



**HAL**  
open science

# Transmission verticale du virus de la dengue en période périnatale et au cours de l'allaitement : étude observationnelle réalisée au cours de l'épidémie de dengue de 2012-2013 en Nouvelle-Calédonie

Lucille Arragain

## ► To cite this version:

Lucille Arragain. Transmission verticale du virus de la dengue en période périnatale et au cours de l'allaitement : étude observationnelle réalisée au cours de l'épidémie de dengue de 2012-2013 en Nouvelle-Calédonie. Médecine humaine et pathologie. 2015. dumas-01141212

**HAL Id: dumas-01141212**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01141212v1>**

Submitted on 10 Apr 2015

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SICD1 de Grenoble : **thesebum@ujf-grenoble.fr**

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER  
FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE

Année 2015

N°

TRANSMISSION VERTICALE DU VIRUS DE LA DENGUE  
EN PERIODE PERINATALE ET AU COURS DE L'ALLAITEMENT.

Etude observationnelle réalisée au cours de l'épidémie de dengue de 2012-2013  
en Nouvelle-Calédonie.

THESE  
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE  
DIPLOME D'ETAT

Lucille ARRAGAIN  
Née le 04 Juillet 1987 à Aix les Bains

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTE DE MEDECINE DE GRENOBLE  
Le 02 Avril 2015

DEVANT LE JURY COMPOSE DE

Président du jury : M. le Professeur STAHL

Membres

Mme le Professeur HOFFMAN

M. le Professeur DEBILLON

M. le Professeur LABARERE

DIRIGEE PAR

Dr DESCLOUX Elodie

Dr SIGUR Nathalie

*\*La Faculté de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.*

Doyen de la Faculté : **M. le Pr. Jean Paul ROMANET****Année 2014-2015****ENSEIGNANTS A L'UFR DE MEDECINE**

<b>CORPS</b>	<b>NOM-PRENOM</b>	<b>Discipline universitaire</b>
PU-PH	ALBALADEJO Pierre	Anesthésiologie réanimation
PU-PH	APTEL Florent	Ophthalmologie
PU-PH	ARVIEUX-BARTHELEMY Catherine	chirurgie générale
PU-PH	BALOSSO Jacques	Radiothérapie
PU-PH	BARRET Luc	Médecine légale et droit de la santé
PU-PH	BENHAMOU Pierre Yves	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	BERGER François	Biologie cellulaire
PU-PH	BETTEGA Georges	Chirurgie maxillo-faciale, stomatologie
MCU-PH	BIDART-COUTTON Marie	Biologie cellulaire
MCU-PH	BOISSET Sandrine	Agents infectieux
PU-PH	BONAZ Bruno	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie
MCU-PH	BONNETERRE Vincent	Médecine et santé au travail
PU-PH	BOSSON Jean-Luc	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	BOTTARI Serge	Biologie cellulaire
PU-PH	BOUGEROL Thierry	Psychiatrie d'adultes
PU-PH	BOUILLET Laurence	Médecine interne
MCU-PH	BOUZAT Pierre	Réanimation
PU-PH	BRAMBILLA Christian	Pneumologie
PU-PH	BRAMBILLA Elisabeth	Anatomie et cytologie pathologiques
MCU-PH	BRENIER-PINCHART Marie Pierre	Parasitologie et mycologie
PU-PH	BRICAULT Ivan	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	BRICHON Pierre-Yves	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
MCU-PH	BRIOT Raphaël	Thérapeutique, médecine d'urgence
PU-PH	CAHN Jean-Yves	Hématologie
MCU-PH	CALLANAN-WILSON Mary	Hématologie, transfusion
PU-PH	CARPENTIER Françoise	Thérapeutique, médecine d'urgence
PU-PH	CARPENTIER Patrick	Chirurgie vasculaire, médecine vasculaire
PU-PH	CESBRON Jean-Yves	Immunologie
PU-PH	CHABARDES Stephan	Neurochirurgie

PU-PH	<b>CHABRE Olivier</b>	<b>Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques</b>
PU-PH	<b>CHAFFANJON Philippe</b>	<b>Anatomie</b>
PU-PH	<b>CHAVANON Olivier</b>	<b>Chirurgie thoracique et cardio- vasculaire</b>
PU-PH	<b>CHIQUET Christophe</b>	<b>Ophthalmologie</b>
PU-PH	<b>CINQUIN Philippe</b>	<b>Biostatiques, informatique médicale et technologies de communication</b>
PU-PH	<b>COHEN Olivier</b>	<b>Biostatiques, informatique médicale et technologies de communication</b>
PU-PH	<b>COUTURIER Pascal</b>	<b>Gériatrie et biologie du vieillissement</b>
PU-PH	<b>CRACOWSKI Jean-Luc</b>	<b>Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique</b>
PU-PH	<b>DE GAUDEMARIS Régis</b>	<b>Médecine et santé au travail</b>
PU-PH	<b>DEBILLON Thierry</b>	<b>Pédiatrie</b>
MCU-PH	<b>DECAENS Thomas</b>	<b>Gastro-entérologie, Hépatologie</b>
PU-PH	<b>DEMATTEIS Maurice</b>	<b>Addictologie</b>
PU-PH	<b>DEMONGEOT Jacques</b>	<b>Biostatiques, informatique médicale et technologies de communication</b>
MCU-PH	<b>DERANSART Colin</b>	<b>Physiologie</b>
PU-PH	<b>DESCOTES Jean-Luc</b>	<b>Urologie</b>
MCU-PH	<b>DETANTE Olivier</b>	<b>Neurologie</b>
MCU-PH	<b>DIETERICH Klaus</b>	<b>Génétique et procréation</b>
MCU-PH	<b>DOUTRELEAU Stéphane</b>	<b>Physiologie</b>
MCU-PH	<b>DUMESTRE-PERARD Chantal</b>	<b>Immunologie</b>
PU-PH	<b>EPAULARD Olivier</b>	<b>Maladies Infectieuses et Tropicales</b>
PU-PH	<b>ESTEVE François</b>	<b>Biophysique et médecine nucléaire</b>
MCU-PH	<b>EYSSERIC Hélène</b>	<b>Médecine légale et droit de la santé</b>
PU-PH	<b>FAGRET Daniel</b>	<b>Biophysique et médecine nucléaire</b>
PU-PH	<b>FAUCHERON Jean-Luc</b>	<b>chirurgie générale</b>
MCU-PH	<b>FAURE Julien</b>	<b>Biochimie et biologie moléculaire</b>
PU-PH	<b>FERRETTI Gilbert</b>	<b>Radiologie et imagerie médicale</b>
PU-PH	<b>FEUERSTEIN Claude</b>	<b>Physiologie</b>
PU-PH	<b>FONTAINE Éric</b>	<b>Nutrition</b>
PU-PH	<b>FRANCOIS Patrice</b>	<b>Epidémiologie, économie de la santé et prévention</b>
PU-PH	<b>GARBAN Frédéric</b>	<b>Hématologie, transfusion</b>
PU-PH	<b>GAUDIN Philippe</b>	<b>Rhumatologie</b>
PU-PH	<b>GAVAZZI Gaétan</b>	<b>Gériatrie et biologie du vieillissement</b>
PU-PH	<b>GAY Emmanuel</b>	<b>Neurochirurgie</b>
MCU-PH	<b>GILLOIS Pierre</b>	<b>Biostatiques, informatique médicale et technologies de communication</b>
PU-PH	<b>GODFRAIND Catherine</b>	<b>Anatomie et cytologie pathologiques (type clinique)</b>
MCU-PH	<b>GRAND Sylvie</b>	<b>Radiologie et imagerie médicale</b>
PU-PH	<b>GRIFFET Jacques</b>	<b>Chirurgie infantile</b>
MCU-PH	<b>GUZUN Rita</b>	<b>Endocrinologie, diabétologie, nutrition, éducation thérapeutique</b>
PU-PH	<b>HALIMI Serge</b>	<b>Nutrition</b>
PU-PH	<b>HENNEBICQ Sylviane</b>	<b>Génétique et procréation</b>

Mise à jour le 14 novembre 2014

PU-PH	<b>HOFFMANN Pascale</b>	<b>Gynécologie obstétrique</b>
PU-PH	<b>HOMMEL Marc</b>	<b>Neurologie</b>
PU-PH	<b>JOUK Pierre-Simon</b>	<b>Génétique</b>
PU-PH	<b>JUVIN Robert</b>	<b>Rhumatologie</b>
PU-PH	<b>KAHANE Philippe</b>	<b>Physiologie</b>
PU-PH	<b>KRACK Paul</b>	<b>Neurologie</b>
PU-PH	<b>KRAINIK Alexandre</b>	<b>Radiologie et imagerie médicale</b>
PU-PH	<b>LABARERE José</b>	<b>Epidémiologie ; Eco. de la Santé</b>
PU-PH	<b>LANTUEJOL Sylvie</b>	<b>Anatomie et cytologie pathologiques</b>
MCU-PH	<b>LAPORTE François</b>	<b>Biochimie et biologie moléculaire</b>
MCU-PH	<b>LARDY Bernard</b>	<b>Biochimie et biologie moléculaire</b>
MCU-PH	<b>LARRAT Sylvie</b>	<b>Bactériologie, virologie</b>
MCU-PH	<b>LAUNOIS-ROLLINAT Sandrine</b>	<b>Physiologie</b>
PU-PH	<b>LECCIA Marie-Thérèse</b>	<b>Dermato-vénéréologie</b>
PU-PH	<b>LEROUX Dominique</b>	<b>Génétique</b>
PU-PH	<b>LEROY Vincent</b>	<b>Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie</b>
PU-PH	<b>LETOUBLON Christian</b>	<b>chirurgie générale</b>
PU-PH	<b>LEVY Patrick</b>	<b>Physiologie</b>
MCU-PH	<b>LONG Jean-Alexandre</b>	<b>Urologie</b>
PU-PH	<b>MACHECOURT Jacques</b>	<b>Cardiologie</b>
PU-PH	<b>MAGNE Jean-Luc</b>	<b>Chirurgie vasculaire</b>
MCU-PH	<b>MAIGNAN Maxime</b>	<b>Thérapeutique, médecine d'urgence</b>
PU-PH	<b>MAITRE Anne</b>	<b>Médecine et santé au travail</b>
MCU-PH	<b>MALLARET Marie-Reine</b>	<b>Epidémiologie, économie de la santé et prévention</b>
MCU-PH	<b>MARLU Raphaël</b>	<b>Hématologie, transfusion</b>
MCU-PH	<b>MAUBON Danièle</b>	<b>Parasitologie et mycologie</b>
PU-PH	<b>MAURIN Max</b>	<b>Bactériologie - virologie</b>
MCU-PH	<b>MCLEER Anne</b>	<b>Cytologie et histologie</b>
PU-PH	<b>MERLOZ Philippe</b>	<b>Chirurgie orthopédique et traumatologie</b>
PU-PH	<b>MORAND Patrice</b>	<b>Bactériologie - virologie</b>
PU-PH	<b>MOREAU-GAUDRY Alexandre</b>	<b>Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication</b>
PU-PH	<b>MORO Elena</b>	<b>Neurologie</b>
PU-PH	<b>MORO-SIBILOT Denis</b>	<b>Pneumologie</b>
MCU-PH	<b>MOUCHET Patrick</b>	<b>Physiologie</b>
PU-PH	<b>MOUSSEAU Mireille</b>	<b>Cancérologie</b>
PU-PH	<b>MOUTET François</b>	<b>Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique, brûlogie</b>
MCU-PH	<b>PACLET Marie-Hélène</b>	<b>Biochimie et biologie moléculaire</b>
PU-PH	<b>PALOMBI Olivier</b>	<b>Anatomie</b>
PU-PH	<b>PARK Sophie</b>	<b>Hémato - transfusion</b>
PU-PH	<b>PASSAGGIA Jean-Guy</b>	<b>Anatomie</b>
PU-PH	<b>PAYEN DE LA GARANDERIE Jean-François</b>	<b>Anesthésiologie réanimation</b>
MCU-PH	<b>PAYSANT François</b>	<b>Médecine légale et droit de la santé</b>

Mise à jour le 14 novembre 2014

MCU-PH	<b>PELLETIER Laurent</b>	<b>Biologie cellulaire</b>
PU-PH	<b>PELLOUX Hervé</b>	<b>Parasitologie et mycologie</b>
PU-PH	<b>PEPIN Jean-Louis</b>	<b>Physiologie</b>
PU-PH	<b>PERENNOU Dominique</b>	<b>Médecine physique et de réadaptation</b>
PU-PH	<b>PERNOD Gilles</b>	<b>Médecine vasculaire</b>
PU-PH	<b>PIOLAT Christian</b>	<b>Chirurgie infantile</b>
PU-PH	<b>PISON Christophe</b>	<b>Pneumologie</b>
PU-PH	<b>PLANTAZ Dominique</b>	<b>Pédiatrie</b>
PU-PH	<b>POLACK Benoît</b>	<b>Hématologie</b>
PU-PH	<b>POLOSAN Mircea</b>	<b>Psychiatrie d'adultes</b>
PU-PH	<b>PONS Jean-Claude</b>	<b>Gynécologie obstétrique</b>
PU-PH	<b>RAMBEAUD Jacques</b>	<b>Urologie</b>
MCU-PH	<b>RAY Pierre</b>	<b>Génétique</b>
PU-PH	<b>REYT Émile</b>	<b>Oto-rhino-laryngologie</b>
MCU-PH	<b>RIALLE Vincent</b>	<b>Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication</b>
PU-PH	<b>RIGHINI Christian</b>	<b>Oto-rhino-laryngologie</b>
PU-PH	<b>ROMANET J. Paul</b>	<b>Ophthalmologie</b>
MCU-PH	<b>ROUSTIT Matthieu</b>	<b>Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique, addictologie</b>
MCU-PH	<b>ROUX-BUISSON Nathalie</b>	<b>Biochimie, toxicologie et pharmacologie</b>
PU-PH	<b>SARAGAGLIA Dominique</b>	<b>Chirurgie orthopédique et traumatologie</b>
MCU-PH	<b>SATRE Véronique</b>	<b>Génétique</b>
PU-PH	<b>SAUDOU Frédéric</b>	<b>Biologie Cellulaire</b>
PU-PH	<b>SCHMERBER Sébastien</b>	<b>Oto-rhino-laryngologie</b>
PU-PH	<b>SCHWEBEL-CANALI Carole</b>	<b>Réanimation médicale</b>
PU-PH	<b>SCOLAN Virginie</b>	<b>Médecine légale et droit de la santé</b>
MCU-PH	<b>SEIGNEURIN Arnaud</b>	<b>Epidémiologie, économie de la santé et prévention</b>
PU-PH	<b>STAHL Jean-Paul</b>	<b>Maladies infectieuses, maladies tropicales</b>
PU-PH	<b>STANKE Françoise</b>	<b>Pharmacologie fondamentale</b>
MCU-PH	<b>STASIA Marie-José</b>	<b>Biochimie et biologie moléculaire</b>
PU-PH	<b>TAMISIER Renaud</b>	<b>Physiologie</b>
PU-PH	<b>TONETTI Jérôme</b>	<b>Chirurgie orthopédique et traumatologie</b>
PU-PH	<b>TOUSSAINT Bertrand</b>	<b>Biochimie et biologie moléculaire</b>
PU-PH	<b>VANZETTO Gérald</b>	<b>Cardiologie</b>
PU-PH	<b>VUILLEZ Jean-Philippe</b>	<b>Biophysique et médecine nucléaire</b>
PU-PH	<b>WEIL Georges</b>	<b>Epidémiologie, économie de la santé et prévention</b>
PU-PH	<b>ZAOUI Philippe</b>	<b>Néphrologie</b>
PU-PH	<b>ZARSKI Jean-Pierre</b>	<b>Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie</b>

# Remerciements

## **Au président du jury,**

Monsieur le Professeur Jean-Paul STAHL

Je vous remercie pour l'honneur que vous me faites de présider cette thèse. Veuillez recevoir le témoignage de ma sincère et respectueuse reconnaissance.

## **Aux membres du jury,**

Madame le Professeur Pascale HOFFMANN, Monsieur le Professeur José LABARERE, Monsieur le Professeur Thierry DEBILLON

Je suis honorée de vous compter parmi les membres de mon jury. Veuillez recevoir l'expression de mes vifs remerciements pour avoir accepté de juger ce travail.

## **A mes directrices de thèse,**

Madame le Dr Elodie DESCLOUX

Je te remercie d'avoir accepté de diriger ce travail, de m'avoir guidée tout au long de sa réalisation, et pour tes encouragements et la confiance dont tu m'as témoigné.

Madame le Dr Nathalie SIGUR,

Je te remercie de m'avoir fait participer à l'étude DENNAT, et de m'avoir guidée dans ce projet.



A mon papa, pour ton soutien permanent, et ta confiance. Merci pour tout ça et tellement plus.

A ma maman, qui veille sur moi.

A mes sista Dou et Marinou, mes modèles. Tellement fière de vous.

A Bénédicte, pour tes chaleureuses attentions, ta bienveillance, ton peps. A mes autres bro et sist' : Margaux et Thomas, je suis heureuse que la famille se soit agrandie avec vous.

A ma Grand Ma d'amour, longtemps ma deuxième maman. Que j'aime ta philosophie de vie heureuse, tes anecdotes de parcours, ta lucidité, ta modernité. J'espère prendre de l'âge avec autant d'élégance que toi !

A Mamie et Papi, dont j'admire les parcours de vie. Mamie partie vivre l'aventure si jeune, et Papi dont les choix sont guidés par la passion. Merci pour tous ces merveilleux voyages, de m'avoir ouverte sur le monde.

Merci au reste de ma famille, mes oncles et tantes Vivi, Fafette, Christian, pour votre affection ; Manou pour cette vie intrépide et inspirante ! Philippe, pour la gentillesse avec laquelle vous m'avez accueillie dans la famille.

A tous ceux qui m'ont accompagnée pendant toutes ces années de labeur :

A mes amis de fac. Hannah, inconditionnellement là. Juju parce que t'es un peu folle et ça fait du bien ! Anaïs, tellement forte, j'admire. Mumu, quel chemin, quelle passion, chapeau bas. Lise, qui nous fait croire que c'est simple d'être brillante. Marie P., droit au but, j'aime ta détermination. Sophie, pour ton regard critique sur le monde. Mélanie, qui s'est éclo à l'internat. Audrey, brillante sous colleuse. Je n'oublie pas Brune, pétillante, qui a préféré partir plus tôt. Je vous dois à toutes ces bons moments, brunchs post garde, sushis post conf, WE et vacances à vélo, en van, à pied, en bus, en ski, en France, en Syrie, en Nouvelle Zélande, et bientôt d'autres aventures qui se profilent. A mes amis de P1, un peu perdus de vue, mais qui ont contribué à ma réussite : Lucie aux cheveux bleus, ma carrée bonne étoile ; Bizou pour tes moyens mnémotechniques que tu me dévoilais en pause ; Ben pour les rappels de dernière minute qui sont tombés au concours.

A tous mes amis d'internat, notamment mes anciens coloc tarés, Guigui montagnard et Roro l'oiseau.

A mes amis de Calédonie !

A mes amis de Grenoble, Alex et Amélie, petite Marie mais costade, Pierre Larry les pieds sur terre la tête vers la lune. A Got, ma boussole et ma bouffée d'air frais pendant si longtemps.

A mes amis de Savoie. Mélanie, Lauriane et Muriel pour nos retrouvailles aussi peu régulières soient elles. Alexandre Roger, Guillemette Marie Joelle. Momo, récemment retrouvé. A Armande, pour nos délire comme plus jamais je n'en ai eu, et qui avant de partir me boostait et me confortait dans mes choix.

A mes colocs Seb, Mathieu, Camille, Gab et Walter, pour m'avoir aidée malgré eux à avancer après ce difficile retour de Calédonie.

A ceux qui ont contribué à ce travail :

Dr Myrielle DUPONT-ROUZEYROL, pour ta relecture attentive, et Dr Ann Claire GOURINAT.

L'institut Pasteur de Nouvelle Calédonie (le personnel du laboratoire d'immuno-sérobiologie moléculaire pour les analyses biologiques, le personnel de l'unité de recherche et d'expertise dengue et arboviroses pour les analyses complémentaires), la DASS-NC, la PMI, le personnel du CHT de Nouméa, pour ce travail d'équipe.

Mme Marie José CONSTANS, documentaliste au CHT Gaston Bourret.

Thomas, pour ton avis sur les statistiques.

Seb, Gab, Cindy, Marinou, qui ont bien voulu se pencher sur les soucis techniques informatiques quand ça me semblait encore du charabia écrit en chinois.

Guigui(Ilaume) et petite Marie pour le recadrage au début de rédaction.

Les tuto Excel, Word, que de gens d'incroyable bonne volonté sur le net !

# Table des matières

Liste des abréviations .....	11
Résumé .....	12
Abstract .....	13
1. Introduction .....	14
2. Matériel et Méthode .....	17
2.1. Population étudiée .....	17
2.2. Modalité d'identification des participants .....	17
2.3. Ethique et Information des personnes concernées .....	18
2.4. Diagnostic biologique .....	18
2.5. Traitement des données .....	18
3. Résultats .....	19
3.1. Etude périnatale .....	19
3.1.1. Caractéristiques de la population étudiée .....	19
3.1.2. Présentation clinique .....	19
3.1.2.1. Les femmes .....	19
3.1.2.2. Les nouveaux nés .....	21
3.1.3. Présentation biologique .....	23
3.1.3.1. Thrombopénie .....	23
3.1.3.2. Prélèvements séquentiels des différents liquides biologiques : .....	24
3.1.4. Evaluation du risque de transmission materno foetale du virus de la dengue ..	27
3.2. Etude allaitement .....	31
3.2.1. Caractéristique de la population étudiée .....	31
3.2.2. Présentation clinique : .....	32
4. Discussion .....	33
4.1. Rappel des principaux résultats – comparaison avec la littérature .....	33
4.2. Hypothèses de transmission .....	35
4.2.1. Voie hématogène et transplacentaire .....	35
4.2.2. Voie transmuqueuse et digestive .....	35
4.3. Recommandations proposées pour limiter le risque de transmission verticale du virus de la dengue .....	37

4.3.1.	Avant l'accouchement.....	37
4.3.2.	Pendant l'accouchement.....	37
4.3.3.	Après l'accouchement.....	37
4.3.4.	Pendant l'allaitement.....	38
4.4.	Limites de l'étude.....	39
4.5.	Perspectives.....	39
5.	Conclusion.....	41
6.	Références.....	43
7.	Bibliographie.....	44
8.	Annexes.....	47
	Annexe 1 : Etat des lieux de l'implantation d'Aedes albopictus en France métropolitaine en 2013.....	47
	Annexe 2 : Classification clinique des cas de dengue.....	47
	Annexe 3 – a : Récapitulatif des cases reports de transmission materno fœtale en période périnatale – caractéristiques maternelles.....	48
	Annexe 3 - b : Récapitulatif des cases reports des cas de transmission materno fœtale en période périnatale – caractéristiques des nouveaux nés.....	48
	Annexe 4 : Article du cas index, motivant la réalisation de l'étude DENNAT.....	51
	Annexe 5 : Accord du CPP.....	54
	Annexe 6 : Protocole de prélèvement.....	56
	Annexe 7 : Symptomatologie et cinétique des charges virales dans les différents liquides biologique pour chaque couple mère – enfant de l'étude périnatale.....	59
	Annexe 8 : Recommandations pour la prise en charge du bébé à risque de dengue. Fiche adressée aux pédiatres de maternité.....	63

# Liste des abréviations

CIVD : Coagulation intra vasculaire disséminée  
CHT : Centre Hospitalier Territorial  
CPP : Comité de Protection des Personnes  
DASS-NC : Direction des Affaires Sanitaires et Sociales de Nouvelle-Calédonie  
DENV-I / II / III / IV : Virus de la dengue sérotype I / II / III / IV  
ELISA : Enzyme-linked immunosorbent assay  
IF : Immunofluorescence  
Ig : Immunoglobulines  
IHA : Epreuve d'inhibition de l'hémagglutination  
IPNC : Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie  
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique  
J : Jour  
JNI : Journées Nationales d'Infectiologie.  
NC : Nouvelle-Calédonie  
OMS : Organisation Mondiale de la Santé  
PFU/mL : Plaque forming unit / mL  
PMI : Protection Maternelle et Infantile  
RT- PCR : Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction.  
SA : Semaines d'aménorrhées.

