

LA INMUNIZACION CONTRA ENFERMEDADES PROTOZOARIAS ¹

R. A. Neal, Ph.D., D.Sc.², P. C. C. Garnham, C.M.G., M.D., D.Sc., F.R.C.P., F.R.S.³
y S. Cohen, M.D., Ph.D., F.C.Path.⁴

El artículo se divide en tres partes: características generales de la reacción inmunógena en el caso de enfermedades protozoarias seleccionadas, un examen de la reacción inmunoglobulínica, y los métodos de inmunización. Dado el carácter complejo y variable de los protozoos, el autor sugiere que se hagan otros estudios para obtener métodos prácticos de inmunización.

La inmunidad a los protozoos parasitarios muestra numerosas características en común con otras infecciones microbiológicas, pero debido a los ciclos de vida complicados de los protozoos, el problema no consiste en una simple reacción del huésped a una sola fase del parásito. Por el contrario, se observa una diversidad de respuestas suscitadas por formas que se desarrollan en el huésped invertebrado, fases tisulares del organismo, productos finales que circulan por la sangre y, en algunos casos, la característica antigénica constantemente variable. Además, en las infecciones protozoarias a menudo no se logra la inmunidad estéril. En esos casos puede ocurrir que sobrevivan en el huésped inmune cantidades relativamente pequeñas de organismos, y que la esplenectomía conduzca a un recrudecimiento de la infección. Los parasitólogos denominan a este estado premunición, término que se emplea en el examen que figura a continuación. Sin embargo, es discutible que este estado sea peculiar de las infecciones protozoarias, ya

que la manifestación de infección intermitente subclínica es menos evidente en enfermedades bacterianas o víricas que confieren una inmunidad duradera. Trabajos recientes han indicado que, aparte de la reacción serológica de anticuerpos, la inmunidad de base celular puede constituir un elemento importante en las defensas del huésped de ciertos parásitos protozoarios ⁵.

Características generales de las reacciones inmunógenas a los protozoos

El comportamiento de las diversas clases de protozoos en el huésped vertebrado varían, y en esta ocasión no se considera el efecto del parásito sobre el huésped invertebrado, pues en este último no se puede demostrar la inmunidad adquirida (*I*). Tampoco se analiza la cuestión de la inmunidad natural en cualquiera de estos huéspedes porque no parece guardar una relación inmediata con la elaboración de vacuna.

La inmunidad en los protozoos parasitarios ha sido objeto de estudio particular en los grupos siguientes:

1. Tripanosomas (mastigóforos; hemoflagelados)
2. Parásitos de malaria (esporozoos: hemosporidios)

¹ Este es el 10° artículo en español de la serie que se publicó en inglés en el *Brit Med Bull* 25(2), 1969. Se reproduce aquí con la autorización de dicha revista. El primer artículo apareció en el *Boletín* de noviembre de 1972.

² Laboratorios Wellcome de Medicina Tropical, Beckenham, Kent, Inglaterra.

³ Estación de las Investigaciones sobre el Terreno del Colegio Imperial, Silwood Park, Ascot, Berkshire, Inglaterra.

⁴ Departamento de Patología Química, Escuela de Medicina del Hospital Guy, Londres, Inglaterra.

⁵ Véase también "Delayed Hypersensitivity: Specific Cell-Mediated Immunity" *Brit Med Bull* 23(1), 1957.—Ed.

3. Piroplasmas (esporozoos: sin clasificar)
4. Leishmanias (mastigóforos: flagelados tisulares)
5. Coccidios (esporozoos: eiméridos)
6. Amibas (rizópodos: *Entamoeba*)

Se utilizan ejemplos de todos los grupos mencionados para mostrar brevemente sus propiedades antigénicas y las reacciones inmunógenas principales del huésped. Se suscita una reacción humoral general cuando el parásito invade la sangre (como en la malaria, la piroplasmosis y la tripanosomiasis); es probable que la inmunidad de base celular sea la secuela del desarrollo del parásito en los tejidos (como en la leishmaniasis cutánea y, tal vez, en las formas intestinales de coccidiosis). Es preciso comprender que, en la mayoría de estas infecciones, la relación entre el parásito y el huésped natural ha llegado a tal grado de comensalismo que la proliferación de protozoos queda eficazmente controlada. Solo en huéspedes anormales, como el hombre y los animales domésticos, los protozoos se multiplican de manera considerable y a continuación se manifiesta la enfermedad.

Tripanosomas

Se ha estudiado con detenimiento la inmunidad a la tripanosomiasis en el caso de infecciones debidas a *Trypanosoma lewisi*, al grupo de *Trypanosoma brucei* y las importantes especies veterinarias *Trypanosoma vivax* y *Trypanosoma congolense*. Todas estas especies se limitan, en gran parte, a la sangre, pero el huésped reacciona de diversas maneras. La serología del *Trypanosoma cruzi* que invade los tejidos es bien conocida, pero son muy pocos los trabajos llevados a cabo sobre la inmunología propiamente dicha de esta infección.

La infección por *T. lewisi* en las ratas sigue un curso característico; después de la primera multiplicación explosiva del organismo, un anticuerpo —ablastina— que evita la síntesis del ácido nucleico, inhibe rápidamente cualquier otra división, y la reproducción de flagelados cesa (2). A

partir de ese momento, la infección está representada por tripanosomas no reproductores en la sangre y por último queda eliminada, tal vez por otros anticuerpos, hacia el décimo día, produciendo una inmunidad estéril.

Los tripanosomas relacionados con la enfermedad del sueño africana no producen anticuerpos protectores eficaces. En la inmensa mayoría de los casos la enfermedad sigue un curso progresivo constante y rápido cuando se trata del *Trypanosoma rhodesiense*, y más lento en las infecciones por *Trypanosoma gambiense*, hasta que el huésped muere. En un número reducido de infecciones asintomáticas sobreviene premunición, y el paciente puede continuar albergando unos cuantos tripanosomas en la sangre durante muchos años (3). No obstante, en el suero se encuentran anticuerpos demostrables (lisianas, precipitinas y aglutininas) pero no impiden el avance de la enfermedad (4).

La tripanosomiasis bovina es una enfermedad de importancia en Africa, y se ha reconocido desde hace mucho la inmunidad relativa de animales indígenas y la susceptibilidad de las razas exóticas al *T. brucei*, *T. vivax* y *T. congolense*. Desowitz (5) estudió el fenómeno en Nigeria donde utilizó una técnica de inhibición respiratoria en *T. vivax* expuesto a sueros inmunes. Estas infecciones veterinarias no causan necesariamente una mortalidad tan elevada como ocurre con la enfermedad del sueño en el hombre; en los bovinos restablecidos de la infección por *T. congolense*, la inmunidad puede durar hasta 24 semanas, y en la mitad de los casos se observa una verdadera inmunidad estéril.

Se ha observado desde hace mucho tiempo que los tripanosomas poseen una estructura antigénica compleja. Algunos de los constituyentes antigénicos (antígenos internos o fijados) no se ponen de manifiesto hasta después de la desintegración del organismo. Otros (antígenos externos o

superficiales) están presentes, al parecer, en la membrana celular y se expresan en el organismo intacto, mientras que algunos (exoantígenos o antígenos metabólicos) son liberados por el organismo y pueden identificarse en el medio que los rodea. Cada clase de antígeno es heterogénea, y diferentes autores la han dividido en varios grupos, pero el número absoluto detectable varía según el sistema de prueba. A los efectos prácticos, los antígenos tripanosómicos pueden dividirse en una forma conveniente: a) antígenos comunes que se presentan en diferentes variantes de una sola cepa, así como en distintas cepas y especies, y comprenden los antígenos fijados, liberados en homogenatos (6-8); b) antígenos específicos que difieren según las especies y a veces según el individuo de una cepa, y comprenden los exoantígenos de *T. brucei* y *T. vivax* (9, 10) y AG y PR (11) y los antígenos 1S y 4S de *T. rhodesiense*. Los antígenos específicos variantes que se manifiestan en los exoantígenos y los antígenos superficiales incluyen proteínas pequeñas no conjugadas de diverso peso molecular; también se ha identificado cierta nucleoproteína antigénica (7, 12). Una glicoproteína comprende la fracción principal de exoantígeno de *T. cruzi* (13).

