

DONNEES OBTENUES CHEZ LES AFRICAINS  
CONCERNANT CERTAINS FACTEURS DE LA SUSCEPTIBILITE  
DES ERYTHROCYTES A *PLASMODIUM FALCIPARUM*  
ET A *PLASMODIUM VIVAX*

par

G. VAN ROS

Laboratoire d'Hématologie, Institut de Médecine Tropicale,  
Nationalestraat 155, B-2000 Antwerpen, Belgique

---

**Résumé** — Des anomalies moléculaires des protéines du cytosquelette des globules rouges ont été décrites dans des cas d'elliptocytose héréditaire et les érythrocytes de sujets mélanésiens atteints d'elliptocytose se sont montrés résistants à l'invasion par *P. falciparum* en culture *in vitro*.

Dans la présente étude par contre il n'a pas été constaté de différence significative entre les facteurs de multiplication de *P. falciparum* en culture dans les elliptocytes de trois cas africains provenant de Guinée et du Zaïre d'une part et dans les normocytes de sujets sains d'autre part.

La distribution des groupes sanguins Duffy parmi les individus d'une série de 216 cas importés infectés par différentes espèces de plasmodium est en accord avec l'hypothèse que les sujets du groupe Duffy négatif Fy (a-b-) sont résistants à *P. vivax*.

Un des 46 patients africains noirs Fy (a-b-) présentait une infection légère à *P. vivax*, montrant que la résistance des sujets Duffy négatifs n'est pas absolue. La fréquence des porteurs du groupe Fy (a-b-) était de 93,8 % parmi 130 Zaïrois et de 72 % parmi 25 Rwandais.

---

KEYWORDS : Malaria; Hereditary Elliptocytosis; Duffy Blood Groups; Africans.

---

Le degré de susceptibilité des érythrocytes à l'invasion par les mérozoïtes est un des principaux facteurs de la susceptibilité des individus à l'infection par les plasmodiums. L'invasion dépend principalement de la composition et de la structure de la membrane globulaire, tandis que l'évolution de la schizogonie dépend surtout de celles du cytosol.

Nous rapportons ici brièvement certaines acquisitions récentes sur l'influence de composants de la membrane sur l'invasion et rapportons dans quelle mesure les caractéristiques d'une série de cas de paludisme importé sont en accord avec elles.

### Méthodes

La recherche des plasmodiums dans le sang a été faite par examen de gouttes épaisses. Dans les cas positifs la détermination de l'espèce a été faite ou confirmée par examen de frottis de sang colorés au May-Grünwald-Giemsa à pH 6,8 et à pH 8,0. Les diagnostics d'elliptocytose héréditaire ont été basés sur la présence de plus de 25 % d'érythrocytes nettement elliptiques dans les frottis et l'absence d'autres types de poikilocytes (22).

Les épreuves de susceptibilité à *P. falciparum* des érythrocytes des sujets atteints d'elliptocytose héréditaire ont été faites en les mélangeant dans la proportion de 10 à 1 en volume à des érythrocytes infectés par une souche de *P. falciparum* en culture asynchrone (souche Kenya) suivant Trager et Jensen (20). Simultanément des cultures ont été faites dans les mêmes conditions en présence de normocytes de sujets témoins prélevés le même jour. Les cultures ont été faites en double pour chaque sujet testé et chaque témoin. Des frottis ont été préparés quotidiennement à partir de chaque culture et colorés au May-Grünwald-Giemsa. Les taux de globules parasités ont été déterminés au Laboratoire d'Hématologie de l'I.M.T. par deux microscopistes sur 5.000 à 7.000 globules rouges par culture; les différences entre les résultats obtenus étant faibles, ces résultats ont été additionnés.

Les groupes sanguins Duffy ont été déterminés en tubes par des tests de COOMBS indirects au moyen d'antisérums anti-Fy<sup>a</sup>, anti-Fy<sup>b</sup> et antiglobuline humaine de marque Merz-Dade. Des globules témoins portant les déterminants Fy<sup>a</sup> et Fy<sup>b</sup> et des globules Fy(a-b-) ont été testés simultanément.

## Résultats

1. Paludisme importé : 309 cas ont été décelés au cours des 4 dernières années (octobre 1980 à septembre 1984), dont 123 au cours de la dernière année.

Le plasmodium infectant était *P. falciparum* dans 67,9 % des cas, *P. vivax* dans 17,8 %, *P. ovale* dans 8,4 % et *P. malariae* dans 4,9 %. L'espèce n'a pu être déterminée dans 3 cas (1,0 %). Chacune des espèces des cas infectés par deux plasmodiums différents a été notée séparément (3 infestations à *P. falciparum* et *P. vivax* et 3 à *P. falciparum* et *P. malariae*).