# Résumé

## Objectifs

La dengue est l'arbovirose humaine la plus fréquente. Le risque de transmission non vectorielle du virus de la mère à l'enfant est mal connu. L'objectif de l'étude était d'étudier le risque de transmission verticale du virus de la dengue en période périnatale et au cours de l'allaitement.

## Méthode

Une étude prospective descriptive a été menée pendant la plus grande épidémie de dengue survenue en Nouvelle-Calédonie (région Pacifique Sud) en 2012-2013. Le virus a été recherché et quantifié par RT-PCR chez des femmes enceintes ou allaitantes (sang, placenta, lait), et leurs nourrissons (sang de cordon, liquide gastrique, sang périphérique). Le taux de transmission maternofoetale a été calculé et l'évolution clinico-biologique des femmes enceintes et/ou allaitantes infectées et de leurs nouveau-nés a été étudiée.

## Résultats

Sur 10 813 cas de dengue survenus en Nouvelle Calédonie en 2012-2013, 10 femmes enceintes étaient virémiques à l'accouchement. Un accouchement prématuré et trois complications obstétricales hémorragiques sont survenus, conduisant au décès dans un cas. Neuf des 10 nouveau-nés (90%) ont été contaminés. Tous symptomatiques, à partir de leur naissance et parfois 7 jours après, ils ont présenté désaturation (4 cas), geignements (3 cas), difficultés alimentaires (3 cas), hypotonie (2 cas), éruption (1 cas), marbrures (1 cas), thrombopénie profonde non hémorragique (1 cas), et encéphalopathie anoxo ischémique (1 cas). Le lait de 6 de ces mamans et de 6 mamans allaitantes a été prélevé, le virus a été détecté dans 9/12 prélèvements (75%).

## Conclusion

Le risque de transmission verticale du virus de la dengue lorsque la mère est virémique à l'accouchement est très élevé (90%) avec un risque important de complications obstétricales et néonatales. Les voies de transmission virale sont difficiles à élucider mais un risque de transmission par le lait maternel ne peut être écarté. Une surveillance prolongée des nouveaux nés semble justifiée. Des études complémentaires sont nécessaires pour élaborer des recommandations préventives pour limiter le risque de transmission du virus de la dengue de la mère à l'enfant.

## Mots Clés

Dengue, transmission verticale, transmission materno foetale, transmission périnatale, lait maternel.

# Abstract

## **Objectives**

Dengue is the most frequent human arbovirus. Viral transmission risk from mother to child is not yet well known. This study aimed to investigate vertical transmission of dengue virus during perinatal period and breastfeeding.

## **Method**

A prospective and descriptive study was carried out during the most important dengue epidemic in New Caledonia, in 2012-2013. Dengue virus was investigated and quantified by RT-PCR in pregnant or breastfeeding women (blood, milk), and their infants (blood, gastric liquid, cord blood, placenta). Clinical and biological evolution of these infected women and their new born was analysed.

## **Results**

Among 10 813 dengue cases registered in New Caledonia during the 2012-2013 epidemic, 10 women had positive dengue viremia during delivery. One premature birth, 3 haemorrhagic complications, and 1 maternal death were reported. Nine of the ten new born (90%) were contaminated. All were symptomatic, such as désaturation (4 cases), moaning (3 cases), feeding difficulties (3 cases), hypotonia (2 cases), skin eruption (1 case), blotches (1 case), one severe thrombopenia but not haemorrhagic, and one encephalopathy.

Breastmilk samples were collected from twelve mothers : 6 foregoing mothers, and 6 other breastfeeding mothers. Dengue virus was detected in 9/12 milk samples (75%).

## **Conclusion**

Vertical transmission of dengue risk is very high during delivery (90%), with major risk of obstetrical and neonatal severe consequences. Modes of vertical viral transmission are still difficult to understand precisely, but the risk of viral transmission through breastfeeding milk seems possible and cannot be ruled out. Newborn babies should be kept under longer surveillance to prevent dengue complications. Complementary studies are necessary to elaborate preventives recommendations.

## **Keywords**

Dengue virus, vertical transmission, mother to child transmission, perinatal transmission, breast milk.

# 1. Introduction

La dengue est l'arbovirose humaine la plus répandue dans le monde. Son incidence mondiale a été multipliée par 30 en 50 ans. L'OMS [1] estime que plus de 2,5 milliards de personnes, soit plus de 40% de la population mondiale, sont désormais exposées au risque. On recense chaque année 50 millions de cas, dont 500 000 cas sévères conduisant à 25 000 décès. Prédominante dans les zones tropicales et subtropicales du monde, la dengue touche désormais l'Europe où les premiers cas autochtones ont été recensés en France en 2010. La menace d'une épidémie en métropole se précise du fait de l'implantation récente d'*Aedes albopictus* dans 17 départements. Le risque d'une circulation autochtone de la dengue est donc réel si un voyageur malade virémique arrive en France métropolitaine (Annexe 1).



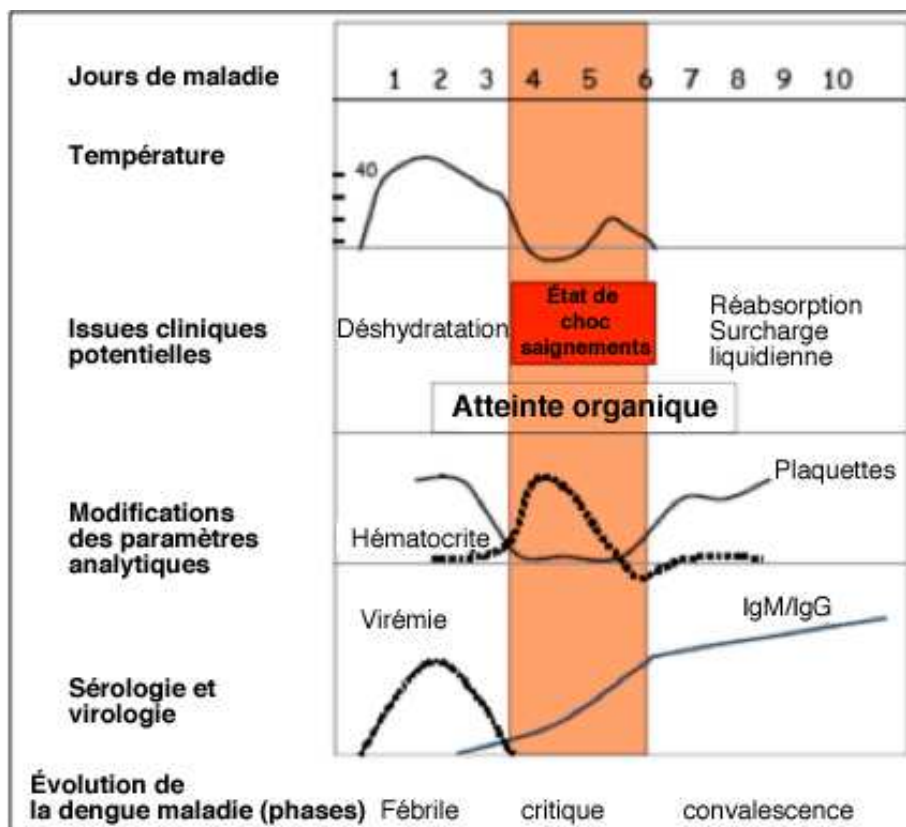
## Référence 1 : Pays exposés au risque de dengue en 2012, OMS.

Les lignes rouges correspondent aux isothermes 10°C en janvier (nord) et juillet (sud), entre lesquelles l'*Aedes aegypti*, vecteur principal, survit toute l'année.

Il existe quatre sérotypes de ce flavivirus (virus enveloppé à ARN simple brin, famille des *Flaviviridae*): DENV-1, DENV-2, DENV-3 et DENV-4. L'homme en est le principal réservoir naturel. Les sujets infectés par le virus de la dengue peuvent transmettre l'infection pendant 4 à 12 jours après l'apparition des premiers symptômes, par l'intermédiaire de la piqûre du moustique femelle du genre *Aedes*. Le vecteur principal est *Aedes aegypti*, largement répandu dans les régions tropicales et subtropicales du monde entier. *Aedes albopictus*, est un vecteur plus adapté aux climats tempérés qui a largement diffusé en Asie, en Amérique du Nord et plus récemment en Europe.

La symptomatologie est variable, allant d'une séroconversion asymptomatique, à une forme fébrile brutale pseudo grippale avec céphalées et arthromyalgies, s'accompagnant d'une thrombopénie. La forme sévère est redoutée associant une fuite plasmatique, un syndrome hémorragique, et une atteinte multi organe, pouvant être fatale (Annexe 2).





**Référence 2 : Tableau récapitulatif de l'évolution de la dengue maladie.**

IgM = taux d'immunoglobulines M ; IgG = taux d'immunoglobulines G ;

Température indiquée en degrés Celsius (°C)

Pendant les 5 premiers jours des symptômes, le diagnostic peut être direct par détection du génome viral (RT-PCR), recherche de l'antigène NS1, ou isolement viral. Au-delà, le diagnostic de l'infection est indirect par recherche des anticorps anti-dengue IgM et IgG. Mais une réactivité croisée des tests ELISA avec d'autres flavivirus rend la sérologie peu spécifique, avec un taux non négligeable de faux positifs.

L'immunité est acquise à vie, elle est spécifique du sérotype. Il existe une immunité croisée entre les différents sérotypes mais elle est brève.

Le traitement est avant tout symptomatique. Il n'existe pas de traitement curatif antiviral. C'est pourquoi les mesures de prophylaxie individuelles et collectives sont primordiales. Un vaccin quadrivalent recombinant vivant atténué est à l'étude. Actuellement en phase III, il semble relativement efficace et bien toléré [2].

De rares cas de transmission non vectorielle de la dengue ont été décrits. Sur le mode horizontal, le risque a été rapporté par voie transmuqueuse [3], transcutanée [4-7], ou lors de transfusion et greffes [8]. Sur le mode vertical, quelques cas de transmission de dengue de la mère à l'enfant ont été rapportés dans la littérature, mais les mécanismes restent mal connus.

Pendant la grossesse, le risque de fausse couche, de mort fœtale in utero, de menace d'accouchement prématuré, et de prématurité est augmenté [9-11].

En période périnatale, des taux de transmission materno-fœtale de 10,5% et 15% ont été rapportés par deux études de Guyane française [10-11]. Des cas isolés de transmission materno-fœtale périnatal ont été également rapportés dans le monde [10-21], résumés en Annexe 3-a et 3-b. Cependant le diagnostic biologique était majoritairement sérologique, permettant un diagnostic rétrospectif, et posant le problème de faux positifs par réaction croisée avec d'autres flavivirus.

En Nouvelle-Calédonie, en 2012, pour la première fois le risque de transmission du virus de la dengue de la mère à l'enfant via le lait maternel a été décrit par Barthel et al. [22] (Annexe 4). La chronologie de l'histoire et la présence du virus de la dengue dans le lait maternel ont fait suspecter fortement une transmission par ce biais.

La dengue est un problème majeur de santé publique en Nouvelle Calédonie, et dans le monde. Pourtant le risque de contamination des nourrissons par voie verticale n'a jamais été précisément évalué. Il n'existe pas non plus de recommandation concernant l'allaitement en cas de dengue chez les mères virémiques.

Mon travail de thèse s'inscrit dans l'étude DENNAT réalisée en collaboration avec les services de gynécologie-obstétrique, médecine interne-maladies infectieuses et pédiatrie du CHT de Nouvelle-Calédonie, la DASS-NC, la PMI, et l'IPNC. Il s'agit d'une étude observationnelle de cohorte prospective.

L'objectif principal de ma thèse était de présenter les données épidémiologiques et cliniques des mères virémiques au cours de l'accouchement et de l'allaitement, de leurs nouveau-nés, et d'évaluer le risque de transmission verticale.

L'objectif secondaire était d'étudier les voies de transmission possibles du virus de la dengue de la mère à l'enfant grâce à une meilleure compréhension de la cinétique virale dans différents prélèvements biologiques (sang mère/nouveau né, sang de cordon, placenta, liquide gastrique, placenta, lait maternel) et de proposer des recommandations pour tenter de diminuer le risque de transmission verticale.

## 2. Matériel et Méthode

Cette étude descriptive de cohorte prospective sur un an se distingue en deux parties : une étude périnatale, une étude allaitement.

### 2.1. Population étudiée

Cette étude, réalisée pendant l'épidémie de dengue survenue en Nouvelle Calédonie en 2012-2013, s'est intéressée à toutes les femmes enceintes virémiques au moment de l'accouchement ou pendant l'allaitement ainsi que leurs nouveaux nés.

Dans l'étude périnatale, toute mère fébrile dans la semaine précédant, au moment, ou dans les 48 heures suivant l'accouchement, dont la RT-PCR pour le virus de la dengue était positive, a été incluse ; de même que tout nouveau-né de mère infectée par le virus de la dengue (diagnostic par RT-PCR sur sang total) dans la semaine précédent, au moment et dans les 48 heures suivant sa naissance.

Dans l'étude allaitement, toute femme présentant une dengue confirmée par une RT-PCR et allaitant un nourrisson a été incluse ; de même que tout enfant allaité dont la mère présentait une dengue confirmée par une RT-PCR sur sérum.

### 2.2. Modalité d'identification des participants

La population de l'étude périnatale a été identifiée à partir des patientes accouchant, ou transférées en post partum, au CHT de Nouvelle-Calédonie ; de même que les nouveau-nés admis en suite de couche, néonatalogie, pédiatrie au CHT de Nouméa. La maternité du CHT de Nouméa est le plus grand centre d'accouchement de Nouvelle-Calédonie, où 53% des accouchements recensés en Nouvelle Calédonie en 2013 ont eu lieu [23]. Le réseau périnatal a diffusé le protocole d'identification des parturientes virémiques à tous les lieux d'accouchement.

Les femmes allaitantes virémiques ont été identifiées grâce au système de surveillance de la DASS-NC, en collaboration avec l'IPNC, la PMI et le CHT.

Un agent de la DASS-NC a téléphoné à toutes les femmes âgées de 15 à 45 ans, ayant eu un diagnostic de dengue confirmé par l'IPNC pour savoir si elles allaitaient. La PMI a veillé à nous adresser toute femme allaitante et ayant un diagnostic de dengue prouvé par RT-PCR consultant au centre. Le service de pédiatrie nous a notifié tout nourrisson hospitalisé pour une dengue confirmée par RT-PCR et allaité.

La détection des cas de dengue repose sur un système de surveillance fiable puisque la dengue est une maladie à déclaration obligatoire faisant l'objet d'une surveillance rapprochée par la DASS-NC, l'IPNC et le CHT de Nouvelle Calédonie.

### **2.3. Ethique et Information des personnes concernées**

Le protocole d'étude a été validé par le Comité de Protection des Personnes Sud Ouest et Outre Mer (Annexe 5).

Chaque femme a été informée oralement par un médecin investigateur de l'objectif et des modalités de l'étude, du traitement informatisé des données la concernant et concernant leur enfant, de ses droits d'accès, d'opposition et de rectification à ces données, de la conservation à des fins scientifiques de ses prélèvements à l'issue de la recherche. Les participantes ont signé une fiche de consentement de participation à l'étude, ou à défaut, elles ont donné oralement leur accord consigné par écrit dans leur dossier médical.

### **2.4. Diagnostic biologique**

Des prélèvements séquentiels de sang veineux de la mère et de l'enfant, de sang de cordon ombilical, de placenta, de liquide gastrique et de lait maternel ont été recueillis pour réaliser des RT-PCR en temps-réel dengue qualitatives et quantitatives dans le but d'une analyse chronologique et comparative (protocole de prélèvements en Annexe 6).

Les prélèvements ont été conservés à 4°C. Les acides nucléiques ont été purifiés sur l'automate MagNA Pure LC2.0 grâce au Total Nucleic Acid Isolation Kit (Roche Diagnostics, Auckland, New Zealand). Le virus de la dengue a été détecté en utilisant une RT-PCR en temps réel duplex DENV- GAPDH humain, sur un LightCycler 480 II (Roche Diagnostics, Auckland, New Zealand), incluant un contrôle positif et négatif pour chaque série. Cette RT-PCR en temps-réel est dérivée de la technique publiée par Warrilow et al. [24]. Les charges virales ont été déduites de la gamme standard réalisée à partir d'un surnageant de culture de DENV-1 dont le titre est connu.

Le sérotypage a été réalisé grâce à une RT-PCR en temps-réel multiplex, selon la description faite par Johnson et al. [25].

Les prélèvements de sérums et de lait maternel ont été inoculés sur lignée cellulaire C6/36 d'*Aedes albopictus* par trois passages successifs. Les surnageants récoltés ont été analysés par RT-PCR en temps-réel. Le tapis cellulaire a été fixé et la présence de foyers viraux révélées par immunofluorescence indirecte.

La détection sur les sérums par ELISA des anticorps IgG et IgM anti-DENV (Panbio Diagnostics, Alere, Australia) a été réalisée sur un appareil Elispeed Duo (BioAdvance, Bussy Saint Martin, France). La détection des IgA (Assure Rapid test, MP Diagnostics, Singapore) a été réalisée sur le lait maternel.

### **2.5. Traitement des données**

Les données ont été saisies et analysées avec le logiciel Excel.

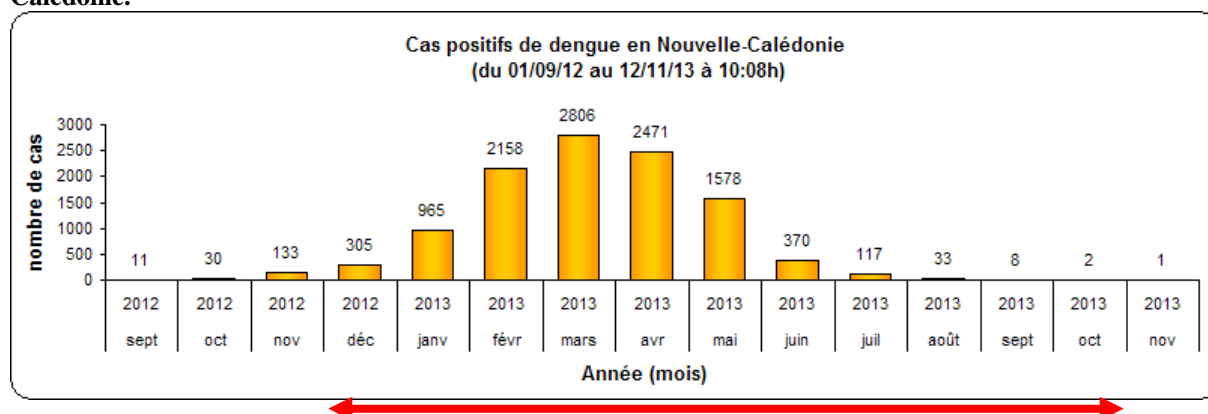
Tout au long de l'exposé, J0 correspond au jour de l'accouchement, sauf information alternative.

Les résultats des analyses biologiques ont été corrigés et validés une seconde fois par l'IPNC.

## 3. Résultats

L'étude a pris place pendant l'épidémie de 2012-2013 de dengue de type 1 qui fut la plus importante jamais enregistrée en Nouvelle Calédonie (11 001 cas déclarés, 5 décès).

**Référence 3 : Répartition des cas de dengue de type 1 selon les mois, épidémie 2012-2013 en Nouvelle Calédonie.**



La période d'étude s'est étendue du 1er décembre 2012 au 31 octobre 2013, correspondant à 10 813 cas, dont 4 décès.

Dix femmes virémiques au moment de l'accouchement au CHT de Nouméa et 35 femmes allaitantes virémiques ont été incluses. Aucune n'a refusé de participer à l'étude.

### 3.1. Etude périnatale

#### 3.1.1. Caractéristiques de la population étudiée

Pendant notre période d'étude, 2024 accouchements ont eu lieu à l'hôpital de Magenta, la maternité la plus importante de Nouvelle Calédonie, assurant environ 50% des accouchements du territoire.

10 femmes étaient virémiques entre J-7 et J+2 de l'accouchement, c'est à dire 0,924 ‰ des calédoniens ayant la dengue, et un pourcentage estimé de 2,5 ‰ des parturientes calédoniennes.

9 femmes (90%), avaient une dengue primaire.

Les patientes ont accouché entre 36+3 et 40+3 SA, à une moyenne de 38+6 SA.

Nous n'avons rapporté qu'un accouchement prématuré (10%), contre 9% habituellement [23].

#### 3.1.2. Présentation clinique

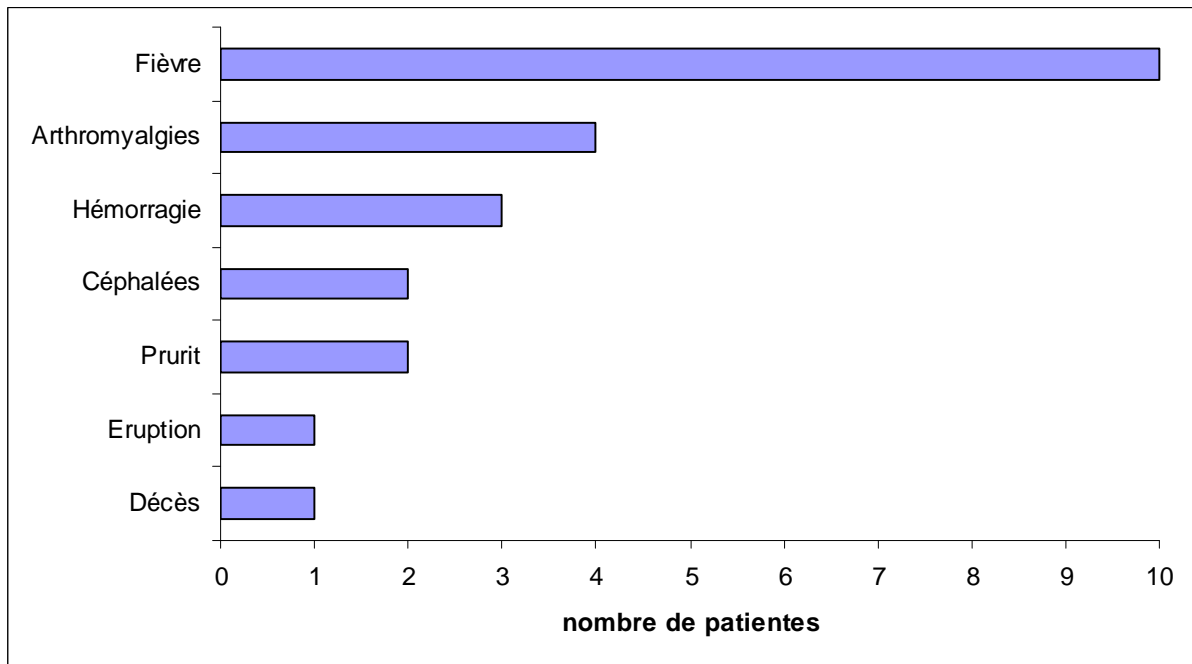
##### 3.1.2.1. Les femmes

#### Manifestations cliniques de la dengue :

Début en moyenne à J-1 pré partum (J-4 à J+2).