El curso crónico recurrente de la tripanosomiasis, y la manifestación consecutiva de anticuerpos específicos variantes distintos en el suero del huésped, se deben a la presencia de variación antigénica. No se sabe a ciencia cierta el número de variantes que una sola cepa puede producir, pero no cabe duda que un organismo puede originar más de 20 variantes (14, 15). Ormerod (16) demostró que ciertas inclusiones citoplásmicas, denominadas antes "gránulos de volutina" (y "gránulos de contraste de fase"), están relacionadas con antígenos que experimentan variación en los grupos *T. lewisi* y *T. brucei* de tripanosomas. Parece ser que cada cepa muestra una tendencia innata a la reversión a una forma antigénica par-

ticular; así ocurre, por ejemplo, durante la multiplicación en ausencia de anticuerpos (17) y después del desarrollo metacíclico en la mosca tsetse (18, 19). Sin embargo, en experimentos realizados hace poco por Wilson (20) en *T. congolense* que prolifera en la especie *Glossina morsitans* no ocurrió reversión al tipo. Ciertos denominados "antígenos predominantes" suelen aparecer durante las primeras fases de la infección (21) de suerte que las variantes tienden a manifestarse en un orden característico. El mecanismo que controla la generación de variantes plantea un problema de interés biológico fundamental. No se dispone de pruebas satisfactorias de que la variación representa una respuesta de adaptación de los organismos individuales a los cambios de las condiciones ambientales. Por lo tanto, la variación probablemente se produce por selección de mutantes de una población heterogénea, pero no se ha determinado todavía la naturaleza de los mecanismos genéticos que producen la heterogeneidad (22, 23).

Parásitos de malaria

Las infecciones maláricas en el huésped vertebrado se inician con los esporozoítos que se transforman en esquizontes exoeritrocíticos, y esta evolución no va acompañada de ningún fenómeno de inmunidad identificable. Cuando se rompen los esquizontes tisulares, y descargan sus merozoítos en la circulación, se produce una acumulación inmediata no específica de fagocitos *in situ* (24). Se produce la invasión de eritrocitos y casi al mismo tiempo los anticuerpos en el plasma son ya mensurables. Estos anticuerpos pueden detectarse mediante las técnicas de inmunofluorescencia y aumentan hasta el momento de la crisis en el término de 7 a 10 días; es posible que a continuación se reduzcan poco a poco, pero por lo común se observan todavía al cabo de muchos meses y reaparecen en una densidad aún mayor después de la recaída o la reinfección. Las

observaciones, principalmente de malaria inducida, en los Estados Unidos (25), en Inglaterra (26) y en Francia (27) indican que los anticuerpos contra el *Plasmodium falciparum* pueden persistir hasta ocho años y contra el *Plasmodium malariae* hasta 26 años.

La inmunidad específica puede dar lugar a la esterilización completa de una infección (v.g., *Plasmodium berghei* en ratas), y una resistencia de los animales a la confrontación posterior; o puede ocurrir que el huésped nunca elimine los parásitos en su totalidad pero que los mantenga en número reducido, en el estado denominado premunición, como en los parásitos cuartanos, *Plasmodium inui* en los monos y *P. malariae* en el hombre (28). La inmunidad, de la clase que sea, por lo común solo resulta eficaz contra la cepa homóloga y, puesto que algunas especies del parásito, incluidas las de *P. falciparum* y *P. vivax* constan de una multiplicidad de cepas, la inmunización contra la enfermedad se enfrenta desde el principio con un problema grave.

Los estudios sobre la estructura antigénica de los parásitos de malaria se han llevado a cabo principalmente en formas eritrocíticas adquiridas con facilidad. La complejidad antigénica de esos organismos se ha determinado mediante distintas técnicas inmunológicas, examinadas por Chavin (29), Spira y Zuckerman (30). La contaminación de las preparaciones de parásitos con material eritrocítico del huésped complica, de manera considerable, los análisis químicos y las investigaciones inmunológicas en las que se emplean antisueros heterólogos. No se ha logrado ninguna purificación significativa de los antígenos maláricos ni se han definido los componentes antigénicos activos durante la infección.

Eaton (31) detectó por primera vez exoantígenos maláricos en el suero de monos infectados con *Plasmodium knowlesi* y demostró que esos sueros estimulan la producción de anticuerpos fijadores del com-

plemento cuando se inyectan en monos normales. En fechas más recientes, las pruebas de la precipitina-gel han revelado la presencia de antígenos similares en el plasma de monos (32) y de seres humanos (33) fuertemente infectados de malaria. Los antígenos en los sueros humanos son comunes entre los habitantes de Africa Oriental mayores de 6 años de edad, y serológicamente parecen idénticos a los obtenidos por desintegración de la presión de esquizontes de *P. falciparum* recobrados de placentas humanas muy infectadas. No se ha determinado todavía si esos antígenos son originarios del parásito de la malaria, o proceden de un complejo eritrocito-parásito, o de tejidos deteriorados en el curso de la infección.

Las observaciones de la variación antigénica en la tripanosomiasis sugieren que el curso crónico de la infección malárica puede derivarse de una variabilidad análoga que ocurre en las formas eritrocíticas de parásitos de malaria. Cox (34) obtuvo pruebas de diferencias antigénicas entre las poblaciones iniciales y las recurrentes de *P. berghei* en ratones. En el curso de infecciones crónicas por *P. knowlesi* en monos se puede detectar la manifestación de variantes serológicamente distintas mediante una prueba de aglutinación (35), utilizando hematíes infectados con esquizontes (36). Sin embargo, los trabajos de Voller y Rossan (37) no corroboran la sugerencia de que la recaída de la infección malárica puede atribuirse a la manifestación de variantes de parásitos serológicamente distintas. Estos autores, utilizando una variante (A) de *P. knowlesi*, hallaron que la confrontación repetida con A (hasta 8 veces) no inducía inmunidad completa contra la propia A. En animales sujetos repetidas veces a la confrontación se observó un retraso en la manifestación de infección, pero esta particularidad se percibió casi en igual medida con varias otras variantes serológicamente distintas. Por consiguiente, Voller y Rossan (37) no pudieron determinar la existencia de inmunidad

específica de variantes en las infecciones de *P. knowlesi*. Estos experimentos muestran que las variaciones antigénicas reveladas por la aglutinación de hematíes infectados con esquizontes no pueden correlacionarse en forma directa con diferencias en antígenos que median en la inmunidad protectora. Estas últimas solo pueden determinarse con las pruebas de protección, y la elaboración de un procedimiento *in vitro* sencillo para este propósito sería de valor considerable para las investigaciones de la malaria.

Piroplasmas

Los piroplasmas son esporozoos parásitos de los eritrocitos de una gran variedad de animales y causan graves pérdidas económicas de bovinos, ovinos, porcinos y otros animales domésticos. El hombre pierde su inmunidad natural a la infección si se somete a la esplenectomía, y se han registrado varios casos humanos mortales (38). El organismo se introduce en el huésped vertebrado por picadura de una garrapata infectada, y es posible que antes de invadir la sangre este organismo experimente un ciclo de desarrollo en los tejidos linfáticos.

