

Transmission materno-fœtale des coronavirus humains. Étude prospective pilote

Vertical transmission of human coronavirus. Prospective pilot study

A. Gagneur^{a,*}, E. Dirson^a, S. Audebert^a, S. Vallet^b, M.C.L. Quillien^b, R. Baron^c, Y. Laurent^d,
M. Collet^d, J. Sizun^a, E. Oger^e, C. Payan^b

^a Département de pédiatrie, Inserm CIC 0502, CHU de Brest, Brest, France

^b Département de microbiologie, EA 3882, laboratoire de biodiversité et écologie microbienne, Inserm CIC 0502, CHU de Brest, Brest, France

^c Département d'hygiène et santé publique, Inserm CIC 0502, CHU de Brest, Brest, France

^d Département de gynécologie obstétrique, Inserm CIC 0502, CHU de Brest, Brest, France

^e Centre d'investigation clinique, Inserm CIC 0502, CHU de Brest, Brest, France

Reçu le 29 juin 2007 ; accepté le 5 juillet 2007

Disponible sur internet le 21 septembre 2007

Résumé

Les coronavirus humains (HCoV) ont été impliqués dans la survenue d'infections respiratoires nosocomiales chez les nouveau-nés. Plusieurs cas d'infections néonatales ont été mis en évidence. Cette étude pilote recherche l'existence d'une éventuelle transmission materno-fœtale des HCoV pouvant expliquer les cas infections néonatales observées dans les premières 24 heures de vie.

Matériel et méthode. – Étude monocentrique prospective pilote. Étude des couples mère-enfant par la réalisation de trois prélèvements : vaginal et respiratoire chez la mère (VM et RM) lors du travail, gastrique chez le nouveau-né (GNN). Suivi clinique des nouveau-nés et des mères jusqu'à j3. Analyse virologique des échantillons par *reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR) en temps réel pour la recherche des HCoV 229-E et OC43.

Résultats. – Cent cinquante-neuf couples mère-enfant ont été inclus de juillet 2003 à août 2005. Seul HCoV 229-E a été détecté dans 11 échantillons chez six couples mère-enfant. Pour deux couples, les trois prélèvements (VM, RM et GNN) étaient positifs (cas 1 et 2). Pour le cas 3, seuls le VM et GNN étaient positifs. Pour deux couples, seuls les RM étaient positifs (cas 4 et 5). Pour le cas 6, seul le VM était positif. Pour les trois GNN positifs, aucun enfant n'était symptomatique.

Conclusion. – Une possible transmission verticale des HCoV est mise en évidence dans cette étude pilote qui nécessite désormais d'être poursuivie à plus large échelle. Il convient également d'inclure la recherche des coronavirus humains identifiés récemment, HCoV NL63 et HKU1, et d'analyser le profil génomique des HCoV détectés chez les trois couples mère-enfant positifs.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Human coronaviruses (HCoV) have been implicated in neonatal nosocomial respiratory infection. Prior to our study, several cases of neonatal infection were observed in infants born at our hospital. This prospective pilot monocentric pilot study investigates the possibility of maternofetal transmission of HCoV responsible for cases of neonatal infection observed within the first 24 hours of life.

Materials and methods. – Three samples from mother-child couples, maternal vaginal (VM) and respiratory (RM) samples during labor; newborn gastric sample (GNN), were assessed for viral analysis using real time RT-PCR for the detection of HCoV 229-E and OC43. Clinical follow-up of infants and mothers was up to Day 3 after birth.

* Auteur correspondant. Département de pédiatrie, CHU de Morvan, 2, avenue Foch, 29200 Brest, France.

Adresse e-mail : arnaud.gagneur@chu-brest.fr (A. Gagneur).

Results. – One hundred (and) fifty-nine mother–child couples were included between July 2003 and August 2005. HCoV 229-E only was detected in 11 samples from 6 mother–child couples. For 2 couples, all 3 samples (VM, RM and GNN) were tested positive (cases 1 and 2). For case 3, both VM and GNN were positive. For 2 couples, only RM was positive (cases 4 and 5). In case 6, only VM was positive. Of the 3 positive GNN, no infant was symptomatic.