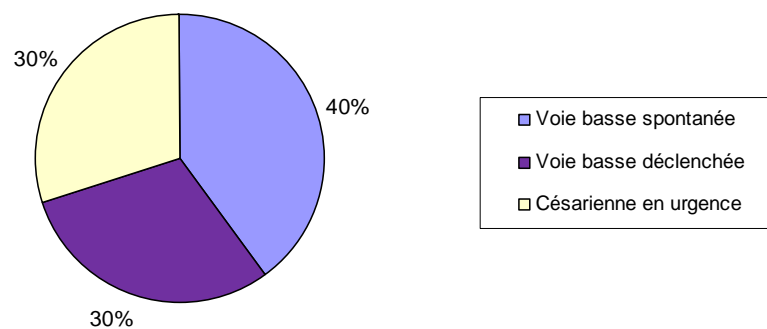
Fin en moyenne à J+2,2 post partum (J-2 à J+6).

Durée en moyenne de 3,2j (de 1 à 7 j).



**Figure 1 : Manifestation cliniques maternelles.**

Mode d'accouchement :



**Figure 2 : Répartition des modes d'accouchement.**

4 Voies basses spontanées (40%).

3 Voies basses déclenchées (30%)

2 extractions Instrumentales (20%) contre 10% habituellement [23], pour travail long, anomalie du rythme cardiaque fœtal, et rupture de la poche des eaux supérieure à 12h.

3 Césariennes en urgence (30%) pour anomalie du rythme cardiaque fœtal, et un siège, contre 19,6% habituellement.

Complications per et post partum :

Trois complications hémorragiques ont été rapportées (30%) contre 2,5% habituellement, dont une a mené au décès (10%) contre 8,4 pour 100 000 naissances vivantes habituellement.

Une a présenté un hématome rétro placentaire dans un contexte d'hypertension artérielle gravidique depuis 15 jours. Elle a accouché par césarienne en urgence en pleine phase thrombopénique à  $44.10^3/mm^3$ . Elle a présenté une hémorragie de la délivrance qui n'a répondu ni au traitement médical, ni à l'hystérectomie d'hémostase. Elle a reçu de multiples transfusions de culots globulaires, culots plaquettaires, plasma frais congelés. Transférée en réanimation, elle a présenté une CIVD, puis d'une défaillance multiviscérale menant à son décès.

Une a présenté des métrorragies 5h avant l'accouchement alors qu'elle était thrombopénique à  $105.10^3/mm^3$ . Son accouchement par voie basse spontané s'est compliqué d'une hémorragie de la délivrance nécessitant une hystérectomie d'hémostase. La thrombopénie a atteint son nadir 12h après l'accouchement à  $45.10^3/mm^3$ , en même temps qu'une déglobulisation importante, motivant une transfusion. Un hémopéritoine post chirurgical a nécessité une reprise chirurgicale le lendemain. Au total elle a reçu 7 culots globulaires et 7 plasma frais congelés étalés sur deux jours.

Une a présenté une hémorragie péritonéale à J6 post césarienne, au moment du nadir de sa thrombopénie à  $119.10^3/mm^3$ . Elle a bénéficié d'une reprise chirurgicale, et de transfusions de 4 culots globulaires et 4 plasma frais congelés.

#### Allaitement :

Sur les 10 mamans, 7 ont allaité au moins une fois leur nouveau né pendant les symptômes de dengue.

L'issue de l'allaitement a été variable : 1 poursuivi et mixte ; 3 suspendus, puis repris à la fin des symptômes ; 2 suspendus, puis arrêtés définitivement ; 1 suspendu dont l'issue est inconnue.

#### 3.1.2.2. Les nouveaux nés

Neuf nouveau-nés, dont 8 positifs en dengue, présentaient des signes de souffrance fœtale aigüe pendant le travail ou à l'accouchement : 7 Anomalies du rythme cardiaque fœtal (70%), 2 liquides amniotiques méconiaux (donnée manquante dans un cas), 4 Apgar  $\leq 7$  à 1 minute de vie (40%), 2 réanimations à la naissance nécessitant une ventilation invasive (20%).

Deux nouveau-nés ont présenté une détresse respiratoire à la naissance nécessitant une aide ventilatoire (20%).

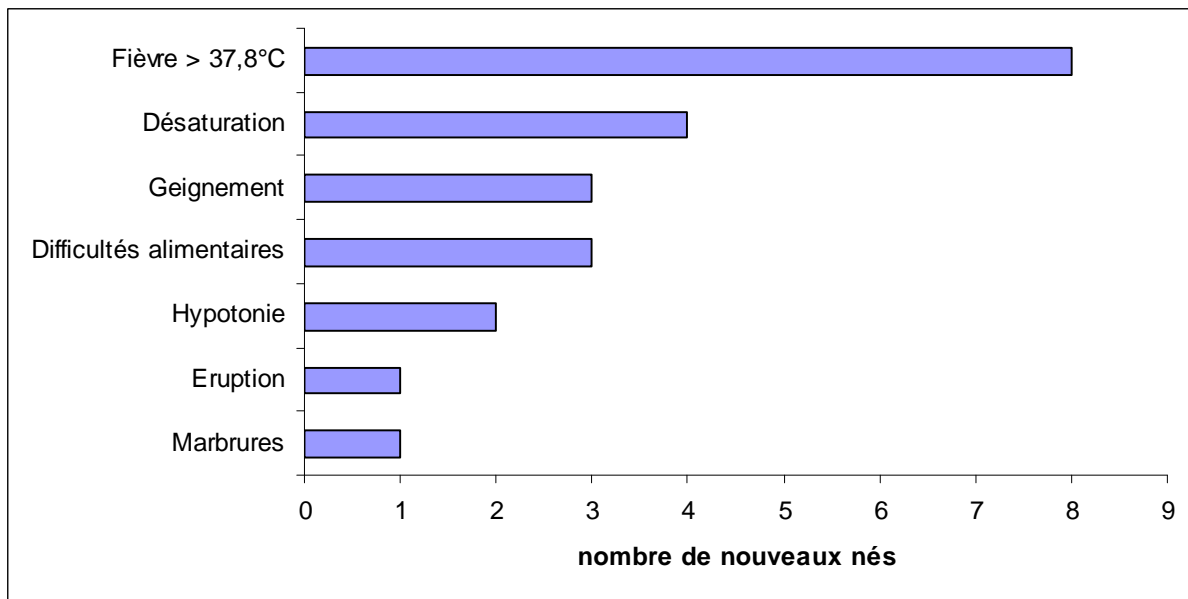
Neuf nouveaux nés ont présenté une dengue (90%). Ils ont tous ont été symptomatiques à des degrés variables.

Début en moyenne à 4j de vie (J0 à J7), diagnostiqué par RT-PCR sur sérum ou sang de cordon en moyenne à 3j de vie (J0 à J7).

Fin en moyenne à 6,8j de vie (J1 à J10).

Durée en moyenne de 2,8j (0 à 10j).

Délais entre les premiers symptômes maternels et les premiers symptômes du nourrisson : 4,66j en moyenne (0 à 8j).



**Figure 3 : Manifestation cliniques néonatales.**

#### Hospitalisation en néonatalogie :

8/9 nouveau-nés contaminés ont été hospitalisés en néonatalogie. L'enfant indemne de dengue a été hospitalisé aussi pour dysrégulation thermique. Les enfants infectés par la dengue et hospitalisés l'ont été pour 3 d'entre eux à la naissance, et 5 dans un second temps.

2 enfants ont reçu une antibiothérapie pour suspicion d'infection maternofoetale, arrêté dès le diagnostic de dengue. Un troisième enfant a également reçu une antibiothérapie, indiquée devant une inhalation de liquide méconial, portage d'*acinetobacter baumannii* bronchique, et *S.haemolyticus* sur hémocultures.

1 enfant a été ventilé à 5h de vie transitoirement de façon non invasive.

1 des deux enfants ventilé de façon invasive à la naissance, l'a été pendant 5 jours.

2 enfants ont nécessité une alimentation par gavage transitoirement à l'apogée des symptômes.

#### Transfusion de plaquettes :

1/9 nouveau-nés contaminés (11%), a bénéficié d'une transfusion de plaquettes à visée préventive devant une thrombopénie à 22 G/L, puis 20 G/L malgré la transfusion, nécessitant une deuxième transfusion de plaquettes.

#### Complications :

Il n'a pas été noté de complication hémorragique néonatale.

Un nouveau né a présenté des complications liées à l'accouchement. La maman présentait une hypertension artérielle gravidique, qui s'est compliquée d'un hématome rétroplacentaire avec signes de souffrance fœtale aigüe. A la naissance, il a présenté une détresse respiratoire aigüe (inhalation de liquide méconial, et hyperpression pulmonaire persistante du nouveau né) ayant nécessité une ventilation invasive pendant 5 jours, et un tableau d'encéphalopathie anoxo-ischémique. L'IRM a confirmé dans les suites des lésions ischémiques fronto temporales droites. L'enfant présentait un développement psychomoteur normal sans séquelles à 12 mois.



### 3.1.3. Présentation biologique

#### 3.1.3.1. Thrombopénie

8/10 femmes ont eu une thrombopénie (80%).

7/9 nouveau-nés ont eu une thrombopénie (77%), six de leurs mamans étaient elle-même thrombopéniques.

Les deux nouveaux nés ayant montré des complications (thrombopénie profonde transfusé préventivement, et encéphalopathie anoxo ischémique à la naissance) sont nés de mères thrombopéniques ayant elles même présenté des complications hémorragiques.

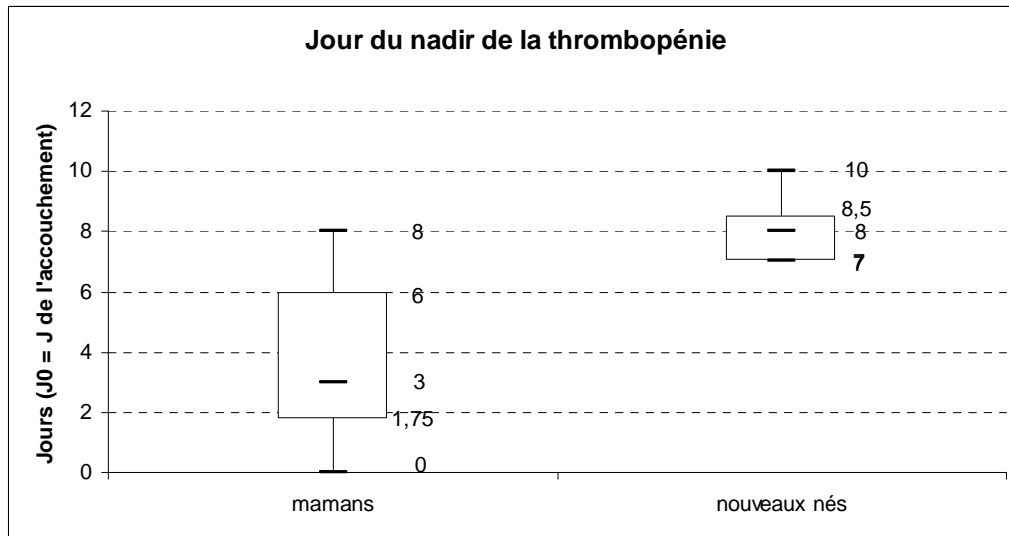


Figure 4 – a : Comparaison des thrombopénies maternelle et fœtale, selon le jour du nadir.

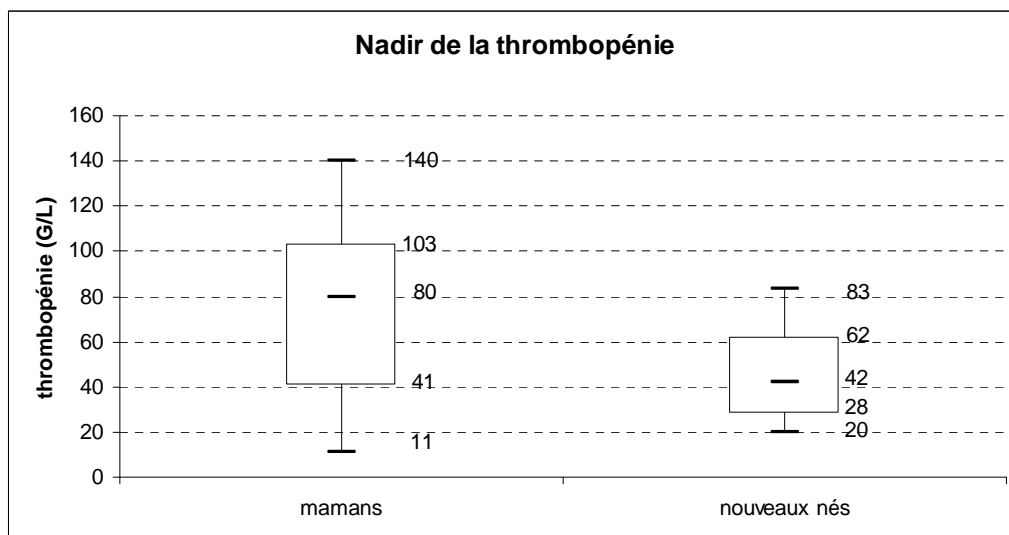


Figure 4 – b : Comparaison des thrombopénies maternelles et fœtales, selon la valeur absolue du nadir.

Les nouveau-nés semblent avoir une thrombopénie plus profonde que leurs mamans, pourtant les complications hémorragiques sont observées chez les mamans, du fait du risque majeur en post partum.

### 3.1.3.2. Prélèvements séquentiels des différents liquides biologiques :

Sur les 10 nouveaux nés, 9 ont eu une RT-PCR positive pour la dengue dans le sang périphérique dans les premiers jours de vie. Nous rapportons donc un taux de transmission materno fœtale du virus de la dengue en période périnatale de 90%.

Nous avons étudié les charges virales dans le sérum de 10 femmes enceintes en période périnatale, dans le lait maternel pour 6 patientes, et le sérum des 10 nouveau-nés. Bien qu'il ne soit pas possible de présenter l'évolution naturelle complète de la cinétique virale dans le sang et le lait maternel, les résultats suivants sont très novateurs.

#### Dans le sang maternel :

La virémie maximum des mamans était autour de  $10^5$  à  $10^8$  PFU/mL. Elle était à son apogée au moment du diagnostic biologique de dengue, la virémie précédant la survenue des premiers symptômes, ce qui est conforme aux données de la littérature.

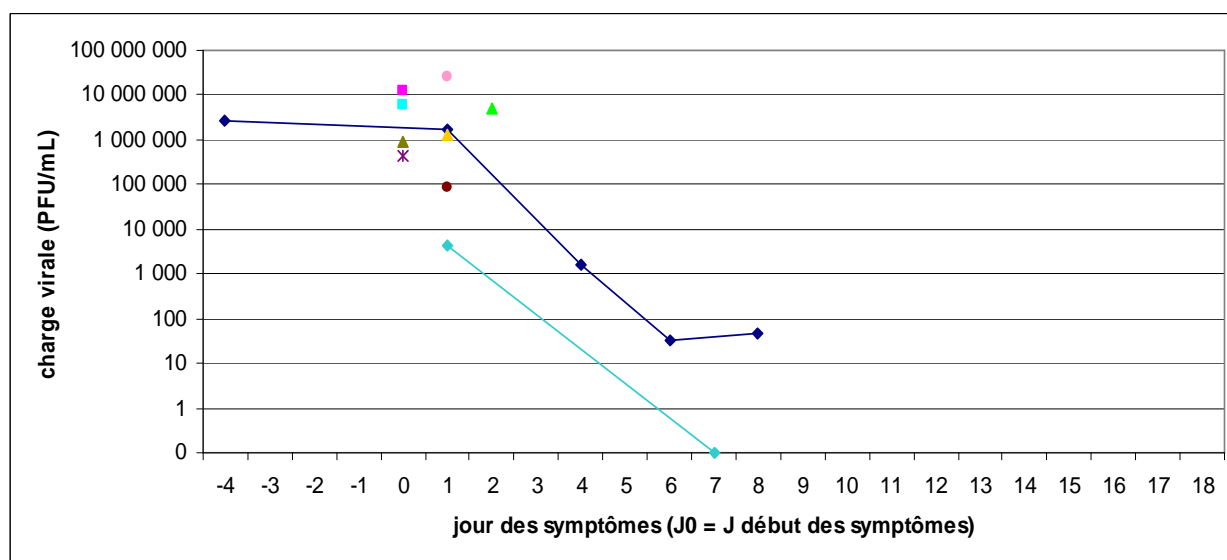


Figure 5 : charge virale du virus de la dengue dans le sérum maternel, selon le jour des symptômes.

#### Dans le lait maternel :

Les charges virales dans le lait semblent présenter une phase en plateau, contrairement à la virémie. A leur apogée, elles étaient en majorité inférieures à celles dans le sang, entre 10 et  $10^4$  PFU/mL. Leur décroissance semble plus prolongée que dans le sang maternel (positif une fois jusqu'à 14 jours après le début des symptômes).

Le lait de 12 mamans a été prélevé : six mamans issues de l'étude périnatale, et six mamans issues de l'étude allaitement. Le lait de 9 mamans est revenu positif, soit 75% : cinq de l'étude périnatale, et quatre de l'étude allaitement. Les laits négatifs ont été prélevés tardivement : celui du couple 4 de l'étude périnatale, dont le nouveau né était indemne de dengue, n'a été prélevé qu'une fois 8 jours après le début des symptômes de dengue maternelle ; deux prélèvements de l'étude allaitement ont été prélevés 9 et 21 jours après le début des symptômes de dengue maternelle.

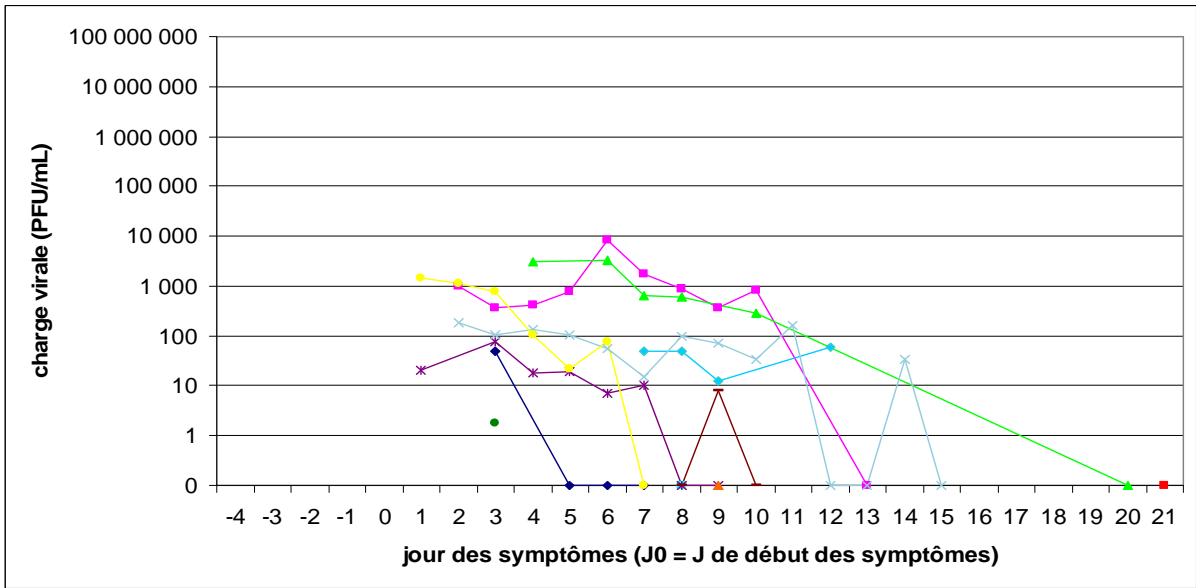


Figure 6 : Charge virale du virus de la dengue dans le lait maternel, selon le jour des symptômes.

Le graphique en boîte à moustache ci-dessous compare les charges virales dans le sérum et le lait maternel pendant les quatre premiers jours des symptômes. Nous n’avons eu ces données que pour les couples 1, 2, 5 et 8. La charge virale dans le lait était souvent plus faible que dans le sérum.

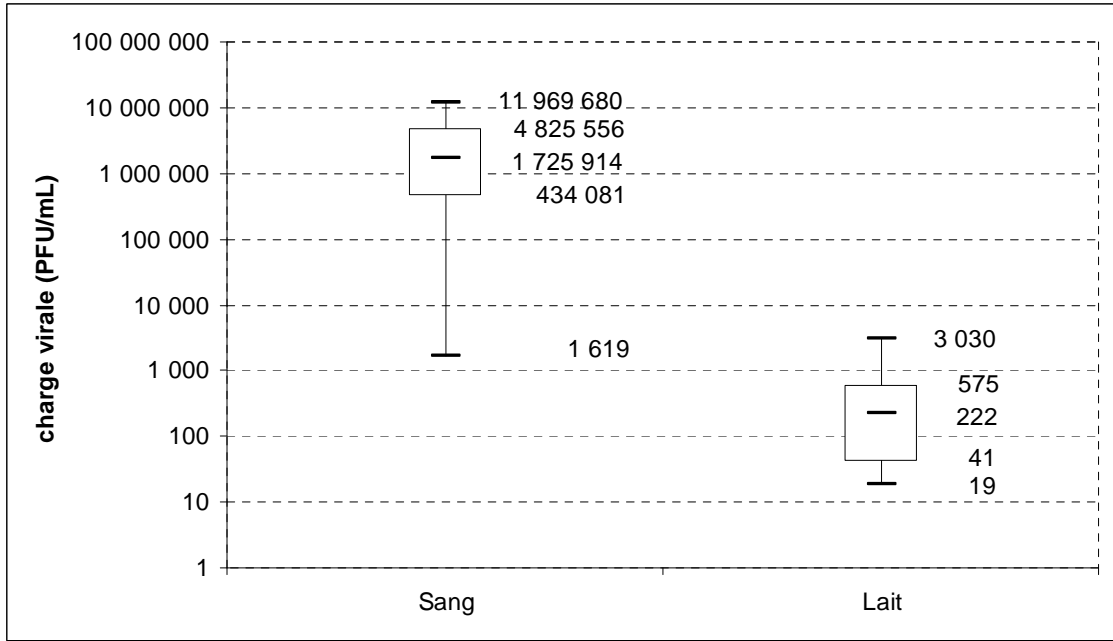


Figure 7 : Comparaison des charges virales dans le sérum et le lait maternel de J0 à J4 des symptômes.

L’échelle ci-dessous indique le rapport entre la charge virale maximale dans le sérum maternel et la charge virale maximale dans le lait maternel. Nous n’avons eu ces données que pour les six couples dont nous avons eu du lait (couples 1, 2, 4, 5, 8, 9). Le ratio variait de 100 à 100 000 000, en faveur d’une différence importante.

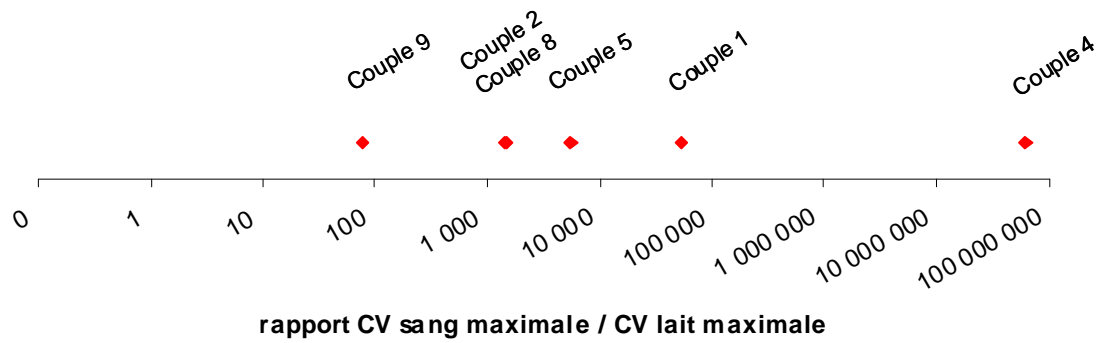


Figure 8 : Ratio comparatif des charges virales maximales dans le sérum et le lait maternel par couple.

