



HAL
open science

ÉVALUATION DU RISQUE DE TRANSMISSION D'ARBOVIRUS (RÉ-) ÉMERGENTS PAR ALLAITEMENT ET CARACTÉRISATION DES MÉCANISMES ASSOCIÉS

Aurore Vidy

► **To cite this version:**

Aurore Vidy. ÉVALUATION DU RISQUE DE TRANSMISSION D'ARBOVIRUS (RÉ-) ÉMERGENTS PAR ALLAITEMENT ET CARACTÉRISATION DES MÉCANISMES ASSOCIÉS. 2024, 10.3406/bavf.2024.71107 . pasteur-04827659

HAL Id: pasteur-04827659

<https://pasteur.hal.science/pasteur-04827659v1>

Submitted on 9 Dec 2024

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

ÉVALUATION DU RISQUE DE TRANSMISSION D'ARBOVIRUS (RÉ-)ÉMERGENTS PAR ALLAITEMENT ET CARACTÉRISATION DES MÉCANISMES ASSOCIÉS

ASSESSMENT OF THE RISK OF TRANSMISSION OF (RE-) EMERGING ARBOVIRUSES THROUGH BREASTFEEDING AND CHARACTERIZATION OF ASSOCIATED MECHANISMS

Aurore VIDY¹ 

Moment scientifique de la Section Enseignement et recherche du 12 septembre 2024, manuscrit accepté le 3 octobre 2024

Mots-Clés : Transmission virale, allaitement, franchissement d'épithélium, arbovirus (ré-) émergents, virus Zika, virus de la fièvre jaune

Keywords: Viral transmission, breastfeeding, epithelial crossing, (re-) emerging arboviruses, Zika virus, yellow fever virus

INTRODUCTION

Il est très difficile d'évaluer l'importance de l'allaitement maternel dans la transmission des arbovirus de la mère à l'enfant en raison de la coexistence dans les zones épidémiques de la transmission potentielle par allaitement et de la transmission par l'insecte vecteur. Par conséquent, les études d'infection *in vivo* sur modèle animal et *in vitro* restent le seul moyen de mesurer l'existence, l'efficacité et les mécanismes de ce mode de transmission. Ce type d'étude est important afin d'affiner les analyses de risque de transmission et les mesures préventives à mettre en place, notamment dans le contexte mondial de l'expansion géographique des insectes vecteurs transmettant ces virus.

1- Docteur d'Université, HDR Maître de conférences en virologie, Université Paris Cité
Unité d'Epidémiologie et Physiopathologie des Virus Oncogènes, Institut Pasteur
E-mail : aurore.vidy@pasteur.fr



De nombreux arbovirus émergents ou ré-émergents appartiennent à la famille des *Flaviviridae*, comme les virus Zika (ZIKV) et de la fièvre jaune (YFV), qui sont principalement transmis par piqûres de moustiques (notamment *Aedes aegypti*). Depuis les dernières épidémies provoquées par ZIKV en Polynésie française (2013-2014) et en Amérique Latine (2015-2016), plusieurs cas de transmission directe interhumaine ont été rapportés, *in utero* et entre partenaires sexuels. L'infection par ZIKV des nourrissons nés de mères infectées peut provoquer des désordres neurologiques importants. En outre, de fortes charges virales ont été retrouvées dans le lait de mères infectées, et quelques cas probables de transmission au nourrisson allaité ont été rapportés (Desgraupes *et al.* 2021). La fièvre jaune peut provoquer une hépatite sévère et/ou une fièvre hémorragique. Le virus est endémique dans les régions inter-tropicales d'Afrique, d'Amérique centrale et d'Amérique du Sud, et induit au moins 30 000 décès dans le monde chaque année. Il existe des vaccins vivants atténués (issus de la souche 17D) très efficaces, mais la couverture vaccinale reste trop faible. Les souches vaccinales du virus ne sont pas transmissibles par les moustiques, mais leur transmission au nourrisson a été rapportée suite à la vaccination de femmes allaitantes, induisant des encéphalites et prouvant la transmissibilité de ces souches par allaitement (Desgraupes *et al.* 2021). La présence de génome viral de souches virales sauvages a aussi été rapportée dans le lait de mères infectées, mais l'infectiosité n'a pas été testée (Ribeiro *et al.* 2020).