Conclusion. – Possible vertical transmission of HCoV was evidenced in this pilot study and requires further investigation on a larger scale. Equally indicated is the inclusion of tests to detect recently identified human coronaviruses HCoV NL63 and HKU1, as well as genomic profile analysis of HCoV 229-E detected in the 3 positive mother–child couples.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Coronavirus humains ; Nouveau-né ; Transmission verticale

Keywords: Human coronavirus; Newborn; Vertical transmission

1. Introduction

Près de 35 années après leur première description par Hamre et Procknow et Tyrrel et Bynoe [1,2], les coronavirus humains connaissent un regain d'intérêt depuis 2003 et la mise en évidence d'un nouveau coronavirus responsable du syndrome respiratoire aigu sévère ou SRAS [3].

Depuis lors plusieurs coronavirus humains ont été identifiés tel que le coronavirus humain (HCoV) NL63 (également connu sous le nom de *new-heaven*) et HCoV HKU1 [4–6].

Deux autres HCoV, connus depuis 35 ans, (HCoV 229-E et OC43) sont responsables de près d'un tiers des rhumes chez l'enfant et l'adulte. Les HCoV pourraient être impliqués dans d'autres pathologies infectieuses : bronchiolites et bronchopneumopathies, péricardites, méningites, maladie de Kawasaki, sclérose en plaques et malaise grave du nourrisson [7–12].

La transmission des HCoV, comme celle de nombreux autres virus à tropisme respiratoire (rhinovirus, VRS, méta-pneumovirus), est interhumaine par les sécrétions rhinopharyngées [13]. Nous avons récemment mis en évidence le rôle des HCoV dans la survenue d'infections nosocomiales chez les nouveau-nés [14–20]. Ces virus pourraient être introduits à l'hôpital par le personnel, les visiteurs ou les enfants hospitalisés. Une origine materno-fœtale doit, cependant, être explorée en raison de la fréquence de ce mode de contamination dans les modèles animaux [21] et de la constatation de l'existence d'infections néonatales chez le nouveau-né.

L'objectif principal de ce travail est d'étudier la transmission materno-fœtale des coronavirus humains pouvant expliquer les cas d'infections néonatales observés dans les études précédentes. Les objectifs secondaires résident en l'étude de la symptomatologie maternelle et néonatale des infections à HCoV, et en la mise en évidence du portage génital du HCoV.

2. Patients et méthodes

2.1. Type de l'étude

Il s'agit d'une étude pilote, prospective, épidémiologique et monocentrique.

2.2. Patients

Inclusions des couples mères–enfants se présentant en travail, en salle de naissance au CHU de Brest sur deux périodes épidémiologiques, de juillet 2003 à juin 2004 puis de mars 2005 à août 2005.

Critères d'inclusion : toute femme enceinte se présentant en travail dans le service de gynécologie–obstétrique du CHU de Brest.

Critères d'exclusion : urgence vitale, maternelle ou fœtale.

Entretien et explication de la lettre d'information aux parents, recueil des formulaires de consentement éclairé.

Recueil des données anamnestiques de façon extemporanée et prospective.

2.3. Recueil, transport et conservation des prélèvements

Prélèvement vaginal réalisé lors du début du travail, placé dans un milieu de culture virale acheminé directement au laboratoire pour stockage à -70°C .

Recueil des sécrétions nasales maternelles par aspirateur de mucosités et des sécrétions rhinopharyngées, et gastriques du nouveau-né lors de l'aspiration systématique à la naissance.

Recueil des échantillons et transport immédiat au laboratoire pour réalisation d'aliquotes et congélation à -70°C .

2.4. Diagnostic virologique

Analyse virologique des souches HCoV 229-E et OC43 par technique de *reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR) en temps réel déjà décrite [22].