Dans le sérum des nouveaux nés :

Les virémies des nouveau-nés étaient quantitativement similaires aux taux maternels, allant pour les maximums de  $10^5$  à  $10^8$  PFU/mL. La virémie augmentait avant les premiers symptômes sauf pour le nouveau né du couple 5, symptomatique à la naissance, dont la virémie était encore négative à J1 (Annexes 7) mais qui s'est positivée à j3. Elle semblait également plus prolongée que chez leurs mamans, parfois supérieure à 10 jours. Seul un nouveau né n'a jamais positivé sa RT-PCR avec un prélèvement au sang de cordon négatif, de même qu'à j2, j3 et j5 de vie.

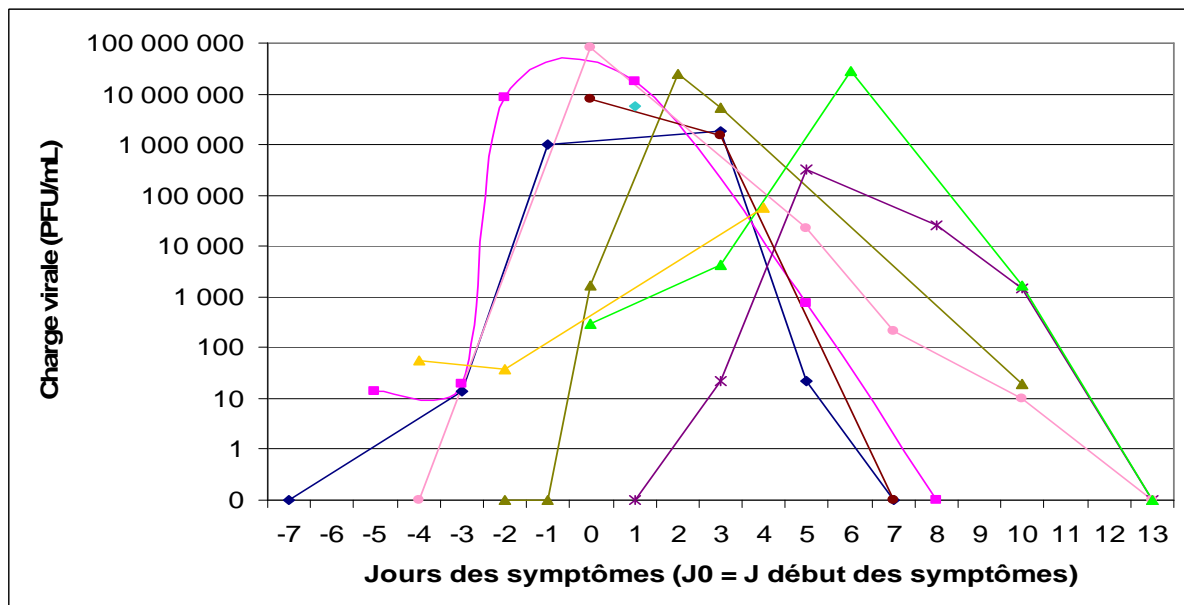


Figure 9 : Charge virale du virus de la dengue dans le sérum des nouveaux nés, en incluant le sang de cordon, selon le jour du début de leurs symptômes.

Analyses complémentaires réalisées sur les prélèvements de sérum et de lait maternel :

Suite aux travaux de Barthel et al. [22] (Annexe 4), les sérums des mamans et des nouveau-nés ainsi que de lait maternel ont été inoculés sur cellules C636 afin de mettre en évidence la présence de virus infectant dans les différents prélèvements. Sur l'ensemble des sérums des mamans et des enfants analysés rétrospectivement, seuls les prélèvements du couple 8 étaient

positifs en RT-PCR et en IF. Aucun prélèvement de lait n'a été positif aussi bien en RT-PCR qu'en IF. En comparaison aux précédents travaux nous n'avons pas pu détecter de virus infectant dans le lait maternel. Ce résultat peut s'expliquer par les charges virales faibles détectées dans le lait maternel mais surtout par une très mauvaise conservation des prélèvements (conservation prolongée à 4°C des sérums et lait) due à la surcharge de travail qu'a subi l'IPNC pendant l'épidémie.

La recherche d'anticorps anti-dengue de type IgA a été menée sur le lait de 11/12 mamans prélevées. 9 laits ont présenté des IgA. 4/9 ne présentaient pas d'IgA sur leur premier prélèvement analysé mais se sont positivés par la suite. Cette recherche d'anticorps a été menée afin d'investiguer un effet protecteur des anticorps de la mère vers son nouveau-né.

#### 3.1.4. Evaluation du risque de transmission materno fœtale du virus de la dengue

Devant 90% de transmission materno fœtale du virus de la dengue à l'accouchement, peut-on mettre en évidence des facteurs favorisant cette transmission?

**Tableau 1 : Tableau récapitulatif des observations clinico-biologiques de l'étude périnatale**

	Mères					Nouveau-nés									
	Age	Début des symptômes	Durée des symptômes	Mode d'accouchement	Complications	Thrombopénie*	Statut sérologique Dengue	Terme (SA)	SFA pendant le travail ou accouchement	Mensurations	Allaitement au moins une fois	Début des symptômes**	Durée des symptômes	Complications	Thrombopénie*
Couple 1	25	J2	4	VBS	sp	J6 à 9 (98.10 <sup>3</sup> )	Primaire	39+2	sp	EU	oui	J7 (5)	1		sp
Couple 2	20	J0	4	VBD + I	sp	J1 à 8 (28.10 <sup>3</sup> )	Primaire	37+4	ARCF	HY	oui	J5 (5)	2		J6 à 13 (25.10 <sup>3</sup> )
Couple 3	19	J0	1	VBS	sp	J0 à 4 (86.10 <sup>3</sup> )	Secondaire	39+5	ARCF	EU	0	J4 (4)	4		J7 à 12 (31.10 <sup>3</sup> )
Couple 4	34	J-4	2	VBS	sp	sp	Primaire	39	liquide méconial	EU	oui	sp	sp		sp
Couple 5	24	J0	1	VBD + I	sp	J2 (140.10 <sup>3</sup> )	Primaire	37+5	ARCF, liquide méconial, Apgar < 7 à 1 min, réa à la naissance	EU	oui	J0 (0)	1		sp
Couple 6	26	J0	7	CU	Accouchement prématuré, Hémorragie intra péritonéale J7 post césarienne, reprise chirurgicale, transfusion CG	J4 à 8 (119.10 <sup>3</sup> )	Primaire	36+3	ARCF, désaturation - aide ventilatoire à la naissance	EU	oui	J4 (4)	3		J7 à 10 (51.10 <sup>3</sup> )
Couple 7	36	J-3	4	VBS	métrorragies, puis hémorragie de la délivrance, deglobulisation, transfusion CG, hystérectomie d'hémostase	J-3 à 2 (45.10 <sup>3</sup> )	Primaire	39+4	ARCF	EU	0	J5 (8)	2	thrombopénie profonde nécessitant transfusion de CP préventive.	J5 à 15 (20.10 <sup>3</sup> )
Couple 8	29	J-3	2	CU	sp	J4 à 6 (74.10 <sup>3</sup> )	Primaire	40+3	ARCF, Apgar < 7 à 1 min, désaturation - aide ventilatoire à la naissance	MA	oui	J0 (3)	10		J8 à 10 (83.10 <sup>3</sup> )
Couple 9	31	J0	3	VBD	sp	sp	Primaire	39+6	Apgar 7 à 1 min	EU	oui	J6 (6)	1		J9 à 12 (73.10 <sup>3</sup> )
Couple 10	26	J-2	4	CU	HRP (contexte d'HTA gravidique), Hémorragie de la délivrance, échec de l'hystérectomie d'hémostase, choc hypovolémique, transfusions CG CP PFC, défaillance multiviscérale, CIVD. DECES	J-1 à 12 (11.10 <sup>3</sup> )	Primaire	39	ARCF, inhalation de liquide méconial, Apgar < 7 à 1 min, réa à la naissance	EU	0	J4 (6)	4	encéphalopathie anoxo ischémique à la naissance	J6 à 12 (42.10 <sup>3</sup> )

J0 : Jour de l'accouchement

VBS : Voie basse spontanée, VBD : Voie basse déclenchée, I : instrumentale, CU : Césarienne en urgence

SFA : Souffrance fœtale aigue, ARCF: Anomalie du rythme cardiaque fœtal

HRP : Hématome rétro placentaire, CG : culots globulaires, CP : Culots plaquettaires, PFC : Plasma frais congelé

SA : Semaines d'aménorrhées

EU : eutrophe, HY : hypotrophe, MA : macrosome

sp : sans particularité

\* Nombre entre parenthèses : nadir de la thrombopénie/mm<sup>3</sup>

\*\* Nombre entre parenthèses : nombre de jours entre les débuts de symptômes maternel et du nouveau né.

**Tableau 2 : Tableau récapitulatif des résultats de RT-PCR dans les différents liquides biologiques prélevés.**

	Sang maternel	Sang du nouveau né	Lait maternel	placenta	Sang cordon	Liquide gastrique
1	+	+	+	NA	0	NA
2	+	+	+	NA	+	+
3*	+	+	NA	+	inhPCR	+
4	+	0	0	NA	NA	0
5	+	+	+	+	NA	0
6	+	+	NA	NA	NA	NA
7*	+	+	NA	+	NA	+
8	+	+	+	NA	+	+
9	+	+	+	NA	NA	NA
10*	+	+	NA	NA	+	0

\* allaitement artificiel

+ : RT-PCR dengue positive.

0 : RT-PCR dengue négative

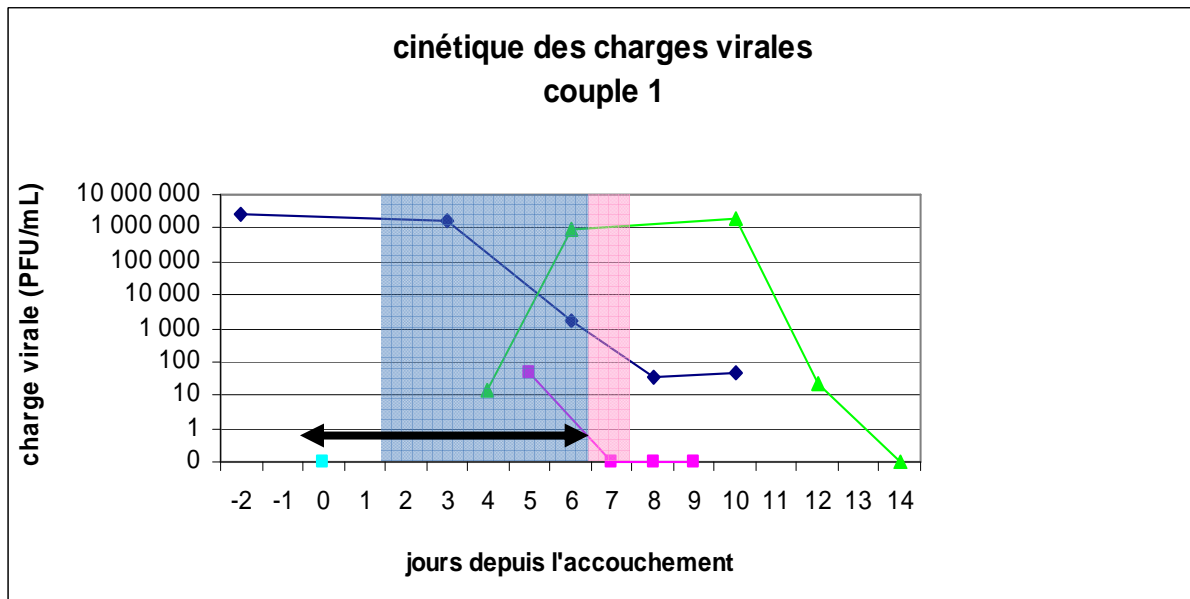
NA : Non fait.

Inh PCR : présence d'un inhibiteur de PCR ne permettant pas de conclure.

Couleur jaune de la colonne de gauche : allaitement maternel au moins une fois.

#### Description du scénario suspect de transmission par le lait :

Sur ces tableaux notons que pour l'enfant du couple 1 le résultat du sang de cordon était négatif pour la dengue, mais il a présenté une dengue. Sa maman était virémique pendant l'accouchement, mais non encore symptomatique. Il est né par voie basse à terme, sans signe d'asphyxie périnatale. Il a reçu du lait maternel pendant ses 6 premiers jours de vie, a présenté ses premiers et seuls symptômes au 7<sup>ème</sup> jour de vie (un épisode d'apnée avec cyanose péri buccale). Sa virémie a augmenté avant les premiers symptômes jusqu'à J6, a marqué une phase en plateau pendant 4 jours de J6 à J10, puis a entamé une décroissance de 4 jours de J10 à J14 jusqu'à négativation. La chronologie de ce cas pourrait faire suspecter une transmission du virus par le lait maternel.



**Figure 10 : Symptomatologie et cinétique des charges virales des prélèvements des différents liquides biologiques du couple mère – enfant 1.**

Le détail des cinétiques virales des autres couples est consultable en annexe.

Description du nouveau-né indemne de dengue :

Le nouveau né indemne de dengue (couple 4) est né d'une maman ayant une dengue primaire, dont les premiers symptômes sont survenus plus de 48h avant l'accouchement (94h exactement), par voie basse de façon spontanée, à terme, sans rupture prolongée de la poche des eaux (2h). La maman n'était pas thrombopénique au moment de l'accouchement et n'a pas présenté d'hémorragie de la délivrance. Il a été allaité une seule fois en salle de naissance. Il ne présentait pas d'anomalie de son rythme cardiaque fœtal, le liquide amniotique était cependant méconial à la naissance. Il est né sans complication, eutrope, mais a été hospitalisé trois jours en néonatalogie devant des troubles de régulation thermique.

Description des trois nouveau-nés infectés par la dengue non allaités :

Couple 3 : Le placenta et le liquide gastrique étaient positifs, tandis que le sérum néonatal était encore négatif à j2 de vie. Ce n'est qu'à j3 qu'il se positive, la veille des premiers symptômes. La mère présentait une dengue secondaire, et était fébrile et thrombopénique à l'accouchement.



Couple 7 : Le placenta et le liquide gastrique étaient positifs, tandis que le sérum néonatal était encore négatif à j1 de vie. Il est positif à j5 de vie, jour des premiers symptômes. La mère était symptomatique, et thrombopénique à l'accouchement, et a présentait des complications hémorragiques en per et post partum immédiat.

Couple 10 : Le sang de cordon était positif, tandis que le sang périphérique néonatal et le liquide gastrique étaient négatifs à la naissance. Le sérum néonatal s'est positivé à j2 de vie, 2 jours avant ses premiers symptômes de dengue. La mère présentait une dengue sévère hémorragique et thrombopénique à l'accouchement.

Description des cinq nouveau-nés infectés par la dengue allaités dont le manque d'exhaustivité des prélèvements ne permet pas de juger du mode de transmission :

Couple 2 : L'enfant étant symptomatique à j3 de vie, le sang de cordon et le liquide gastrique étaient pourtant déjà positifs à la naissance. Le lait maternel et le sérum néonatal prélevés à j2 pour la première fois étaient positifs. La maman était symptomatique mais non thrombopénique à l'accouchement. Elle a allaité dès la naissance.

Couple 5 : L'enfant étant déjà symptomatique à la naissance, le placenta était positif, mais le liquide gastrique négatif. Pourtant le sérum néonatal à j1 de vie était négatif, et ne s'est positivé qu'à j3. La maman était symptomatique mais non thrombopénique à l'accouchement. Il a été allaité dès la naissance, les prélèvements de lait sont positifs.

Couple 8 : L'enfant étant déjà symptomatique à la naissance, le liquide gastrique et le sang de cordon étaient positifs. Pourtant le sérum néonatal à la naissance était négatif, et ne s'est positivé qu'à j3. La mère n'était plus symptomatique à l'accouchement, et pas encore thrombopénique. Il a été allaité dès la naissance par du lait testé positif.

Couple 6 : Nouveau-né prématuré d'une maman fébrile mais non thrombopénique, allaité dès la naissance. Il n'a pas été fait de prélèvement plus exhaustif ni plus récent qu'un sérum néonatal positif à j5 de vie, jours de ses premiers symptômes.

Couple 9 : Nouveau-né d'une mère symptomatique mais non thrombopénique, allaité dès la naissance, les premiers prélèvements de lait à j7 sont positifs. Il n'a pas été fait de prélèvement plus exhaustif ni plus récent qu'un sérum néonatal positif à j7 de vie, le lendemain de ses premiers symptômes.

## **3.2. Etude allaitement**

### **3.2.1. Caractéristique de la population étudiée**

35 femmes allaitantes ont été incluses en post partum, dont sept mamans appartenant à l'étude périnatale décrite ci dessus. Ainsi 3,23 % personnes ayant la dengue étaient des femmes allaitantes. Elles allaitaient 35 nourrissons. Sur ces 35 femmes allaitantes, 12 laits ont été prélevés (6 de l'étude périnatale et 6 de l'étude allaitement).

Sept mamans avaient une dengue primaire, 1 avait une dengue secondaire, 27 avaient un statut sérologique inconnu.

Au moment des premiers symptômes maternels, les nourrissons avaient un âge médian de 1 mois et 26 jours.

### Devenir de l'allaitement :

Au moment des symptômes de dengue, 9 mamans ont suspendu l'allaitement dès les premiers symptômes, 24 ont allaité au moins une fois pendant les symptômes, soit 68,5%. Nous ne connaissons pas l'issue des deux dernières.

Les raisons de suspension ou de diminution de l'allaitement étaient la fatigue, la peur (« que le lait tourne », « que ce soit contre indiqué avec les traitements », « que ce soit mauvais pour le bébé »), les conseils du médecin traitant ou du gynécologue obstétricien, les crevasses.

A l'issue des symptômes de dengue, 13 mamans n'avaient pas totalement arrêté et ont poursuivi l'allaitement au rythme antérieur à la dengue ; 7 mamans ont repris l'allaitement ; 10 ont arrêté de façon définitive. Nous ne connaissons pas l'issue pour les cinq dernières.

### 3.2.2. Présentation clinique

Sept nourrissons (soit 20%) ont eu un diagnostic de dengue par RT-PCR. Un huitième nourrisson a également présenté une dengue mais avant sa maman. Nous n'avons pas d'information sur les autres nourrissons.

#### Détail des 7 nourrissons ayant présenté une dengue après leur maman :

Six nourrissons étaient allaités au moment des symptômes maternels, il s'agit de 6 nourrissons déjà décrits dans l'étude périnatale.

La maman du 7<sup>ème</sup> nourrisson avait arrêté l'allaitement dès ses premiers symptômes. Il avait 9j au moment des symptômes maternels. Il présentait des boutons de moustique au moment de son diagnostic de dengue, à l'âge de 13j.

#### Détail du huitième nourrisson, ayant eu la dengue avant sa maman :

Cet enfant, aux antécédents de cardiopathie, était âgé de 8 mois et 17 jours au moment de ses premiers symptômes. 3 jours plus tard, la maman présente à son tour ses premiers symptômes, sans cesser de l'allaiter. Il a présenté une dengue sans complication.

## 4. Discussion

### 4.1. Rappel des principaux résultats – comparaison avec la littérature

L'étude témoigne d'un taux très élevé (90%) de transmission materno fœtale du virus de la dengue en période périnatale. Ce résultat était inattendu car les principales études qui se sont intéressées à ce sujet ont rapportés des taux bien moindres, de 10,5% selon l'étude de Carles [10], et de 15% selon l'étude de Basurko [11], toutes deux réalisées en Guyane française. Cette différence s'explique par le fait qu'il s'agit de la première étude centrée sur la période du péripartum et sur la recherche systématique du virus de la dengue par RT-PCR chez les nouveaux nés de mères virémiques à l'accouchement. En effet, Basurko et Carles ont majoritairement utilisé une sérologie IgM pour les nouveaux nés.

Une transmission verticale à l'accouchement a également été rapportée pour d'autres arboviroses, mais le risque semble moindre que pour le virus de la dengue, bien qu'encore peu étudié.

Pour le Chikungunya, Gérardin [26] décrit un taux de transmission materno fœtal de 48,7%, lors de l'épidémie de La Réunion de 2005-2006.

Pour la Fièvre jaune, un cas de transmission materno fœtale à la naissance, diagnostiqué par RT-PCR, a été décrit par Bentlin et al. au Brésil en 2009, menant au décès du nouveau né [27].

Pour le virus Zika, Besnard [28] rapporte deux cas de transmission materno fœtale en période périnatale, diagnostiqués par RT-PCR, lors de l'épidémie de Polynésie française de 2013-2014.

L'analyse des dix couples mère-enfants dans l'étude périnatale a permis de mieux préciser les circonstances et le moment de survenue des complications, en particulier hémorragiques qui sont plus fréquentes au moment de l'accouchement et pendant la première semaine du post-partum. La description clinicobiologique approfondie et l'analyse de la cinétique virale dans le sang des nouveau-nés sont tout à fait nouvelles, soulignant le caractère plus prolongé de la virémie chez les nouveaux nés comparativement aux adultes, pouvant s'expliquer par une immaturité relative de leur système immunitaire.

La diversité des scénarios ne permet pas d'identifier formellement des facteurs de risque mais permet d'émettre des hypothèses. Les résultats suggèrent que le risque de transmission verticale du virus de la dengue n'est pas influencé par le statut sérologique maternel, ni le mode d'accouchement. Les six mamans fébriles pendant le travail, les trois mamans thrombopéniques à l'accouchement, et les deux mamans ayant présenté un accouchement hémorragique, ont transmis la dengue à leur enfant, tandis que la maman de l'enfant indemne de dengue n'a pas présenté ces symptômes. Ainsi, bien que la faible ampleur de l'étude ne permette pas de conclure, la fièvre, la thrombopénie et l'hémorragie pendant le travail et / ou l'accouchement pourraient être des facteurs favorisant la transmission materno fœtale de la dengue.

Les risques de complications obstétricales et néonatales de la dengue sont importants. Dans la littérature [10-11] on retrouve 41% à 55% de menace d'accouchement prématuré ; 3,7% à 13,5% de mort fœtale in utero (contre 1,8% habituellement dans leur population source indemne de dengue). Tan [9] a mis en évidence dans l'unique étude prospective cas/témoin

retrouvée dans la littérature une prévalence de dengue récente significativement plus importante chez les femmes faisant une fausse couche que chez les femmes menant une grossesse viable, avec un risque relatif est de 3,1 [1-10],  $p = 0,047$ .

Cette étude s'est intéressée aux complications lorsque la dengue survenait en période périnatale, au CHT de Magenta doté d'une maternité de niveau 3 avec un plateau technique équivalent à la métropole. Comparé aux taux habituels dans la population générale calédonienne de 2013 [23], l'étude retrouve : 10% de décès maternel (contre 2% chez Basurko, et 8,4 pour 100 000 naissances vivantes habituellement) ; 30% d'hémorragies du post partum (contre 10% chez Basurko, et 2,5% habituellement), 30% de césarienne (contre 19,6% habituellement), 10% de prématurité (contre 20% chez Basurko, et 9% habituellement), 20% de réanimation à la naissance, 10% de complications graves néonatales, et 90% d'hospitalisation en néonatalogie.