L'origine géographique de l'infestation a pu être précisée pour 212 de ces cas. Ces cas se répartissent comme suit :

	<i>P. falciparum</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. malariae</i>
146 Européens	117	11	16	2
46 Africains Noirs	42	1	1	2
20 Asiatiques	6	14	—	—

Tous les Africains se sont infectés en Afrique Noire et tous les Asiatiques en Asie. Parmi les 11 Européens infectés par *P. vivax* 6 l'ont été en Afrique Noire, dont 3 au Zaïre, 1 au Rwanda, 1 au Cameroun et 1 en Haute-Volta. Les 16 Européens infectés par *P. ovale* l'ont été en Afrique Noire (12 au Zaïre, les autres au Rwanda, Cameroun, République Centrafricaine et Sierra Leone).

2. Multiplication de *P. falciparum* en culture dans les érythrocytes de sujets atteints d'elliptocytose héréditaire d'une part, de sujets normaux d'autre part : elle a été étudiée chez 4 sujets : 1 sujet de nationalité française âgé de 54 ans (cas n° 1; durée 3 jours) et 3 Africains (durée : 4 jours), dont un Guinéen âgé de 43 ans (cas n° 2) et deux Zaïrois, âgés respectivement de 4 ans (cas n° 3) et de 31 ans (cas n° 4) :

Cas	Elliptocytes (A)	Normocytes (témoins) (B)	% (C)
N° 1	2,64	3,79	70
N° 2	4,92	3,81	129
N° 4	7,32	5,51	133
N° 3	4,40	4,54	97

A. Multiplication dans les elliptocytes-test (rapport entre le taux initial d'hématies infectées en % et le taux final, établis sur les résultats de deux cultures).

B. Multiplication dans les normocytes des témoins; deux cultures par témoin : 1 témoin pour le cas n° 1, 2 témoins pour les autres cas.

C. Rapport multiplication dans les elliptocytes/multiplication dans les témoins (multiplication dans les témoins = 100 %).

### 3. Groupes sanguins Duffy : répartition parmi les sujets originaires du Zaïre et du Rwanda résidant en Belgique :

	N	Fy (a + b -)	Fy (a + b +)	Fy (a - b +)	Fy (a - b -)
Zaïrois	130	3 (2,3 %)	0	5 (3,8 %)	122 (93,8 %)
Rwandais	25	4 (16,0 %)	0	3 (12,0 %)	18 (72,0 %)

#### Fréquences géniques

	Fy <sup>a</sup>	Fy <sup>b</sup>	Fy
Zaïrois	0,0116	0,0194	0,3711
Rwandais	0,0837	0,0621	0,8542

Répartition des groupes sanguins Duffy parmi les porteurs des différentes espèces de plasmodiums d'une série de 216 cas de paludisme importé :

	N	Fy (a + b -)	Fy (a + b +)	Fy (a - b +)	Fy (a - b -)
<i>P. falciparum</i>	165	38	46	47	34 (20,6 %)
<i>P. vivax</i>	26	10	11	4	1 (3,8 %)
<i>P. ovale</i>	17	4	9	3	1 (5,9 %)
<i>P. malariae</i>	8	3	1	1	3 (37,5 %)

Signification de la différence entre la répartition des Duffy positifs et négatifs parmi les porteurs de *P. falciparum* d'une part, de *P. vivax* d'autre part (test exact de Fisher) :  $P = 0,028$  : significatif.

Idem pour *P. falciparum* d'une part, *P. ovale* d'autre part :  $P = 0,076$  : non significatif.

## Discussion

I. La composition et la structure du cytosquelette protéique de la membrane des globules rouges ont une influence importante sur la réceptivité de ces globules vis-à-vis des mérozoïtes des plasmodiums. Ceci apparaît notamment du fait que les porteurs d'une forme d'elliptocytose héréditaire très répandue dans les régions côtières septentrionales de Nouvelle-Guinée sont porteurs d'une anomalie du cytosquelette qui lui confère une stabilité thermique et une rigidité anormalement élevées (13) et sont relativement résistants à *P. falciparum*, à *P. vivax* et à *P. malariae* (1, 18). De plus, il a été démontré que les elliptocytes de ces sujets sont résistants à l'invasion par *P. falciparum* et par *P. knowlesi* en culture (8, 6). On a logiquement attribué la prévalence élevée de l'elliptocytose héréditaire chez les Mélanésiens de Nouvelle-Guinée à l'effet sélectif du paludisme (13) : celui-ci rédui-