La inmunidad a las diversas especies se parecen mucho a la que ocurre en el caso de la malaria; el resultado habitual de una infección es la premunición (por ejemplo, *Babesia argentina* de los bovinos) pero se produce así mismo una inmunidad estéril (como en *Theileria parva* (39)). También como en la malaria, ambos tipos de inmunidad solo actúan frente a las cepas homólogas, si bien puede existir cierto grado de resistencia cruzada en el caso de *Theileria annulata*.

La inmunidad estéril es bastante estable y dura tres años o más; la mitad de los animales confrontados con *Th. parva* no mostraron reacción alguna, y la otra mitad solo una infección leve. La premunición (que a veces dura cinco años o más) es eficaz para mantener a los animales resistentes en gran parte a la enfermedad, pero la tensión

de cualquier clase puede dar lugar a una recrudescencia grave, como después de la inmunización contra la peste bovina.

Se sabe muy poco acerca del mecanismo de la inmunidad en la theileriasis; las pruebas serológicas han resultado en su gran mayoría negativas, si bien en el caso de la babesiosis (de los bovinos y ovinos) la reacción de fijación del complemento muestra un aumento y disminución del título que no se diferencian de los observados en la malaria, y una reacción positiva puede persistir durante un año. La edad y la cepa del huésped vertebrado desempeñan una función importante en la reacción inmunógena (el huésped joven queda protegido de infecciones de algunas especies de *Babesia*, contrario a lo que suele ocurrir). Los animales indígenas a menudo son mucho más resistentes que los importados (40).

Leishmanias

La leishmaniasis humana se presenta en tres variedades principales: cutánea (debida a *Leishmania tropica*), mucocutánea (causada por *Leishmania brasiliensis*) y visceral (debida a *Leishmania donovani*). En los animales, estos parásitos no siempre siguen la misma trayectoria que en el hombre, y una cepa que en este es puramente cutánea puede ser visceral, por ejemplo, en los cricetos o en los perros. De ahí que los estudios inmunológicos deben incluir las combinaciones siguientes: a) *Leishmania* spp. en el huésped original (animal); b) *Leishmania* spp. en el huésped (animal) de laboratorio, y c) *Leishmania* spp. en el hombre (41).

Después del restablecimiento —espontáneo o por tratamiento— el paciente adquiere resistencia para toda la vida frente al parásito homólogo. En la forma cutánea de la enfermedad, esta resistencia parece debida a la inmunidad de base celular, y el paciente muestra una reacción de hipersensibilidad retrasada en el plazo de unos pocos meses después de la infección y, con frecuencia,

antes de la cura. Las infecciones por *L. tropica* suelen limitarse a una o a unas pocas lesiones; raramente las úlceras de leishmaniasis se extienden por todo el cuerpo (leishmaniasis difusa) y se considera que esta afección se debe a que no se logra establecer inmunidad de base celular en un huésped anérgico. Bray y Bryceson (42) demostraron hace poco que los linfocitos obtenidos de cobayos restablecidos de leishmaniasis cutánea tenían la propiedad de destruir los macrófagos infectados en cultivo tisular.

En la leishmaniasis cutánea es muy poca o nula la reacción serológica y, aun en el caso de la enfermedad visceral, aunque se haya producido metástasis por todo el sistema reticuloendotelial, se producen muy pocos anticuerpos protectores. En cambio, en las enfermedades viscerales, la producción de inmunoglobulina IgG en el suero, fenómeno que se examina con más detalles a continuación, es enorme.

No se conoce bien la inmunidad cruzada entre especies y cepas de *Leishmania* y, es posible, que en muchos casos no exista. Se está tratando de obtener un procedimiento experimental mediante: a) la confrontación en el hombre y en animales; b) el empleo de la reacción de seroflagelados de Adler, y c) el empleo de la prueba de hemaglutinación indirecta.

Coccidios

La coccidiosis es una enfermedad rara e insignificante en el hombre, pero constituye una de las infecciones más extendidas que se observan en la medicina veterinaria, y que afecta en particular a las aves de corral, los bovinos y los carneros (43). Los oocistos depositados en la tierra por animales infectados se ingieren por los que pastan; los esporozoítos se liberan en el tubo digestivo y el parásito se multiplica en las células epiteliales en uno o varios ciclos de esquizogonia y gametogonia. Los resultados consisten en una grave destrucción de las

membranas mucosas intestinales y la muerte del animal, o su liberación de la infección. En este último caso se produce inmunidad a la reinfección aunque puede ser incompleta o variar según la especie de *Eimeria*. La inmunidad es sumamente específica de especies.

Después del restablecimiento de un ataque de esta enfermedad, el revestimiento epitelial del intestino se convierte en gran parte en no receptivo o inapropiado para la proliferación de esporozoítos homólogos (44); se produce una fuerte inmunidad local que, según Augustin y Ridges (45), puede ser consecuencia de la hipersensibilidad. Las pruebas de la inmunidad humoral son contradictorias, pero es indudable que no se puede inducir inmunidad pasiva inoculando suero de animales restablecidos de la enfermedad. No obstante, se ha demostrado a menudo la presencia de anticuerpos (precipitinas), y las pruebas cutáneas con antígeno de oocistos pulverizados pueden utilizarse para el diagnóstico de infecciones antiguas.

Es probable que la reacción humoral en el caso de la coccidiosis sea en gran parte proporcional al grado de contacto del parásito con los elementos del torrente sanguíneo, y se han obtenido muy pocas pruebas de la producción de anticuerpos protectores. Por esta razón, y como afirma Kendall (46), no existe ningún método práctico para inmunizar a los pollos salvo su exposición a infecciones de *Eimeria* spp. atenuadas o parcialmente tratadas.

Amibas

La *Entamoeba histolytica* habita en el intestino grueso del hombre y de algunos otros animales (monos). Con frecuencia es un comensal inofensivo, sin propiedades invasivas, pero en un porcentaje desconocido de casos, tal vez alrededor del 50%, ataca a la membrana mucosa del colon y se produce multiplicación de trofozoítos en la pared del intestino grueso. Tal vez el

parásito, en estos últimos casos, se transporta por la circulación portal a diferentes lugares del cuerpo, donde puede causar abscesos, por ejemplo, hepáticos.

Las reacciones de anticuerpos que siguen al curso de una infección amibiana son cada vez más pronunciadas a medida que el organismo invade el cuerpo. Este proceso ha sido estudiado con detenimiento en particular por personal de la Unidad de Investigaciones sobre la Amibiasis de Durban (47). Maddison *et al.*, utilizando la reacción de la precipitina, observaron que el 40% de los portadores de quistes (asintomáticos) africanos presentaban resultados positivos. En cambio, el 88% de los casos de disentería amibiana eran positivos, lo mismo que el 97% de los casos de abscesos hepáticos amibianos. Los anticuerpos persisten por lo menos durante seis meses. También se han descrito las hemaglutininas en la amibiasis (48), pero es probable que ninguno de estos anticuerpos ejerza una acción protectora. Para distinguir entre las diversas cepas del parásito se han empleado las pruebas de anticuerpos fluorescentes (49) y las de inmovilización (50) y han demostrado ser sumamente específicas. La inmunidad adquirida no se percibe con facilidad aunque el hombre posee un grado considerable de resistencia natural al parásito.

La reacción inmunoglobulínica en las infecciones protozoarias

Por lo común, se observa un aumento considerable de los niveles de inmunoglobulina en las infecciones protozoarias. Las primeras observaciones se basaron en la electroforesis serológica, pero en fechas más recientes se han analizado los niveles de clases determinadas de inmunoglobulina.

