

## Prix de thèse

### Universités françaises

Prix parrainé par le le laboratoire GlaxoSmithKline

# Paludisme grave d'importation chez l'enfant en France métropolitaine : étude nationale rétrospective de 1996 à 2005

Mornand P

18, rue La Bruyère, 75009 Paris.

• Correspondance : pmornand@hotmail.com

**RÉSUMÉ** • La prise en charge du paludisme d'importation en France a été réévaluée en 2007 au cours d'une révision de la Conférence de Consensus de 1999. Les travaux consacrés au paludisme grave pédiatrique d'importation sont rares et peu informatifs. Nous avons voulu, dans une étude nationale rétrospective, en préciser les facteurs de survenue, rechercher les facteurs prédictifs de gravité et évaluer la pertinence des critères de gravité de l'OMS chez l'enfant voyageur. *Patients et méthodes.* A partir de la base de données du Centre National de Référence du paludisme concernant les enfants âgés de 0 à 15 ans hospitalisés pour un paludisme à *Plasmodium falciparum* (seul ou associé), entre le 1<sup>er</sup> janvier 1996 et le 31 décembre 2005, nous avons d'abord recherché des facteurs associés à la survenue d'une forme grave. Puis nous avons étudié les dossiers de paludisme grave, défini selon les critères OMS 2000, dans les 12 hôpitaux ayant déclaré plus de 5 cas pendant la période étudiée. Pour ce travail, la pertinence des critères OMS 2000 et les facteurs prédictifs de gravité ont été évalués, en l'absence de décès, par le recours aux actes thérapeutiques majeurs (ATM) ou à un séjour en réanimation, en analyse univariée et multivariée ; le seuil de parasitémie associé à la gravité dans cette série a été recherché par la réalisation de courbes ROC. *Résultats.* Parmi 4 150 enfants inclus, 3 299 avaient une forme simple et 851 avaient une forme grave (âge moyen :  $7,7 \pm 4,2$  ans versus  $6 \pm 4,1$  ans,  $p < 0,0001$ ). En analyse multivariée, les facteurs indépendants prédictifs de la survenue d'une forme grave étaient le jeune âge (OR allant de 1,4 ; IC 95 % : 1,1-1,7 chez les 5-9 ans, à 3,2 ; IC 95 % : 2,5-4,0 chez les moins de 2 ans,  $p < 0,0001$ ) et le séjour dans un pays du Sahel (OR : 1,6 ; IC 95 % : 1,3-2,  $p = 0,0001$ ). L'existence d'une infection mixte diminuait le risque de forme grave (OR : 0,6 ; IC 95 % : 0,4-0,9,  $p = 0,02$ ). Parmi les 421 cas graves étudiés dans les 12 hôpitaux les plus déclarants, le recours aux ATM était significativement plus fréquent en cas d'âge  $< 2$  ans (OR : 3,7 ; IC 95 % : 1,6-8,4,  $p = 0,01$ ), de séjour dans un pays du Sahel (OR : 2,1 ; IC 95 % : 1,0-4,7,  $p = 0,002$ ), de thrombopénie  $< 100\ 000/\text{mm}^3$  (OR : 2,1 ; IC 95 % : 1,1-3,9,  $p = 0,04$ ) et d'absence de chimioprophylaxie (OR : 1,7 ; IC 95 % : 0,7-4,1,  $p = 0,03$ ). Les critères OMS ayant les plus fortes valeurs prédictives de recours aux ATM étaient : l'anémie sévère (VPP : 93 %), le coma (VPP : 87,5 %), la prostration (VPP : 77,3), les convulsions multiples (VPP : 70 %) et les troubles de conscience (VPP : 62,5 %). Les variables associées au séjour en réanimation étaient le séjour dans un pays du Sahel (OR : 6,8 ; IC 95 % : 1,4-32,7,  $p = 0,03$ ), une thrombopénie  $< 100\ 000/\text{mm}^3$  (OR : 3,9 ; IC 95 % : 1,5-10,2,  $p = 0,002$ ) et l'absence de chimioprophylaxie (OR : 3,0 ; IC 95 % : 0,8-11,4,  $p = 0,003$ ). Les critères OMS ayant les plus fortes VPP de séjour en réanimation étaient la détresse respiratoire (VPP : 85,7 %), le coma (VPP : 75 %), la prostration (VPP : 50 %) et les convulsions multiples (VPP : 50 %). Les pertinences pronostiques de l'acidose métabolique, de l'hyperlactatémie, du collapsus et de l'OAP, n'ont pu être évaluées du fait de leur présence uniquement chez des enfants ayant eu recours aux ATM ou hospitalisés en réanimation. En revanche, l'hyperparasitémie isolée  $\geq 4\%$ , n'avait pas de valeur pronostique chez l'enfant voyageur. Mais l'hyperparasitémie isolée définie au seuil de 8 % était plus sensible pour repérer les enfants nécessitant une prise en charge intensive. *Conclusion.* Malgré son caractère rétrospectif, ce travail fournit des données importantes pour améliorer la connaissance du paludisme grave d'importation de l'enfant en France. Ces résultats doivent être confirmés par des études complémentaires prospectives.