rait de manière plus marquée dans les zones d'endémie les chances de survie des sujets normaux jusqu'à l'âge de la reproduction que celles des porteurs de l'anomalie. Chez des sujets d'autres origines ethniques atteints d'elliptocytose héréditaire, des anomalies moléculaires des chaînes polypeptidiques de la principale des protéines membranaires, la spectrine, ont été mises en évidence, notamment chez des sujets de race noire; dans certains cas, elles entraînent un déficit d'association des dimères  $\alpha\beta$  en tétramères (3, 9). Du fait que l'elliptocytose présente une prévalence significativement plus élevée dans nombre de populations noires que chez les Caucasiens (21, 22), la question se pose de la possibilité d'une résistance de leurs elliptocytes à l'invasion par les mérozoïtes des plasmodiums, comme c'est le cas pour l'elliptocytose des Mélanésiens.

Les données rapportées plus haut sur la multiplication des parasites dans les érythrocytes de 3 Africains atteints d'elliptocytose mis en présence de *P. falciparum* en culture ne plaident pas pour cette hypothèse : les différences entre la multiplication des plasmodiums dans les elliptocytes de ces sujets et dans les normocytes de témoins sains sont du même ordre que les différences aléatoires entre cultures faites au moyen de normocytes de témoins sains différents (celles-ci se sont élevées en moyenne à 14,3 % dans 3 séries de deux témoins, avec un maximum de 26 %). Si ces elliptocytes présentaient néanmoins une réduction de susceptibilité à l'invasion non décelée par la technique utilisée elle serait nécessairement beaucoup moins marquée que celle des elliptocytes des Mélanésiens : ceux-ci présentent en effet en culture des taux d'invasion inférieurs de 3 % à ceux des normocytes (8) : une résistance de ce degré aurait nécessairement été mise en évidence. Les anomalies de la stabilité thermique et de la rigidité du cytosquelette qui ont été mesurées dans quelques cas africains d'elliptocytose étaient d'ailleurs moins marquées que dans les cas mélanésiens (6).

II. Par ailleurs la présence et l'intégrité de certaines sialoglycoprotéines transmembranaires, les *glycophorines A, B et C*, sont nécessaires à l'invasion des globules rouges par les mérozoïtes de *P. falciparum*, ainsi que le montrent de nombreux faits : par exemple les érythrocytes qui manquent du déterminant antigénique En (a) sont partiellement résistants à l'invasion en culture, or ils sont dépourvus de glycophorine A (15); de même les érythrocytes qui manquent des déterminants S, s et U, situés sur la glycophorine B, sont partiellement résistants; si on les traite préalablement par la trypsine, qui hydrolyse la glycophorine A, ils deviennent fortement résistants (16); si l'on fixe une IgG antiglycophorine A sur des hématies avant de les mélanger aux cultures de *P. falciparum*, l'invasion de ces hématies est inhibée (17); l'addition aux mérozoïtes de glycophorine A ou B purifiée sature leurs sites de fixation à la membrane et inhibe aussi l'invasion. L'ensemble des données connues ne laisse aucun doute sur le rôle de récepteurs spécifiques de *P. falciparum* des glycophorines (7).

Les récepteurs membranaires de *P. vivax* sont différents : ce sont des produits des gènes  $Fy^a$  et  $Fy^b$  situés au locus Duffy, gènes qui déterminent notamment (et non exclusivement) les antigènes membranaires  $Fy^a$  et  $Fy^b$ . Les homozygotes pour un autre allèle au même locus, le gène récessif  $Fy$ , présentent le groupe sanguin  $Fy(a-b-)$ , dit aussi Duffy négatif; ils sont dépourvus de ces récepteurs et sont de ce fait résistants à *P. vivax* (12).

Les nombreuses données épidémiologiques ou expérimentales qui confirment cette théorie peuvent être classées dans les trois groupes suivants :

1. *La fréquence du groupe Duffy négatif est faible ou nulle dans la plupart des populations humaines, sauf chez les Noirs, chez qui elle est très élevée* (14). Nos résultats confirment cette prévalence élevée du phénotype Fy(a-b-) chez les Noirs en ce qui concerne le Zaïre et le Rwanda : 93,8 % chez 130 Zaïrois et 72,0 % chez 25 Rwandais.

