

ALGUNAS CARACTERISTICAS DE LA RESPUESTA INMUNOLOGICA A LOS ESPOROZOITOS DE MALARIA SIMICA Y HUMANA¹

Ruth S. Nussenzweig, M.D., Ph.D.² y David Chen, M.A., Ph.D.³

En la búsqueda de una vacuna antimalárica en años recientes, se ha dedicado considerable atención a la inmunidad inducida por esporozoitos. Este artículo examina los conocimientos actuales sobre el tema y resume los resultados de las investigaciones que se vienen llevando a cabo, concentrándose de manera especial en la determinación de la medida en que los antisueros de esporozoitos disponibles son específicos para determinadas cepas y especies de malaria humana y símica.

Introducción

Este artículo tiene por objeto examinar el estado de la inmunización contra la malaria utilizando la fase de esporozoitos del organismo y resumir algunos de los recientes progresos logrados en este campo, principalmente mediante la definición de la especificidad de la respuesta inmunitaria a esporozoitos humanos y símicos. Asimismo da cuenta de los resultados preliminares obtenidos en la inmunización de monos rhesus con esporozoitos irradiados de *Plasmodium cynomolgi* y de las tentativas para correlacionar estos resultados con los de ensayos humanos preliminares (Clyde *et al.*, 1973). Por último, trata de señalar una serie de lagunas existentes en los conocimientos de la inmunidad inducida por esporozoitos.

La tarea de resumir el estado del arte de inmunizar con esporozoitos no es difícil

puesto que ha sido un método "sin ortodoxia" seguido por unos cuantos investigadores. En realidad, en la mayoría de las tentativas de inmunización se han utilizado las fases eritrocíticas del parásito, debido en parte a las dificultades que encierran los trabajos con mosquitos infectados, pero también por causa del concepto erróneo muy arraigado de que los esporozoitos no son inmunogénicos.

Por otro lado, la inmunización con esporozoitos no es en realidad un procedimiento nuevo, puesto que se demostró de manera bastante convincente en los años cuarenta que los esporozoitos maláricos aviares que habían sido expuestos a la irradiación ultravioleta provocaban la formación de anticuerpos antiesporozoitos así como una protección parcial, pero muy significativa, en las aves inmunizadas (Mulligan, *et al.*, 1941).

Inmunización de roedores

Los trabajos de inmunización con esporozoitos de malaria de los roedores comenzaron hace unos siete años, cuando se observó que una sola inyección intravenosa de esporozoitos irradiados protegía totalmente contra una infección por *P. berghei*, que de otro modo hubiera sido invariablemente letal, a una proporción variable de ratones inyectados (Nussenzweig, *et al.* 1967). El

¹ Trabajo presentado en la Decimotercera Reunión del Comité Asesor de la OPS sobre Investigaciones Médicas, celebrada en Washington, D.C., del 24 al 27 de junio de 1974. El artículo aparece también en inglés en *Bulletin of the Pan American Health Organization* 7(3):198-204, 1974. Fragmentos de este informe se presentaron al Simposio sobre Investigaciones de Malaria celebrado en Rabat, Marruecos, en abril de 1974 y se publicarán en un número especial del *Bulletin of the World Health Organization*. Los estudios sobre malaria símica y humana constituyen el tema de la tesis que presentó el Dr. Chen para el doctorado.

² Profesor de Medicina Preventiva, Departamento de Medicina Preventiva, Escuela de Medicina de la Universidad de Nueva York, ciudad de Nueva York.

³ Alumno graduado, Departamento de Medicina Preventiva, Escuela de Medicina de la Universidad de Nueva York, ciudad de Nueva York.

porcentaje de ratones protegidos contra la confrontación de los esporozoitos después de esta dosis inmunizante única osciló entre el 15 y 100 % en distintos experimentos.