Le caractère sévère de la dengue maternelle avec thrombopénie et hémorragie semble être un facteur prédictif de complication néonatale : Chye [14] (Annexe 3) rapporte le décès d'un nourrisson né par voie basse d'une mère virémique, thrombopénique, présentant une prééclampsie, puis une hémorragie de la délivrance nécessitant une transfusion. L'enfant a présenté une détresse respiratoire à la naissance, une hémorragie intra cérébrale, puis une défaillance multiviscérale fatale. Nous rapportons également un cas de complication sévère néonatale : l'enfant est né par césarienne d'une mère virémique, thrombopénique, présentant une pré éclampsie, et un hématome rétro placentaire, décédée dans les suites d'un choc hémorragique et défaillance multiviscérale. L'enfant a présenté une détresse respiratoire à la naissance, puis une encéphalopathie anoxo ischémique.

Nous n'avons pas décrit d'encéphalopathie virale directe comme c'est le cas pour le Chikungunya.

Par ailleurs, 6 des 7 mamans de nouveaux nés thrombopéniques étaient elles aussi thrombopéniques.

Les mécanismes de transmission verticale du virus de la dengue sont difficiles à appréhender et nécessitent des prélèvements exhaustifs (sang mère/cordon/nouveau né, placenta, liquide gastrique, lait maternel). La contamination potentielle de tous les liquides biologiques par du sang maternel rend l'interprétation des résultats très délicate. Nous manquons de données, en particulier au niveau placentaire, pour émettre des hypothèses robustes sur ces mécanismes de transmission. Néanmoins nous soulevons l'hypothèse d'une transmission par le lait maternel en rapportant pour la deuxième fois [22] un cas de dengue chez un nouveau né ayant développé la dengue à quelques jours de vie alors que le sang de cordon était négatif à la naissance et le lait de sa mère positif pendant la période d'allaitement.

Nous confirmons ce qui n'était qu'un case report jusqu'à présent [22], en rapportant une fréquence très élevée de présence du virus dans le lait maternel puisque la RT-PCR dengue était positive dans 75% des laits prélevés, et négative uniquement dans des laits prélevés tardivement après le début des symptômes.

La cinétique virale dans le lait maternel semble différente de celle du sang périphérique avec des charges virales en majorité inférieures à celles du sang, une décroissance plus lente semblant faire suite à une phase de plateau. Il semble que la clairance du virus de la dengue soit plus longue dans le lait que dans le sang. Cette excrétion prolongée du virus de la dengue a déjà été décrite dans les urines [29].

## 4.2. Hypothèses de transmission

Les mécanismes de transmission verticale du virus de la dengue restent mal connus. La plupart des données reposent sur de petites séries et des cas cliniques. Différentes hypothèses peuvent être émises :

### 4.2.1. Voie hématogène et transplacentaire

Le virus de la dengue transmis le plus souvent d'homme à homme par voie vectorielle (piques par des moustiques infectés du genre *Aedes*) peut aussi être transmis par voie hématogène ou transplacentaire.

Wiwanitkit [8] dans sa revue de littérature sur les modes de transmissions non vectoriels de la dengue, détaille la transmission hématologique, lors des transfusions sanguine. En effet, une étude à Hong Kong rapporte qu'une transmission de la dengue sur 126 est due à une transfusion sanguine.

Il détaille également deux cas de transmissions par greffe : l'une par greffe rénale, l'autre par greffe de moelle osseuse.

Par ailleurs, quatre cas de transmission transcutanée de la dengue, par pique d'aiguille souillée de sang infecté, ont été rapportés en France, Allemagne et Hongrie [4-7].

Dans notre étude, 1 bébé était symptomatique de dengue dès la naissance, comme cela a déjà été rapporté [11; 14; 16; 17]. Cela suggère une transmission anténatale du virus de la dengue. Trois sang de cordons sur 5 prélevés, et 3 placenta sur 3 prélevés, ont été détectés positifs en RT-PCR dengue. Cela confirme la possibilité d'une transmission par voie hématogène ou transplacentaire. Wiwanitkit [8] pense que la petite taille du virus de la dengue (40 à 60 nm) lui permet un passage transplacentaire. Il pourrait également s'agir d'une transfusion materno-fœtale pendant le travail.

D'autres arbovirus semblent pouvoir se transmettre par voie transplacentaire, d'après la revue de littérature de Tran [30].

Pour l'Encéphalite japonaise, des fausses couches ont été rapportées, mais pas de transmission materno fœtale à la naissance. Du virus a été retrouvé dans du placenta, du cerveau et du foie de fœtus.

Pour le Virus West Nile, une infection transplacentaire a été décrite devant des IgM spécifique de WNV dans le sang et le LCR du nouveau né.

### 4.2.2. Voie transmuqueuse et digestive

Des cas de transmission par le lait ont été décrit pour d'autres arboviroses : 3 cas pour des souches vaccinales de fièvre jaune [31-33], 1 cas pour le virus West Nile après transfusion sanguine [34], des encéphalite à tique après ingestion de lait cru de brebis, de chèvre et de vache [35] , de même que des transmissions de virus Powasan et Louping Hill à des chevreaux. A l'inverse, Gérardin [26] n'a pas mis en évidence de virus du Chikungunya par RT-PCR sur les 20 prélèvements de lait de mère virémique. De même pour le virus Zika, Besnard [28] note des RT-PCR positives dans 2 prélèvements de lait, mais les cultures virales sont négatives.

Chen [3] rapporte en 2004 le cas d'une transmission transmuqueuse aux Etats Unis : une laborantine reçoit une projection de sang infecté sur la figure, les yeux, le nez, et la bouche.

Ainsi, on peut penser que le virus de la dengue présent dans le sang maternel, le liquide amniotique ou le lait maternel pourrait être transmis au nouveau né lors du passage dans la filière génitale ou lors de l'allaitement, à travers la muqueuse ophtalmique, la muqueuse buccale, ou la muqueuse digestive.

Dans notre étude, 4 liquides gastriques sur 7 prélevés étaient positifs en RT-PCR dengue, le virus pouvant provenir du liquide amniotique, du sang maternel, ou de sécrétions vaginales, ingérés au moment du passage dans la filière génitale. Le virus a ensuite pu passer à travers la muqueuse buccale ou digestive du nouveau né. Certains gestes de réanimation peuvent être à l'origine de lésions des muqueuses du nouveau-né pouvant favoriser ce mode contamination.

Barthel [22] (Annexe 4) a rapporté le 1<sup>er</sup> cas de dengue dans le lait maternel faisant suspecter une transmission du virus par ingestion de lait. Une mère virémique accouche d'un nouveau né grand-prématuré, admis aux soins intensifs en incubateur dès la naissance. Le nourrisson reçoit du lait maternel du 2<sup>ème</sup> au 4<sup>ème</sup> jour de vie. Sa RT-PCR dengue est négative sur le sang de cordon à J0, et le sang périphérique à J2 de vie. Ce n'est qu'au 4<sup>ème</sup> jour de vie qu'elle se positive. Par ailleurs, la culture virale est positive dans le lait. Le séquençage et l'analyse phylogénétique du gène d'enveloppe confirment des souches virales 100% identiques dans le sang maternel, le lait maternel et le sang du nouveau né.

Dans cette étude, nous rapportons un cas similaire d'un nouveau né allaité d'une mère virémique pendant ses 6 premiers jours de vie. Il a présenté ses premiers symptômes au 7<sup>ème</sup> jour de vie. Le lait maternel était positif en RT-PCR dengue et le sang de cordon était négatif à la naissance.

La chronologie de ces deux cas cliniques suggère fortement une transmission par le lait maternel bien qu'une transmission per partum ne puisse être écartée de façon formelle. En effet, s'il est possible que la charge virale dans le sang de cordon à J0 soit inférieure au seuil de détection de la RT-PCR, il est peu probable qu'elle reste encore indétectable 2 jours après. Il est par ailleurs invraisemblable que l'enfant en incubateur se soit fait piquer par un moustique.

La recherche de virus infectant dans le lait maternel par cultures cellulaires ne nous a pas permis de différencier une excrétion passive d'une sécrétion active de virus infectant. La négativité des cultures cellulaires réalisées à partir des prélèvements de sang et lait maternels tous revenus négatifs (malgré trois passages successifs) laisse supposer que les prélèvements n'ont pas été conservés dans des conditions optimales.

Cette voie de transmission par le lait maternel reste néanmoins très délicate à prouver en l'absence de bon modèle animal et du fait des barrières éthiques rendant difficiles l'étude du risque de transmission chez le nouveau né allaité.

Il n'est en tous cas pas possible d'exclure une transmission par ce biais lors des premiers jours de vie et ceci représente une problématique importante de santé publique dans des pays des zones tropicales et subtropicales touchées par la dengue où l'allaitement maternel représente le principal mode de nutrition des enfants pendant des périodes parfois prolongées. Des études de plus grande ampleur et multicentriques semblent nécessaires afin de mieux évaluer ce risque et de pouvoir proposer des recommandations préventives adaptées en terme d'allaitement.

### **4.3. Recommandations proposées pour limiter le risque de transmission verticale du virus de la dengue**

Différentes recommandations pourraient être proposées pour tenter de limiter le risque de transmission mère-enfant et les complications maternofoetales. Une fiche de recommandation pour les pédiatres de maternité est proposée en annexe 8.

#### **4.3.1. Avant l'accouchement**

Rechercher précocement une dengue chez toute femme fébrile en fin de grossesse, ou présentant une thrombopénie ou une suspicion de HELLP syndrome en zone à risque de dengue. En effet, le HELLP syndrome peut être confondu avec une dengue devant la cytolyse hépatique et la thrombopénie, comme le souligne Chye [14].

Devant le risque de complications obstétricales et néonatales, un transfert en maternité de niveau 3 de toute femme à terme présentant une dengue semble préférable, avec la possibilité de réanimation maternelle, fœtale, et de transfusion de plaquettes et culots globulaires.

Si aucun signe de mauvaise tolérance fœtale n'est retrouvé, retarder l'accouchement pour se trouver dans une fenêtre virémique plus basse, ou en période de normalisation de la numération plaquettaire maternelle, semble logique, bien que non démontré.

#### **4.3.2. Pendant l'accouchement**

S'il n'est pas possible, au vu de ces résultats et des données de la littérature, d'encourager un mode d'accouchement particulier, il est important de noter que les complications hémorragiques d'une césarienne sont fréquentes. En effet dans cette étude, 2 des 3 césariennes se sont compliquées d'hémorragie, dont une fatale ; une femme a présenté une hémorragie péritonéale 6 jours après sa césarienne. De plus, dans la revue de la littérature résumée dans l'annexe 3, 4 des 11 césariennes se sont compliquées d'hémorragies, parfois prolongées pendant 9 jours [13]. Certains auteurs [13 ; 16] proposent d'éviter les gestes invasifs tels que la césarienne pour diminuer ce risque hémorragique maternel, sauf si nécessaire.

Une transfusion plaquettaire préventive en antépartum pourrait diminuer le risque de complication hémorragique maternelle. En effet, deux patientes dans la littérature [14 ; 16] ont bénéficié de transfusion plaquettaire préventive en antépartum. Les raisons étaient l'association d'une thrombopénie sévère et de pétéchies. Elles n'ont pas présenté de complication hémorragique du post partum.

Le caractère sévère de la dengue maternelle semble être un critère prédictif de complication néonatale et doit donc entraîner une vigilance accrue vis-à-vis du nouveau né, et l'appel du pédiatre de garde à la naissance.

#### **4.3.3. Après l'accouchement**

Tout nouveau-né de mère virémique en période néonatale devrait bénéficier d'une surveillance clinique rapprochée pendant les 4 premiers jours de vie et d'une RT-PCR si possible à J3 de vie ou plus tard avant la sortie de maternité. A défaut de diagnostic biologique fiable, la surveillance clinique s'étendra jusqu'à 9 jours de vie, le nouveau né symptomatique le plus tard de l'étude l'étant à 7 jours de vie, et Boussebart [15] décrivant 9

jours. Une sortie précoce de maternité devrait être exclue sans aménagement garantissant la surveillance clinique quotidienne du nouveau-né et un accès rapide aux soins si besoin. Tout nouveau-né symptomatique ou avec une RT-PCR positive doit bénéficier d'une première numération plaquettaire à J3 du début des symptômes ou avant si signes cliniques évocateurs. La surveillance de la thrombopénie sera prolongée en comparaison de ce qui est décrit chez l'adulte. Une hospitalisation en cas de thrombopénie profonde ( $< 30.10^3/mm^3$ ) pourra être proposée.

Nous ne pouvons pas donner de seuil de transfusion de plaquettes en dehors d'une hémorragie clinique. Les gestes invasifs tels que la prise de température rectale, les injections intramusculaires et la prise d'AINS seront bien sûr contre-indiqués.

Le diagnostic d'infection materno-fœtale bactérienne doit être envisagé devant tout nouveau-né symptomatique, l'hypothèse d'une dengue néonatale ne doit pas retarder la mise en route d'une antibiothérapie au moindre doute. Ce traitement sera réévalué en fonction des différents résultats d'examen paracliniques.

De plus en période épidémique, tout nouveau-né symptomatique, à fortiori s'il présente une thrombopénie, ou si l'anamnèse et le bilan paraclinique ne sont pas en faveur d'une cause bactérienne, doit bénéficier d'un test diagnostique de la dengue par RT-PCR même si il n'y pas d'histoire maternelle évocatrice. Ceci se justifie par le fait qu'une proportion importante de dengue est asymptomatique.

Toute mère ou nouveau-né suspect de dengue doit bénéficier d'une protection antivectorielle efficace afin d'éviter les cas nosocomiaux de dengue dans les services hospitaliers.

#### 4.3.4. Pendant l'allaitement

Les résultats présentés ci-dessus rendent la question des recommandations vis à vis de l'allaitement très problématique et pour le moment sans réponse. Si l'enfant est indemne à la naissance et que la mère excrète du virus dans son lait, il paraît délicat d'autoriser la poursuite de l'allaitement, les quantités de virus ingérées représentant un fort inoculum. Une suspension temporaire de l'allaitement pourrait donc être proposée. Un monitoring des charges virales dans le lait maternel pourrait être envisageable pour guider la reprise de l'allaitement. Pendant cette « fenêtre de sécurité », les mères devraient bénéficier de conseils adaptés et de l'accès à un tire-lait électrique pour maintenir leur lactation le temps de l'éviction, et ne pas compromettre la poursuite de l'allaitement.

Néanmoins, l'allaitement maternel représente un mode de nutrition à privilégier, permettant en particulier la transmission d'une immunité passive médiée essentiellement par les IgA. De plus, le seul nouveau né fortement suspect d'avoir acquis la dengue au cours de l'allaitement maternel [22] a présenté une dengue non sévère laissant supposer une part d'immunisation passive transmise par le lait. De plus, aucun nourrisson provenant exclusivement de l'étude allaitement ne semble avoir attrapé la dengue par l'allaitement. On peut se demander si le risque de transmission de la dengue par le lait diminue avec l'âge. Des analyses plus poussées sur le lait (impact de la stérilisation, évaluation des statuts sérologiques IgA, M et G dans le lait et le sang des mères et nouveau-nés) sont nécessaires pour mieux répondre à ces questions. Des études prospectives bien menées chez les femmes allaitantes à distance de l'accouchement dans des conditions de protection vectorielle efficaces et contrôlées restent également à réaliser pour mieux évaluer les risques et bénéfices de l'allaitement maternel.



#### **4.4. Limites de l'étude**

Cette étude observationnelle prospective monocentrique menée sur un an présente quelques limites.

Le faible nombre de couples mère-enfant rend difficile l'interprétation des observations, et la mise en évidence de facteurs favorisant ou protégeant d'une transmission materno-fœtale du virus de la dengue. Cependant la rareté de cette problématique rend l'étude du risque de transmission mère-enfant difficile. Une étude prospective prolongée et une étude multisites de plus grande ampleur pourraient permettre de mieux cerner la problématique.

L'étude manque d'exhaustivité dans les prélèvements des différents liquides/tissus biologiques, en particulier le manque de prélèvements de placenta. De plus, dans le souci de diminuer le caractère invasif des prises de sang en particulier chez les nouveaux nés, les prélèvements ont été limités aux prélèvements habituels ou nécessaires à une démarche diagnostique ou de surveillance, hors contexte d'étude. La cinétique d'expression du virus de la dengue est donc d'autant plus difficile à appréhender.

La tenue des dossiers patients est de qualité variable. Il est difficile d'apprécier le début et la fin exacts des symptômes des patientes, et leur exhaustivité. L'allaitement maternel n'est pas systématiquement mentionné. Lorsque les patientes ont été appelées pour préciser des informations, notamment le fait d'avoir allaité au moins une fois pendant les symptômes ou non, un biais évident de mémorisation était inévitable, certaines ayant été appelées plusieurs mois après la fin des symptômes.

#### **4.5. Perspectives**

Cette étude préliminaire rapporte des résultats inattendus et soulève des hypothèses importantes concernant les voies de transmission et les facteurs favorisant la transmission verticale du virus de la dengue. Elle mérite des analyses complémentaires et l'inclusion de plus de cas pour préciser ces hypothèses.

Une étude multicentrique, étendue à d'autres DOM TOM ou pays endémiques ou épidémiques, permettrait de préciser plus significativement les facteurs favorisant ou protégeant du risque de transmission materno-fœtale. Son extension à d'autres arboviroses semble importante devant l'émergence par exemple du virus Chikungunya ou du virus Zika qui sévissent aux Antilles et dans le Pacifique ces derniers mois. Une étude en post-partum comparant un groupe de mères allaitant versus un groupe de mères n'allaitant pas, permettrait de préciser le risque de l'allaitement dans la transmission verticale. Cependant la randomisation de ces deux groupes semble éthiquement difficile.

Un recueil prospectif plus rigoureux grâce par exemple à une grille standardisée de recueil de données spécifique à l'étude, remplie en temps réel par tout intervenant prenant en charge la patiente, permettrait d'être plus exhaustif sur les débuts et fins précis des symptômes, et de l'allaitement. Une meilleure information des professionnels de santé s'occupant des patients inclus permettrait une meilleure exhaustivité dans le recueil des prélèvements (placenta, liquide gastrique, sang de cordon, lait).

Des analyses virologiques complémentaires pourraient être utiles telles que :

- analyse séquentielle quotidienne de façon concomitante dans le sang et le lait maternel qui permettrait une étude plus minutieuse des cinétiques virales, et une meilleure définition du risque d'exposition au cours de l'allaitement.
- séquençage du génome viral et analyse phylogénétique des souches virales qui permettraient une analyse génomique comparative chez la mère et l'enfant.
- vérification de l'absence de contamination du lait par du sang maternel en effectuant un frottis sur couche mince coloré au May Grunwald Giemsa.
- immunofluorescence et microscopie électronique pour localiser le virus dans le lait maternel.
- recherche d'IgA, IgM et IgG anti dengue dans le lait maternel et le sang du nouveau né pour évaluer le rôle de l'immunité passive, et rechercher un caractère potentiellement protecteur des anticorps maternels.
- analyse histologique du placenta pour préciser la voie de transmission transplacentaire.
- analyse des sécrétions vaginales maternelles à l'accouchement par RT-PCR dengue pour alimenter les hypothèses de transmission verticale.
- Conserver les prélèvements à -80°C le plus rapidement possible, puis mettre en culture au plus tôt pour réduire le risque de mauvais conditionnement.

# 5. Conclusion

THESE SOUTENUE PAR : Lucille ARRAGAIN

TITRE : Transmission verticale du virus de la dengue en période périnatale et au cours de l'allaitement. Etude observationnelle réalisée au cours de l'épidémie 2012 – 2013 en Nouvelle Calédonie.

## CONCLUSION

Cette étude rapporte un taux très élevé et inattendu de transmission materno fœtale du virus de la dengue, évalué à 90% en période périnatale. Les conséquences obstétricales et néonatales peuvent être graves et parfois fatales. Nos résultats permettent de mieux préciser les circonstances et le moment de survenue des complications, en particulier hémorragiques.

Les mécanismes de transmission verticale sont difficiles à appréhender et nécessitent des prélèvements plus exhaustifs (sang mère/cordon/nouveau né, placenta, liquide gastrique, lait maternel). Si la voie transplacentaire semble probable, une transmission au passage de la filière génitale est possible, et une transmission par le lait maternel ne peut être écartée.

Cette étude rapporte pour la deuxième fois un cas pouvant faire suspecter la transmission du virus de la dengue par le lait maternel et présente des données tout à fait nouvelles de cinétique virale dans le sang des nouveau-nés et le lait maternel.

Certaines recommandations pourraient être proposées pour diminuer le risque de transmission materno-fœtale :

- Rechercher précocement une dengue chez toute femme fébrile en fin de grossesse, ou présentant une thrombopénie ou une suspicion de HELLP syndrome en zone à risque de dengue.
- Retarder si possible l'accouchement pour se retrouver en fenêtre virémique plus basse, avec un taux de plaquettes plus haut
- Favoriser l'accouchement par voie basse qui expose à un moindre risque de saignement.
- La question du maintien ou non de l'allaitement en phase virémique reste ouverte, le risque de contamination par voie sublinguale ou digestive semblant difficile à prouver. Suspendre temporairement l'allaitement semble adapté.

Et pour prévenir le risque de complications maternelles et néonatales de la dengue :

- Transférer en maternité de niveau 3 toutes femmes à terme présentant une dengue.
- Limiter les gestes invasifs tels que la césarienne pour diminuer le risque hémorragique maternel, sauf si nécessaire.
- Considérer le caractère sévère de la dengue maternelle comme un critère prédictif de complication néonatale, entraînant l'appel du pédiatre de garde à la naissance et une surveillance clinique accrue du nouveau né.
- Prolonger la surveillance clinique en milieu hospitalier de tout nouveau né de mère virémique jusqu'à son 9<sup>ème</sup> jour de vie au moins, si un diagnostique par RT-PCR n'est pas fait autour du 3<sup>ème</sup> jour de vie.
- Ajouter la RT-PCR dengue dans le bilan infectieux initial d'une recherche d'infection materno fœtale en zone à risque de dengue

Au vu de nos résultats, et du problème majeur de santé publique que représente la dengue dans des pays où l'allaitement maternel représente le principal mode de nutrition des enfants

pendant des périodes parfois prolongées, il semble que des investigations de plus grande ampleur et multicentriques soient nécessaires pour mieux évaluer et comprendre le risque de transmission materno foetale du virus de la dengue et pour pouvoir proposer des recommandations préventives adaptées.

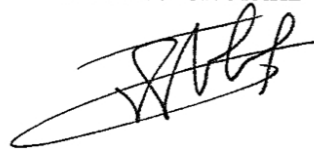
VU ET PERMIS D'IMPRIMER  
Grenoble, le 23/03/2015

LE DOYEN

LE PRESIDENT DE LA THESE



PROFESSEUR STAHL



## 6. Références

Référence 1 :

Pays exposés au risque de dengue en 2012, OMS.

Référence 2 :

Guide pour la prise en charge clinique de la dengue. OMS, 2013, page 1 (7), figure adaptée par les auteurs d'après Yip WCL. Dengue haemorrhagic fever: current approaches to management. Medical Progress, 1980, 7:13.