Los niveles de inmunoglobulina, después de las infecciones maláricas inducidas por esporozoítos en voluntarios humanos, permanecen invariables antes de la manifestación de parasitemia, lo que indica que ni la invasión de esporozoítos ni la proliferación

plasmodial preeritrocítica estimulan un aumento detectable de la síntesis inmunoglobulínica. Sin embargo, al manifestarse la parasitemia, aumentan las concentraciones de IgG, IgM e IgA (51), en cambio la de IgD sigue invariable. En una zona de malaria holoendémica del Africa Occidental las concentraciones de IgA e IgD variables con la edad no sugirieron una correlación con la malaria; ahora bien, las infecciones repetidas iban acompañadas de un aumento considerable de IgG e IgM (52). Cohen y McGregor (53) hallaron que la tasa de síntesis de IgG en adultos inmunes de Africa Occidental era cerca de siete veces mayor que la observada en europeos que vivían en el Reino Unido; la protección del tratamiento antimalárico redujo la tasa en una tercera parte más o menos.

En el caso de la tripanosomiasis (infecciones por *T. gambiense*) puede aumentar la concentración de todas las clases de inmunoglobulina, y la de IgM en una proporción tan asombrosa (8-16 veces mayor que la normal) que se han propuesto distintos métodos para medirla como pruebas para el diagnóstico de la enfermedad (54, 55). En monos infectados experimentalmente, y también en seres humanos, la concentración de IgM en el suero y el líquido cefalorraquídeo empieza a aumentar durante la segunda semana subsiguiente a la infección y permanece elevada mientras los tripanosomas están presentes en la sangre. La remisión natural y los medicamentos tripanocidas reducen a la normalidad los niveles de IgM en unos pocos meses, o un período mayor en los casos crónicos (54). Una característica de la leishmaniasis visceral es su aumento considerable de la concentración de inmunoglobulinas en el suero que pueden ser de todas clases, aunque predomina la IgG (56).

Los resultados mencionados indican que las infecciones protozoarias ofrecen a menudo un estímulo muy poderoso para la síntesis inmunoglobulínica. Es curioso que

la mayor porción de la inmunoglobulina producida parece ser no específica y no posee ninguna afinidad detectable con respecto al organismo infectante. Así, por ejemplo, la tasa de renovación fraccional de IgG normal e inmune marcada con ^{131}I e ^{125}I resultó al parecer idéntica en sujetos con una parasitemia de *P. falciparum* de bajo grado; ello indica que el anticuerpo antimalárico específico constituía menos del 5% de la preparación inmune (53). Casi con toda seguridad, la estimación de que entre el 6 y el 11% de IgG inmune humana estaba formado por anticuerpo antimalárico (57) era exagerada puesto que en esos experimentos no se tuvo en cuenta la absorción de IgG no específica por los parásitos.

La comparación de las preparaciones de IgG normal e inmune en monos revelaron que, en los animales inmunes sometidos a la confrontación durante un período máximo de un año, menos del 1% de la inmunoglobulina total queda absorbida específicamente por parásitos maduros o por hemátis parasitados (58). En la leishmaniasis visceral se han obtenido resultados análogos en que no ha podido demostrarse que la mayor parte de la inmunoglobulina aumentada en forma considerable reaccione con el parásito infectante. En el caso de monos infectados con tripanosomas, menos del 5% de una preparación de IgG inmune constituía el anticuerpo específico, a juzgar por las tasas catabólicas relativas de las preparaciones de IgG inmune y normal (59). La incidencia elevada de autoanticuerpos y crioaglutininas en los sueros hipergammaglobulinémicos de sujetos expuestos a la infección malárica sugiere también la no especificidad de la reacción inmunoglobulínica en las infecciones protozoarias (60-62). No se conoce el mecanismo que controla esta producción en masa de inmunoglobulina en las infecciones protozoarias. La leishmaniasis visceral ofrece un ejemplo muy interesante de este fenómeno porque es posible que los macrófagos parasitados

induzcan diferenciación de linfocitos y lleven a la síntesis de inmunoglobulina no específica.

Además de la producción considerable de inmunoglobulina no específica, pueden demostrarse mediante una gran variedad de pruebas serológicas incluidas la de precipitación, lisis, aglutinación, opsonización, anticuerpos fluorescentes y fijación del complemento, anticuerpos que combinan de manera específica con el protozoo infectante. El hecho de que las reacciones cruzadas serológicas entre especies maláricas no puedan correlacionarse con la inmunidad cruzada indica que gran parte del anticuerpo específico no posee un efecto protector.

Las pruebas de protección apropiadas han demostrado la presencia de anticuerpos protectores en el caso de la malaria y de la tripanosomiasis de los roedores, pero nunca se ha caracterizado como es debido la naturaleza y especificidad del anticuerpo. En el caso de la malaria se comprobó la presencia de anticuerpo protector en monos (63), y en el suero humano (53) demostró ser activo contra infecciones graves de *P. falciparum* y *P. malariae*. En estas últimas investigaciones, el anticuerpo protector estaba presente en la fracción IgG de suero inmune de adultos de Africa Occidental. Se ha encontrado anticuerpo tripanocida activo contra formas de los roedores en las fracciones 7S y 19S de inmunoglobulina (64).

Inmunización contra enfermedades protozoarias

Aunque varios laboratorios están estudiando con detenimiento la inmunización contra las enfermedades protozoarias, se ha avanzado muy poco en lo que se refiere a la elaboración de vacunas que merezcan confianza. En realidad, la inmunización solo se ha puesto en práctica contra la piroplasmosis bovina y la leishmaniasis cutánea humana. En estos casos, la inoculación de parásitos vivos produce infecciones que confieren protección al huésped. En primer lugar, se

examinan estos métodos, y luego los resultados obtenidos con protozoos muertos o fracciones protozoarias.

La inmunización con protozoos vivos

El ejemplo clásico de inmunización mediante la inducción de la infección se encuentra en la *L. tropica*, que produce leishmaniasis cutánea (úlceras orientales), del Cercano Oriente. Esta enfermedad se manifiesta en forma de una lesión cutánea, que se cura de manera espontánea en el plazo de 6 a 24 meses y confiere inmunidad a la reinfección. Desde hace siglos se viene inoculando a los niños a fin de evitar la presencia de cicatrices faciales desfigurantes más adelante (65). Los trabajos recientes de los investigadores soviéticos han dado a este método un carácter más científico. Estos trabajos demuestran la posibilidad de liofilizar cultivos de *L. tropica* var *major*, y emplear este material para las campañas de inmunización en masa (66). Una de las dificultades que hay que vencer es el empleo de cepas antigénicas que confieran la mejor protección en una región geográfica determinada. En el caso de la úlcera oriental, la enfermedad se presenta en dos formas clínicas: la de tipo seco o urbano (debida a la infección de *L. tropica* var *minor*), y la de tipo húmedo o rural (causada por la infección de *L. tropica* var *major*). Las infecciones de *L. tropica* var *minor* no confieren protección cruzada contra *L. tropica* var *major*, pero sí contra *L. tropica* var *minor*. No obstante, las infecciones por *L. tropica* var *major* protegerán contra *L. tropica* var *minor* y las especies homólogas.

El descubrimiento de una cepa dermatotrópica de *L. donovani* suscitó la posibilidad de inmunizar contra el kala-azar. Los estudios experimentales mostraron que los voluntarios inoculados con cultivo dermatotrópico de *L. donovani* adquirirían hipersensibilidad cutánea y quedaban protegidos contra la confrontación por inoculación de parásitos de kala-azar (67). De todas

maneras, es evidente que el método requiere más estudios porque la inmunización no parecía ser satisfactoria cuando se empleó en un ensayo práctico en mayor escala (68).