Conviene advertir que quedan todavía por resolver dos de las cuestiones fundamentales suscitadas por estos experimentos: 1) las razones de esta considerable variación en la inmunogenicidad de las diferentes preparaciones de esporozoitos y 2) el problema afín de cómo aumentar esta protección para obtener una resistencia de 100 % de los animales. El tratamiento de los ratones con *Corynebacterium parvum* antes de la inmunización constituyó el procedimiento que más se acercaba a esta última meta. El *C. parvum*, poderoso estimulante del sistema reticuloendotelial (SRE), puede aumentar de manera considerable la resistencia no específica a las infecciones inducidas por esporozoitos (Nussenzweig, 1967).

Cuando la administración de este estimulante SRE fue acompañada de una inyección de una sola dosis de esporozoitos tratados con rayos X, se observó un incremento considerable en el porcentaje de animales protegidos. Entretanto se están explorando los efectos del *C. parvum* sobre el sistema de la malaria símica con el fin de averiguar si también favorece la respuesta inmunitaria a los esporozoitos de *P. cynomolgi*.

Si se aumenta el número de inyecciones inmunizantes de esporozoitos por ratón a 4 ó 5, es muy fácil reproducir los resultados, observándose una protección de 100 % en la mayoría de los experimentos (Nussenzweig, *et al.*, 1969). Este modelo experimental ha permitido determinar una serie de características de la inmunidad inducida por esporozoitos en la malaria de los roedores, características que fueron examinadas en un informe al Simposio Interamericano sobre Investigaciones de la Malaria, convocado por la Organización Panamericana de la Salud en 1972 (Nussenzweig, *et al.*, 1972).

Trabajos recientes sobre los esporozoitos de la malaria humana y símica

Estos trabajos iniciales condujeron a las investigaciones más recientes de la respuesta inmunitaria que pueden producirse contra esporozoitos de varias especies de malaria humana y símica.

Vacunación de los monos

Las tentativas de vacunar a simios huéspedes mediante esporozoitos atenuados por la irradiación se encuentran todavía en una fase hasta cierto punto preliminar. Los resultados dados a conocer por otros investigadores (Collins y Contacos, 1972), así como las observaciones inéditas de los autores ofrecen ciertas indicaciones de una inmunidad parcial obtenida en varias de estas tentativas. Sin embargo, no se han determinado todavía las condiciones óptimas para inmunizar a los simios.

Además de la necesidad de hallar la dosis óptima, vía y plan de inmunización, el éxito de estas tentativas de vacunación dependerá probablemente en gran parte de la selección de una preparación antigénica apropiada. Los datos mencionados a continuación ofrecen nueva información sobre la inmunogenicidad de las distintas preparaciones de esporozoitos que se relacionan directamente con esta cuestión.

El tema ha sido investigado mediante el examen de la respuesta de anticuerpos: a) a los esporozoitos de diferentes cepas y especies de malaria símica y humana y b) a las diferentes fases de desarrollo de los esporozoitos. Además se han obtenido datos iniciales sobre la infecciosidad de algunas de estas fases de desarrollo.

Producción de anticuerpos de esporozoitos en ratas

La utilización de ratas como productoras de anticuerpos antiesporozoitos facilitó la investigación de la respuesta inmunitaria a los esporozoitos de malaria símica y humana, esto fue posible gracias al descubrimiento de

que la inyección de esporozoitos de la malaria símica en este huésped no natural detiene el desarrollo del parásito e induce una respuesta de anticuerpos de circunsporozoitos (CSP) muy rápida y constante (Nussenzweig, *et al.*, 1973). Estos anticuerpos pueden detectarse mediante la incubación de los esporozoitos con suero inmune, lo que provoca la formación de un precipitado filiforme, generalmente en un extremo del esporozoito. La reacción es fácil de observar en un microscopio de contraste de fase y es esencialmente análoga a la reacción CSP de la malaria de los roedores anteriormente descrita (Vanderberg, *et al.*, 1969).

En fechas recientes se ha observado que la inyección de una dosis total de $1.0-2.0 \times 10^5$ de esporozoitos, irradiados o no, administrada en una o dos inyecciones intravenosas produce la formación de anticuerpos CSP. El anticuerpo puede detectarse antes de las dos semanas subsiguientes a la primera inmunización.