Référence 3 :

DASS NC. Veille sanitaire de la dengue. Cas de Dengue 2012-2013. Consultable à l'URL : <http://www.dass.gouv.nc/portal/page/portal/dass/librairie/fichiers/25226190.PDF>

## 7. Bibliographie

1. OMS. Dengue et dengue hémorragique. Aide mémoire N°117. 2014 Mars. Consultable à l'URL : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/fr/>
2. MRCapeding, NHTran, SRHadinegoro, HIHJMismail, TChotpitayasunondh, MNChua et al. Clinical efficacy and safety of a novel tetravalent dengue vaccine in healthy children in Asia : a phase 3, randomised, observer-masked, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2014 octobre;384:1358-65.
3. LHChen, MEWilson. Transmission of dengue virus without a mosquito vector : nosocomial mucocutaneous transmission and other routes of transmission. *Clin Infect Dis*. 2004 septembre;39:56-60.
4. BDe Wazières, HGil, DAVuitton,, JL Dupond. Nosocomial transmission of dengue from a needlestick injury. *Lancet*. 1998 février;351:498.
5. JLanggartner, FAudebert, JScholmerich, TGluck. Dengue virus infection transmitted by needle stick injury. *J Infect*. 2002 Mai;44(4):269-270.
6. DWagner, KDe With, DHuzly, FHufert, MWeidmann, SBreisinger, et al. Nosocomial Acquisition of dengue. *Emerg Infect Dis*. 2004 octobre : 10(10):1872-3.
7. ZNemes, GKiss, EPMadarassi, ZPeterfi, EFerenczi, TBakonyi, et al. Nosocomial transmission of dengue. *Emerg Infect Dis*. 2004 octobre : 10(10):1880-1.
8. VWiwanitkit. Non vector-borne transmission modes of dengue. *J Infect Dev Ctries*. 2010;4(1):51-4.
9. PCTan, MZSoe, KSLay, SMWang, SDSekaran, SZOmar. Dengue infection and miscarriage : a prospective case control study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012 Mai;6(5):e1637.
10. GCarles, ATalarmin, CPeneau, MBertsch. Dengue et grossesse, étude de 38 cas en Guyane française. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*. 2000;29:758-762.
11. CBasurko, GCarles, MYoussef, WELGuindi. Maternal and foetal consequences of dengue fever during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2009;147:29-32.
12. LPoli, EChungue, OSoulinac, PGestas, PKuo, MPapouin-Rauzy. Dengue materno-foetale. *Bull Soc Pathol Exot*. 1991;84:513-21.
13. PThaithumyanon, UThisyakorn, JDeerojnawong, BLInnis. Dengue infection complicated by severe haemorrhage and vertical transmission in a parturient woman. *Clin Infect Dis*. 1994;18:248-9.
14. JKChye, CTLim, KBNg, JMHLim, RGeorge, SKLam. Vertical transmission of dengue. *Clin Infect Dis*. 1997;25:1374-7.

15. TBoussemart, PBabe, GSibille, CNeyret, CBerchel. Prenatal transmission of dengue : two new cases. *J Perinatol.* 2001;21:255-7.
16. AKerdpanich, VWatanaveeradej, RSamakoses, SChumnanvanakij, TChulyamitporn, PSumeksri. Case report, Perinatal dengue infection. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2001 septembre;32(3):488-493.
17. UChotigeat, SKalayanarooj, ANisalak. Vertical transmission of dengue infection in Thai infants : two case reports. *J Med Assoc Thai.* 2003 aout;86(3):628-632.
18. LEFatimil, AHossain Mollah, SAhmed, MRahman. Vertical transmission of dengue : first case report from Bangladesh. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2003 décembre; 34(4):800-803.
19. SSirinavin, PNuntnarumit, SSupapannachart, SBoonkasidecha, CTechasaensiri, SYoksarn. Vertical dengue infection, case report and review. *Pediatr Infect Dis J.* 2004 Novembre;23(11):1042-7.
20. JPerez-Padilla, R Rosario-Casablanca, LPerez-Cruz, CRivera-Dipini, KMTomashek. Perinatal transmission of dengue virus in Puerto Rico : a case report. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology.* 2011;1:90-3.
21. HSDelgado, JCRuiz Rios, ELVela Barbaran, DR Del Aguila, MGarciaM, LRBenavides, et al. Dengue neonatal en el Peru : reporte de un caso. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2011 ; 28(1) :140-4.
22. ABarthel, ACGourinat, CCazorla, CJoubert, MDupont-Rouzeyrol, EDescloux. Breast milk as a possible route of vertical transmission of dengue virus ? *Clin Infect Dis.* 2013 Aout ;57(3) :415-7.
23. SCamuzeaux. Rapport d'activité du réseau périnatal de Nouvelle-Calédonie - volet épidémiologique - année 2013, - Publication en Novembre 2014
24. DWarrilow, JANorthill, APyke, GASmith. Single rapid taqman fluorogenic probe based PCR assay that detects all four dengue serotypes. *J Med Virol.* 2002;66:524-8.
25. BWJohnson, BJRussell, RSLanciotti. Serotype-specific detection of dengue viruses in a fourplex real-time reverse transcriptase PCR assay. *J Clin Microbiol.* 2005;43:4977-83.
26. PGerardin, GBarau, AMichault, MBintner, HRandrianaivo, GChoker, et al. Multidisciplinary prospective study of mother-to-child chikungunya virus infections on the island of La Reunion. *PLoS Med.* 2008 Mars;5(3):413-423.
27. MRBentlin, RAMBALmeida, KIRCoelho, AFRibeiro, MMSiciliano, ASuzuki et al. Perinatal transmission of yellow fever, Brazil, 2009. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(9):1779-80.

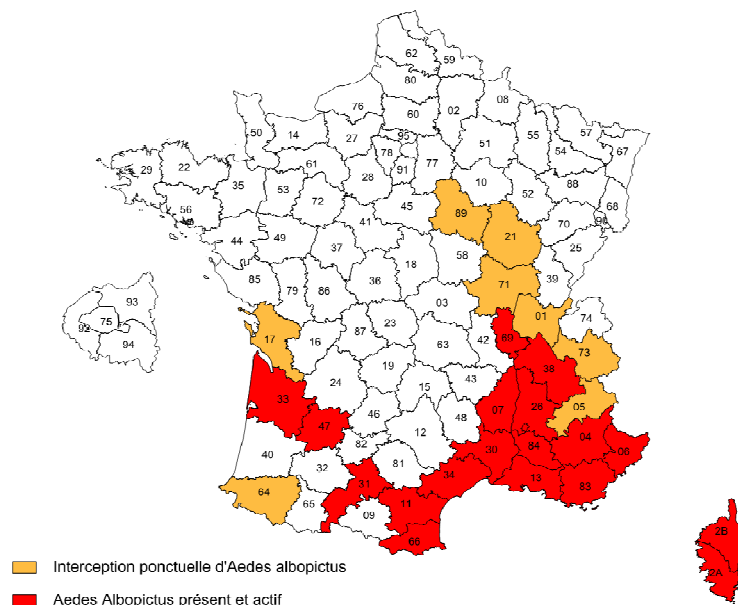
28. MBesnard, SLastere, ATeissier, VMcao-Lormeau, DMusso. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. 2014 Avril;19(13):pii=2075<sup>1</sup>. Consultable à l'URL : <http://www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EE/V19N13/art20751.pdf>
29. THirayama, YMizuno, NTakeshita, AKotaki, STajima, TOMatsu, et al. Detection of dengue virus genome in urine by real-time reverse transcriptase PCR : a laboratory diagnostic method useful after disappearance of the genome in serum. J Clin Microbiol. 2012 June;50(6):2047-52.
30. ATran, CChastel. Grossesse et arbovirus transmis par des moustiques : conséquences pathologiques pour la mère et l'enfant. Une revue générale. Bull Soc Pathol Exot. 2008;101(5):418-424.
31. Transmission of yellow fever vaccine virus through breast-feeding-Brazil, 2009. MMWR. 2010 février;59(5):130-2.
32. CTraiber, PCoelho-Amaral, VRFonteles Ritter, AWinge. Infant meningoencephalitis caused by yellow fever vaccine virus transmitted via breastmilk. J Pediatr (Rio J). 2011;87(3):269-272.
33. SKuhn, LTwele-Montecinos, JMacDonald, PWebster, BLaw. Case report : probable transmission of vaccine strain of yellow fever virus to an infant via breast milk. CMAJ. 2011 Mars;183(4):243-5.
34. CDC. Possible west nile virus transmission to an infant through breast-feeding-Michigan, 2002. MMWR. 2002 octobre;51(39):877-9.
35. AFHinckley, DRO'Leary, EBHayes. Transmission of west nile virus through human breast milk seems to be rare. Pediatrics. 2007;119(3):e666-671.



# 8. Annexes

## Annexe 1 : Etat des lieux de l'implantation d'Aedes albopictus en France métropolitaine en 2013.

Consultable à l'URL : [www.sante.gouv.fr/moustiques-vecteurs-de-maladies.html](http://www.sante.gouv.fr/moustiques-vecteurs-de-maladies.html)



## Annexe 2 : Classification clinique des cas de dengue

Tiré du Guide pour la prise en charge clinique de la dengue. OMS, 2013, page 7.



**Annexe 3 – a : Récapitulatif des cases reports de transmission materno fœtale en période périnatale – caractéristiques maternelles.**

**Annexe 3 - b : Récapitulatif des cases reports des cas de transmission materno fœtale en période périnatale – caractéristiques des nouveaux nés.**

*J1 : Jour de l'accouchement*

*SFA: Souffrance Fœtale Aigue, VB : Voie Basse, C : Césarienne, SA : Semaines d'Aménorrhée, MAP : Menace d'Accouchement Prématuré, HMG : Hépatomégalie, SMG : Splénomégalie, PFC : Plasma Frais Congelé, sp : sans particularité*

*\* Nombre entre parenthèse : nadir de la thrombopénie/mm<sup>3</sup>*

*\*\* Nombre entre parenthèse : nombre de jours entre les débuts de fièvre maternel et du nouveau-né.*

Auteur	Pays, Année	Mères		Durée de la fièvre / Symptômes	Mode d'accouchement	Choix du mode d'accouchement	Clinique et complications	Thrombopénie*	Dengue	Méthode diagnostique	
		Age	Début de la fièvre / Symptômes								
Poli (12)	Tahiti 1989		J-8		VB				secondaire		
			J1		VB				secondaire		
			J1		VB					primaire	
			J-3		VB					primaire	
Thaithumyanon (13)	Thaïlande 1993	32	J-1		C	antécédent de césarienne	hémorragie (9j), anémie, transfusion sang-PFC-plaquettes, reprise chirurgicale pour hémorragie péritonéale	J5 à 8 (73.10 <sup>3</sup> )		IgM+	
Chye (14)	Malaisie 1996	25	J-5	3	VBD	déclenchement devant prééclampsie, oligohydramnios	pré eclampsie, cytolysse hépatique, HMG, oedèmes, ascite, oligo hydramnios, gingivorragie, troubles de la coagulation, transfusion PFC - plaquettes	J-3 à 11 (0.10 <sup>3</sup> )		IgM+	
		31	J-8	2	VB	sp	anémie, pétéchies, épistaxis, transfusion plaquettes	J-6 à 1 (11.10 <sup>3</sup> )		IgM+, RT-PCR+	
Carles (10)	Guyane française 1992-1999		J-3		C	en urgence pour SFA	céphalées, diarrhées, césarienne hémorragique			IgM+, culture virale+	
Boussemart (15)	Guadeloupe 2001	27	J-2		C	en urgence pour SFA	syndrome pseudo grippal			IgM+, RT-PCR+	
		31	J1	4	VB	sp	MAP, céphalées	(38.10 <sup>3</sup> )	primaire	IgM+, IgG+	
Kerdpanich (16)	Thaïlande 2001	39	J-2		C	siège	trouble de l'hémostase pendant la césarienne		secondaire	IgM+, IgG+	
			J-7		C	en urgence pour travail prolongé et prééclampsie sévère	pétéchies, prééclampsie, transfusion Culots Globulaires et plaquettes	J-5 à 4 (11.10 <sup>3</sup> )		IgM+, IgG +, RT-PCR tardive -	
Chotigeat (17)	Bangkok 2003	25	J-2	5	VB	sp	pétéchies, cytolysse hépatique, hémorragie de la délivrance, transfusion plaquettes - culots globulaire - PFC - sang total	(26.10 <sup>3</sup> )	secondaire	IgM+, IgG+	
		19	J-1	4	VB	sp	simple éruption	(16.10 <sup>3</sup> )	secondaire	IgM+, IgG+, RT-PCR -	
Fatimil (18)	Bangladesh 2003	28	J-2	7	C	en urgence pour diminution des mouvements actifs fœtaux.	gingivorragie, HMG, épanchement pleural	J5 à 7(100.10 <sup>3</sup> )	secondaire	IgM+, IgG+	
Sirinavin (19)	Bangkok 2001-2003	25	J1	3	C	antécédents de césarienne	fièvre seulement	non	secondaire	IgM+, hémagglutination inhibition J9-J26	
		31	J1	5	C	bassin trop étroit	cytolysse hépatique, épanchement pleural	J7 (35.10 <sup>3</sup> )	secondaire	RT-PCR+, isolation virale après inoculation à cell de moustique	
Basurko (11)	Guyane 1992-2006	29	J-6		C	en urgence pour SFA	diarrhées, cytolysse hépatique,	oui		"isolement viral"	
		26	J-1		VB	sp	céphalées, anémie, hémorragie du post partum	oui		"isolement viral"	
		22	J1		C	en urgence pour SFA	syndrome pseudo grippal			RT-PCR+, sérologie.	
Perez-Padilla (20)	Puerto Rico 2010	17	J-1	5	VB	sp	céphalées, nausées, tachycardie, tachypnée	J-1 à 8 (59.10 <sup>3</sup> )		RT-PCR+	
Delgado (21)	Pérou 2010-2011	21	J-4	13	C	rupture prématurée des membranes, oligoamnios, SFA	hémorragie péritonéale, CIVD, défaillance multiviscérale, décès.	J-1		RT-PCR NEG IgM+, IgG+, Ag NS1+	
Barthel (22)	Nouméa 2012	23	J-2	5	VB		MAP, anémie, transfusion culots globulaires	J1 à 3 (38.10 <sup>3</sup> )	primaire (corrigé après publication)	RT-PCR + sang et lait! Cultures virales + lait!	

Auteur	Pays, Année	Nouveau né		Début de la fièvre / symptômes**	Durée de la fièvre / symptômes	Clinique et complications	Thrombopénie*	Méthode diagnostique	
		Terme (SA)	Allaitement						
Poli (12)	Tahiti 1989			J4 (12) J6 (6) J5 (5) J2 (5) J4 (7) J6 (7)		hypotonie, marbrures, tachypnée. cyanose, tachypnée hypotension, cyanose périphérique, marbrures sp hypotension, cyanose périphérique, marbrures, rash HMG, SMG	J6-13 (16.10 <sup>3</sup> ) J8-12 (26.10 <sup>3</sup> ) J11 (75.10 <sup>3</sup> ) J2-4 (48.10 <sup>3</sup> ) J7 (54.10 <sup>3</sup> ) J6-8 au moins (22.10 <sup>3</sup> )	IgM+ IgM+ IgM+ IgM+, isolement viral IgM+, isolement viral	
Thaithumyanon (13)	Thaïlande 1993	à terme	non	J6 (7)	2			isolement viral, séroconversion IgM et IgG	
Chye (14)	Malaisie 1996	36	non	J1 (6)		petit poids, détresse respiratoire, intubation, rash, irritabilité, opisthotonos, troubles coagulation, tranfusion sang total -plaquettes, opacités péri hilaires pulmonaires, hémorragie intracérébrale, défaillance multiviscérale, <b>décès</b> à J6.	J3-6 (16.10 <sup>3</sup> )	IgM+	RT-PCR neg
		38		J4 (12)	1	HMG, rash, hypoperfusion périphérique, transfusion plaquette - PFC	J1-8 (50.10 <sup>3</sup> )	séroconversion IgM	IgM neg sur sg de cordon, RT-PCR neg.
Carles (10)	Guyane française 1992-1999	37		J2 (5)		sp	non	IgM+	
Boussemart (15)	Guadeloupe 2001	39		J3 (5)		sp	J4-5 (15.10 <sup>3</sup> )	IgM+	
		33	non	J11 (11)	2	prématuré, petit poids, diarrhée	J9-15 (15.10 <sup>3</sup> )	IgM+	
Kerdpanich (16)	Thaïlande 2001	38	oui	J3 (5)	2	irritabilité, purpura, traitement antibiotique pour suspicion de sepsis, cytolysé hépatique,	J6-24 (12.10 <sup>3</sup> )	IgM+	
		38		J1 (8)	3	tachypnée, difficultés à s'alimenter, hypoglycémie, pétéchie, HMG, traitement antibiotique pour suspicion de sepsis, transfusion plaquettes	J1-5 (34.10 <sup>3</sup> )	RT-PCR+ (sang de cordon ET sang périphérique)	
Chotigeat (17)	Bangkok 2003	à terme		J1 (3)	6	pétéchies, HMG, SMG, épanchement pleural, antibiotiques pour suspicion sepsis.	J?-2 mois (19.10 <sup>3</sup> )	IgM+, IgG+	
		à terme		J6 (7)	3	pétéchies, HMG, épanchement pleural, antibiotiques pour suspicion de sepsis	(23.10 <sup>3</sup> )	IgM+, IgG +, RT-PCR+	
Fatimil (18)	Bangladesh 2003	36+4		J3 (5)		Réanimation à la naissance pour inhalation de méconium. geignements, détresse respiratoire, difficulté à s'alimenter, antibiotiques pour suspicion de sepsis, transfusion plaquettes	J6 (40.10 <sup>3</sup> )	séroconversion IgM	IgG + sur les deux prelevements!
Sirinavin (19)	Bangkok 2001-2003	38		J5 (5)	3	hypotension, tachycardie, hypoperfusion périphérique, début de choc hypovolémique, épanchement pleural, antibiotiques pour suspicion de sepsis, saignement gastrique, transfusion plaquettes.	J6-9 (16.10 <sup>3</sup> )	IgM+	
		39		J5 (5)	5	HMG, rash, antibiotiques pour suspicion de sepsis.	J6-12 (23.10 <sup>3</sup> )	RT-PCR+, séroconversion IgM et IgG, isolation virale par inoculation à cell de moustique.	
Basurko (11)	Guyane 1992-2006	37		J2 (8)		fièvre seulement	non	IgM+ (sang de cordon et périphérique)	
		39		J1, puis J4 (2)	4	hypotonie, SMG, transfusion plaquettes	J9 (14.10 <sup>3</sup> )	IgM+ (sang de cordon et périphérique)	
		40		J5 (5)	3	suspicion d'infection materno fœtale dès la naissance	(16.10 <sup>3</sup> )	RT-PCR+, sérologie (sang de cordon et périphérique)	
Perez-Padilla (20)	Puerto Rico 2010	38+4		J7 (8)	5	jamais fébrile, mais hypotonie, difficulté à s'alimenter, hyponatrémie, rash, pâleur, antibiotiques pour suspicion d'infection materno fœtale, ascite, trouble de la coagulation, transfusion plaquettes - PFC en préventif - culots globulaires pour hypoxie sur anémie.	J7-14 (36.10 <sup>3</sup> )	RT-PCR+	
Delgado (21)	Pérou 2010-2011	37		J4 (8)	6	petit poids, ictère sur incompatibilité ABO, hypoglycémie, cyanose des extrémités, frissons, rash, HMG, ascite, épanchement pleural, antibiotiques pour suspicion de sepsis.	J3-11 (40.10 <sup>3</sup> )	RT-PCR+ IgM NEG, IgG+, Ag NS1+	
Barthel (22)	Nouméa 2012	32+4	oui	J5 (7)	2	prématuré, petit poids, en incubateur.	J9 (34.10 <sup>3</sup> )	RT-PCR+	RT-PCR NEG sur sang de cordon, et à J2, puis + à J4. Sérotypes lait, sang maternel, sang du nouveau né, 100% identiques.

## Annexe 4 : Article du cas index, motivant la réalisation de l'étude DENNAT.

ABarthel, ACGourinat, CCazorla, CJoubert, MDupont-Rouzeyrol, EDescloux. Breast milk as a possible route of vertical transmission of dengue virus? *Clin Infect Dis*. 2013 Août ;57(3) :415-7.

BRIEF REPORT

### Breast Milk as a Possible Route of Vertical Transmission of Dengue Virus?

Anne Barthel,<sup>1</sup> Ann-Claire Gourinat,<sup>1</sup> Cécile Cazorla,<sup>3</sup> Corinne Joubert,<sup>4</sup> Myrielle Dupont-Rouzeyrol,<sup>2</sup> and Elodie Descloux<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Immuno-Serology and Molecular Biology Laboratory and <sup>2</sup>Dengue and Arboviruses Research and Expertise Unit, Institut Pasteur of New Caledonia, Institut Pasteur International Network; and <sup>3</sup>Internal Medicine Department and <sup>4</sup>Pediatrics Department, Territorial hospital of New Caledonia, Noumea

**We report a case of vertical transmission of dengue infection. The virus was detected and quantified by reverse-transcription polymerase chain reaction in sequential blood samples from mother and child as well as in breast milk, but not in cord blood. This case poses questions about the risk of breastfeeding transmission of dengue virus.**

**Keywords.** dengue virus; breast milk; vertical transmission; breastfeeding; newborn.

Dengue fever is an emerging viral disease caused by 4 dengue virus (DENV) serotypes of the genus *Flavivirus* and is a major cause of morbidity in tropical and subtropical areas [1]. DENV is transmitted between human hosts by mosquito vectors. Other transmission modes have been described through blood [2], mucocutaneous [3], and maternal-fetal [4] routes. We report a case of vertical DENV transmission that illustrates the evolution of viremia in a newborn as well as the presence of DENV in breast milk.

#### CASE REPORT

A Polynesian 23-year-old pregnant woman (gravidia 2, para 1) presented to the Noumea hospital (New Caledonia) in July 2012 with preterm labor at 30 weeks and 4 days of gestation. Upon admission (day 0), the mother had a 2-day history of

fever without any associated symptoms. Blood tests showed normal white cell count ( $5.3 \times 10^9/L$ ), anemia (82 g/L), and thrombocytopenia ( $122 \times 10^9/L$ ). C-reactive protein was elevated at 18 mg/L. Vaginal and blood cultures were negative. Despite tocolytic treatment, a live male infant was delivered vaginally a couple of hours after admission. The 2450-g healthy newborn (Apgar score 10/10) was transferred to the neonatal intensive care unit (NICU) and placed in an incubator.

After delivery (day 0), the mother had persistent fever, and her anemia (64 g/L) and thrombocytopenia ( $104 \times 10^9/L$ ) worsened. She received 2 units of packed red blood cells, antibiotics, and antipyretics. On day 2, she still had fever but had normal arterial pressure and no bleeding. On day 3, her biological tests revealed a drop in platelet count to  $38 \times 10^9/L$ . Because of an epidemic context, she was tested for DENV infection, and reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) of blood samples showed positive results. She was placed in a single room and was advised to use insect repellent.

Starting from day 2, the infant was fed with expressed breast milk, then breastfed. Of note, the mother did not show any breast lesion. Upon a pediatrician's request, DENV was tested in breast milk. Because RT-PCR was positive, breastfeeding was stopped on day 4.

On day 4, the infant developed low-grade fever at 37.9°C, and his serum tested positive for DENV. He then developed thrombocytopenia as low as  $34 \times 10^9/L$  on day 9 without any sign of discomfort or severity. Both mother and infant evolved favorably and were discharged home on day 6 and day 25, respectively.

Virological investigations were retrospectively and prospectively done after detection of DENV in breast milk. Results are presented in Figure 1. DENV was detected by real-time RT-PCR in sequential blood samples taken from the mother (day 0 to day 6), the infant (day 4 to day 13), and in breast milk (day 4 and day 6). Cord blood (day 0) tested negative for DENV as well as the infant's blood samples collected from day 0 and day 2. Negative serum samples were tested twice in 2 different runs.