**MOTS-CLÉS** • Paludisme grave. France. Parasitoses chez l'enfant. Hyperparasitémie. Thrombocytopénie. Voyages-aspect médical.

### SEVERE IMPORTED MALARIA IN CHILDREN IN MAINLAND FRANCE: RETROSPECTIVE NATIONAL STUDY FROM 1996 TO 2005

**ABSTRACT** • Management of malaria imported into France was re-evaluated in 2007 as part of a revision of the 1999 Consensus Conference. Studies devoted to severe imported pediatric malaria are rare and poorly informative. The aim of this national retrospective study was to determine the factors underlying importation, identify predictive factors for severity, and evaluate the relevance of WHO severity criteria in child travelers. *Patients and methods.* Using the database of the National Reference Center on children between the ages of 0 and 15 years hospitalized for *Plasmodium falciparum* malaria (isolated or in association) between January 1, 1996 and December 2005, we first searched for factors associated with occurrence of severe forms. Next we studied cases of severe malaria defined according to WHO 2000 criteria in 12 hospitals that reported more than 5 cases during the study period. Univariate and multivariate analysis was performed to evaluate the relevance of WHO 2000 criteria and of predictors of severity in relation to the need of major therapeutic interventions (MTI) or intensive care used in survivors. Receiver operating characteristic (ROC) curves were used to determine the threshold of parasitemia associated with severity in this series. *Results.* A total of 4150 infants were found in the database including 3299 who presented mild forms and 851 who presented severe forms (mean age:  $7.7 \pm 4.2$  years versus  $6 \pm 4.1$  years,  $p < 0.0001$ ). Multivariate analysis identified two factors as predictive of severe malaria, i.e., young age (OR ranging from 1.4; 95% CI: 1.1-1.7 in patients between 5 and 9 years to 3.2; 95% CI: 2.5-4.0 in patients under 2 years,  $p < 0.0001$ ) and travel to a Sahelian country (OR: 0.6; CI 95%: 0.4-0.9,  $p = 0.02$ ). For the 421 cases that were reported by the 12 hospitals with 5 or more cases, use of MTI was significantly more frequent for children who were  $< 2$  years (OR: 3.7; 95% CI: 1.6-8.4,  $p = 0.01$ ), presented thrombopenia  $< 100\ 000/\text{mm}^3$  (OR: 2.1; 95% CI: 1.1-3.9,  $p = 0.04$ ) and did not take chemoprophylaxis (OR: 1.7; 95% CI: 0.7-4.1,  $p = 0.03$ ). The WHO criteria with the highest predictive value for use of MTI were severe anemia (PPV, 93%), coma (PPV, 87.5%), prostration (PPV, 77.3%), multiple convulsions (PPV, 70%)

and impaired consciousness (PPV; 62.5%). The variables showing strongest correlation with intensive care were travel to a Sahelian country (OR: 6.8; 95% IC: 1.4-32.7,  $p=0.03$ ), thrombopenia  $< 100\ 000/\text{mm}^3$  (OR: 3.9; 95% IC: 1.5-10.2,  $p=0.002$ ) and absence of chemoprophylaxis (OR: 3.0; CI 95%: 0.8-11.4,  $p=0.003$ ). The WHO criteria exhibiting the best PPV for intensive care were respiratory distress (PPV: 85.7%), coma (PPV: 75%), prostration (VPP: 50%) and multiple seizures (PPV: 50%). The prognostic relevance metabolic acidosis, hyperlactemia, circulatory collapse, and acute pulmonary edema (APE) could not be evaluated because they only occurred in patients who underwent MTI or intensive care. Isolated hyperparasitemia  $\geq 4\%$  had no prognostic value in child travelers but isolated hyperparasitemia  $\geq 8\%$  was more sensitive for detecting children requiring intensive care. *Conclusion.* Despite its retrospective nature this study provides important data to improve understanding of severe imported malaria in children in mainland France. Further study will be needed to confirm these findings.