Desde hace años, en distintos lugares del mundo, se ha administrado la inmunización contra la piroplasmosis bovina. El método se basa en producir un estado de premunición en el que la presencia constante de una infección de bajo grado (con frecuencia imperceptible con los métodos habituales) protege al huésped de otras fuertes infecciones.

La vacuna que contiene parásitos vivos de la especie y cepa apropiada se utiliza para producir un estado de premunición en los bovinos contra *Babesia bigemina*, *B. argentina*, *Anaplasma marginale* o *Th. annulata*. Este método requiere un control técnico considerable y los servicios de especialistas (69-71). Además, surge una serie de dificultades inherentes a este método de protección. Es posible que la inmunización no se extienda a cepas heterólogas de la misma especie (72) y que el pase rápido del parásito por la inyección con jeringa origine una pérdida de infecciosidad a las garrapatas vectoras. Esto último es importante porque la reinfección natural continua mantiene la premunición (73). Otro de los inconvenientes es la posibilidad de que a medida que el ganado crezca vaya perdiendo protección. Han ocurrido brotes causados por *Th. annulata* en ganaderías lecheras inmunizadas en una edad temprana, lo que indica que tal vez sea necesaria la revacunación (74). En zonas en que solo se experimentan brotes ocasionales de piroplasmosis, quizá no sea conveniente inmunizar por premunición porque el método produce, inevitablemente, un estado de portador. Y de esta manera se introducirían nuevas fuentes de las que podría infectarse el ganado susceptible e intensificar el problema (75).

Una de las enfermedades protozoarias de los bovinos más letales (la fiebre de Rhodesia) se debe a la infección de *Th. parva*.

En vista de la importancia económica que reviste esta enfermedad, se ha tratado de elaborar una vacuna (76). El procedimiento que ofrece mejores perspectivas es el que utiliza esquizontes vivos para infectar a los bovinos y estimula inmunidad protectora sin manifestación de la enfermedad (77). No obstante, la estandarización de la suspensión de esquizontes del bazo de bovinos infectados es difícil, y se han obtenido resultados variables a este respecto. La respuesta a la inyección varía entre una ausencia de reacción y la muerte del ganado inyectado (76). El empleo de una vacuna de esporozoítos de garrapatas infectadas no resultó satisfactorio (78).

Sabido es que el tratamiento quimioterapéutico específico induce inmunidad protectora. Este método ha sido propuesto por Brocklesby y Bailey (79) para inmunizar a un número reducido de bovinos contra la fiebre de Rhodesia (*Th. parva*) en ausencia de cualquier otro método fidedigno de inmunización. Se ha informado también de un método similar para las infecciones de bovinos con *T. brucei* (80) y *T. congolense* y *T. vivax* (81). Esta técnica podría vencer las dificultades de inmunizar contra un organismo, como *T. brucei*, que es capaz de cambiar su constitución antigénica.

El estrecho margen que existe entre la inducción de una enfermedad mortal y de infecciones leves que confieren protección, ha dado lugar a la búsqueda de cepas inmunizantes relativamente avirulentas de protozoos que retengan sus propiedades inmunógenas. Estas cepas se encuentran en la naturaleza. Así, las infecciones murinas con cepas avirulentas de *T. cruzi* o *Toxoplasma gondii* protegerán contra la confrontación con una cepa virulenta de la misma especie (82, 83). Hasta la fecha no se ha puesto en práctica el empleo de estas cepas avirulentas. Se han estudiado de manera extensa las tentativas deliberadas de atenuar las cepas mediante diversos métodos. La irradiación con rayos X en experimentos de laboratorios ha resul-

tado satisfactoria en el caso de la malaria y la tripanosomiasis. En el primero de estos casos la irradiación de esporozoítos (84) y trofozoítos (85, 86) logró atenuar los parásitos sin impedir la protección. De manera análoga, se observó protección contra *T. lewisi* después de la inoculación de tripanosomas tratados con rayos X (87). Los estudios realizados con *T. cruzi* revelaron que los tripanosomas del torrente sanguíneo sometidos a la irradiación γ o las formas de cultivo no producían protección en ratones inoculados (88).

Los trabajos de Fernandes y sus colaboradores realizados con *T. cruzi* demostraron en forma satisfactoria la inhibición de virulencia mediante el tratamiento de drogas. Estos autores observaron que el tratamiento de formas de cultivo con actinomicina D incapacitaba de manera irreversible a los flagelados para multiplicarse (89). No obstante, los ratones inoculados con estas formas inhibidas quedaron protegidos de una cepa virulenta de *T. cruzi*. Las observaciones histológicas revelaron que los ratones protegidos manifestaban una reacción inflamatoria contra los tripanosomas de confrontación, pero los que no habían sido protegidos no presentaban esas reacciones (90).

Otro método de atenuación es el de mantenimiento en un ambiente anormal. Esta atenuación se ha logrado con *T. cruzi* e *Histomonas meleagridis* mediante cultivo *in vitro*. En el caso de *T. cruzi*, después del cultivo *in vitro* durante 6 y 14 años, la infecciosidad había casi desaparecido, pero los ratones vacunados con la cepa atenuada recibieron protección contra la confrontación de una cepa virulenta (91, 92). El proceso de atenuación puede ir demasiado lejos en el caso de ciertas cepas de protozoos. Durante la prolongada propagación *in vitro* de *H. meleagridis*, el primer cultivo perdió su capacidad para producir la enfermedad en aves de corral inoculadas pero estimuló

inmunidad; sin embargo, en otros cultivos la capacidad inmunizante disminuyó (93).

Se ha utilizado el cultivo tisular para atenuar el parásito malárico *P. berghei*. No se pudo lograr un cultivo verdadero, pero los parásitos sobrevivieron el pase alterno en ratas, seguido de un mantenimiento durante 48 horas en cultivo tisular. Después de la atenuación con este procedimiento, los parásitos estaban en condiciones de proteger a los ratones contra la confrontación con *P. berghei* virulento, si bien la vacuna no indujo más que una parasitemia transitoria. Esta protección resultó también eficaz en la confrontación con una cepa virulenta de *P. berghei* recién aislada (94).

La verdadera propagación en cultivo tisular ha ofrecido una fuente de antígeno para experimentos de vacunación con *Th. annulata*. Se observa atenuación con cultivo continuo, pero en la actualidad no se ha determinado con claridad si se trata de una ventaja en el caso de *Th. annulata* (95-97). Se esperaba que el cultivo tisular de *Th. parva* ofrecería un método de vacunación de los bovinos contra esta enfermedad letal. Ahora bien, parece ser que se produce un cambio antigénico con la transferencia del animal al cultivo tisular que incapacita al parásito de este cultivo para proteger contra la confrontación inducida por la garrapata (76).

Inmunización con protozoos muertos o fracciones protozoarias

Con el empleo de protozoos vivos para inducir inmunidad protectora siempre puede surgir la posibilidad de causar una infección virulenta. Por lo tanto, conviene examinar las propiedades protectoras de antígenos derivados de protozoos muertos o de varias fracciones de mezclas antigénicas brutas.

En una serie de informes se da cuenta que la inyección de suspensiones de parásitos muertos o de preparaciones exentas de células protegen al huésped de la infección letal o retrasan el comienzo de la parasitemia

manifiesta. En estos informes se incluyen protozoos tales como los parásitos maláricos (98), tripanosomas, (99-103), *Babesia* (104) y *Anaplasma* (105). La única vacuna muerta que se está estudiando hoy es la de *Anaplasma*. Conviene advertir sobre la posibilidad de que el *Anaplasma* no sea un verdadero protozoo.