Quantification of DENV was performed on all positive samples. Viral loads from both patients' blood samples were high and peaked between  $10^7$  and  $10^8$  copies/mL. We describe kinetics of the infant's DENV infection starting before the onset of symptoms, which showed a viral load increase over 3 days, a plateau phase during 2 days, and a slow decrease over >4 days. Breast milk viral loads were significant ( $>10^3$  and  $>10^2$  copies/mL) and in the same range as the ones found in the mother's blood that same day.

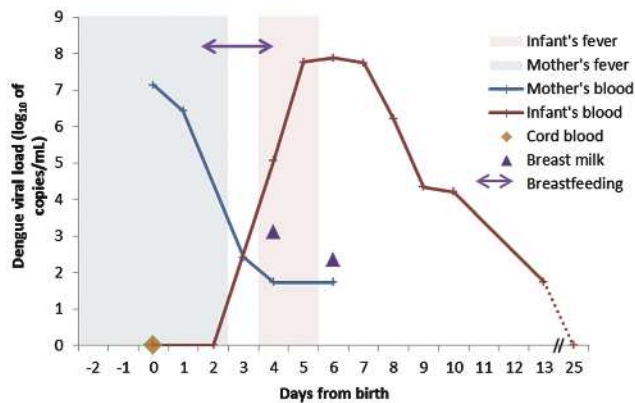
Received 28 December 2012; accepted 31 March 2013; electronically published 10 April 2013.

Correspondence: Anne Barthel, Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie, 9-11 avenue Paul Doumer-BP 61, 98845 Noumea Cedex, Nouvelle Calédonie (barthel.anne@gmail.com).

**Clinical Infectious Diseases** 2013;57(3):415-7

© The Author 2013. Published by Oxford University Press on behalf of the Infectious Diseases Society of America. All rights reserved. For Permissions, please e-mail: journals.permissions@oup.com.

DOI: 10.1093/cid/cit227



**Figure 1.** Mother and infant clinical symptoms and kinetics of viral loads from blood and breast milk samples in a case of vertical transmission of dengue virus.

DENV detected in blood samples from the mother and the infant as well as in breast milk were typed as DENV-1. Breast milk culture allowed us to confirm that the virus was readily cultivable. Sequences and phylogenetic analysis of the E gene (Supplementary Figure) from breast milk and the mother and infant's blood samples showed a 100% identity of the strains at the nucleotide level (GenBank accession numbers: KC741438 to KC741440).

Serological diagnosis was performed showing immunoglobulin M (IgM) seroconversion in both patients. Mother and infant tested negative on day 0 and day 4 and positive on day 6 and day 25, respectively. Non-serotype specific immunoglobulin G (IgG) was positive on day 0 in the mother's blood samples, reflecting a former dengue infection.

We received the mother's written informed consent to use her and her baby's samples for research and publication. Blood samples were collected regularly during hospitalization and kept at 4°C. Total nucleic acids were purified on the automated MagNA Pure LC2.0 using the Total Nucleic Acid Isolation Kit (Roche Diagnostics, Auckland, New Zealand) from 200 µL of sample into 50 µL eluates. DENV detection was performed using a duplex DENV-human GAPDH real time RT-PCR on a LightCycler 480 II (Roche Diagnostics, Auckland, New Zealand) using positive and negative controls in each run. This RT-PCR uses the technique published by Warrilow et al [5], who described, for DENV-1, a 100% sensitivity compared to cell culture. Viral loads were quantified using real-time RT-PCR and a standard curve was generated from dilutions of a reference sample. DENV serotyping was performed using a fourplex RT-PCR as described by Johnson et al [6]. Cell culture was performed using an *Aedes albopictus* C6/36 cell line. DENV-1 E gene sequences analysis (M. Dupont-Rouzeyrol, M. Aubry, O. O'Connor, C. Roche, V. M. Cao-Lormeau, unpublished

data) were performed directly on serum sample or on cell supernatant eluates. Enzyme-linked immunosorbent assay detection of anti-DENV IgG and IgM (Panbio Diagnostics, Alere, Australia) was performed on an Elispeed Duo (BioAdvance, Bussy Saint Martin, France) analyzer.

## DISCUSSION

Our patient presented to the hospital with preterm labor as described in other cases of DENV infection during pregnancy [7] and gave birth to a premature but healthy newborn. Both mother and infant experienced nonsevere acute dengue infection with fever and severe thrombocytopenia but no sign of hemorrhage or plasma leakage. Analyzing the infant's samples taken before the onset of symptoms allowed us to describe kinetics of viral load before fever, a figure rarely reported. In this case, both patients' peak viral loads were similar, notably showing no difference between the mother's secondary and the infant's primary infection. Moreover, the viremic period was prolonged ( $\geq 10$  days) in the newborn. The child's prematurity might have been a factor favoring extended viremic period and high viral loads, sometimes reported as lower in primary infections [8].

Vertical transmission of DENV has been reported [2, 4], and the mechanisms of infection transmission remain unclear in the peripartum period. This case provides evidence, for the first time to our knowledge, of the presence of DENV in breast milk during acute dengue infection. Though prenatal or perinatal infection cannot be strictly excluded, our results suggest that breast milk may be a possible route of DENV transmission from a mother to a child. Indeed, DENV was not detected from cord blood or from the infant's blood samples on day 0 or day 2. Whereas the presence of a few viral copies on samples from day 0 could fall under the technique's low detection limit, it seems unlikely that dengue viral load would still be undetectable 2 days later. However, other routes of transmission through placenta or amniotic fluid cannot be ruled out. Transmission to the child through mosquito bite is regarded as impossible in the NICU, considering the strict sanitary precautions and the newborn being placed in an incubator.

Transmission through breastfeeding has been described for other flaviviruses such as West Nile virus. Nucleic acid of this virus was found in breast milk, and a case of breastfeeding mother-to-child transmission has been reported [9]. Concerning yellow fever virus, another *Flavivirus*, cases of breastfeeding transmission have been described [10, 11], and recommendations have been made to stop breastfeeding during the viremic phase after vaccination using a live attenuated virus [12]. To the best of our knowledge, transmission of DENV has been described through blood and during pregnancy [2] but never through breastfeeding. One case [3] reported DENV transmission through

mucosa with the face, mouth, nose, and eyes coming into contact with viremic blood. In our case, we evidenced dengue viral loads in breast milk as high as the ones found in the mother's blood sample on the same day. The infant's extended contact time with milk during feeding and the large volume of intake compared to very small blood volumes reported as infectious make transmission through breastfeeding plausible. Should breast milk be the route of transmission, the short incubation period in our case might be related to a high infective dose.

To summarize, we report a case of DENV vertical transmission with a detailed clinical, biological, and virological description. Moreover, we report the presence of DENV in breast milk. Significant breast milk viral loads and the breastfeeding transmission route described for other flaviviruses make DENV transmission through breastfeeding plausible. The case reported raises concern about infants being breastfed by mothers presenting acute dengue infection. Such cases could be numerous as epidemics are large, affecting tropical and subtropical countries where natality rates are high and breastfeeding is widespread. Further work is clearly required to evaluate the risk of transmission of DENV through breast milk.

### Supplementary Data

Supplementary materials are available at *Clinical Infectious Diseases* online (<http://cid.oxfordjournals.org/>). Supplementary materials consist of data provided by the author that are published to benefit the reader. The posted materials are not copyedited. The contents of all supplementary data are the sole responsibility of the authors. Questions or messages regarding errors should be addressed to the author.

### Notes

**Acknowledgments.** We are grateful to Cyrille Goarant for meaningful critical reviewing. We thank E. Calvez, O. O'Connor, and A. Rouby for sequences analysis, and D. Girault, C. Manaute, and C. Moux for technical support. Sequencing experiments were performed on La Plateforme du Vivant, New Caledonia.

**Financial support.** This work was partially supported by the Agence Nationale de la Recherche, France (ANR-09-MIEN-028-02). The funder had no role in study design, data analysis, manuscript preparation, or publication.

**Potential conflicts of interest.** All authors: No reported conflicts.

All authors have submitted the ICMJE Form for Disclosure of Potential Conflicts of Interest. Conflicts that the editors consider relevant to the content of the manuscript have been disclosed.

### References

1. Simmons CP, Farrar JJ, Nguyen vV, Wills B. Dengue. *N Engl J Med* **2012**; 366:1423–32.
2. Wiwanitkit V. Unusual mode of transmission of dengue. *J Infect Dev Ctries* **2010**; 4:51–4.
3. Chen LH, Wilson ME. Transmission of dengue virus without a mosquito vector: nosocomial mucocutaneous transmission and other routes of transmission. *Clin Infect Dis* **2004**; 39:e56–60.
4. Basurko C, Carles G, Youssef M, Guindi WE. Maternal and fetal consequences of dengue fever during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* **2009**; 147:29–32.
5. Warrilow D, Northill JA, Pyke A, Smith GA. Single rapid TaqMan fluorogenic probe based PCR assay that detects all four dengue serotypes. *J Med Virol* **2002**; 66:524–8.
6. Johnson BW, Russell BJ, Lanciotti RS. Serotype-specific detection of dengue viruses in a fourplex real-time reverse transcriptase PCR assay. *J Clin Microbiol* **2005**; 43:4977–83.
7. Kariyawasam S, Senanayake H. Dengue infections during pregnancy: case series from a tertiary care hospital in Sri Lanka. *J Infect Dev Ctries* **2010**; 4:767–75.
8. Duyen HT, Ngoc TV, Ha do T, et al. Kinetics of plasma viremia and soluble nonstructural protein 1 concentrations in dengue: differential effects according to serotype and immune status. *J Infect Dis* **2011**; 203:1292–300.
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Possible West Nile virus transmission to an infant through breast-feeding—Michigan, 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **2002**; 51:877–8.
10. Kuhn S, Twele-Montecinos L, MacDonald J, Webster P, Law B. Case report: probable transmission of vaccine strain of yellow fever virus to an infant via breast milk. *CMAJ* **2011**; 183:E243–5.
11. Traiber C, Coelho-Amaral P, Ritter VR, Winge A. Infant meningoencephalitis caused by yellow fever vaccine virus transmitted via breast-milk. *J Pediatr (Rio J)* **2011**; 87:269–72.
12. Imbert P, Moulin F, Mornand P, Mechai F, Rapp C. Should yellow fever vaccination be recommended during pregnancy or breastfeeding? [in French]. *Med Trop (Mars)* **2010**; 70:321–4.

## Annexe 5 : Accord du CPP

### COMITÉ DE PROTECTION DES PERSONNES SUD-OUEST ET OUTRE MER III

---

Président : Professeur Emmanuel CUNY

Docteur Elodie DESCLOUX  
Service de Médecine Interne  
Centre Hospitalier de Nouvelle Calédonie  
BP J5  
98849 Nouméa cedex

Bordeaux, le 7 octobre 2013.

Réf. CPP : DC 2013/80

Vos réf. : demande d'avis consultatif étude DENNAT

En date du 25 SEPTEMBRE 2013, conformément aux dispositions du Code de la Santé Publique, le CPP Sud-Ouest et Outre Mer III a examiné **la demande de conseil quant au cadre réglementaire** d'un projet de recherche intitulé :

**"ETUDE DU RISQUE DE TRANSMISSION DU VIRUS DE LA DENGUE DE LA MERE A L'ENFANT EN PERIODE PERINATALE ET AU COURS DE L'ALLAITEMENT."**

Le projet d'étude du risque de transmission du virus de la dengue de la mère à l'enfant en période périnatale et au cours de l'allaitement est basée sur un recueil de données issues de la symptomatologie clinique (classification OMS 2009) et de la biologie RT-PCR, sans interférence sur la prise en charge habituelle du couple mère/enfant.

Cette recherche est une étude prospective, observationnelle, descriptive, bicentrique, hors du champ des dispositions régissant la recherche biomédicale et les soins courants.

Pour le Comité et le Président  
Le Secrétaire général



Dr Roland-Igor GALPERINE

1/2

---

Service de Pharmacologie clinique – Groupe Hospitalier Pellegrin – Bât. 1A  
Place Amélie Raba Léon – 33076 BORDEAUX CEDEX  
TÉL/FAX : 33-(0)5.57.81.76.07 – E-mail : cpp.soom3@u-bordeaux2.fr



## COMITÉ DE PROTECTION DES PERSONNES SUD-OUEST ET OUTRE MER III

---

### DOCUMENTS EXAMINES PAR LE COMITE

---

- > Courrier du Docteur Elodie DESCLOUX en date du 28 août 2013 ;
- > Protocole de recherche version 3 du 25 août 2013.

---

### MEMBRES PRESENTS

---

*Catégorie médecins ou personnes qualifiées dans la recherche biomédicale :*

- \* Professeur Emmanuel CUNY (titulaire)
- \* Docteur Igor GALPERINE – pédiatre (titulaire)
- \* Professeur Didier LACOMBE - pédiatre (titulaire)
- \* Professeur Simone MATHOULIN-PELISSIER - compétente en matière biostatistique ou d'épidémiologie (titulaire)
- \* Docteur Driss BERDAÏ (suppléant)

*Catégorie pharmaciens hospitaliers :*

- \* Mademoiselle Marie-Claude SAUX (titulaire)

*Catégorie infirmiers*

- \* Monsieur Olivier BLANCHARD (suppléant)

*Catégorie personnes qualifiées dans le domaine de l'éthique :*

- \* Maître Philippe ROGER (suppléant)

*Catégorie psychologues :*

- \* Professeur Pascal-Henri KELLER (titulaire)
- \* Madame Eva TOUSSAINT (suppléante)

*Catégorie travailleurs sociaux :*

- \* Madame Christiane GABORIAU (suppléante)

*Catégorie juridique :*

- \* Professeur Jean-Pierre DUPRAT (titulaire)
- \* Monsieur Didier CUGY (titulaire)

*Catégorie Représentants des associations agréées de malades et d'usagers du système de santé :*

- \* Monsieur François DUPUY (titulaire)
- \* Monsieur Michel PERDRISSET (titulaire)

## Annexe 6 : Protocole de prélèvement

### PROTOCOLE DE PRELEVEMENTS

#### Etude DENNAT

*Risque de transmission du virus de la dengue de la mère à l'enfant en période périnatale et au cours de l'allaitement*

#### Qui ?

- Mère fébrile dans la semaine précédant l'accouchement
- Mère fébrile au moment de l'accouchement
- Mère fébrile dans les 3 jours suivant l'accouchement

Un consentement oral de participation à l'étude DENNAT doit être recueilli après information de la patiente.

#### Prélèvements à réaliser en salle de naissance :

- Prélèvement sang maternel (1 tube sec pour RT-PCR dengue et sérologie IgM et IgG)
- Prélèvement de sang de cordon systématique (cf. protocole Syphilis – 1 tube sec)\*
- Prélèvement placenta (prélèvement habituel laboratoire de bactériologie)\*
- Prélèvement de liquide gastrique (prélèvement habituel laboratoire de bactériologie)\*

*\*Si le diagnostic est confirmé, le laboratoire de virologie se charge de récupérer ces prélèvements auprès du laboratoire de bactériologie de l'Institut Pasteur*

## Si le diagnostic de dengue est confirmé chez la mère

### A. Conduite à tenir Mère:

- **Mesures d'isolement** (cf. protocole CHT)
- Si la mère allaite : **PAS DE SUSPENSION DE L'ALLAITEMENT SYSTEMATIQUE**

#### INFORMATION BASEE SUR LES CONNAISSANCES ACTUELLES :

- Après investigation de deux cas au CHT, la présence de virus infectant dans le lait maternel a été mise en évidence

- Mais aucun cas d'infection de nouveau-né ou nourrisson par ingestion de lait maternel contaminé n'a jamais été prouvé

- Un protocole d'étude est en cours au CHT pour recueillir des données plus précises.

- **Si la maman souhaite poursuivre l'allaitement et RT-PCR nouveau-né négative à J0 et J3:** organiser un suivi clinique et paraclinique pour son nouveau-né jusqu'à 14 jours de vie (examen clinique toutes les 72 heures, RT-PCR dengue +/- NFS à J7 et J12 (1 microtube EDTA pour les deux)), et si elle souhaite participer, des RT-PCR quotidiennes dans son lait\* (le recueil peut être fait à domicile et ramené le jour de la consultation de suivi du nourrisson).
- **Si la maman souhaite interrompre temporairement son allaitement et PCR nouveau-né négative à J0 et J3 :** mettre en place tire-lait+++ y compris à domicile et poursuivre les résultats quotidiennement dans le lait\*(pour pouvoir reprendre l'allaitement dès que possible)
- *Un consentement oral doit être recueilli après information de la patiente.*

## Si le diagnostic de dengue est confirmé chez la mère

### B. Conduite à tenir pour le nouveau-né :

- Pédiatre avisé
- RT-PCR Dengue nouveau-né sur sang total *1 microtube EDTA*
- *RT-PCR dengue sang de cordon, liquide gastrique et placenta réalisées par le laboratoire de virologie*

→ Si RT-PCR + chez le nouveau-né :

#### - Mesures d'isolement

- Surveillance clinique, NFS et RT-PCR Dengue (*1 microtube EDTA pour les 2 examens*) jusqu'à négativation (toutes les 72h)

→ Si RT-PCR – chez le nouveau-né :

Contrôle RT-PCR Dengue (*1 microtube EDTA*) au moment du Guthrie à J3

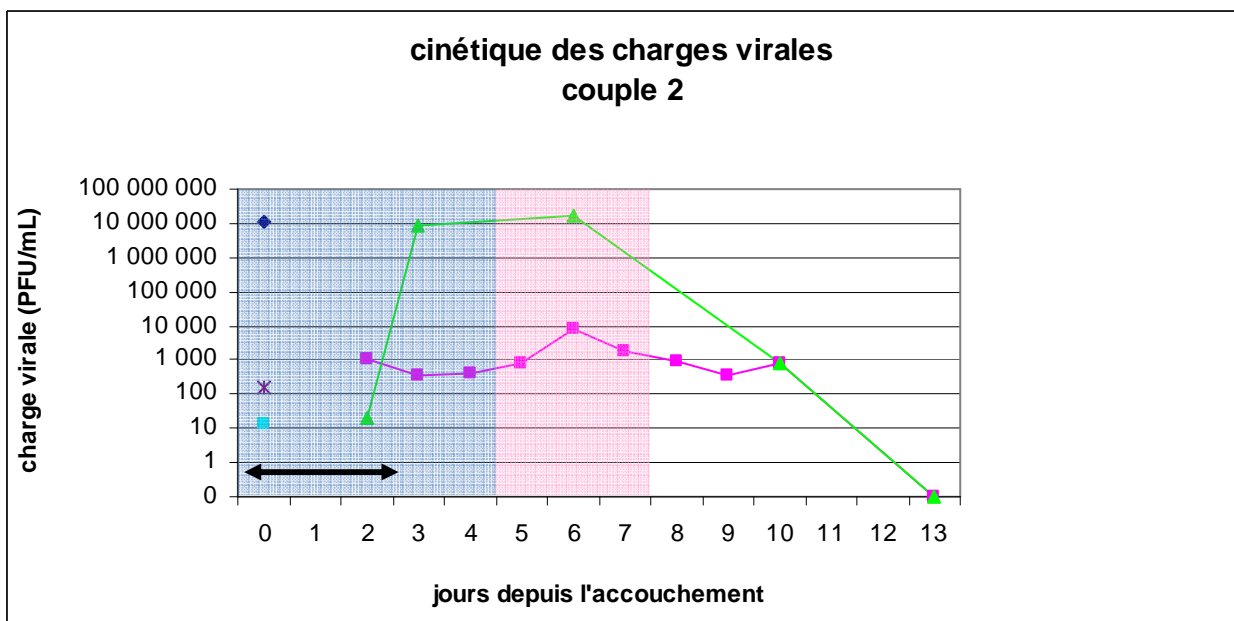
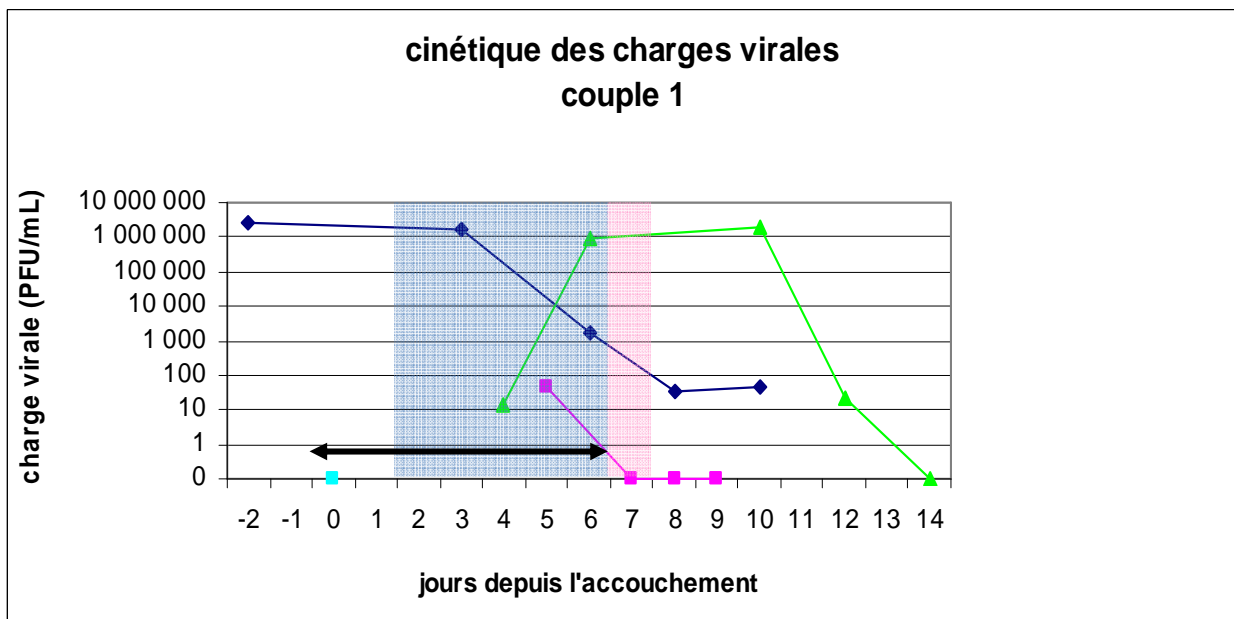
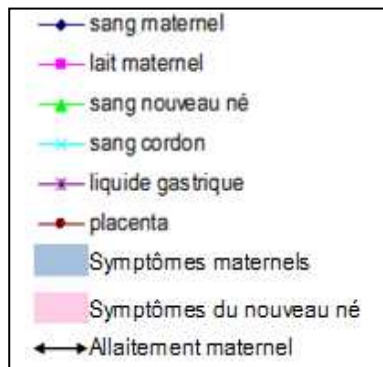
**! Si allaitement maternel** organiser une surveillance clinique rapprochée jusqu'à J14 et contrôle RT-PCR Dengue à J7 et J12 (*cf. supra*)