Estas características de las respuestas de anticuerpos se han observado uniformemente en todas las tentativas de los autores para inmunizar a las ratas con esporozoitos de diversas clases de malaria símica y humana. Además, se ha demostrado que la inmunización intravenosa de monos rhesus con esporozoitos irradiados de *P. cynomolgi* produce una reacción de anticuerpos de CSP similar pero retardada.

Determinación de la madurez antigénica de los esporozoitos del P. cynomolgi

La producción de ciertos antígenos en esporozoitos de la malaria de los simios ha sido investigada mediante el ensayo de la inmunogenicidad y la infecciosidad de los diversos estadios de *P. cynomolgi* (cepa B) durante la esporogonia.

Con esta finalidad, se seccionaron mosquitos *Anopheles stephensi*, separando el tórax del abdomen y se recogieron esporozoitos de estas regiones abdominales y toráci-

cas así como de las glándulas salivales y el mesogastrio diseccionados. Estos trabajos se realizaron en condiciones que permitieron la mínima contaminación recíproca de las diversas poblaciones de esporozoitos. Las ratas fueron inmunizadas con esporozoitos procedentes de esos distintos lugares anatómicos, y obtenidos a intervalos diferentes después de la ingestión de sangre infecciosa por el mosquito, es decir, en el plazo de 7 a 25 días después de la infección. Estos experimentos tuvieron por objeto determinar si la maduración de los esporozoitos en cualquier lugar determinado dependía del tiempo o bien si las poblaciones parasitarias del mesogastrio llegaban a ser infecciosas y antigénicamente maduras antes de invadir el hemoceloma⁴ y después las glándulas salivales.

Todas las poblaciones de esporozoitos fueron analizadas en función de las características siguientes: 1) su infecciosidad para los monos rhesus, 2) su capacidad para inducir la formación de anticuerpos CSP y 3) su capacidad para servir de material antigénico en la reacción CSP.

Al principio se observó una considerable variación en la inmunogenicidad de las poblaciones de esporozoitos, según su localización en el mosquito. Además, se observó que un prolongado período de infección del mosquito no provocaba una maduración adicional de los esporozoitos, a menos que estos migraran también a las glándulas salivales.

Los esporozoitos del mesogastrio solo provocaron en casos excepcionales la formación de cantidades mínimas de anticuerpos CSP. Además no reaccionaron con antisueros anti-esporozoitos positivos conocidos. Las características antigénicas básicas de los esporozoitos del hemoceloma de la región abdominal resultaron más bien semejantes. Solo provo-

⁴ La cavidad corporal general del mosquito.

caron cantidades mínimas de anticuerpos, y muy pocos produjeron el precipitado en forma de cola característico de la reacción CSP. Hasta el momento los esporozoitos del mesogastrio no han infectado a los monos y en distintas ocasiones los esporozoitos del hemoceloma de la región abdominal tampoco resultaron infecciosos. En otras pruebas realizadas los esporozoitos del hemoceloma quedaron expuestos tras una incubación significativamente prolongada lo cual indicó una gran disminución de infecciosidad.

En cambio, con los esporozoitos del hemoceloma torácico se obtuvieron resultados muy distintos. Estos parásitos eran infecciosos, aunque al parecer menos que los esporozoitos de las glándulas salivales. Asimismo provocaron una considerable reacción de anticuerpos CSP, pero fueron relativamente pocos los esporozoitos (no más de 1%) que produjeron una reacción positiva.

Por último, las tres características estaban plenamente presentes en los esporozoitos de las glándulas salivales. Su infecciosidad era considerable, aunque variaba en notable grado según los lotes de mosquitos. Esta variabilidad dificultó la comparación de la infecciosidad de las poblaciones de esporozoitos de diferentes regiones. Así, las comparaciones solo fueron realmente útiles en el caso de estudios simultáneos utilizando los mismos lotes de mosquitos.

Al parecer, el tiempo transcurrido entre la infección del mosquito y su disección no desempeñó una función importante en la determinación de la infecciosidad de los esporozoitos. Por eso los primeros esporozoitos de las glándulas salivales (que aparecen a los 10 u 11 días después de la infección) resultaron en algunas ocasiones tan infecciosos como los obtenidos a los 25 días de la infección.