Toutes ces observations ne permettent pas de conclure catégoriquement sur la capacité de transmission des virus ZIKV et YFV (souches sauvages) par le lait maternel, et il est très difficile d'évaluer la part de la transmission du virus sauvage de la mère à l'enfant en période épidémique car les moustiques vecteurs sont également présents. Les objectifs de différents projets que j'ai encadrés depuis 2016 (avec 2 co-encadrements et une direction de thèse) ont visé à démontrer et quantifier le risque de transmission par allaitement des virus ZIKV et YFV sur modèle souris, ainsi que les mécanismes associés, comme le franchissement des épithélia mammaire et digestif, et l'impact du lait maternel sur l'infectiosité virale.

RÉSULTATS

Évaluation du risque de transmission des virus ZIKV et YFV par allaitement

En se basant sur les postulats de Koch, cinq critères ont été proposés afin de déterminer le potentiel d'un virus à être transmis par le lait maternel (Van de Perre *et al.* 2021) : l'identification d'une infection chez des enfants allaités par une mère infectée, la présence de virus dans le lait (génome viral, antigènes viraux, particules), l'infectiosité du virus présent dans le lait, la transmissibilité du virus par voie orale (modèle animal) et la reproduction de la transmission mère-enfant lors de l'allaitement chez un modèle animal. Ce sont ces quatre derniers critères que nous testons dans nos études sur les virus ZIKV et YFV sur le modèle de souris A129 (IFNAR^{-/-}), modèle déjà couramment utilisé pour les études d'infection par de nombreux flavivirus.

L'infection de souris femelles (non-lactantes ou lactantes) par voie sous-cutanée (s.c.) avec les virus ZIKV et YFV conduit à la dissémination du virus aux 5 paires de glandes mammaires, avec un pic de charge virale à 6 jours post-infection pour les deux virus (Figure 1A) (Hubert *et al.* 2019). L'infection *post-partum* de femelles lactantes nous a également permis de mesurer un titre viral infectieux dans le lait maternel murin : $\approx 3 \times 10^8$ UFP (Unité Formant Plaque)/mL à 4 jours post-infection pour ZIKV, et entre 10^3 et 10^4 UFP/mL à 6 jours post-infection pour YFV (souche sauvage Asibi et souche vaccinale 17D-204) (Figure 1B). Ces données confirment les observations cliniques d'une forte charge virale infectieuse dans le lait maternel humain provenant de femmes infectées par ZIKV. Lors de ces expériences, nous avons également mesuré l'infectiosité de différentes fractions du lait séparées par centrifugation : le lactosérum (qui contient les immunoglobulines, les autres protéines du lait, le lactose, les sels minéraux et potentiellement des particules virales libres), la crème (qui contient les globules gras et potentiellement aussi des particules virales libres) et les cellules (majoritairement des cellules épithéliales issues de l'épithélium mammaire par desquamation, et moins de 2% de cellules immunitaires dans le lait murin mature analysé). Notre étude a montré l'infectiosité des trois fractions du lait pour ZIKV, indiquant de ce fait la présence de particules virales libres et de virus associés aux cellules (Desgraupes *et al.* 2022) ; en ce qui concerne YFV, nous avons montré la présence de particules libres infectieuses dans le lactosérum.

La charge virale infectieuse du lait des souris infectées conduit à une transmission efficace de ZIKV aux souriceaux allaités (virus détecté dans les rates de 39 à 90 % des souriceaux selon les expériences, Figure 1D). Notre étude a démontré la transmission par allaitement d'une souche asiatique de virus provenant de l'épidémie au Brésil (Desgraupes *et al.* 2022 ; Hubert *et al.* 2020), tandis qu'une autre équipe a démontré par la suite la transmission d'une autre souche asiatique, confirmant ces résultats (Pang *et al.* 2021).

Nous avons également démontré la possibilité d'infecter efficacement des souriceaux A129 directement par voie intra-oesophagienne avec ZIKV (64 % d'efficacité d'infection) et avec YFV (30 % d'efficacité d'infection pour la souche Asibi, 23 % pour la souche 17D-204), ce qui confirme la possibilité de passage du virus (sous forme de particule libre) à travers l'épithélium intestinal (Figure 1C). Enfin, l'infection de ces souriceaux par voie intra-oesophagienne conduit à une invasion du système nerveux central pour les deux virus, mais cette dernière observation nécessiterait une étude particulière afin de déterminer la neuro-virulence associée à cette voie d'infection (Hubert *et al.* 2020).