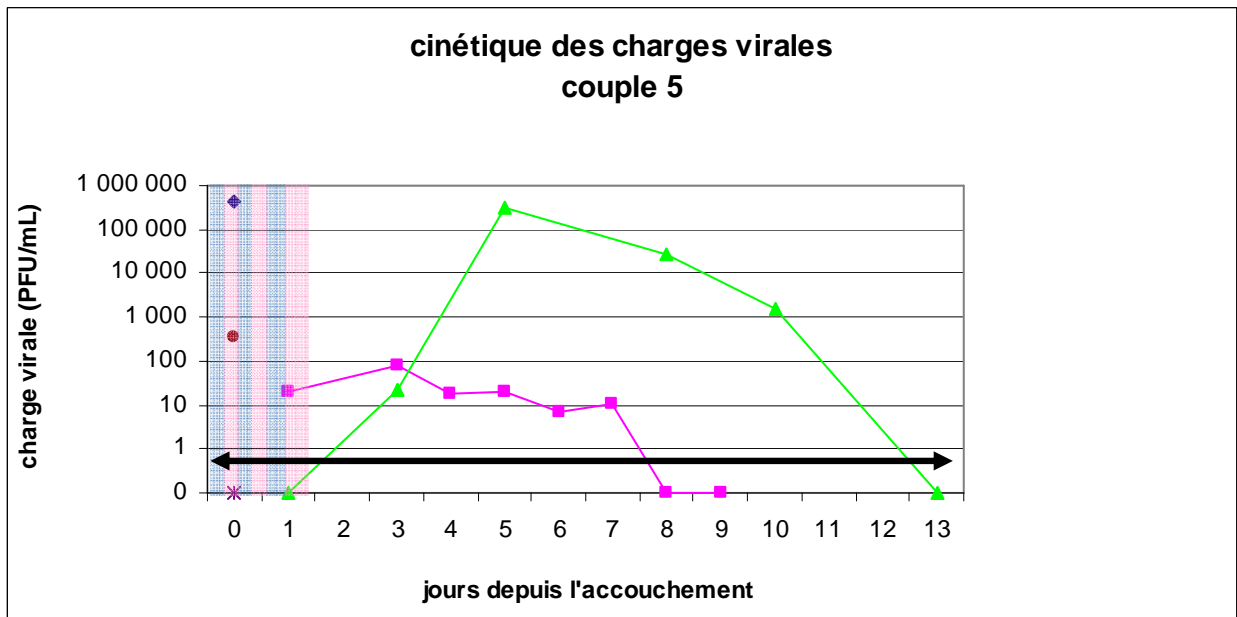
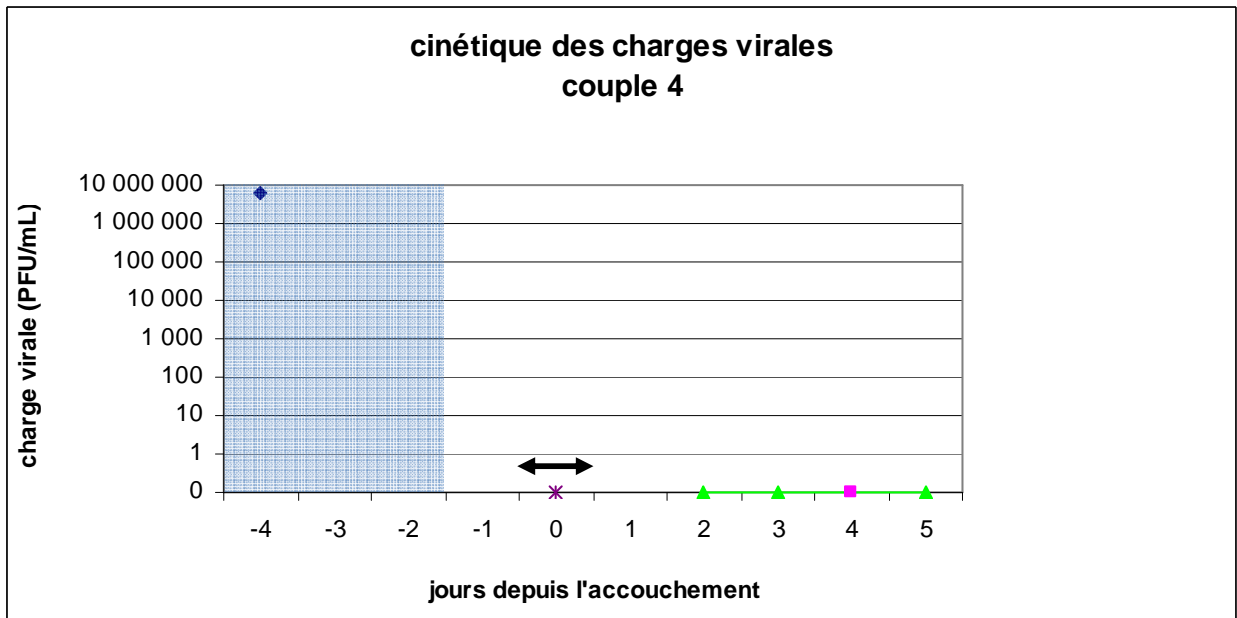
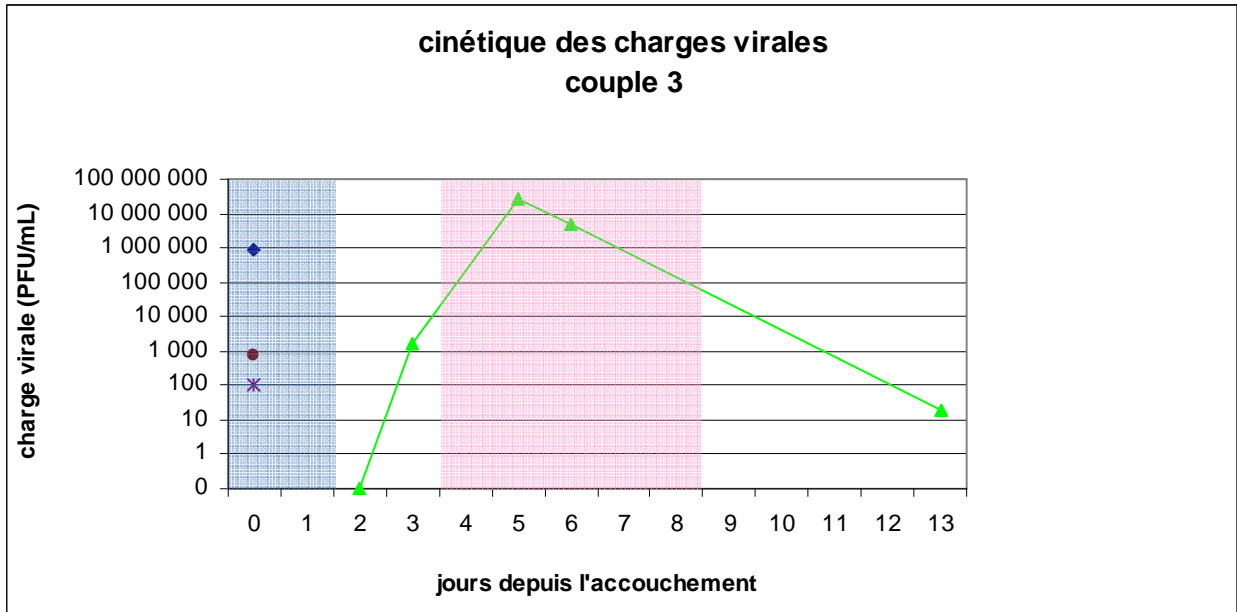
### Conditions pré-analytiques RT-PCR Dengue :

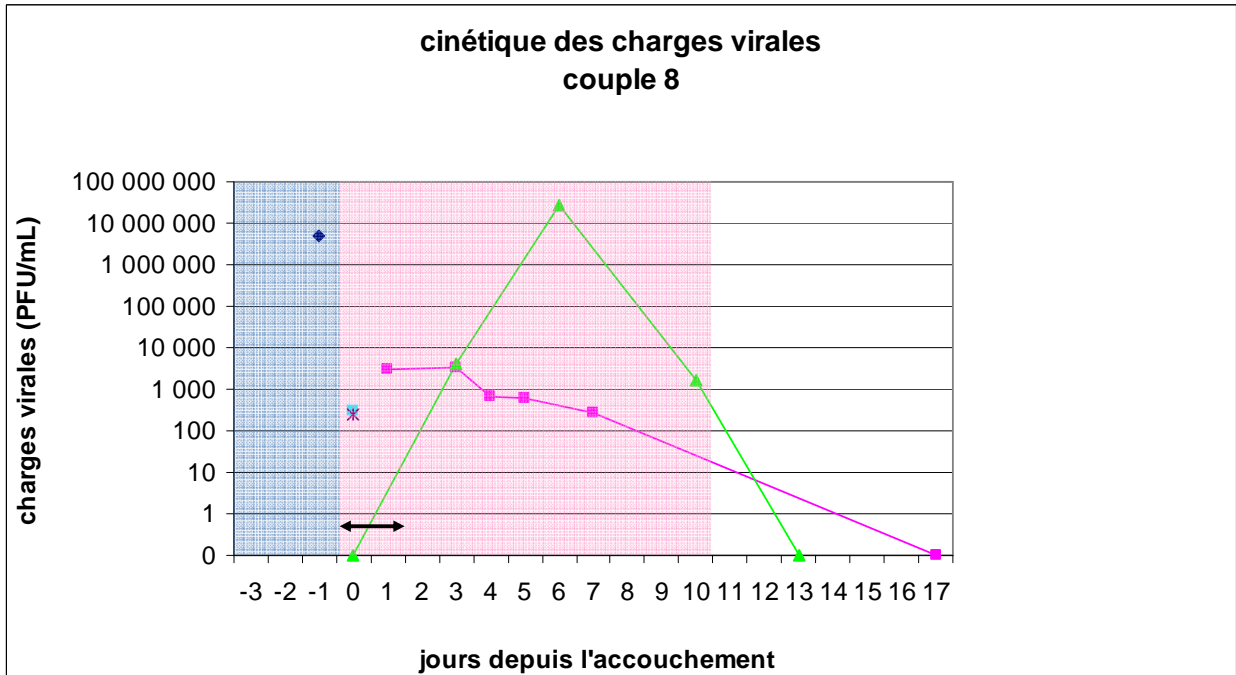
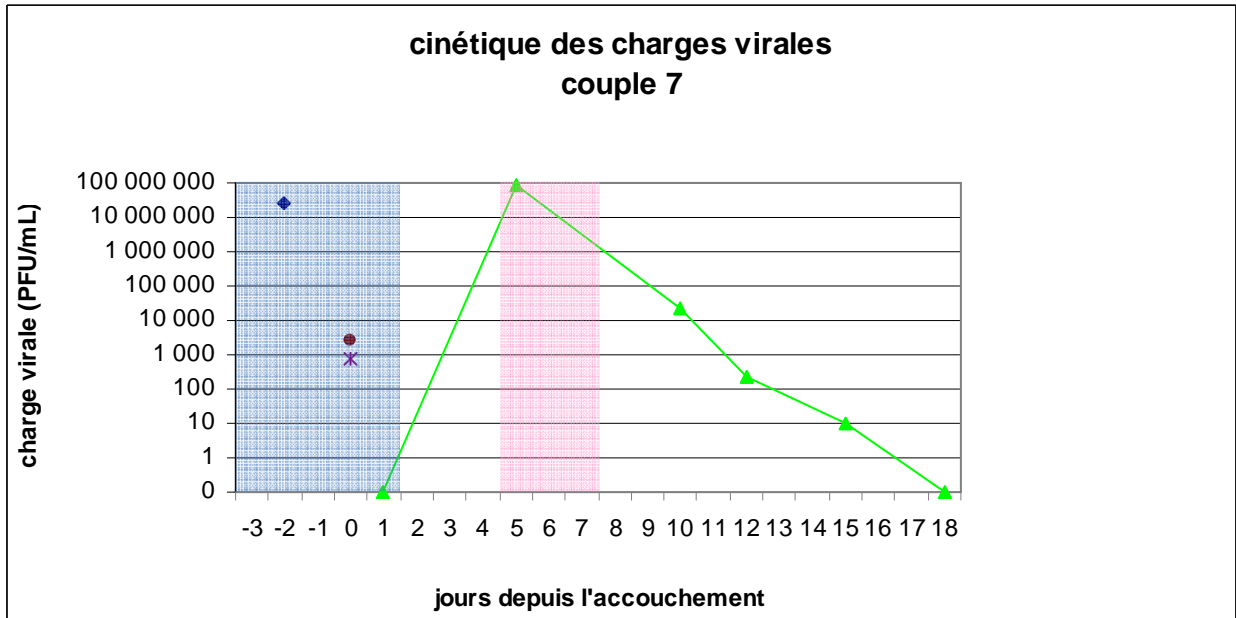
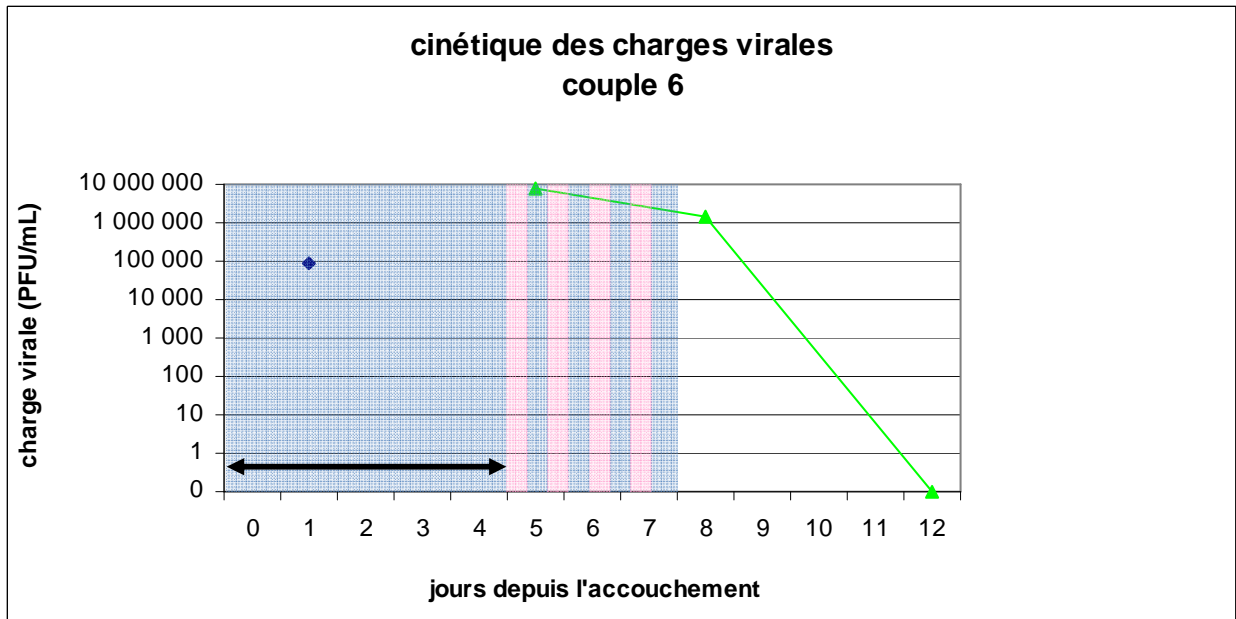
- **Mère : 1 tube sec ou 1 tube EDTA**
- **Nouveau-né : 1 microtube sec ou EDTA (EDTA si NFS demandée)**
- **Lait maternel : 1mL conditionné dans un tube sec ou pot stérile**

**Prélèvements à conserver à +4°C avant envoi au laboratoire d'immuno-sérologie biologie moléculaire de l'Institut Pasteur**

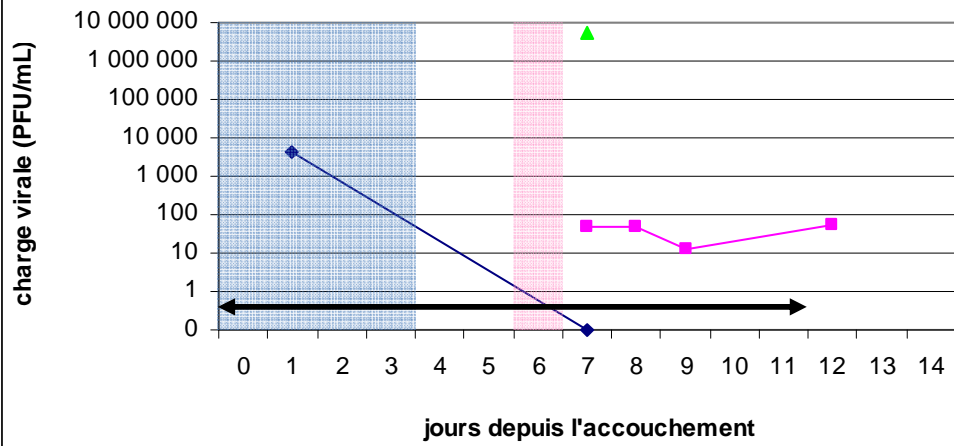
**Annexe 7 : Symptomatologie et cinétique des charges virales dans les différents liquides biologique pour chaque couple mère – enfant de l'étude périnatale**



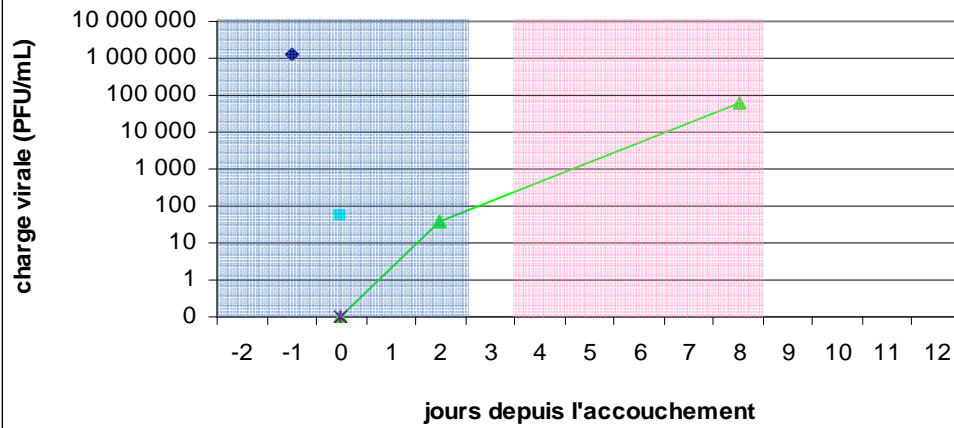




**cinétique des charges virales  
couple 9**



**cinétique des charges virales  
couple 10**





## **Annexe 8 : Recommandations pour la prise en charge du bébé à risque de dengue. Fiche adressée aux pédiatres de maternité.**

### Nouveau né de mère virémique pour la dengue en période néonatale :

- Surveillance clinique rapprochée pendant les 4 premiers jours de vie.
- Recherche de virus de la dengue par RT-PCR sur sang de cordon, et à J3 de vie ou avant la sortie de maternité.
- A défaut de diagnostic biologique fiable, surveillance clinique jusqu'à 10 jours de vie.
- Contre indiquer les sorties précoces de maternité. Sinon, s'assurer d'un aménagement garantissant la surveillance clinique quotidienne du nouveau-né et un accès rapide aux soins si besoin.
- Protection anti vectorielle efficace de la maman : isolement en chambre seule, fermer les fenêtres, moustiquaire, répulsif à moustique.

### Nouveau né symptomatique, quel que soit le statut clinique maternel vis-à-vis de la dengue :

- L'hypothèse d'une dengue néonatale ne doit pas retarder un bilan d'infection materno-fœtale bactérienne et la mise en route d'une antibiothérapie au moindre doute.
- En période épidémique, le bilan d'une suspicion d'infection materno-fœtale doit comporter une recherche du virus de la dengue par RT-PCR.

### Nouveau-né présentant une RT-PCR positive pour le virus de la dengue en période périnatale :

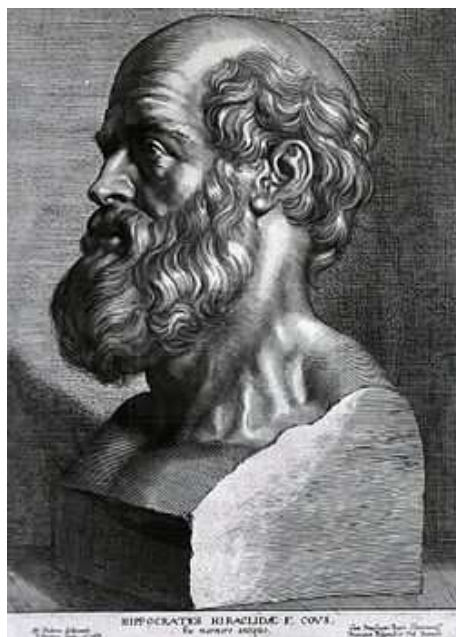
- Numération plaquettaire à J3 du début des symptômes, et surveillance jusqu'à ré ascension.
- Hospitalisation préventive en cas de thrombopénie profonde ( $< 30.10^3/\text{mm}^3$ ).
- Contre indication des gestes invasifs tels que prise de la température rectale, injections intramusculaires et la prise d'AINS.
- Protection antivectorielle efficace du nouveau né : isolement en chambre seule, fermer les fenêtres, moustiquaire, répulsif à moustique adapté à son âge.

### Maman allaitant, présentant une RT-PCR positive pour le virus de la dengue :

La question d'allaitement est encore problématique et sans réponse.

- A la naissance, proposer une suspension temporaire de l'allaitement.
- Prélever quotidiennement du lait pour recherche de virus de la dengue par RT-PCR, conservation immédiate à 4°C.
- Mettre à disposition un tire lait électrique pour maintenir la lactation.
- Reprendre l'allaitement au sein dès négativation des prélèvements de lait.

# **SERMENT D'HIPPOCRATE**



*En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'HIPPOCRATE,*

*Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.*

*Je donnerai mes soins gratuitement à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.*

*Admis dans l'intimité des maisons, mes yeux n'y verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.*

*Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.*

*Je garderai le respect absolu de la vie humaine.*

*Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.*

*Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.  
Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.*

# Résumé

## Objectifs

La dengue est l'arbovirose humaine la plus fréquente. Le risque de transmission non vectorielle du virus de la mère à l'enfant est mal connu. L'objectif de l'étude était d'étudier le risque de transmission verticale du virus de la dengue en période périnatale et au cours de l'allaitement.

## Méthode

Une étude prospective descriptive a été menée pendant la plus grande épidémie de dengue survenue en Nouvelle-Calédonie (région Pacifique Sud) en 2012-2013. Le virus a été recherché et quantifié par RT-PCR chez des femmes enceintes ou allaitantes (sang, placenta, lait), et leurs nourrissons (sang de cordon, liquide gastrique, sang périphérique). Le taux de transmission maternofoetale a été calculé et l'évolution clinico-biologique des femmes enceintes et/ou allaitantes infectées et de leurs nouveau-nés a été étudiée.

## Résultats

Sur 10 813 cas de dengue survenus en Nouvelle Calédonie en 2012-2013, 10 femmes enceintes étaient virémiques à l'accouchement. Un accouchement prématuré et trois complications obstétricales hémorragiques sont survenus, conduisant au décès dans un cas. Neuf des 10 nouveau-nés (90%) ont été contaminés. Tous symptomatiques, à partir de leur naissance et parfois 7 jours après, ils ont présenté désaturation (4 cas), geignements (3 cas), difficultés alimentaires (3 cas), hypotonie (2 cas), éruption (1 cas), marbrures (1 cas), thrombopénie profonde non hémorragique (1 cas), et encéphalopathie anoxo ischémique (1 cas). Le lait de 6 de ces mamans et de 6 mamans allaitantes a été prélevé, le virus a été détecté dans 9/12 prélèvements (75%).

## Conclusion

Le risque de transmission verticale du virus de la dengue lorsque la mère est virémique à l'accouchement est très élevé (90%) avec un risque important de complications obstétricales et néonatales. Les voies de transmission virale sont difficiles à élucider mais un risque de transmission par le lait maternel ne peut être écarté. Une surveillance prolongée des nouveaux nés semble justifiée. Des études complémentaires sont nécessaires pour élaborer des recommandations préventives pour limiter le risque de transmission du virus de la dengue de la mère à l'enfant.

## Mots Clés

Dengue, transmission verticale, transmission materno foetale, transmission périnatale, lait maternel.