**KEY WORDS** • SEvere malaria\*\*France. Parasitosis in children. Hyperparasitemia. Thrombocytopenia.

### Universités francophones

Prix parrainé par le programme Impact malaria  
de la direction Accès au médicament de Sanofi-Aventis

## Impact de l'insémination sur la longévité et la fécondité de la forme moléculaire M d'*Anopheles gambiae*

Kassogué Y

Unité d'Ecologie des vecteurs, Molecular ecology unit of medical entomology section, Faculty of medicine, pharmacy and dentistry (FMPOS), Bamako, Mali.  
• Correspondance : [ykassogue@mrtcbko.org](mailto:ykassogue@mrtcbko.org)

**RÉSUMÉ** • De janvier 2007 à septembre 2007, une étude s'est déroulée au MRTC portant sur l'impact de l'insémination sur la longévité et la fécondité de la forme moléculaire M d'*An. gambiae*. Les femelles sauvages collectées à Bancoumana ont été mises en pontes individuelles. Après identification des femelles sauvages et de deux larves L1 par la PCR, seules les F1 de forme moléculaire M ont été prises en compte. Les larves ont été élevées dans des conditions similaires jusqu'au stade nymphal. Les émergences des adultes ont été séparées pour éviter tout contact sexuel dès leur première 24 heures de vie aérienne. Dans l'ensemble des expériences, nous avons utilisé des adultes âgés de 2-3 jours. Des paramètres tels que la fécondité des femelles, l'activité sexuelle des mâles ainsi que la durée de vie des moustiques ont été évalués. Nous avons constaté que la fécondité des femelles est tributaire de l'insémination, de la disponibilité de repas de sang mais également de la taille de la femelle. De plus, la disponibilité de repas de sang en plus du jus sucré accroît de façon considérable la durée de vie des femelles. D'autre part nous avons noté que le pouvoir d'insémination des mâles diminue avec l'âge, de plus l'activité sexuelle a un effet négatif sur la longévité des mâles mais elle est plus coûteuse pour les mâles de petites tailles. Ces données sont indispensables pour toute stratégie de lutte antivectorielle par des moustiques génétiquement modifiés.

**MOTS-CLÉS** • *An. gambiae*. Forme M. Insémination. Fécondité. Longévité.

### IMPACT OF INSEMINATION ON THE LONGEVITY AND FECUNDITY OF THE MOLECULAR FORM M OF *AN. GAMBIAE*

**ABSTRACT** • A study on the impact of insemination on fecundity and on the longevity of the molecular form M of *An. gambiae* was conducted at the Malaria Research and Training Center (MRTC) from January 2007 to September 2007. Wild females collected in Bancoumana were placed in individual laying conditions. After identification of wild females and two L1 larvae by PCR, only F1 of the M molecular form were taken into account. Larvae were raised to the pupal stage under similar conditions. Emerging adults were separated to avoid any sexual contact in the first 24 hours of air life. Two- to three-day-old adults were used in all experiments. Evaluated parameters included female fecundity, male sexual activity and lifespan. Findings indicated that female fecundity depends on insemination, availability of blood meal and female size. Female lifespan increased with the availability of blood meal in addition to the sugar solution. It was also noted that the capacity of males to inseminate females decreased with the age and that sexual activity had a negative effect on male longevity. The longevity cost was especially high for small males. These data are essential for any vector-control strategy using genetically modified mosquitoes.