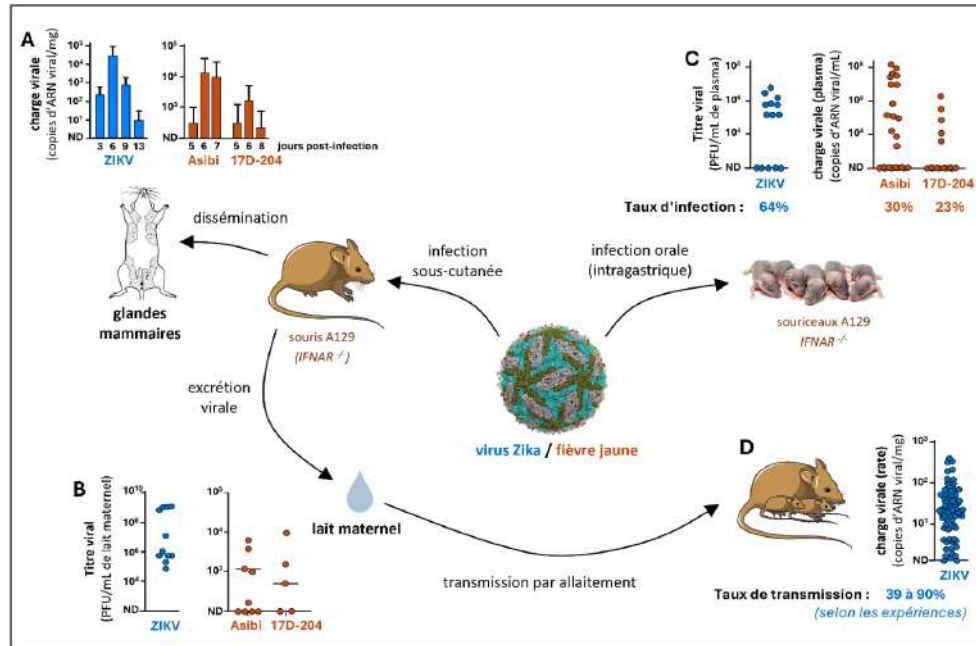


Figure 1 : Étapes et efficacité de la transmission des virus Zika (ZIKV) et de la fièvre jaune (YFV) par allaitement

A. Des souris femelles A129 ont été infectées avec 6×10^6 FFU (Focus Forming Units) de la souche Brésil/2016 (ZIKV), ou avec 10^5 PFU (Plaque Forming Units) des souches Asibi et 17D-204 (YFV) par voie sous-cutanée (s.c.). Les glandes mammaires ont été prélevées à différents jours post-infection pour quantification de la charge virale par qRT-PCR (amorces spécifiques de la séquence NS5 (ZIKV) ou NS3 (YFV) et utilisation d'une gamme étalon).

B. Des femelles A129 ont été infectées post-partum avec 10^6 FFU de la souche Brésil/2016 (ZIKV) ou avec 10^5 PFU des souches Asibi et 17D-204 (YFV) par voie s.c.. Le lait maternel a été prélevé après 4 (ZIKV) ou 6 (YFV) jours d'infection. Le titre viral infectieux a été quantifié par la méthode des plages de lyse (sur cellules Vero).

C. Des souriceaux A129 ont été infectés par voie orale (à l'aide d'une sonde intra-oesophagienne) avec 10^5 FFU de la souche Brésil/2016 (ZIKV) ou avec 2×10^4 PFU des souches Asibi et 17D-204 (YFV). Après 6 jours d'infection, le sang a été prélevé et le titre viral infectieux (ZIKV) ou la charge virale (ARN viral de YFV) plasmatiques ont été quantifiés par la méthode des plages de lyse et par qRT-PCR, respectivement. Le taux de souriceaux infectés a été calculé à partir des résultats.

D. Des femelles A129 ont été infectées post-partum avec 10^6 PFU de souche Brésil/2016 (ZIKV) par voie s.c.. Les rates des souriceaux ont été prélevées 4 jours après l'infection des mères, et la charge virale (ARN viral de ZIKV) a été quantifiée par qRT-PCR. Le taux de souriceaux infectés (taux de transmission) a été calculé à partir de ces résultats.