En cuanto al *Plasmodium gallinaceum* en polluelos, y el *P. berghei* en ratones, se ha investigado la inmunización con ambas fases del parásito (106 y datos inéditos). En ambas especies de *Plasmodium*, los animales vacunados con esporozoítos muertos lograron suprimir la formación de los esporozoítos pero no las fases eritrocíticas del parásito. Por otro lado, después de la vacunación con formas eritrocíticas, se modificó la manifestación de infección inducida por esporozoítos; el esporozoíto evolucionó normalmente hacia la fase eritrocítica y el efecto protector se observó en las fases eritrocíticas subsiguientes (107). Por lo tanto, el efecto supresor se ejerce sobre las fases del ciclo biológico que se emplean para la preparación de vacunas. Nussenzweig et al. (84) efectuaron observaciones similares utilizando como antígeno esporozoítos tratados con rayos X.

Las diferencias antigénicas con otros protozoos tal vez no sean tan completas como cuando se trata del parásito malárico. Por ejemplo, con *T. cruzi*, la fase criticidial cultivada protegerá contra la confrontación del tripanosoma en el torrente sanguíneo. Sin embargo, la inmunidad protectora no es tan considerable como la inducida por suspensiones de tripanosomas muertos (100).

En el caso de la malaria, el problema principal estriba en la disponibilidad de antígenos puesto que estos parásitos no pueden cultivarse *in vitro*. No obstante, la reciente transferencia satisfactoria de *P. falciparum* y *P. vivax* a especies de mono *Aotus* y *Saguinus* podría ofrecer otra fuente de antígeno de los parásitos humanos (108-110).

Otro problema que queda por resolver se refiere a la capacidad conocida del tripanosoma africano de alterar su constitución antigénica. Soltys (103) informó que no se observó protección contra *T. brucei* cuando se empleó una variante serológica para probar la inmunidad producida por una cepa progenitora. Sin embargo, Gill (102) observó una protección significativa contra variantes serológicas de *Trypanosoma evansi*.

También se han estudiado antígenos solubles que se encuentran en el plasma o el suero de animales infectados. Hay indicaciones de que estos antígenos pueden ser distintos, en algún modo, de los antígenos de la célula parasitaria. Quizá el elemento protector del antígeno soluble sea ofrecido al huésped en una forma que estimule la inmunidad más fácilmente. Se observó que los antígenos solubles de *T. cruzi* eran más eficaces que los antígenos parasitarios (100). Es posible que estén presentes antígenos de un grupo común ya que Ferris, Todorovic y Ristic (111) observaron en roedores inmunizados con antígenos solubles de *P. gallinaceum* cierta inmunidad a la confrontación con *P. berghei*.

Los antígenos solubles de *T. brucei* pueden fraccionarse en dos partes, una de las cuales, exclusivamente, es protectora. Se cree que están presentes en la célula tripanosómica así como en el suero (11). Se ha informado la existencia de antígenos solubles, con propiedades protectoras, procedentes de *P. gallinaceum* (111), *T. gambiense* y *T. congolense* (112), *Trypanosoma equiperdum* (113), *T. rhodesiense* (7), *T. cruzi* (100) y varias especies de *Babesia*, inclusive *B. rodhaini*, *B. canis* y especies equinas (114).

Sin lugar a dudas, el antígeno protector sólo constituye una pequeña parte de la mezcla total de antígeno en una suspensión celular bruta o una preparación acelular, y su complejidad ha conducido a estudiar las fracciones de antígenos. Estos estudios se

están llevando a cabo en casos de malaria experimental habiéndose logrado algunos éxitos (115) con el parásito de la malaria. Sin embargo, con el *T. cruzi* el extracto fenolado de formas de cultivo demostró ser excesivamente tóxico para continuar su elaboración (116).

A juzgar por todo lo que antecede, la inmunización activa sólo ha encontrado aplicaciones limitadas en las enfermedades protozoarias. En algunos casos la ubicación intracelular de los parásitos puede eliminar la eficacia de la inmunización. Por ejemplo, el coccidio *Eimeria tenella* (117) es probablemente inaccesible a los anticuerpos circulantes. En otros casos mecanismos no específicos, pueden ser importantes para la protección como lo sugiere el efecto inhibidor de la endotoxina bacteriana (118) o las bacterias muertas en las infecciones por *P. berghei* (119). La sugerencia de que la producción de interferón desempeña un papel en la resistencia adquirida a formas preeritrocíticas de parásitos maláricos despierta considerable interés (120). No obstante, abundan las pruebas de que la inmunidad específica a la mayoría de infecciones protozoarias depende de manera esencial de la producción de anticuerpo sérico o celular. Las dificultades de orden práctico de la inmunización se derivan principalmente de la compleja estructura antigénica muy variable de estos organismos; por eso las investigaciones de actualidad se dirigen cada vez más hacia este problema.

Resumen

El artículo se divide en tres partes referentes a las características generales de la reacción inmunógena en el caso de enfermedades protozoarias seleccionadas, un examen de la reacción inmunoglobulínica y, por último, los métodos de inmunización.

La mayoría de los protozoos provocan una reacción humoral que puede utilizarse para los fines diagnósticos, pero en la tripanoso-

miasis, la malaria y la leishmaniasis visceral en el hombre se observa un aumento considerable de las inmunoglobulinas, particularmente la IgM. No se sabe a ciencia cierta si estos anticuerpos ejercen una acción protectora, si bien se ha demostrado protección humoral en el caso de la malaria y de la tripanosomiasis de los roedores. Los tripanosomas y los parásitos de la malaria pueden eludir el ataque de anticuerpos cambiando el carácter de receptores en las superficies y manifestando una nueva variante serológica. En ciertas enfermedades se encuentran muy pocos anticuerpos, como por ejemplo, en la leishmaniasis cutánea y la coccidiosis. En estos casos la respuesta de base celular ofrece la protección del huésped.

Solo se ha logrado una inmunización satisfactoria en la piroplasmosis bovina y la leishmaniasis cutánea humana debida a *L. tropica*, mediante la inoculación de organismos vivos. Ahora bien, en el caso de la piroplasmosis hay que proceder con gran precaución para evitar la manifestación de una infección arrolladora. Esta dificultad ha

estimulado estudios experimentales para atenuar la virulencia de los protozoos mediante la irradiación, cultivo *in vitro* o en tejidos o la quimioterapia. Aunque se han realizado progresos experimentales interesantes, no se ha iniciado todavía su aplicación práctica.

Se han hecho varias tentativas para utilizar protozoos muertos o fracciones protozoarias preparadas con parásitos de malaria, tripanosomas, *Babesia* y *Anaplasma*, pero en general, solo se observó un grado bajo de protección. Con algunos protozoos, como los parásitos de malaria, la imposibilidad de cultivar *in vitro* limita la preparación de grandes cantidades de antígenos.

El suero de animales infectados contiene antígeno derivado de células protozoarias. A menudo el antígeno del suero es muy eficaz para estimular la protección, y pueden estar presentes antígenos comunes a varias especies.