No obstante, se observó un grado progresivo de maduración antigénica en los esporozoitos de las glándulas salivales obtenidos en un plazo de distinta duración después de una infección. Los primeros esporozoitos de las glándulas salivales (re-

cogidos a los 10 días de la ingestión de sangre de los mosquitos) reaccionaron de manera muy deficiente al ser incubados en sueros inmunes. La reacción máxima se obtuvo de parásitos recogidos en el término de 17 a 21 días después de la infección. Se están llevando a cabo otros experimentos de la infecciosidad e inmunogenicidad comparadas de estas distintas poblaciones de esporozoitos.

Los anticuerpos específicos de especies producidos contra esporozoitos de malaria símica

Se han ensayado antisueros producidos contra los esporozoitos de las glándulas salivales de una serie de especies distintas de malaria símica con el fin de determinar la reactividad CSP. En cada caso se seleccionaron en primer lugar los sueros, utilizando como antígeno esporozoitos homólogos, para confirmar la presencia de anticuerpos antiesporozoitos. Cuando resultaban positivos, los sueros se ensayaban con esporozoitos de otras especies de malaria humana y símica para detectar cualquier reacción cruzada posible.

Los resultados obtenidos (cuadro 1) indican que solo ocurrieron reacciones positivas entre antisueros y esporozoitos homólogos. Ni siquiera en especies de malaria símica consideradas estrechamente relacionadas, como en el caso de los dos parásitos de "tipo *ovale*", *P. simiovale* y *P. fieldi*, se observó reacción cruzada alguna; tampoco los antisueros producidos contra esporozoitos de malaria símica mostraron reacciones de este tipo con esporozoitos de malaria humana. Así pues, los antisueros preparados contra el parásito de "tipo *vivax*", *P. cynomolgi*, no presentaron reacción cruzada con las cepas Río Meta o Sal II de *P. vivax*. Tampoco reaccionaron con los esporozoitos de *P. falciparum* o de *P. vivax* los antisueros producidos contra esporozoitos de otras clases de malaria símica. En la actualidad se están obteniendo nuevos datos más detallados, incluida la información sobre la

CUADRO 1—Reactividad de circunsporozoitos (CSP) observada en sueros de ratas inmunizadas con varios esporozoitos de malaria símica.

| Antígeno de esporozoito | Antisueros producidos con esporozoitos de: | | | |
|-------------------------|--|------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | <i>P. cynomolgi</i> ^a | <i>P. feldi</i> ^b | <i>P. simiovale</i> ^b | <i>P. knowlesi</i> ^c |
| Tipo | | | | |
| <i>vivax</i> | <i>P. cynomolgi</i> | Pos. | Neg. | Neg. |
| | <i>P. gonderi</i> | Neg. | Neg. | Neg. |
| Tipo | | | | |
| <i>ovale</i> | <i>P. feldi</i> | Neg. | Pos. | Neg. |
| | <i>P. simiovale</i> | Neg. | Neg. | Pos. |
| Otros tipos | <i>P. knowlesi</i> | Neg. | Neg. | Neg. |
| | | | | Pos. |

^a Este antisuero se ensayó también con esporozoitos de la cepa Sal II y Río Meta de *P. vivax* y la cepa Thau de *P. falciparum*, pero no se observó reacción cruzada con ninguna de ellas.

^b No ocurrieron reacciones positivas cuando estos sueros fueron ensayados con esporozoitos de *P. vivax* y *P. falciparum* (cepa Thau).

^c En el ensayo de este antisuero con *P. falciparum* (cepa Thau) no se registraron reacciones cruzadas positivas.

especificidad para las cepas de estos anticuerpos.