Impact du lait maternel et de ses composants sur l'infectiosité virale

Suite à l'épidémie au Brésil en 2015-2016, plusieurs études ont tenté de rassembler des données concernant la charge virale et l'infectiosité du lait maternel de femmes infectées par ZIKV, avec des conclusions très variées concernant le risque infectieux lié à l'allaitement. Outre la charge virale, un autre facteur qui peut faire fortement varier l'infectiosité du lait maternel est l'existence d'un effet antiviral potentiel du lait lui-même. Il a été suggéré précédemment que le lait maternel a un effet antiviral sur plusieurs flavivirus et/ou arbovirus dont ZIKV (Pfaender *et al.* 2013 ; Pfaender *et al.* 2017). Cependant, il semble que le mode de conservation du lait module sa capacité antivirale. Ainsi, la conservation du lait maternel humain à 4°C induit l'apparition d'une forte capacité antivirale contre ZIKV, qui n'existe pas dans le lait « frais » (testé immédiatement après prélèvement) (Pfaender *et al.* 2017 ; Conzelmann *et al.* 2019). Cette incubation à 4°C induit également une augmentation de la concentration en acides gras libres dans le lait, qui est probablement due à une déstructuration des globules gras (Pfaender *et al.* 2013). Nos propres expériences ont permis de démontrer le fort effet antiviral de certains de ces acides gras à chaîne longue, saturés ou insaturés (C18:0, C18:1, C18:2, C18:3) contre ZIKV, tandis que des acides gras à chaîne plus courte (C10:0 et C14:0) ne montrent aucun effet dans le cadre de concentrations physiologiques (Desgraupes *et al.* 2022). Les acides gras que nous avons testés sont parmi les plus abondants dans le lait maternel.

Infection productive des cellules épithéliales mammaires et intestinales et franchissement de l'épithélium intestinal sans rupture d'étanchéité

L'épithélium mammaire est constitué de deux strates cellulaires : une couche interne en contact avec le lumen (cellules luminales qui secrètent le lait) et une couche externe en contact avec la matrice extracellulaire et le stroma (cellules myoépithéliales ayant des propriétés contractiles, impliquées dans l'éjection du lait). L'infection *in vitro* de lignées humaines de cellules épithéliales mammaires luminales et myoépithéliales, ainsi que de cellules épithéliales mammaires primaires, par différentes souches de ZIKV et YFV a montré



que les cellules épithéliales sont sensibles et permissives à l'infection (Figure 2A et résultats non montrés ici). On peut donc supposer que l'infection productive de ces types cellulaires pourrait participer à l'excrétion virale dans le lait (Hubert *et al.* 2019).

De plus, les cellules mammaires représentent la très grande majorité des cellules présentes dans le lait maternel ; il est donc probable que le virus associé aux cellules quantifié dans le lait maternel murin soit associé à des cellules épithéliales mammaires. L'épithélium intestinal, quant à lui, est monostratifié et majoritairement composé d'entérocytes reliés par des jonctions serrées. Parmi les autres types cellulaires se trouvent entre autres les cellules calciformes qui produisent le mucus, les cellules de Paneth et les cellules M (« Microfold cells », spécialisées dans la transcytose d'antigènes issus de la lumière intestinale). Des cellules épithéliales intestinales Caco-2 (lignée humaine entérocytaire) ont été cultivées sur filtre Transwell jusqu'à obtention d'une monocouche épithéliale polarisée et étanche (étanchéité vérifiée par mesure d'une résistance transépithéliale > 250 Ω.cm², par test de perméabilité paracellulaire à l'aide de FITC-Dextran (5 kDa), et par immuno-marquage des jonctions serrées puis analyse par microscopie). L'ajout de ZIKV ou YFV au pôle apical (luminal) de cette monocouche épithéliale n'induit aucune rupture d'étanchéité de la barrière, mais conduit à l'infection des entérocytes, avec répllication du génome viral et sécrétion de virions à la fois au pôle apical et au pôle basolatéral. Cette production virale au pôle basolatéral pourrait permettre le franchissement de l'épithélium *in vivo* (Figures 2B à 2F pour YFV) (Hubert *et al.* 2020).