**KEY WORDS** • *An. Gambiae*. Molecular form M. Insemination. Fecundity. Longevity.

**Universités des sciences**  
Prix parrainé par l'association « Les Actualités du Pharo »

## Epidémiologie et variabilité génétique des virus HTLV-1 et HHV-8 dans l'Archipel du Vanuatu : contribution à l'étude des migrations humaines en Mélanésie

Cassar O

*Département de Virologie, Unité d'épidémiologie et physiopathologie des virus oncogènes, Paris, France.*

• *Correspondance : olivier.cassar@pasteur.fr*

**RÉSUMÉ** • Durant ce travail de thèse, nous avons abordé l'épidémiologie descriptive et moléculaire de l'infection par les virus HTLV-1 et HHV-8 dans l'archipel du Vanuatu en Mélanésie. Alors que quelques études faisaient état de l'endémie de l'HTLV-1 en Mélanésie, dans les tribus isolées de Papouasie Nouvelle-Guinée (PNG), chez les habitants des Îles Salomon et parmi les aborigènes d'Australie, aucune étude fiable ne concernait l'archipel du Vanuatu. A partir de 2003 et la découverte de 4 femmes séropositives dans l'île d'Ambae au Nord-est de l'archipel, nous avons constitué un échantillonnage représentatif de l'ensemble de la population de l'archipel composé d'environ 4 500 individus (2% de la population totale). A partir de cette population, nous avons pu identifier 41 souches virales appartenant toutes au sous-type C Mélanésien et démontrer pour la première fois la présence de l'HTLV-1 au Vanuatu tout en confirmant l'endémie en Mélanésie. L'analyse des déterminants épidémiologiques de l'infection montre que la séroprévalence HTLV-1 globale est évaluée à 0,62%, qu'elle augmente avec l'âge, qu'il existe une hétérogénéité selon les îles et que la transmission du virus persiste au sein de foyers familiaux dans au moins 3 îles de l'archipel. La caractérisation moléculaire révèle que les souches du Vanuatu appartiennent toutes au sous-type C Mélanésien, et qu'elles sont d'un point de vue phylogénétique plus proches des souches des Salomon que de PNG ou d'Australie. Tirant profit de la faible variabilité génomique de l'HTLV-1, qui constitue un excellent outil moléculaire pour étudier l'origine et les voies de dissémination des virus, nous avons réalisé une analyse d'horloge moléculaire, fondée sur des données anthropologiques relatives au peuplement initial de l'Australie, à partir de souches représentatives du Vanuatu et de souches prototypes des sous-types A, B, C, D et G. Les résultats suggèrent fortement que les souches du Vanuatu et des Salomon ont émergé à partir d'un ancêtre commun il y a 10 000 ans. Cette analyse qui témoigne de l'ancienneté de l'introduction des virus HTLV-1 au Vanuatu, doit cependant être confrontée à des données concernant le fond génétique (ADN mitochondrial et chromosome Y) des populations infectées, afin de mieux comprendre l'origine du peuplement de cette région. Concernant l'HHV-8, seuls de rares cas cliniques de sarcome de Kaposi et quelques études séro-épidémiologiques dans des villages isolés de PNG, témoignaient de l'endémie de ce virus dans la région pacifique. Dans un premier temps nous avons découvert l'existence d'un variant moléculaire du sous-type D « Asie-Pacifique », chez un Polynésien originaire de l'île de Wallis en Polynésie, et démontré la très forte homologie de séquence entre cette souche et celle d'un Polynésien de Nouvelle-Zélande. Puis, nous avons réalisé deux études de séroprévalence de l'HHV-8 à partir des échantillons du Vanuatu. La première a concerné des individus âgés (> 65 ans) et la seconde environ 200 représentants de 13 familles. Les résultats reflètent d'une part une forte endémie de l'HHV-8 au Vanuatu (45%) chez les individus âgés et d'autre part traduisent une circulation du virus au sein des familles. L'utilisation de la variabilité génétique du gène K1 a permis de montrer que parmi les 30 séquences obtenues à partir des individus séropositifs HHV-8 asymptomatiques, les souches du Vanuatu se répartissent au sein du sous-type D selon 3 clades distincts et témoignent d'une origine à la fois « polynésienne », « taïwanaise » ou « australienne » des souches. Cette répartition moins homogène des souches HHV-8, que celle décrite pour l'HTLV-1, apporte par conséquent un éclairage nouveau sur le peuplement de cet archipel et reflète une origine multiple des ancêtres des habitants du Vanuatu. Des études de génétique humaine sont actuellement en cours afin de contribuer à analyser et mieux comprendre les mouvements de population dans cette région du monde.