2. *La majorité des noirs sont résistants à P. vivax et à P. knowlesi* : ceci est démontré par les nombreux échecs de tentatives de malariathérapie pour neurosyphilis faites au moyen de ces plasmodiums chez des Noirs américains, rapportés dans une série de travaux parus entre 1932 et 1958 (bibliographie in 2 et 23). Dans notre série de cas de paludisme importé, un seul cas à *P. vivax* a été décelé parmi les 46 Africains Noirs infectés alors que 11 infections dues à ce plasmodium, dont 6 contractées en Afrique Noire, ont été constatées parmi les 146 Européens de cette série. Bien qu'elle suggère que la susceptibilité des Noirs à *P. vivax* est effectivement moindre que celle des Européens, cette différence de répartition est trop faible pour être probante, d'autant plus qu'elle porte sur des sujets expatriés dont la sélection a pu être biaisée par des facteurs systématiques non définis.

3. *Les sujets porteurs d'érythrocytes Fy(a-b-) sont résistants à P. vivax et à P. knowlesi* : ceci est suggéré par les résultats d'enquêtes épidémiologiques et par la résistance de ces érythrocytes à l'invasion par *P. knowlesi* en culture (12, 19). Les résultats obtenus sur notre série sont en accord avec ces constatations : alors que 20,6 % des sujets infectés par *P. falciparum* et 37,5 % des sujets infectés par *P. malariae* présentaient ce groupe sanguin, un seul (2,8 %) des sujets atteints de paludisme à *P. vivax* en était porteur. De plus le fait que la différence de répartition des phénotypes Duffy positif et Duffy négatif parmi les sujets infectés par *P. vivax* d'une part et par *P. falciparum* d'autre part est statistiquement significative suggère que l'influence des déterminants Duffy sur l'invasion par les mérozoïtes de chacun de ces plasmodiums est effectivement différente.

Dans nombre de populations noires, et notamment au Zaïre, la fréquence des Duffy négatifs dépasse les 90 % et atteint parfois apparemment 100 %. La continuité de la transmission de *P. vivax* dans ces populations n'est explicable que si la résistance de leurs erythrocytes à l'invasion n'est que relative. Ce point n'a pu être vérifié *in vitro* pour *P. vivax* qui n'a pas été cultivé jusqu'à présent, mais il l'a été pour *P. knowlesi* : c'est ainsi qu'au cours de 4 essais les taux d'invasion par ce plasmodium ont été en moyenne de 2 pour 1.000 hématies Duffy négatives, contre 120 pour 1.000 hématies positives testées dans les mêmes conditions (10). Que les sujets Duffy négatifs ne sont pas complètement résistants à *P. vivax* est confirmé par le fait que le seul Africain infecté par ce plasmodium dans notre série était Duffy négatif : il s'agissait d'une femme originaire du Kivu (Zaïre); l'espèce du plasmodium infectant ne laisse place à aucun doute, de même que les déterminations du groupe sanguin Duffy (qui ont été répétées); il s'agissait d'un paludisme bénin avec parasitémie très modérée : 1,1 hématies parasitées pour mille ou environ 4.300 parasites par  $\mu$ l.

Remerciements— *L'auteur exprime ses remerciements au Prof. M. Wéry et à MM. J. Coene et L. Hendrix (Laboratoire de Protozoologie, I.M.T.) qui ont réalisé les cultures de P. falciparum.*

**Data collected from African individuals about some factors influencing the susceptibility of erythrocytes to *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax*.**

*Summary* — Some abnormalities of the red blood cells cytoskeleton were reported in cases of hereditary elliptocytosis; moreover erythrocytes from Melanesian cases of elliptocytosis were reported to be resistant to invasion by *P. falciparum* in culture. In contrast no significant difference was found in the present study between the multiplication rate of *P. falciparum* in culture in the elliptocytes of three African cases (from Guinea and from Zaïre) and in the normocytes of normal subjects. The distribution of the Duffy blood groups amongst the subjects infected by the various species of plasmodiums in a series of 216 impored cases is in accordance with the hypothesis that the subjects with the Duffy negative, Fy (a-b) blood group are resistant to *P. vivax*. One of the 46 African Black patients was Fy (a-b) and had a mild infection due to *P. vivax*, indicating further that the resistance of the Duffy negative subjects to this plasmodium is not an absolute one. The frequencies of the carriers of the Fy (a-b) group were 93,8 % in 130 Zaïreans and 72,9 % in 25 Rwandese.

