que la transmission par contact direct est environ 18 fois supérieure à la transmission indirecte entre cases adjacentes ( $\beta_w = 0,11$  [0,03 ; 0,19],  $\beta_b = 6,00 \cdot 10^{-3}$  [ $5,8 \cdot 10^{-3}$  ;  $1,2 \cdot 10^{-2}$ ], tableau 1). La durée moyenne de la période infectieuse étant estimée à 9,7 jours, nous pouvons définir un nombre de reproduction partiel, en prenant uniquement en compte la transmission directe, qui est légèrement supérieur

à 1 (1,06 [0,25 ; 2,13]).

Les taux de transmission directe et indirecte sont directement comparables. En effet, ils définissent le potentiel infectieux d'un animal infecté en fonction de la structure de contact. Le troisième taux de transmission estimé dans cette étude a une autre signification : la transmission par voie environnementale étant évaluée en termes de potentiel de transmission par génome équivalent par g. Cependant, cette échelle de transmission



étant difficile à appréhender, il est intéressant de noter que l'inverse de ce paramètre correspond, par définition, à la charge génomique virale nécessaire pour que l'infection d'un porc par voie

orale soit effective, correspondant à  $7,7 \cdot 10^5$  [4,2  $10^5$  ; 4,4  $10^6$ ] ge par g de fèces accumulés dans l'environnement.

**Tableau 1**  
**Estimation des paramètres de transmission du virus de l'hépatite E**  
**par la méthode du maximum de vraisemblance**

Paramètre	Voie de transmission	Médiane	Intervalle de confiance (95 %)
$\beta_w$	Directe	0,11	(0,03 ; 0,19)
$\beta_E$	Environnement	$1,30 \cdot 10^{-6}$	( $2,24 \cdot 10^{-7}$ ; $2,36 \cdot 10^{-6}$ )
$\beta_b$	Indirecte	$6,02 \cdot 10^{-3}$	( $5,84 \cdot 10^{-3}$ ; $1,16 \cdot 10^{-2}$ )

$\beta_b$  et  $\beta_w$  correspondent aux taux de transmission par contacts directs et indirects, définis comme le nombre moyen de nouvelles infections générées par un individu infectieux par unité de temps.  $\beta_E$  représente le taux de transmission lié à la composante environnementale. Par analogie avec la définition précédente, il définit le nombre moyen de nouvelles infections par particule virale présente dans l'environnement.

#### IV - DISCUSSION

De nombreuses études expérimentales visant à évaluer différents modes d'inoculation (voie intraveineuse ou orale) du virus de l'hépatite E chez le porc ont été menées. Bien que l'hypothèse d'une transmission par voie oro-fécale soit privilégiée, l'inoculation par voie orale s'est montrée moins efficace que la voie intraveineuse. Selon les résultats de Kasorndorkbua *et al.* [2004], la transmission par voie orale nécessiterait une exposition répétée à des doses importantes de virus. D'autre part, la transmission à partir de porcs inoculés vers des porcs sensibles a été démontrée quelle que soit la voie d'inoculation. Cependant, la voie intraveineuse, de par son efficacité, a souvent été privilégiée. Bouwknegt *et al.* [2008] ont ainsi évalué la transmission du VHE en utilisant trois générations successives de porcs exposés au virus, la première étant obtenue par contact de porcs sensibles avec des porcs inoculés par voie intraveineuse. Dans cette étude, la période de latence est supposée constante et estimée en utilisant les données chez les porcs inoculés à trois jours. Considérant une transmission par contacts directs et indirects, les auteurs estiment un nombre de reproduction de base de 8,8, qui apparaît largement supérieur aux estimations issues de données de terrain [Satou et Nishiura, 2007 ; Backer *et al.*, 2012]. Une autre étude a permis de démontrer une transmission effective

après une inoculation par voie orale, mais ne permettant pas de quantifier explicitement la transmission du VHE [Casas *et al.*, 2009]. Dans l'essai expérimental présenté ici, les inoculations ont été effectuées par voie orale, afin d'être au plus proche des conditions réelles d'infection, avec un inoculum titrant  $10^8$  ge/ml, conduisant à un taux de succès de 92 % (24 porcs infectés/26 porcs inoculés).