**MOTS-CLÉS** • HTLV-1. HHV-8. Epidémiologie. Epidémiologie moléculaire. Vanuatu. Mélanésie.

### EPIDEMIOLOGY AND GENETIC VARIABILITY OF HUMAN T LYMPHOTROPIC VIRUS TYPE 1 AND HUMAN HERPES VIRUS TYPE 8 IN THE VANUATU ISLANDS: CONTRIBUTION TO THE STUDY OF HUMAN MIGRATION TO MELANESIA

**ABSTRACT** • Work on a PhD thesis provided the opportunity to study the descriptive and molecular epidemiology of infection by human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and human herpes virus type 8 (HHV-8) on the Vanuatu Islands in Melanesia. Several investigations in Melanesia have indicated that HTLV-1 is endemic among isolated tribes in Papua New Guinea (PNG), inhabitants of the Solomon Islands, and aborigines in Australia. However no reliable data has been published for the Vanuatu Islands up to now. Starting in 2003 following identification of 4 seropositive women on the Ambae Island in the northeastern part of the archipelago, we collected a representative sample of the entire archipelago including specimens from nearly 4500 individuals (2% of the total population). Using these specimens we identified 41 viral strains that all exhibited the Melanesian subtype C and provided the first proof of the presence and endemicity of HTLV-1 on the Vanuatu Islands in Melanesia. Analysis of the epidemiologic determinants of infection indicated that the overall seroprevalence of HTLV-1 was around 0.62%, that seroprevalence increased with age, that there was heterogeneity between islands, and that transmission of the virus persisted within families on at least 3 islands in the archipelago. Molecular characterization showed that all Vanuatu strains were Melanesian subtype C and that they were phylogenetically closer to strains observed on the Solomon Islands than to strains observed in PNG or Australia. Due to its low genomic variability, HTLV-1 is an excellent molecular tool to study the origin of the virus and pathways of its spreading. Accordingly we performed a molecular clock analysis using representative strains from Vanuatu and prototype subtype A, B, C, D, and C strains in function of relative anthropological estimates of migration of the first popu-

*Prix de thèse*

lation migrations to Australia. Data strongly suggested that the strains observed on the Vanuatu and Salomon Islands emerged from the same common ancestor 10000 years ago. While this analysis shows that introduction of HTLV-1 in the Vanuatu Islands is an ancient event, further study to correlate these findings with data on the genetic background (mitochondrial DNA and chromosome Y) of the infected populations will be necessary to better understand the origin of the population living in this region. Regarding HHV-8 the only evidence of its endemicity in the Pacific region comes from rare clinical cases of Kaposi sarcoma and a few seroepidemiological studies in remote villages in PNG. Our initial study led to discovery of a molecular subtype D variant specific to the « Asia-Pacific » region in a Polynesian man from the Wallis Island in Polynesia. Initial findings also demonstrated a high degree of sequence homology between this variant and the strain observed in a Polynesia man from New Zealand. Subsequently we carried out two studies on the seroprevalence of HHV-8 in the specimens collected on the Vanuatu Islands. The first study included specimens from elderly people (> 65 years) and the second included specimens from approximately 200 members of 13 families. The respective findings of these studies showed a high level of HHV-8 endemicity in elderly people living in the Vanuatu Islands and demonstrated transmission of the virus within the families. Analysis of genetic variability of the K1 gene in the 30 sequences obtained from asymptomatic HHV-8 seropositive individuals showed that the strains found in Vanuatu could be classified in 3 distinct clades within subtype D and indicated that a triple origin of strains involving « Polynesia », « Taiwan », and « Australia ». The less homogeneous distribution of HHV-8 in comparison with that of HTLV-1 provides new insight into the origins of the population living on the Vanuatu islands and suggests that their ancestors came from many different places. Human genetic studies are currently being carried out with the aim of analyzing and improving the understanding of population migration in this region of the world.

**KEY WORDS** • HTLV-1. HHV-8. Epidemiology. Molecular epidemiology. Vanuatu. Melanesia.



Stèle à la mémoire des médecins et pharmaciens morts de fièvre jaune en 1878, île de Gorée (© IMTSSA).