#### REFERENCES

1. Amato D, Booth PB : Hereditary ovalocytosis in Melanesians. Papua-New Guinea med. J., 1977, **20**, 26-32.
2. Bray RS : The susceptibility of Liberians to the Madagascar strain of *Plasmodium vivax*. J. Parasitol., 1958, **44**, 371-373.
3. Dhermy D, Lecomte MC, Garbaz M *et al.* : Spectrim  $\beta$ -chain variant associated with hereditary elliptocytosis. J. clin. Invest., 1982, **70**, 707-715.
4. Facer CA : Antibodies to red cell glycoporphin inhibit invasion by *Plasmodium falciparum* merozoites. IRCS med. Sci., 1984, **12**, 314-315.
5. Fleming AF, Harrison RA, Briggs ND *et al.* : Anaemia in young primigravidae in the Guinea savanna of Nigeria : sickle cell trait gives partial protection against malaria. Ann. trop. Med. Parasitol., 1984, **78**, 395-404.
6. Hadley T, Saul A, Lamont G *et al.* : Resistance of Melanesian elliptocytes (ovalocytes) to invasion by *Plasmodium knowlesi* and *Plasmodium falciparum* malaria *in vitro*. J. clin. Invest., 1983, **71**, 780-782.
7. Hermentin P, Enders B : Erythrocyte invasion by malaria (*Plasmodium falciparum*) merozoites : recent advances in the evaluation of receptor sites. Behring Inst. Mitt., 1984, **76**, 121-141.
8. Kidson C, Lamont G, Saul A, Nurse G : Ovalocytic erythrocytes from Melanesians are resistant to invasion by malaria parasites in culture. Proc. Nat. Acad. Sci. USA., 1981, **78**, 5829-5832.
9. Liu SC, Paler J, Prchal H, Castleberry B : Defective spectrin dimer-dimer association in hereditary elliptocytosis. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1982, **79**, 2072-2076.
10. Mason SJ, Miller LH, Shiroishi T *et al.* : The Duffy blood group determinants : their role in the susceptibility of human and animal erythrocytes to *Plasmodium knowlesi* malaria. Brit. J. Haematol., 1977, **36**, 327-335.
11. Milam DF, Coggeshall LT : Duration of *Plasmodium knowlesi* infection in man. Amer. J. Med., 1938, **18**, 331-338.
12. Miller MH, Mason SJ, Dvorak JA *et al.* : Erythrocyte receptors for (*Plasmodium knowlesi*) malaria : Duffy blood group determinants. Science, 1982, **189**, 561-563.
13. Mohandas N, Lie-Injo LE, Friedman M, Mak JW : Rigid membranes of Malayan ovalocytes : a likely genetic barrier against malaria. Blood, 1984, **63**, 1385-1392.
14. Mourant AE, Kopec AC, Domaniewska-Sobczak K. : The distribution of the human blood groups and other polymorphisms. London, Oxford University Press, 2nd ed., 1976, 590-594.
15. Pasvol G, Jungers M, Weatherall DJ *et al.* : Glycophorin as a possible receptor for *Plasmodium falciparum*. Lancet, 1982, **2**, 947-951.
16. Pasvol G, Wainscoat JS, Weatherall DJ : Erythrocytes deficient in glycophorin resist to invasion by the malarial parasite *Plasmodium falciparum*. Nature, 1982, **297**, 64-66.
17. Perkins M : Binding of glycophorins to *Plasmodium falciparum* merozoites. Mol. biochem. Parasitol., 1984, **10**, 67-78.
18. Serjeantson S, Bryson R, Amato D, Babona D : Malaria and hereditary ovalocytosis. Hum. Genet., 1977, **37**, 161-167.
19. Spencer HC, Miller LH, Collins WE *et al.* : The Duffy blood group and resistance to *Plasmodium vivax* in Honduras. Amer. J. trop. Med. Hyg., 1978, **27**, 664-670.

20. Trager W, Jensen JB : Human malaria parasites in continuous culture. *Science*, 1976, **193**, 673-675.
21. Van Ros G, Seynaeve V, Fiasse L :  $\beta^+$ thalassaemia, haemoglobine S and hereditary elliptocytosis in a Zairean family. Ischaemic costal necroses in a child sickle cell- $\beta^+$ thalassaemia. *Acta haematol.*, 1976, **56**, 241-252.
22. Wintrobe MM : *Clinical hematology*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1981, 761.
23. Young MD, Eyles DE, Burgess MW, Jeffery GM : Experimental testing of the immunity of Negroes to *Plasmodium vivax*. *J. Parasitol.*, 1955, **41**, 315-318.