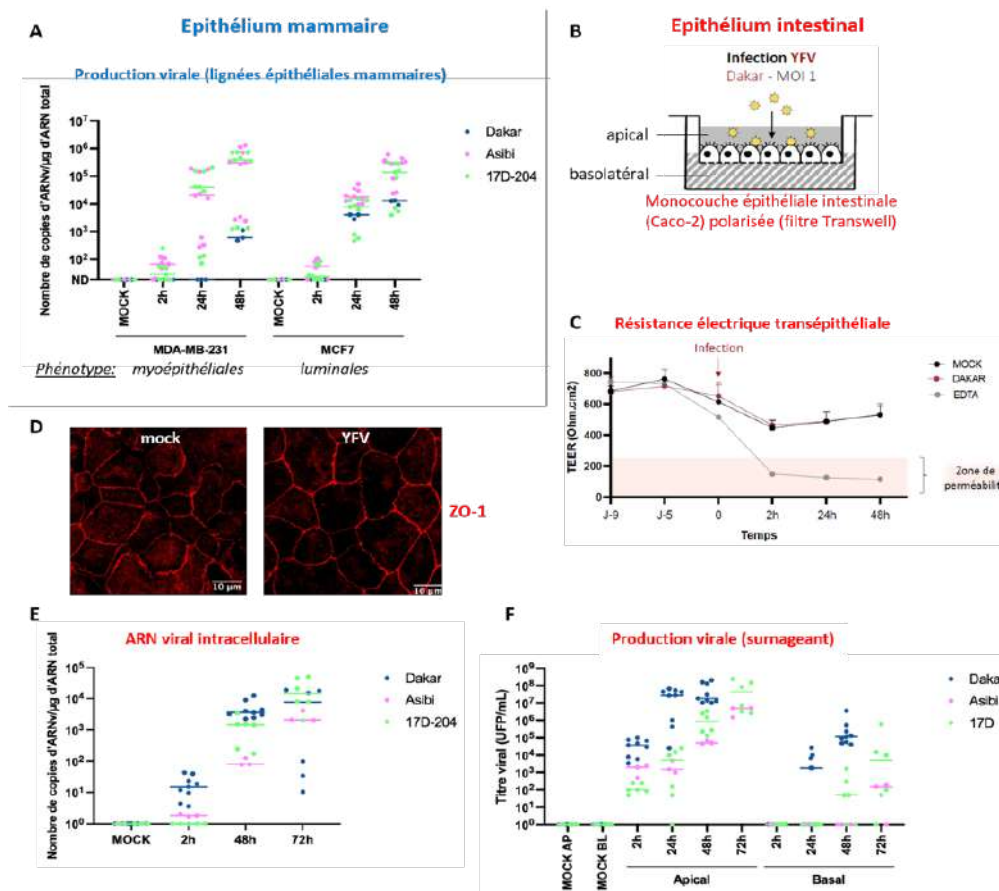


Figure 2 : Infection productive des cellules épithéliales mammaires et intestinales (lignées) par le virus YFV, et franchissement viral de l'épithélium sans perte d'intégrité de celui-ci

A. Des lignées de cellules épithéliales mammaires MDA-MB-231 (phénotype myoépithélial) et MCF7 (phénotype luminal) ont été infectées avec les souches sauvages Dakar et Asibi et la souche vaccinale 17D-204 du virus YFV. Les surnageants d'infection ont été titrés par la méthode des plages de lyse après 2, 24 et 48 h d'infection.

B-F. Des cellules Caco-2 (lignée entérocytaire) ont été cultivées sur filtre Transwell pendant 3 semaines jusqu'à obtention d'une monocouche épithéliale polarisée et imperméable (TEER>250 Ω.cm²), puis ont été infectées par leur pôle apical avec la souche Dakar (B, C, D) ou avec les 3 souches Dakar, Asibi et 17D-204 (E, F). C L'intégrité de l'épithélium a été suivie par mesure de la TEER. D Les cellules ont été fixées après 24 h d'infection et immuno-marquées avec un anticorps anti-ZO-1 (Zonula occludens, protéine de jonction serrée) puis observées en microscopie confocale.

E. Les ARN intracellulaires ont été extraits après 2, 48 et 72 h d'infection et l'ARN viral (séquence NS3) a été quantifié par qRT-PCR.

F. Les surnageants apicaux et basolatéraux ont été prélevés après 2, 24, 48 et 72 h d'infection et les particules virales infectieuses ont été quantifiées par la méthode des plages de lyse.