Les durées dans les différents états d'une infection sont souvent représentées dans les modèles épidémiologiques à l'aide de distributions exponentielles, permettant de modéliser les transitions entre les états par des taux de transition constants, indépendamment du temps depuis l'infection. Bien que cette hypothèse soit pratique d'un point de vue mathématique, elle apparaît souvent irréaliste au regard des caractéristiques épidémiologiques de la plupart des agents infectieux [Lloyd, 2001]. De plus, la prise en compte de distributions plus réalistes (gamma, Weibull, ...) peut modifier de façon drastique le comportement du modèle, pouvant avoir des conséquences sur l'évaluation de mesures de maîtrise [Lloyd 2001 ; Wearing *et al.*, 2005]. Cependant, l'estimation de la durée de la période latente est souvent complexe car le moment exact auquel l'infection a lieu est difficilement appréhendable. L'utilisation d'essais

expérimentaux permet d'éviter ce problème en étudiant le temps écoulé entre l'inoculation et le début de la phase infectieuse. Nos résultats démontrent une large variabilité inter-individuelle pour le VHE, avec une période latente variant entre 2 et 13 jours et suivant une distribution gamma (durée moyenne 6,89 jours). La période infectieuse, qui suit également une distribution de type gamma, a une durée moyenne de 9,68 jours. La comparaison de ces résultats à ceux obtenus par Bouwknegt *et al.* [2008] (3 et 13 jours pour les périodes latentes et infectieuse respectivement), indique clairement une influence importante de la voie d'inoculation sur la cinétique de l'infection intra-hôte.

Trois modalités de transmission ont été étudiées : deux prenant en compte la structure de contacts entre animaux (contact direct et indirect) et une en relation avec la charge virale présente dans l'environnement. En effet, la voie oro-fécale est présumée être la principale voie d'infection et les résultats de l'essai expérimental mettent en évidence la possibilité d'infection en l'absence de contact avec des animaux infectés (principalement dans le groupe 4). En conséquence, l'inclusion d'une composante environnementale apparaît nécessaire dans le modèle afin d'expliquer de manière satisfaisante les données observées. Cependant, l'inclusion d'une telle composante nécessite la représentation de la quantité de virus présente dans l'environnement. Nous avons pour cela utilisé la charge génomique virale excrétée par chaque animal afin d'évaluer la quantité cumulée de virus dans chaque parc. Par analogie avec la définition des taux de transmission directs et indirects, le taux de transmission lié à l'environnement, noté  $\beta_E$ , représente le nombre

moyen de porcs infectés par particule virale par gramme de fèces. Cependant, cette définition étant abstraite, nous avons défini un taux de transmission relatif par l'inverse de  $\beta_E$ , qui correspond au nombre de particules virales nécessaires pour infecter un animal par voie orale ( $7,7 \cdot 10^5$  ge/g). Néanmoins, la transmission par contact direct joue un rôle prépondérant dans le processus infectieux. Avec un taux de transmission estimé à 0,11 [0,03 ; 0,19] et un nombre de reproduction sensiblement supérieur à 1, un individu infectieux génère en moyenne une nouvelle infection au cours de sa période infectieuse, permettant ainsi la persistance de l'infection dans la population. Concomitamment, la charge virale dans l'environnement augmente de par l'excrétion par voie fécale des individus infectieux, induisant une augmentation de la force d'infection exercée sur les individus sensibles. Les résultats obtenus lors de l'expérimentation montrent que la transmission indirecte est rare mais possible, induisant par la suite un processus infectieux intra-groupe. Sous les conditions expérimentales décrites dans cette étude, la transmission par contact direct et la transmission liée à l'environnement sont essentielles à l'explication du processus infectieux observé. Ces résultats suggèrent la mise en place en élevage d'une ségrégation stricte des groupes de porcs dans les cases, évitant tout mouvement entre cases, comme moyen efficace de limiter la diffusion du virus. Cette diffusion semble être en effet fortement conditionnée par les pratiques zootechniques mises en place, ainsi que par les mesures d'hygiène pouvant abaisser considérablement la contamination de l'environnement.