Description de la RT-PCR en temps réel :

- extraction de l'ARN viral à l'aide de la trousse QIAGEN « QIAamp MinElute Virus Spin Kit » ;
- *reverse transcription* (ou transcription inverse) utilisant la SuperScript II (Invitrogen) et des amorces aléatoires hexanucléotidiques ;
- PCR en temps réel (LightCycler 2.0, Roche Applied Science). Les sondes fluorescentes utilisées sont des sondes TaqMan marquées à chaque extrémité par un fluorophore FAM (6-carboxy-fluorescéine) en 5' et TAMRA (6-carboxy-

tétraméthylrhodamine) en 3' respectivement en tant que rapporteur et bloqueur. Les amorces et les sondes Taqman ont pour cible une région du gène *N* codant pour le nucléocapside des HCoV.

Pour cette étude, les prélèvements considérés comme positifs avaient un cycle seuil à 38 pour OC43 et 37 pour 229-E ce qui correspond, respectivement, à une dose infectieuse 50 % (DI 50 %) de 1 DI 50 % et de 0,2 DI 50 %.

2.5. Aspects éthiques

Il s'agit d'une étude pilote prospective réalisée dans le cadre d'un protocole hospitalier de recherche clinique (PHRC). Les prélèvements vaginal et gastrique étaient réalisés en routine clinique pour la recherche de streptocoque B, un échantillon additionnel était recueilli pour l'étude après consentement écrit des parents. Ce projet a été approuvé par le comité d'éthique du centre hospitalier universitaire de Brest.

2.6. Analyse statistique

L'analyse des résultats était effectuée sur le logiciel Epi-info (CDC, États-Unis ; version française ENSP). Le test de Chi² était utilisé pour la comparaison des variables qualitatives, *t* de Student, analyse de variance pour les variables quantitatives. Une différence était considérée comme significative si $p < 0,05$.

3. Résultats

3.1. Population

Pour cette étude pilote 159 couples mère-enfant ont été étudiés, 159 mères et 161 nouveau-nés (deux grossesses gémellaires). L'âge moyen des mères était de 29,5 ans (écart-type : $\pm 5,40$; min : 16 ans ; max : 45 ans). Le terme moyen des nouveau-nés était de 39, six semaines d'aménorrhée (SA) (± 2 ; min : 32,8 ; max : 41,8), le poids moyen était de 3331,8 g ($\pm 545,86$; min : 1470 g ; max : 4460 g). Sex-ratio 1/1 (respectivement 80/161, 81/161).

Sur les 159 accouchements, 70 % étaient des voies basses spontanées, 18 % des césariennes et 11 % des voies basses déclenchées.

3.2. Détection des HCoV

La prévalence de mères ayant un prélèvement respiratoire (RM) positif était de 2,5 %.

Parmi les 159 couples, six ont présenté au moins un prélèvement (respiratoire, vaginal ou gastrique) positif pour HCoV 229-E (Tableau 1). Les prélèvements considérés comme positifs avaient un cycle seuil à 38 pour OC43 et 37 pour 229-E ce qui correspond, respectivement, à une dose infectieuse 50 % (DI 50 %) de 1 DI 50 % et de 0,2 DI 50 %.

Tableau 1

Récapitulatif des six couples mère-enfant ayant au moins un prélèvement positif à HCoV 229-E

	Mères		Nouveau-nés GNN
	RM	VM	
Cas 1	+	+	+
Cas 2	+	+	+
Cas 3	–	+	+
Cas 4	+	–	–
Cas 5	+	–	–
Cas 6	–	+	–

Parmi les couples mère-enfant positifs à HCoV 229-E :

- les trois prélèvements, respiratoires et vaginaux maternels (RM et VM), et gastriques du nouveau-né (GNN) étaient positifs pour deux couples mère-enfant sur six. (cas 1 et 2) ;
- pour le cas 3, seuls les VM et GNN étaient positifs ;
- pour les cas 4 et 5, les deux RM étaient positifs alors que les VM et GNN étaient négatifs ;
- pour le cas 6, seul le VM était positif.

Pour la moitié des mères ayant un RM positif, le VM était positif, ainsi que GNN.

Il n'y a qu'un seul cas où le GNN est négatif alors que le VM est positif.