La especificidad para las especies y la reactividad cruzada entre cepas mostradas por los anticuerpos producidos contra los esporozoitos de malaria humana

Se ha investigado también la especificidad de los anticuerpos producidos por la inmunización intravenosa de las ratas con esporozoitos de varios tipos de malaria humana. Hasta la fecha se han obtenido anticuerpos contra la cepa Thau de *P. falciparum* y la cepa Sal II de *P. vivax*. Estos antisueros han producido reacciones CSP positivas únicamente cuando se han in-

cubado con esporozoitos de la misma especie. No se han observado reacciones cruzadas entre los esporozoitos de *P. vivax*, *P. falciparum* o cualquier otra de las especies de malaria símica (cuadro 2). Las cepas de esporozoitos de diferentes regiones geográficas han mostrado la misma intensidad de reacción con los antisueros heterólogos que con los homólogos.

Estos resultados serológicos han sido confirmados recientemente en voluntarios humanos inmunizados por la picadura de mosquitos infectados con *P. falciparum* y tratados con rayos X (Clyde, *et al.*, 1973). Se informó que uno de esos voluntarios desarrolló anticuerpos antiesporozoitos de-

CUADRO 2—Especificidad para las especies y reacción cruzada entre cepas mostradas por los anticuerpos CSP inducidos en ratas mediante la inyección intravenosa de esporozoitos de *P. falciparum* y *P. vivax*.

| Antígeno de esporozoito (especie y cepa) | Antisueros producidos con esporozoitos de: | |
|--|--|--------------------------|
| | <i>P. falciparum</i> | <i>P. vivax</i> (Sal II) |
| <i>P. falciparum</i> (Burma) | Pos. | — ^a |
| <i>P. falciparum</i> (Mark) | Pos. | — |
| <i>P. coatneyi</i> | Neg. | — |
| <i>P. vivax</i> (Sal II) | Neg. | Pos. |
| <i>P. cynomolgi</i> (B) | Neg. | Neg. |
| <i>P. knowlesi</i> (II) | Neg. | — |

^a — = No se hizo.

tectables así como resistencia a la confrontación repetida de esporozoitos. Después de un largo período de inmunización repetida, el suero de este sujeto mostró reacción CSP positiva a los esporozoitos de la cepa Thau homóloga así como a los esporozoitos de otras tres cepas de *P. falciparum*. No se observó reacción alguna a los esporozoitos de *P. vivax* (Clyde *et al.*, 1973).

La inmunidad protectora adquirida por este voluntario corrió pareja con estos resultados serológicos. Resultó totalmente resistente a la confrontación con esporozoitos de las otras tres cepas de *P. falciparum*, pero en cambio mostró plena susceptibilidad a los esporozoitos de *P. vivax*.

Conclusiones

Estos resultados concuerdan con los datos anteriormente obtenidos por los autores (Nussenzweig *et al.*, 1969, y Vanderberg *et al.*, 1969) sobre la reactividad cruzada de los anticuerpos CSP y la protección cruzada en la malaria de los roedores inducida por esporozoitos. Por consiguiente, otros hallazgos sobre la reactividad cruzada de diferentes esporozoitos de malaria podrían contribuir a predecir el margen de protección cruzada que se obtendría con estas preparaciones de antígeno.

Indudablemente merece mención el descubrimiento de que los esporozoitos están sujetos a un proceso de maduración antigénica durante el ciclo esporogónico de *P. cynomolgi*. Este proceso muestra cierta analogía con lo que se había observado anteriormente en la malaria de los roedores (Vanderberg, *et al.*, 1972). Por lo tanto la maduración antigénica parece seguir una pauta similar y representar una característica común del desarrollo esporogónico en todos los parásitos de la malaria de los mamíferos.

Pero queda todavía sin resolver la cuestión fundamental de los factores que provocan la aparición o la expresión—cuando no ambas—de ciertos antígenos de esporozoitos. En la medida en que la expresión de los antígenos corre paralela a la capacidad de los

esporozoitos para inducir inmunidad protectora, la caracterización de estos antígenos se convierte en un problema de importancia básica. A este respecto cabe esperar que el análisis antigénico comparado de diferentes poblaciones de esporozoitos lleve a caracterizar los “antígenos protectores” involucrados.