Le terme MOCK désigne le groupe témoin, traité avec les mêmes conditions et réactifs que les groupes infectés, mais non exposés au virus.



CONCLUSION

Nos résultats *in vivo* ont permis de compléter la validation des critères proposés pour démontrer la transmission d'un arbovirus par allaitement (Van de Perre *et al.* 2021), notamment pour ZIKV. Ainsi, nous avons prouvé, sur modèle souris, la présence de virus infectieux dans le lait maternel et sa capacité de transmission par voie orale ou directement par allaitement. Nous avons également pu identifier des mécanismes pouvant expliquer la capacité des virus ZIKV et YFV à franchir l'épithélium mammaire pour être sécrétés dans le lait maternel, puis leur capacité à franchir l'épithélium intestinal du nourrisson.

Ces résultats suggèrent une forte probabilité de transmission virale par allaitement, en particulier pour ZIKV. Des expériences sont en cours avec YFV concernant la transmission par allaitement sur modèle souris, mais les résultats préliminaires, comme ceux décrits sur la dissémination virale dans les glandes mammaires et l'infection par voie orale, indiquent tous une bien meilleure efficacité d'infection/transmission de ZIKV comparé à YFV (souche sauvage ou vaccinale). Sachant que la transmission par allaitement de la souche vaccinale d'YFV est démontrée, bien que son efficacité n'ait pas été quantifiée, ces résultats sont particulièrement inquiétants quant au risque associé à cette voie de transmission pour ZIKV.

La persistance d'un virus dans le lait est un facteur essentiel dans l'efficacité de la transmission par allaitement. Combinés, les résultats de différentes équipes de recherche et les nôtres indiquent l'impact très important de la méthode de conservation du lait maternel sur l'infectiosité virale, avec un effet antiviral très important sur ZIKV qui apparaît uniquement après conservation du lait à 4°C et qui est très probablement médié par la libération d'acides gras libres à longue chaîne. Cet impact pourrait avoir d'importantes conséquences dans l'analyse des études cliniques ou épidémiologiques visant à étudier l'infectiosité du lait de femmes infectées. Selon le protocole utilisé, l'infectiosité du lait maternel pourrait en effet être très sous-estimée et conduire à une sous-estimation du risque associé à ce mode de transmission. De plus, de telles informations pourraient éventuellement permettre, en zone épidémique, d'utiliser les propriétés antivirales de certaines méthodes de conservation pour limiter le risque de transmission virale au nourrisson, sans les priver des bienfaits physiologiques de l'allaitement.

Nous envisageons de compléter ces travaux par une étude plus approfondie sur le tropisme viral dans les glandes mammaires, au niveau des types cellulaires, grâce à des approches d'immunomarquage et/ou d'hybridation *in situ* sur coupes de glandes mammaires de souris. Par ailleurs, concernant le franchissement de la barrière intestinale *in vitro*, cette étude sera complétée à l'aide d'un modèle plus complexe comportant des cellules caliciformes ou à l'aide d'organoïdes intestinaux, afin d'étudier le rôle d'autres types cellulaires intestinaux ainsi que l'impact de la présence de mucus au niveau apical sur l'efficacité de franchissement viral.