Se concluye que, debido al carácter complejo y variable de los protozoos, se necesitan muchos otros estudios para obtener métodos prácticos de inmunización. □

REFERENCIAS

- (1) Garnham, P. C. C. *Symp Soc Gen Microbiol* 5:191, 1955.
- (2) Taliaferro, W. H. *Bact Rev* 12:1, 1948.
- (3) Blair, M. D. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 32:729, 1939.
- (4) Taliaferro, W. H. *The immunology of parasitic infections*. John Bale, Sons & Danielsson, Londres, 1930.
- (5) Desowitz, R. S. *Ann Trop Med Parasit* 53:293, 1959.
- (6) Gray, A. R. *Immunology* 4:253, 1961.
- (7) Seed, J. R. y Weinman, D. *Nature (Londres)* 198:197, 1963.
- (8) Weitz, B. *Bull WHO* 28:711, 1963.
- (9) Weitz, B. *J Gen Microbiol* 23:589, 1960.
- (10) Miller, J. K. *Immunology* 9:521, 1965.
- (11) Seed, J. R. *J Protozool* 10:380, 1963.
- (12) Brown, K. N. y Williamson, J. *Nature (Londres)* 194:1253, 1962.
- (13) Tarrant, C. J.; Fife, E. H., Jr., y Anderson, R. I. *J Parasit* 51:277, 1965.
- (14) Ritz, H. *Arch Schiffs- u Tropenhyg* 20:397, 1916.
- (15) Osaki, H. *Biken's J* 2:113, 1959.
- (16) Ormerod, W. E. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 55:313, 1961.
- (17) Neumann, R. *Z Hyg Infekt-Krankh* 69:109, 1911.
- (18) Broom, J. C. y Brown, H. C. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 34:53, 1940.
- (19) Gray, A. R. *J Gen Microbiol* 41:195, 1965.
- (20) Wilson, A. J. *J Protozool* 15:Supl., pág. 34 [Abstracto], 1968.
- (21) Gray, A. R. *Ann Trop Med Parasit* 56:4, 1962.
- (22) Amrein, Y. U. *Expl Parasit* 17:261, 1965.
- (23) Amrein, Y. U. *Expl Parasit* 17:264, 1965.
- (24) Garnham, P. C. C. *Malaria parasites and other haemosporidia*. Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1966.
- (25) Collins, W. E.; Skinner, J. C. y Coifman, R. E. *Amer J Trop Med Hyg* 16:568, 1967.
- (26) Kuvín, S. F. y Voller, A. *Brit Med J* 2:477, 1963.
- (27) Coudert, J.; Garin, J. P.; Ambroise-Thomas, P.; Minjat, [-], y Rigaud, [-]. *Bull Soc Path Exot* 59:558, 1960.

- (28) Corradetti, A. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 49:311, 1955.
- (29) Chavin, S. I. *Milit Med* 131:1124, 1966.
- (30) Spira, D. y Zuckerman, A. *Milit Med* 131: 1117, 1966.
- (31) Eaton, M. D. *J Exp Med* 69:517, 1939.
- (32) Cox, H. W. *Milit Med* 131:1195, 1966.
- (33) McGregor, I. A.; Turner, M. W.; Williams, K., y Hall, P. *Lancet* 1:881, 1968.
- (34) Cox, H. W. *J Immunol* 82:209, 1959.
- (35) Eaton, M. D. *J Exp Med* 67:857, 1938.
- (36) Brown, I. N.; Brown, K. N., y Hills, L. A. *Immunology* 14:127, 1968.
- (37) Voller, A. y Rossan, R. N. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 63:46, 57, 1969; y en prensa.
- (38) Fitzpatrick, J. E. P.; Kennedy, C. C.; McGeown, M. G.; Oreopoulos, D. G.; Robertson, J. H., y Soyannwo, M. A. O. *Nature (Londres)* 217:861, 1968.
- (39) Barnett, S. F. En Garnham, P. C. C.; Pierce, A. E., y Roitt, I., ed. *Immunity to protozoa*, pág. 180. (Simposio de la Sociedad Británica de Inmunología.) Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1963.
- (40) Riek, R. F. En Garnham, P. C. C.; Pierce, A. E., y Roitt, I., ed. *Immunity to protozoa*, pág. 160. (Simposio de la Sociedad Británica de Inmunología.) Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1963.
- (41) Garnham, P. C. C. y Humphrey, J. H. (1968). *Problems in leishmaniasis related to immunology*. WHO/PD/68.1*
* Este documento puede obtenerse de la Organización Mundial de la Salud, Ginebra.—Ed.
- (42) Bray, R. S. y Bryceson, A. D. M. *Lancet* 2:898, 1968.
- (43) Davies, S. F. M.; Joyner, L. P., y Kendall, S. B. *Coccidiosis*. Oliver y Boyd: Edinburgh, 1963.
- (44) Horton-Smith, C.; Long, P. L.; Pierce, A. E., y Rose, M. E. En Garnham, P. C. C.; Pierce, A. E., y Roitt, I., ed. *Immunity to protozoa*, pág. 273. (Simposio de la Sociedad Británica de Inmunología.) Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1963.
- (45) Augustin, R. y Ridges, A. P. En Garnham, P. C. C.; Pierce, A. E., y Roitt, I., ed. *Immunity to protozoa*, pág. 296. (Simposio de la Sociedad Británica de Inmunología.) Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1963.
- (46) Kendall, S. B. *Vet A* 1965/6, pág. 186, 1966.
- (47) Maddison, S. E.; Powell, S. J., y Elsdon-Dew, R. *Amer J Trop Med Hyg* 14:554, 1965.
- (48) Kessel, J. F.; Lewis, W. P.; Ma, S., y Kim, H. *Proc Soc Exp Biol Med* 106:409, 1961.
- (49) Goldman, M. En *Abstr & Rev VIII Int Congr Trop Med Malar, Teheran, 7-15 septiembre 1968*, pág. 248 [No publicado; distribuido en privado a miembros del Congreso] 1968.
- (50) Zaman, V. *Ann Trop Med Parasit* 54:381, 1960.
- (51) Tobie, J. E.; Abele, D. C.; Wolff, S. M.; Contacos, P. G., y Evans, C. B. *J Immunol* 97:498, 1966.
- (52) Rowe, D. S.; McGregor, I. A.; Smith, S. J.; Hall, P., y Williams, K. *Clin Exp Immunol* 3:63, 1968.
- (53) Cohen, S. y McGregor, I. A. En Garnham, P. C. C.; Pierce, A. E., y Roitt, I., ed. *Immunity to protozoa*, pág. 123. (Simposio de la Sociedad Británica de Inmunología.) Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1963.
- (54) Mattern, P.; Massayeff, R.; Michel, R., y Peretti, P. *Annls Inst Pasteur (Paris)* 101:382, 1961.
- (55) Mattern, P. *Annals Inst Pasteur (Paris)* 107:415, 1964.
- (56) McKelvey, E. M. y Fahey, J. L. *J Clin Invest* 44:1778, 1965.
- (57) Curtain, C. C.; Kidson, C.; Champness, D. L., y Gorman, J. G. *Nature (Londres)* 203:1366, 1964.
- (58) Butcher, G. A.; Cohen, S., y Garnham, P. C. C. (trabajo inédito), 1968.
- (59) Freeman, T.; Smithers, S. R.; Targett, G. A. T., y Walker, P. J. (trabajo en preparación), 1969.
- (60) Curtain, C. C.; Baumgarten, A.; Gorman, J.; Kidson, C.; Champness, L.; Rodrique, R., y Gajdusek, D. C. *Brit J Haemat* 11:471, 1965.
- (61) Curtain, C. C.; Kidson, C.; Gorman, J. G., y Parkinson, D. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 59:415, 1965.
- (62) Shaper, A. G.; Kaplan, M. H.; Mody, N. J., y McIntyre, P. A. *Lancet* 1:1342, 1968.
- (63) Coggeshall, L. T. y Kumm, H. W. *J Exp Med* 66:177, 1937.
- (64) D'Alesandro, P. A. *J Infect Dis* 105:76, 1959.
- (65) Manson-Bahr, P. H. *Manson's Tropical diseases: a manual of the diseases of warm climates*, 16a ed., pág. 129. Bailière. Tindall y Cassell: Londres, 1966.
- (66) Serebryakov, V. A.; Yusupov, K. A.; Ni, G. V., y Shishlyaeva-Matova, Z. S. *Medskaya Parazit* 36:267, 1967.
- (67) Manson-Bahr, P. E. C. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 55:550, 1961.
- (68) Manson-Bahr, P. E. C. y Southgate, B. A. *J Trop Med Hyg* 67:79, 1964.
- (69) Rafyi, A.; Maghami, G., y Houshmand, P. *Bull Off Int Epizoot* 64:431, 1965.
- (70) Tsur, I. *Bull Off Int Epizoot* 64:447, 1965.
- (71) Callow, L. L. y Mellors, L. T. *Aust Vet J* 42:464, 1966.