Recientemente se demostró que los esporozoitos concentrados y purificados por centrifugación en gradiente retienen su inmunogenicidad e infectividad (Krettli, *et al.*, 1973). Por eso, la caracterización de “antígenos protectores” podría lograrse con este procedimiento. Además, la considerable producción de parásitos recogidos con este método facilita la obtención de dosis mayores de esporozoitos para los fines de vacunación.

Desde el punto de vista de la inmunización es de importancia primordial utilizar esporozoitos inmunológicamente maduros, provistos de “agentes protectores”. Por lo tanto, para los intentos de vacunación, estos parásitos deben recolectarse en la fase de infección cuando haya ocurrido la máxima maduración y migración al hemoceloma de las glándulas salivales; este período no coincide necesariamente con el de máxima producción parasitaria.

Resumen

Se demostró en trabajos realizados anteriormente que la vacunación intravenosa por esporozoitos tratados con rayos X con frecuencia confiere protección total contra un inóculo de esporozoitos que de otro modo sería letal. Se están llevando a cabo tentativas similares de vacunación en simios huéspedes y, más recientemente, en voluntarios humanos.

Los experimentos descritos tuvieron por objeto determinar: 1) algunas de las características antigénicas de varios esporozoitos de la malaria de los simios y humana; 2) la especificidad de la fase de su antígeno o antígenos, y 3) el alcance de la infectividad parasitaria en las distintas fases de desarrollo.

Se inmunizaron ratas con varias preparaciones que proporcionaban antisueros específicos de varias especies y cepas de malaria humana y símica. Se inyectaron monos rhesus con esporozoitos en diferentes fases de desarrollo con el fin de determinar su infectividad.

Solo los esporozoitos recogidos de la región torácica (hemoceloma y glándulas salivales) de los mosquitos provocaron una formación significativa de anticuerpos y resultaron firmemente infecciosos. En las glándulas salivales se produjo una mayor maduración. Los esporozoitos obtenidos de este último lugar anatómico fueron los más infecciosos y los que mejor provocaron la formación de anticuerpos de circunsporozoitos (CSP). Estas poblaciones de esporozoitos contenían también un porcentaje más elevado de parásitos que produjeron precipitados CSP detectables al ser incubados con suero inmune.

Se determinó asimismo que los anticuerpos CSP (antiesporozoitos) de las especies de malaria símica y humana que intervienen son

estrictamente específicos de la especie en el sentido de que no se observó ninguna reacción cruzada, ni siquiera entre especies maláricas que se consideran estrechamente relacionadas. En cambio se obtuvieron reacciones intensas con antisueros de diferentes cepas de la misma especie y de distintos aislados geográficos. Estos conocimientos han de resultar valiosos para seleccionar el tipo de preparación de esporozoitos que se utilice para la elaboración de una vacuna antimalárica. □

Agradecimiento

Los autores expresan su gratitud al Dr. W. Collins de la Unidad de Investigaciones de Primates, Institutos Nacionales de Salud, por la colaboración prestada en los estudios de la reacción cruzada entre esporozoitos de la malaria de los simios y la humana.

Esta investigación ha contado con la ayuda de subvenciones de la Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud y de una subvención para adiestramiento de los Institutos Nacionales de Salud y del contrato No. DADA 17-71-C-1109 del Comando de las Investigaciones y Desarrollo de la Medicina y del Ejército de los Estados Unidos de América.