---

## BIBLIOGRAPHIE

---

Aggarwal R., Naik S. - Epidemiology of hepatitis E: Current status. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2009, **24**, 1484-1493.

Andraud M., Grasland B., Durand B., Cariolet R., Jestin A., Madec F., Rose N. - Quantification of porcine circovirus type 2 (PCV-2) within- and between-pen transmission in pigs. *Vet. Res.*, 2008, **39**, 43.

Backer J.A., Berto A., McCreary C., Martelli F., van der Poel W.H.M. - Transmission dynamics of

hepatitis E virus in pigs: Estimation from field data and effect of vaccination. *Epidemics*, 2012, **4**, 86-92.

Balayan M.S. - Epidemiology of hepatitis E virus infection. *Journal of Viral Hepatitis*, 1997, **4**, 155-166.

Barnaud E., Rogee S., Garry P., Rose N., Pavio N. - Thermal inactivation of infectious hepatitis E virus in experimentally contaminated food. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2012, **78**, 5153-5159.

- Bouwknegt M., Frankena K., Rutjes S.A., Wellenberg G.J., Husman A.M.D.R., Poel W.H.M.V.D., Jong M.C.M.D. - Estimation of hepatitis E virus transmission among pigs due to contact-exposure. *Veterinary Research*, 2008, **39**, 40.
- Casas M., Cortes R., Pina S., Peralta B., Allepuz A., Cortey M., Casal J., Martin M. - Longitudinal study of hepatitis E virus infection in Spanish farrow-to-finish swine herds. *Veterinary Microbiology*, 2011, **148**, 27-34.
- Casas M., Pina S., de Deus N., Peralta B., Martin M., Segales J. - Pigs orally inoculated with swine hepatitis E virus are able to infect contact sentinels. *Veterinary Microbiology*, 2009, **138**, 78-84.
- Colson P., Romanet P., Moal V., Borentain P., Purgus R., Benezech A., Motte A., Gerolami R. - Autochthonous infections with hepatitis E virus genotype 4, France. *Emerg. Infect. Dis.*, 2012, **18**, 1361-1364.
- Dalton H.R., Bendall R., Ijaz S., Banks M. - Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *The Lancet Infectious Diseases*, 2008, **8**, 698-709.
- de Deus N., Casas M., Peralta B., Nofrarias M., Pina S., Martin M., Segales J. - Hepatitis E virus infection dynamics and organic distribution in naturally infected pigs in a farrow-to-finish farm. *Vet. Microbiol.*, 2008, **132**, 19-28.
- Efron B., Tibshirani J. - *An introduction to the bootstrap*. New York: Chapman & Hall, Inc; 1993.
- Fernandez-Barredo S., Galiana C., Garcia A., Vega S., Gomez M.T., Pérez-Gracia M.T. - Detection of hepatitis E virus shedding in feces of pigs at different stages of production using reverse transcription-polymerase chain reaction. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2006, **18**, 462-465.
- Gérolami R., Moal V., Colson P. - Chronic Hepatitis E with Cirrhosis in a Kidney-Transplant Recipient. *New England Journal of Medicine*, 2008, **358**, 859-860.
- Hens N., Shkedy Z., Aerts M., Faes C., Van Damme P., Beutels P. - *Modeling Infectious Disease Parameters Based on Serological and Social Contact Data*. Springer New York; 2012.
- Jothikumar N., Cromeans T.L., Robertson B.H., Meng X.J., Hill V.R. - A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of hepatitis E virus. *J. Virol. Methods*, 2006, **131**, 65-71.
- Kamar N., Bendall R., Legrand-Abravanel F., Xia N.-S., Ijaz S., Izopet J., Dalton H.R. - Hepatitis E. *The Lancet*, 2012, **379**, 2477-2488.
- Kamar N., Selves J., Mansuy J.-M., Ouezzani L., PÃ©ron J.-M., Guitard J.I., Cointault O., Esposito L., Abravanel F., Danjoux M., Durand D., Vinel J.-P., Izopet J., Rostaing L. - Hepatitis E Virus and Chronic Hepatitis in Organ-Transplant Recipients. *New England Journal of Medicine*, 2008, **358**, 811-817.
- Kanai Y., Tsujikawa M., Yunoki M., Nishiyama S., Ikuta K., Hagiwara K. - Long-term shedding of hepatitis E virus in the feces of pigs infected naturally, born to sows with and without maternal antibodies. *Journal of Medical Virology*, 2010, **82**, 69-76.
- Kasornrorkbua C., Guenette D.K., Huang F.F., Thomas P.J., Meng X.J., Halbur P.G. - Routes of transmission of swine hepatitis E virus in pigs. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, **42**, 5047-5052.
- Klinkenberg D., de Bree J., Laevens H., de Jong M.C. - Within- and between-pen transmission of Classical Swine Fever Virus: a new method to estimate the basic reproduction ratio from transmission experiments. *Epidemiology and Infection*, 2002, **128**, 293-299.
- Lewis H.C., Wichmann O., Duizer E. - Transmission routes and risk factors for autochthonous hepatitis E virus infection in Europe: a systematic review. *Epidemiology & Infection*, 2010, **138**, 145-166.
- Lloyd A.L. - Destabilization of epidemic models with the inclusion of realistic distributions of infectious periods. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, 2001, **268**, 985-993.
- Lloyd A.L. - Realistic Distributions of Infectious Periods in Epidemic Models: Changing Patterns of Persistence and Dynamics. *Theoretical Population Biology*, 2001, **60**, 59-71.
- Masuda J.-I., Yano K., Tamada Y., Takii Y., Ito M., Omagari K., Kohno S. - Acute hepatitis E of a man who consumed wild boar meat prior to the onset of illness in Nagasaki, Japan. *Hepatology Research*, 2005, **31**, 178-183.
- Meng X.J. - Recent advances in Hepatitis e Virus. *Journal of Viral Hepatitis*, 2010, **17**, 153-161.