3.3. Association entre prélèvements positifs et symptomatologie pré-, per- et post-partum (Tableaux 2 et 3)

Les nouveau-nés dont le GNN était positif étaient asymptomatiques, seul un tiers présentait un ictère (sans notion d'incompatibilité OA, OB ou rhésus) et un tiers avait une protéine C réactive (CRP) augmentée à 24 heures de vie, elle était toujours augmentée à 72 heures. Pour cet enfant, aucun germe n'avait été retrouvé et il n'existait pas de facteur de risque infectieux (Tableau 2).

La moitié des mères RM+ souffrait d'un rhume dans la semaine précédant l'accouchement, et trois sur quatre étaient enrhumées au moment de l'accouchement.

Les différences observées entre les groupes, ayant un prélèvement positif et ceux n'en ayant pas, n'étaient pas significatives. En particulier, il ne semble exister aucune différence significative en ce qui concerne le nombre de menaces d'accouchement prématuré et de toxémie gravidique (Tableau 3).

4. Discussion

4.1. Transmission materno-fœtale des HCoV

Ces résultats préliminaires sembleraient confirmer l'hypothèse d'une transmission materno-fœtale des HCoV 229-E par voie vaginale. Cependant, l'effectif est insuffisant pour pouvoir l'affirmer. En outre, un séquençage par biologie moléculaire des souches retrouvées dans les RM et VM, et chez le nouveau-né est désormais nécessaire pour valider cette transmission verticale de la mère à l'enfant.

Tableau 2
Facteurs de risque d'infection chez les mères

	RM+ n = 4	RM– n = 154	VM+ n = 4	VM– n = 154	GNN+ n = 3	GNN– n = 155
Notion de rhume pendant la grossesse	4 100 %	96 62 %	4 100 %	96 62 %	3 100 %	97 63 %
Notion de rhume la semaine précédant l'accouchement	2 50 %	25 16 %	0 0 %	27 17 %	0 0 %	27 17 %
Notion de rhume au moment de l'accouchement	3 75 %	15 9,7 %	0 0 %	16 10 %	0 0 %	16 10 %
Notion d'hyperthermie pendant la grossesse	0 0 %	22 14 %	0 0 %	22 14 %	0 0 %	22 14 %
Notion d'hyperthermie dans la semaine précédant l'accouchement	0 0 %	5 3,2 %	0 0 %	5 3,2 %	0 0 %	5 3,2 %
Notion d'hyperthermie au moment de l'accouchement	0 0 %	11 7,1 %	1 25 %	10 6,5 %	1 33 %	10 6,5 %
Apparition de rhume dans les 3 jours suivant l'accouchement	0 ? 0 %	11 7,1 %	0 0 %	11 7,1 %	0 0 %	11 7,1 %

Prélèvements : RM : respiratoire maternel ; VM : vaginal maternel, GNN : gastrique du nouveau-né. RM+, VM+, GNN+ : prélèvements positifs en HCoV 229-E. Les différences observées entre les groupes ayant un prélèvement positif et ceux n'en ayant pas n'étaient pas significatives. NB : pour une mère, le recueil de données concernant la symptomatologie durant la grossesse n'a pu être effectué, l'effectif total n'est donc pas de 159, mais de 158 pour ces variables.

Tableau 3
Symptomatologie chez les nouveau-nés

	RM+ n = 4	RM– n = 155	VM+ n = 4	VM– n = 155	GNN+ n = 3	GNN– n = 156
Manœuvres de réanimation du nouveau-né	0 0 %	7 4,5 %	0 0 %	7 4,5 %	0 0 %	7 4,5 %
Détresse respiratoire immédiate et dans les 3 premiers jours	0 0 %	11 7,1 %	0 0 %	11 7,1 %	0 0 %	11 7,1 %
Difficultés d'alimentation dans les 3 premiers jours	0 0 %	12 7,7 %	0 0 %	12 7,7 %	0 0 %	12 7,7 %
Ictère au 3 ^e jour	2 50 %	35 23 %	1 25 %	36 23 %	1 33 %	36 23 %
CRP > 10 mg/l à H24	0 0 %	4 2,6 %	1 25 %	3 1,9 %	1 33 %	3 1,9 %

RM : prélèvement respiratoire maternel ; VM : prélèvement vaginal maternel ; GNN : prélèvement gastrique du nouveau-né ; RM+, VM+, GNN+ : prélèvements positifs en HCoV 229-E ; CRP : protéine C réactive. Les différences observées entre les groupes ayant un prélèvement positif et ceux n'en ayant pas n'étaient pas significatives.