RÉFÉRENCES

- Conzelmann C, Zou M, Groß R, Harms M, Röcker A, Riedel CU *et al.* Storage-dependent generation of potent anti-ZIKV activity in human breast milk. *Viruses*. 2019; 11: 591. <https://doi.org/10.3390/v11070591>
- Desgraupes S, Hubert M, Gessain A, Ceccaldi P-E, Vidy A. Mother-to-child transmission of arboviruses during breastfeeding: from epidemiology to cellular mechanisms. *Viruses*. 2021; 13: 1312. <https://doi.org/10.3390/v13071312>
- Desgraupes S, Jeannin P, Gessain A, Ceccaldi P-E, Vidy A. Excretion of cell-free and cell-associated Zika virus into breast milk of infected dams and identification of antiviral factors. *Viruses*. 2022; 14: 851. <https://doi.org/10.3390/v14050851>
- Hubert M, Chiche A, Legros V, Jeannin P, Montange T, Gessain A *et al.* Productive infection of mouse mammary glands and human mammary epithelial cells by Zika virus. *Viruses*. 2019; 11: 950. <https://doi.org/10.3390/v11100950>
- Hubert M, Jeannin P, Burlaud-Gaillard J, Roingard P, Gessain A, Ceccaldi P-E *et al.* Evidence that Zika virus is transmitted by breastfeeding to newborn A129 (Ifnar1 knock-out) mice and is able to infect and cross a tight monolayer of human intestinal epithelial cells. *Front Microbiol*. 2020; 11: 524678. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.524678>
- Pang W, Lin Y-L, Xin R, Chen X-X, Lu Y, Zheng C-B *et al.* Zika virus transmission via breast milk in suckling mice. *Clin Microbiol Infect*. 2021; 27: 469.e1-469.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.04.021>
- Pfaender S, Heyden J, Friesland M, Ciesek S, Ejaz A, Steinmann J *et al.* Inactivation of hepatitis C virus infectivity by human breast milk. *J Infect Dis*. 2013; 208: 1943–1952. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit519>
- Pfaender S, Vielle NJ, Ebert N, Steinmann E, Alves MP, Thiel V. Inactivation of Zika virus in human breast milk by prolonged storage or pasteurization. *Virus Res*. 2017; 228: 58–60. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2016.11.025>
- Ribeiro AF, Brasil LMCR, Prada RM, Nogueira JS, Maeda AY, Sztajn bok J. Detection of wild-type yellow fever virus in breast milk. *Pediatr Infect Dis J*. 2020; 39: 68–69. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000002496>
- Van de Perre P, Molès J-P, Nagot N, Tuailon E, Ceccaldi P-E, Goga A *et al.* Revisiting Koch's postulate to determine the plausibility of viral transmission by human milk. *Pediatr Allergy Immunol*. 2021; 32: 835–842. <https://doi.org/10.1111/pai.13473>



QUESTIONS

Questions de Bernard Salle

Dans les études chez la souris, le virus semble persister moins longtemps que chez la femme. Pourquoi ?

Réponse d'Aurore Vidy

Effectivement, le virus Zika peut persister sous forme infectieuse très longtemps dans le lait maternel humain (jusqu'à 33 jours après le début des symptômes). Les prélèvements de lait étant difficiles à réaliser chez la souris, nous n'avons pas pu réaliser de cinétique. En revanche, nous avons pu détecter du virus infectieux dans les glandes mammaires de souris infectées pendant une dizaine de jours. Nous ignorons la ou les causes de cette différence. En ce qui concerne le virus de la fièvre jaune, nous ne possédons aucune donnée sur la persistance du virus sauvage infectieux dans le lait maternel, mais du génome viral provenant de la souche vaccinale de la fièvre jaune a pu être détecté dans le lait d'une femme vaccinée jusqu'à 24 jours post-vaccination. Chez la souris, du virus de la fièvre jaune (souche Asibi) infectieux est détectable dans les glandes mammaires pendant 7 ou 8 jours post-infection.

Questions de Bernard Salle

Le lait du lactarium n'est-il pas congelé ?

Réponse d'Aurore Vidy

Dans le cadre du fonctionnement normal du lactarium, le lait des donneuses est congelé à -20°C avant collecte. Pour notre étude, les donneuses volontaires prélèvent une petite quantité de lait le jour même de la collecte et ces échantillons sont conservés quelques heures à température ambiante jusqu'à utilisation immédiate dans notre laboratoire.

Question de Jean Derégnacourt

Ces résultats font penser aux observations sur le virus H5N1 chez les bovins et l'infection de chats qui impliquent des récepteurs au virus. Connaît-on le ou les récepteurs dans le cas du virus Zika ?

Réponse d'Aurore Vidy

La glycoprotéine d'enveloppe virale du virus Zika, qui permet l'attachement à la cellule (grâce à une interaction avec les protéoglycanes à héparane sulfate (HSPG)) puis l'entrée par endocytose, interagit avec de nombreuses molécules à la membrane cellulaire appartenant aux familles TIM et TAM (par exemple TYRO3, AXL et MER), ou aux récepteurs lectines de type C (DC-SIGN). Cependant, leurs rôles en tant que récepteurs d'entrée n'est pas complètement caractérisé et semblent dépendre du type cellulaire.