REFERENCIAS

- (1) Clyde, D. F., *et al.* Immunization of man against sporozoite-induced *falciparum* malaria. *Am J Med Sci* 266:169-177, 1973a.
- (2) Clyde, D. F., *et al.* Specificity of protection of man immunized against sporozoite-induced *falciparum* malaria. *Am J Med Sci* 266: 398-403, 1973b.
- (3) Collins, W. E., y P. G. Contacos. Immunization of monkeys against *P. cynomolgi* by X-irradiated sporozoites. *Nature [New Biol]* 236:176-177, 1972.
- (4) Kretzli, A., *et al.* Immunogenicity and infectivity of sporozoites of mammalian malaria isolated by density gradient centrifugation. *J. Protozool* 20:662-665, 1973.
- (5) Mulligan, *et al.* Active immunization of fowls against *Plasmodium gallinaceum* by injections of killed homologous sporozoites. *J Mal Inst India*. 4:25-34, 1941.
- (6) Nussenzweig, R. S. Increased non-specific resistance to malaria produced by administration of killed *Corynebacterium parvum*. *Exp Parasitol* 21:224-231, 1967.
- (7) Nussenzweig, R. S., y D. Chen. Characteristics of the antibody response to sporozoites of simian and human malaria: Its stage and species specificity and strain cross-reactivity. *Bull WHO*. (En prensa.)
- (8) Nussenzweig, R. S., *et al.* Protective immunity produced by the injection of X-irradiated sporozoites of *Plasmodium berghei*. *Nature* 216:160-162, 1967.
- (9) Nussenzweig, R. S., *et al.* Protective immunity produced by the injection of X-irradiated sporozoites of *Plasmodium berghei*: IV. Dose response, specificity, and humoral immunity. *Milit Med* 134 (Sup.): 1176-1182, 1969a.
- (10) Nussenzweig, R. S., *et al.* Specificity of protective immunity produced by X-irradiated *Plasmodium berghei* sporozoites. *Nature* 222:488-489, 1969b.
- (11) Nussenzweig, R. S., *et al.* Sporozoite-induced immunity in malaria: A review. *Am J Trop Med Hyg* 21:722-728, 1972.
- (12) Nussenzweig, R. S., *et al.* Antibodies against sporozoites of human and simian malaria produced in rats. *J Immunol* 110:600-601, 1973.
- (13) Nussenzweig, R. S., *et al.* Anticuerpos contra esporozoitos de malaria humana y símica producidos en ratas *Bol Of Sanit Panam* 75:114-118, 1973.
- (14) Vanderberg, J., *et al.* Protective immunity pro-

duced by the injection of X-irradiated sporozoites of *Plasmodium berghei*: V. *In vitro* effects of immune serum on sporozoites. *Milit Med* 134 (Sup.):1183-1190, 1969.

(15) Vanderberg, J., et al. Stage specificity of antisporezoite antibodies in rodent malaria and its relationship to protective immunity. *Proc Helm Soc Wash* 39:514-525, 1972.

Some characteristics of the immune response to sporozoites of simian and human malaria (Summary)

Previous work on rodent malaria has demonstrated that intravenous vaccination with X-irradiated sporozoites frequently results in total protection against an otherwise lethal sporozoite inoculum. Similar vaccination attempts are being pursued in simian hosts and more recently in human volunteers.

The purpose of the experiments reported here was to establish (1) some of the antigenic characteristics of various simian and human malaria sporozoites, (2) the stage specificity of their antigen or antigens, and (3) the extent of parasite infectivity of the different developmental stages.

Rats were immunized with a number of preparations, providing antisera specific for various human and simian malaria species and strains. Rhesus monkeys were injected with different developmental stages of sporozoites to determine their infectivity.

Only sporozoites collected from the thoracic region (hemocele and salivary glands) of mosquitoes

induced significant antibody formation and were consistently infective. An additional degree of maturation took place in the salivary glands. Sporozoites obtained from the latter site were the most infective and the best inducers of circumsporozoite (CSP) antibody formation. These sporozoite populations also contained a higher percentage of parasites which produced CSP precipitates detectable upon incubation with immune serum.

It was further established that CSP (antisporezoite) antibodies to the simian and human malaria species involved are strictly species-specific, in that we observed no cross-reaction, even between malarial species believed to be closely related. However, intense reactions were obtained with antisera from different strains of the same species and from different geographic isolates. This knowledge should be valuable in choosing the type of sporozoite preparation to be used in developing a malaria vaccine.

Algumas características da reação imunológica aos esporozoítas de malária símia e humana (Resumo)

Em trabalhos anteriormente realizados demonstrou-se que a vacinação intravenosa com esporozoítas tratados por raios-X confere, freqüentemente, total proteção contra uma inoculação de esporozoítas que, de outra forma, seria letal. Realizam-se experiências similares de vacinação em símios hospedeiros e, mais recentemente, em voluntários humanos.