4.2. Tropisme génital des HCoV

Un tropisme génital des HCoV est également retrouvé. En effet, quatre VM sont positifs, associés une fois sur deux à un RM positif.

4.3. Modalités de transmission à l'enfant

Dans cette étude trois enfants étaient porteurs de HCoV au niveau gastrique, les mères de ces trois nouveau-nés avaient toutes un VM positif. Le portage vaginal de HCoV semble donc être un élément important de la transmission. Un seul enfant, parmi les trois ayant un GNN positif était né par césarienne, il s'agit du cas 3 (RM–, VM+, GNN+). Le passage des filières génitales ne semble donc pas indispensable à la transmission. L'hypothèse d'une transmission par voie ascendante ou lors d'une virémie par voie transplacentaire ne peut être écartée.

En revanche, la transmission au nouveau-né n'est pas constante puisque parmi les six mères porteuses du virus, la moitié avait des enfants dont le GNN était négatif.

4.4. Symptomatologie des nouveau-nés ayant un GNN positif

Le faible effectif de cette étude pilote ne permet pas de tirer de conclusion quant à la symptomatologie de l'infection à HCoV chez les nouveau-nés. Aucun des trois nouveau-nés n'était cliniquement symptomatique. Un d'entre eux avait une CRP positive à H24, cette CRP avait été réalisée pour un portage vaginal à streptocoque B, l'enfant était asymptomatique et il n'existait pas d'autre facteur de risque d'infection materno-fœtale. Pour les autres enfants, la CRP n'avait pas été dosée.

Un autre présentait un ictère dont le bilan étiologique est resté négatif.

Aucune détresse respiratoire à la naissance n'a été rapportée dans l'étude, aucune différence notée dans les scores d'Apgar, contrairement au cas d'infections néonatales mis en évidence dans une étude précédente, où la durée de ventilation était significativement plus élevée chez les nouveau-nés infectés à l'admission en unité de réanimation néonatale (données non publiées).

4.5. Symptomatologie maternelle à l'accouchement

Les HCoV représentent les principaux virus détectés au cours du rhume de l'adulte, ainsi, trois des quatre mères,

ayant un prélèvement respiratoire positif, étaient enrhumées le jour de l'accouchement. En revanche, la notion d'un rhume pendant la grossesse ne semble pas pouvoir être considérée comme un élément prédictif d'infection à HCoV, à l'accouchement, puisque la notion de rhume pendant la grossesse était retrouvée chez 62 % des mères, dont le RM était négatif. Une hyperthermie n'est pas retrouvée chez les mères infectées.

En outre, il n'y a eu aucune menace d'accouchement prématuré ou de toxémie gravidique dans le groupe, où les prélèvements à HCoV sont positifs.

4.6. Variations épidémiques annuelles

Tous les résultats revenus positifs l'étaient pour la souche 229-E. Les épidémies à HCoV surviennent tous les deux à trois ans [23], les prélèvements de cette étude ont peut-être été réalisés lors de périodes pendant lesquelles la souche OC43 ne s'exprimait pas ou moins. Cette étude doit donc être complétée par la recherche des souches de HCoV récemment identifiées HCoV NL63 et HCoV HKU1.

4.7. Données de la littérature

Aucun article de la littérature ne met en évidence l'existence d'une transmission materno-fœtale des coronavirus humains. Celle-ci n'avait pas été retrouvée chez les femmes enceintes infectées par le syndrome aigu respiratoire spécifique (SARS) lors de l'épidémie en Asie en 2002–2003 [24]. Cependant, les femmes infectées pendant la grossesse avaient une incidence élevée de fausses couches, d'accouchement prématuré et de retard de croissance [25].