- Panda S.K., Thakral D., Rehman S. - Hepatitis E virus. *Reviews in Medical Virology*, 2007, **17**, 151-180.
- Pavio N., Meng X.J., Renou C. - Zoonotic hepatitis E: Animal reservoirs and emerging risks. *Veterinary Research*, 2010, **41**, DOI:10.1051/vetres/2010018.
- Purcell R.H., Emerson S.U. - Hepatitis E: An emerging awareness of an old disease. *Journal of Hepatology*, 2008, **48**, 494-503.
- Rose N., Lunazzi A., Dorenlor V., Merbah T., Eono F., Eloit M., Madec F., Pavio N. - High prevalence of Hepatitis E virus in French domestic pigs. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 2011, **34**, 419-427.
- Satou K., Nishiura H. - Transmission dynamics of Hepatitis E among swine: Potential impact upon human infection. *BMC Veterinary Research*, 2007, **3**, DOI: 10.1186/1746-6148-3-9.
- Seminati C., Mateu E., Peralta B., de Deus N., Martin M. - Distribution of hepatitis E virus infection and its prevalence in pigs on commercial farms in Spain. *The Veterinary Journal*, 2008, **175**, 130-132.
- Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S. - Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *The Lancet*, 2003, **362**, 371-373.
- Wearing HJ, Rohani P, Keeling MJ. - Appropriate Models for the Management of Infectious Diseases. *PLoS Med.*, 2005, **2**, e174.



## Remerciements

Cette étude a été financée par l'ANR dans le cadre du programme Contaminants, Ecosystèmes, Santé 2010 (projet HEVECODYN).