Question de Jean Dupouy-Camet

Les cas de méningo-encéphalites par le virus de la fièvre jaune chez les nourrissons allaités suite à la vaccination de leur mère pendant l'allaitement sont très rares. Correspondent-ils à des situations particulières (immunodépression, ...) ?

Réponse d'Aurore Vidy

Même si un seul cas de transmission de la souche vaccinale de la fièvre jaune a été complètement caractérisé avec analyse de la séquence du virus isolé chez le nourrisson infecté, une dizaine de cas ont été rapportés à travers le monde de nourrissons allaités ayant développé des cas de méningoencéphalites quelques jours après la vaccination de leurs mères contre la fièvre jaune. Dans un certain nombre de cas, des IgM anti-virus de la fièvre jaune ont également été retrouvés chez ces nourrissons, dans le sérum et/ou le liquide céphalo-rachidien. Aucun des cas décrits dont j'ai connaissance ne rapporte d'autres problèmes de santé chez la mère ou le nourrisson. Étant donné que ces cas ont été à l'origine de la recommandation du CDC (Center for Disease Control and Prevention) d'éviter de vacciner les femmes allaitantes, cette recommandation a probablement ensuite fortement limité ce type de transmission.

Question de Xavier Montagutelli

Pourrait-on imaginer une utilisation des propriétés antivirales des acides gras à longue chaîne ?

Réponse d'Aurore Vidy

Dans notre étude, les propriétés antivirales de ces acides gras ont été montrées pour des concentrations physiologiques (ou inférieures aux concentrations physiologiques) de ces molécules dans le lait maternel humain. De plus, nous prévoyons d'étudier, grâce à une collaboration avec le lactarium d'Île de France, l'impact du lait de nombreuses donneuses sur l'infectiosité de divers flavivirus. Si des différences sont observées, nous tenterons de corréliser ces divergences avec des variations



de composition du lait maternel, notamment la teneur en acides gras libres. En effet, la concentration en acides gras dans le lait maternel est connue pour varier selon l'alimentation, ce qui pourrait donc hypothétiquement influencer l'efficacité de la transmission virale par allaitement. Cela permettrait dans ce cas une analyse plus fine du risque de transmission virale par allaitement à un niveau individuel.

Question de Jamal Hossaini-Hilali

La proportion de cellules épithéliales et de cellules immunitaires dans le lait varie selon les espèces. Qu'en est-il de la souris par rapport à l'homme ?

Réponse d'Aurore Vidy

En ce qui concerne le lait mature, le lait humain contient plus de 90 % de cellules épithéliales mammaires. Lorsque nous avons analysé le lait des souris, nous avons trouvé que les cellules épithéliales constituaient plus de 95 % des cellules présentes dans le lait. Cette population cellulaire est donc très majoritaire à la fois dans le lait humain et le lait murin.

Question de Pierre Mormède

Peut-on reproduire un épithélium mammaire pluristratifié *in vitro* ?

Réponse d'Aurore Vidy

On ne peut malheureusement pas obtenir d'épithélium mammaire étanche grâce à des cultures de cellules épithéliales mammaires sur filtres Transwell, ce qui ne nous permet pas d'étudier plus précisément les mécanismes de franchissement viral sur ce type de modèle. En revanche, il est possible de produire des organoïdes mammaires contenant les différents types de cellules épithéliales mammaires (luminales et myoépithéliales). Nous allons collaborer avec l'unité de recherche de Han Li, et notamment Aurélie Chiche, à l'Institut Pasteur, afin d'étudier l'infection par les flavivirus sur ce type de modèle (tropisme, cinétique, production virale...).

Question de Martina Crispo

Y a-t-il aussi transmission du virus Mayaro par le lait ?

Réponse d'Aurore Vidy

Je n'ai pas connaissance, à ce jour, de cas de transmission suspectée de ce virus émergent par le lait, ni d'étude clinique ayant testé la présence d'éléments viraux dans le lait maternel de femmes infectées.

Question de Hervé Bourhy

Avez-vous regardé la survenue éventuelle de modifications du virus chez le souriceau ?

Réponse d'Aurore Vidy

Cette étude est envisagée au laboratoire, avec l'aide de Nicolas Berthet, pour tester si le passage du virus (Zika ou fièvre jaune) dans le lait maternel et/ou sa transmission au souriceau s'accompagne de mécanismes de sélection de variants génomiques viraux.