En revanche, une transmission verticale a été mise en évidence pour les entérovirus responsables d'infections néonatales parfois sévères [26,27].

Si aucune transmission materno-fœtale n'a été observée chez l'humain, ce mode de contamination est en revanche bien connu des services vétérinaires. De nombreuses souches de coronavirus ont été isolées chez différents animaux, chaque virus étant nommé en fonction de son hôte et de l'éventuelle pathologie associée : *avian infectious bronchitis virus* (IBV), *mouse hepatitis virus* (MHV), *bovine coronavirus* (BCV), *transmissible gastroenteritis virus of swine* (TGEV), *porcine respiratory coronavirus* (PRCV), *rat coronavirus* (RCV) etc. [21]. Ces coronavirus sont responsables d'infections sporadiques ou d'épidémies saisonnières dans les élevages. Les adultes présentent des infections limitées ou inapparentes et transmettent le virus aux nouveau-nés qui présentent alors une pathologie beaucoup plus sévère [21].

La plupart des souches de coronavirus sont excrétées dans les sécrétions respiratoires et les fèces, sources de transmission postnatale. Cependant, certaines souches peuvent se répliquer dans les macrophages, lymphocytes, hépatocytes, neurones, cellules endothéliales ou du tractus urogénital, ce qui peut entraîner des infections materno-fœtales [21].

Les infections expérimentales par le *mouse hepatitis virus* entraînent des morts fœtales ou une infection néonatale [28,29].

Le coronavirus du rat (RCV) infecte l'épithélium respiratoire et les glandes lacrymales, mais également le tractus génital des femelles occasionnant des perturbations du cycle hormonal, des fausses couches et des décès en période néonatale. La souche IBV infecte l'oviduct des poules et perturbe la production des œufs [30,31].

5. Conclusion

Une possible transmission materno-fœtale des HCoV est mise en évidence dans cette étude pilote qui nécessite d'être poursuivie à plus large échelle. Il convient également d'inclure la recherche des nouvelles souches de HCoV NL63 et HKU1 et d'analyser le profil génomique des HCoV détectés chez les trois couples mères-enfants positifs.

Références

- [1] Tyrrell DAI, Bynoe ML. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *BMJ* 1965;1:1467–70.
- [2] Hamre D, Procknow JJ. A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proc Soc Exp Biol* 1966;121:190–3.
- [3] Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, Zaki SR, Peret T, Emery S, et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003;348:1953–66.
- [4] Van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, Berkhout RJM, Wolthers KC, et al. Identification of a new human coronavirus. *Nat Med* 2004;10:368–73.
- [5] Esper F, Weibel C, Ferguson D, Landry ML, Kahn JS. Evidence of a novel human coronavirus that is associated with respiratory tract disease in infants and young children. *J Infect Dis* 2005;191:492–8.
- [6] Woo PC, Lau SK, Chu CM, Chan KH, Tsoi HW, Huang Y, et al. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol* 2005;79:884–95.
- [7] Esper F, Shapiro ED, Weibel C, Ferguson D, Landry ML. Association between a novel human coronavirus and Kawasaki disease. *J Infect Dis* 2005;191:499–502.
- [8] Shimizu C, Shike H, Baker SC, Garcia F, van der Hoek L, Kuijpers TW, et al. Human coronavirus NL63 is not detected in the respiratory tracts of children with acute Kawasaki disease. *J Infect Dis* 2005;192:1767–71.
- [9] Riski H, Hovi T. Coronavirus infections of Man associated with diseases other than the common cold. *J Med Virol* 1980;6:259–65.
- [10] Arbour N, Day R, Newcombe J, Talbot PJ. Neuroinvasion by human respiratory coronaviruses. *J Virol* 2000;74:8913–21.
- [11] Boucher A, Desforges M, Duquette P, Talbot PJ. Long-term human coronavirus-myelin cross-reactive T-cell clones derived from multiple sclerosis patients. *Clin Immunol* 2007;123:258–67.
- [12] Simon A, Volz S, Hofling K, Kehl A, Tillman R, Muller A, et al. Acute life threatening event (ALTE) in an infant with human coronavirus HCoV-229-E infection. *Pediatr Pulmonol* 2007;42:393–6.
- [13] Sizun J, Yu MWN, Talbot PJ. Survival of 229-E and OC-43 human Coronaviruses in suspension and on surfaces after drying. Effect of chemical disinfection. *J Hosp Infect* 2000;46:55–60.
- [14] Sizun J, Soupre D, Giroux JD, et al. Nasal colonization with coronavirus and apnea of the premature newborn. *Acta Paediatr* 1993;82:238.
- [15] Sizun J, Soupre D, Giroux JD, Legrand MC. Nosocomial respiratory infection due to coronavirus in neonatal intensive care units: prospective evaluation. *Arch Pediatr* 1995;2:1020–1.
- [16] Sizun J, Soupre D, Legrand MC, et al. Neonatal nosocomial respiratory infection with coronavirus: a prospective study in a neonatal intensive care unit. *Acta Paediatr* 1995;84:617–20.
- [17] Sizun J, Gagneur A, Legrand MC, Baron R. Respiratory coronavirus infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20:555–6.