As experiências descritas objetivaram determinar: 1) algumas das características antigênicas de vários esporozoítas da malária símia e humana; 2) a especificidade da fase de seu antígeno ou antígenos; e 3) o alcance da infecciosidade parasitária nas diversas fases de desenvolvimento.

Imunizaram-se ratos com vários preparados que proporcionavam anti-soros específicos de diversas espécies e variedades de malária humana e símia. Injetaram-se macacos *rhesus* com esporozoítas em diferentes fases de desenvolvimento a fim de determinar sua infecciosidade.

Somente os esporozoítas colhidos da região torácica (hemocele e glândulas salivares) dos mosquitos provocaram uma formação significa-

tiva de anticorpos e se mostraram firmemente infecciosos. Nas glândulas salivares produziu-se maior maturação. Os esporozoítas obtidos deste último setor anatômico foram os mais infecciosos e os que melhor causaram a formação de anticorpos de circunsporozoítas (CSP). Essas populações de esporozoítas continham também uma porcentagem mais elevada de parasitos que produziram precipitações de CSP detectáveis ao serem incubadas com soro imune.

Determinou-se também que os anticorpos CSP (antiesporozoítas) das espécies de malária símia e humana em que intervêm são estritamente específicos da espécie, no sentido de que não se observou qualquer reação cruzada nem mesmo entre espécies de malária que se consideram estreitamente relacionadas. Em compensação, obtiveram-se reações intensas com anti-soros de diferentes variedades da mesma espécie e de diversos isolamentos geográficos. Esses conhecimentos mostrar-se-ão valiosos para selecionar o tipo de preparado de esporozoítas a ser utilizado na elaboração de uma vacina contra a malária.

Quelques caractéristiques de la réaction immunologique aux sporozoïtes du paludisme chez l'homme et le singe (Résumé)

Il a été démontré dans des travaux réalisés antérieurement que la vaccination intraveineuse par sporozoïtes traités aux rayons X confère une protection totale contre une inoculation de sporozoïtes qui sinon serait léthale. A l'heure actuelle, des essais similaires de vaccination sont faits sur des singes hôtes et plus récemment sur des êtres humains qui se sont portés volontaires.

Les expériences décrites avaient pour objet de déterminer: 1) quelques-unes des caractéristiques antigéniques de divers sporozoïtes du paludisme chez les singes et chez l'homme; 2) la spécificité de la phase de leur ou de leurs antigènes et 3) la portée de l'infectiosité parasitaire aux divers stades du développement.

On a procédé à l'immunisation de rates au moyen de diverses préparations qui fournissaient des antiséras spécifiques de plusieurs espèces ainsi que des souches de paludisme humain et simien. On a injecté à des singes rhesus des sporozoïtes à différentes phases de développement en vue d'en déterminer l'infectiosité.

Seuls les sporozoïtes recueillis dans la région thoracique (hémocélome et glandes salivaires) des

moustiques ont provoqué une formation importante d'anticorps et se sont avérés nettement infectieux. Une forte maturation s'était produite dans les glandes salivaires. Les sporozoïtes obtenus de cet organe anatomique ont été les plus infectieux et ce sont eux qui ont le mieux causé la formation d'anticorps de circonsporozoïtes (CSP). Ces populations de sporozoïtes renfermaient également un pourcentage plus élevé de parasites que les CSP précipités et dépistables lorsqu'ils sont incubés avec du sérum immun.

Il a également été démontré que les anticorps CSP (antisporozoïtes) des espèces de paludisme simien et humain sont strictement spécifiques de l'espèce en ce sens qu'aucune réaction croisée n'a été constatée, ni même entre espèces malariques considérées comme étroitement interdépendantes. En échange, des réactions intenses ont été obtenues avec des antiséras de différentes souches de la même espèce et de divers isollements géographiques. Ces connaissances seront certainement d'une grande utilité pour sélectionner le type de préparation de sporozoïtes qu'on utilise pour élaborer un vaccin antimalarique.