- [18] Gagneur A, Legrand MC, Picard B, Baron R, Talbot PJ, Sizun J. Infections nosocomiales à coronavirus humain chez le nouveau-né. *Arch Pediatr* 2002;9:61–9.
- [19] Gagneur A, Sizun J, Vallet S, Legrand MC, Picard B, Talbot PJ. Coronavirus-related nosocomial viral respiratory infections in a neonatal and paediatric intensive care unit: a prospective study. *J Hosp Infect* 2002;51:59–64.
- [20] Vallet S, Gagneur A, Talbot PJ, Legrand MC, Sizun J, Picard B. Detection of human Coronavirus 229-E in nasal specimens in large scale studies using an RT-PCR hybridization assay. *Mol Cell Probes* 2004;18:75–80.
- [21] Holmes KV. In: Coronaviruses. In *Encyclopedia Virology*; 1994. p. 255–60.
- [22] Van Elden LJR, Van Loon AM, Van Alphen F, Hendriksen AW, Hoepelman AIM, Van Kraaij MGJ, et al. Frequent detection of human coronaviruses in clinical specimens from patients with respiratory tract infection by use of a novel Real-time Reverse-Transcriptase Polymerase Chain Reaction. *J Infect Dis* 2004;189:652–7.
- [23] Monto AS, Lim SK. The tecumseh study of respiratory illness. VI. Frequency of and relationship between outbreaks of coronavirus infections. *J Infect Dis* 1974;129:271.
- [24] Shek CC, Ng PC, Fung GP, Cheng FW, Chan PK, Peiris MJ, et al. Infants born to mothers with severe acute respiratory syndrome. *Pediatrics* 2003;112:e254.
- [25] Wong SF, Chow KM, Leung TN, Ng WF, Ng TK, Shek CC, et al. Pregnancy and perinatal outcomes of women with severe acute respiratory syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191:292–7.
- [26] Jenista JA, Powell KR, Menegus MA. Epidemiology of neonatal enterovirus infection. *J Pediatr* 1984;104:685–90.
- [27] Abzug MJ. Perinatal enterovirus infections. In: Robart HA, editor. *Human Enterovirus Infections*. Washington DC: American Society for Microbiology; 1995. p. 221–38.
- [28] Barthold SW, Beck DS, Smith AL. Mouse hepatitis virus and host determinants of vertical transmission and maternally-derived passive immunity in mice. *Arch Virol* 1988;100:171–83.
- [29] Katami K, Taguchi F, Nakayama M, Goto N, Fujiwara K. Vertical transmission of mouse hepatitis virus infection in mice. *Jpn J Exp Med* 1978;48:481–90.
- [30] Myint SH. Human coronavirus infections. In: Siddell SG, editor. *The Coronaviridae*. New York: Plenum Press; 1995. p. 389–401.
- [31] Mc Intosh K. Coronaviruses. In: Knipe DM, Howley PM, et al., editors. *Fields virology*. Third edition edited by BN Fields. Philadelphia: Lippincott–Raven publishers; 1996. p. 1095–103.