- (72) Callow, L. L. *Nature (Londres)* 204:1213, 1964.
- (73) O'Sullivan, P. J. y Callow, L. L. *Aust Vet J* 42:252, 1966.
- (74) Tsur, I.; Hadani, A.; Pipano, E.; Cwilich, R.; Senft, Z., y Cohen, R. *Refuah Vet* 21:167, 1964.
- (75) Jungmann, R. *Mh Vet Med* 21:259, 1966.
- (76) Wilde, J. K. H. *Adv Vet Sci* 11:207, 1967.
- (77) Brocklesby, D. W.; Bailey, K. P.; Jarrett, W. F. H.; Martin, W. B.; Miller, H. R. P.; Nderito, P., y Urquhart, G. M. *Vet Rec* 77:512 [Carta], 1965.
- (78) Wilde, J. K. H.; Brown, C. G. D.; Hulliger, L.; Gall, D., y MacLeod, W. G. *Brit Vet J* 124:196, 1968.
- (79) Brocklesby, D. W. y Bailey, K. P. *Bull Epizoot Dis Afr* 13:161, 1965.
- (80) Cunningham, M. P.; Fromentin, H.; Hoeve, K. van, y Grainge, E. B. *Rep E Afr Trypan Res Org, julio 1963-diciembre 1964*, pág. 36, 1965.
- (81) Whiteside, E. F. En Goodwin, L. G. y Nimmo-Smith, R. H., ed. *Drugs, parasites and hosts*, pág. 116. (Simposio sobre la relación entre medicamentos quimioterapéuticos, organismos infectantes y huéspedes.) Churchill: Londres, 1962.
- (82) Norman, L. y Kagan, I. G. *J Infect Dis* 107:168, 1960.
- (83) Jacobs, L. *N.Z. Vet J* 9:85, 1961.
- (84) Nussenzweig, R. S.; Vanderberg, J.; Most, H., y Orton, C. *Nature (Londres)* 216:160, 1967.
- (85) Corradetti, A.; Verolini, F., y Bucci, A. *Parassitologia* 8:133, 1966.
- (86) Wellde, B. T. y Sadun, E. H. *Expl Parasit* 21:310, 1967.
- (87) Sanders, A. y Wallace, F. G. *Expl Parasit* 18:301, 1966.
- (88) Chiari, E.; Neto, E. Mansur, y Brener, Z. *Rev Inst Med Trop (São Paulo)* 10:131, 1968.
- (89) Fernandes, J. F.; Halsman, M., y Castellani, O. *Nature (Londres)* 207:1004, 1965.
- (90) Fernandes, J. F.; Castellani, O., y Okumura, M. *Rev Inst Med Trop (São Paulo)* 8:151, 1966.
- (91) Pizzi, T. y Prager, R. *Boln Infs Parasit Chil* 7:20, 1952.
- (92) Menezes, H. *Rev Inst Med Trop (São Paulo)* 10:1, 1968.
- (93) Lund, E. E.; Augustine, P. C., y Ellis, D. J. *Expl Parasit* 18:403, 1966.
- (94) Weiss, M. L. *Amer J Trop Med Hyg* 17:516, 1968.
- (95) Pipano, E. y Tsur, I. *Refuah Vet* 23:194, 1966.
- (96) Zablotskii, V. T. *Veterinariya* 44:No. 9, pág. 66, 1967.
- (97) Pipano, E. y Cahana, M. *J Protozool* 15: Supl., pág. 45 [Abstracto], 1968.
- (98) Targett, G. A. T. y Fulton, J. D. *Expl Parasit* 17:180, 1965.
- (99) Lapiere, J. y Rousset, J. J. *Bull Soc Path Exot* 54:336, 1961.
- (100) Johnson, P.; Neal, R. A., y Gall, D. *Nature (Londres)* 200:83, 1963.
- (101) Goble, F. C.; Boyd, J. L.; Grimm-Wehner, M., y Konrath, M. *J Parasit* 50:Supl., pág. 19 [Abstracto], 1964.
- (102) Gill, B. S. *J Comp Path Ther* 75:233, 1965.
- (103) Soltys, M. A. *Canad J Microbiol* 13:743, 1967.
- (104) Phillips, R. S. *Parasitology* 57:11P, 1967.
- (105) Brock, W. E.; Kliewer, I. O., y Pearson, C. C. *Tech Bull Okla Agric Exp Stn* No. T-116, pág. 5, 1965.
- (106) Richards, W. H. G. *Nature (Londres)* 212:1492, 1966.
- (107) Shortt, H. E. y Garnham, P. C. C. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 41:785, 1948.
- (108) Young, M. D.; Porter, J. A., Jr., y Johnson, C. M. *Science (N.Y.)* 153:1006, 1966.
- (109) Geiman, Q. M. y Meagher, M. J. *Nature (Londres)* 215:437, 1967.
- (110) Porter, J. A., Jr. y Young, M. D. *J Parasit* 53:845, 1967.
- (111) Ferris, D. H.; Todorovic, R., y Ristic, M. *Z Tropenmed Parasit* 19:109, 1968.
- (112) Dodin, A. y Fromentin, H. *Bull Soc Path Exot* 55:128, 1962.
- (113) Dodin, A.; Fromentin, H., y Gleye, M. *Bull Soc Path Exot* 55:291, 1962.
- (114) Sibiric, K. H.; Sibiric, S.; Ristic, M., y Cox, H. W. *J Parasit* 53:1121, 1967.
- (115) Zuckerman, A. En *Abstr & Rev VIII Int Cong Trop Med Malar, Teheran, 7-15 septiembre 1968*, pág. 1349. [No publicado; distribuido en privado a miembros del Congreso], 1968.
- (116) Seneca, H. y Peer, P. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 60:610, 1966.
- (117) Rose, M. E. En Taylor, A. E. R., ed. *Immunity to parasites*, pág. 43. (Sexto simposio de la Sociedad Británica de Parasitología, Londres, 17 noviembre 1967.) Blackwell Scientific Publications: Oxford, 1968.
- (118) Martin, L. K.; Einheber, A.; Sadun, E. H., y Wren, R. E. *Expl Parasit* 20:186, 1967.
- (119) Nussenzweig, R. S. *Expl Parasit* 21:224, 1967.
- (120) Jahiel, R. I.; Vilcek, J.; Nussenzweig, R., y Vanderberg, J. *Science (N.Y.)* 161:802, 1968.

Immunization against Protozoal Diseases (Summary)

The review is divided into three sections, dealing with the general characteristics of immune response in selected protozoal diseases, a discussion of immunoglobulin response and finally methods of immunization.

Most protozoa elicit a humoral response which can be utilized for diagnostic purposes, but, in human trypanosomiasis, malaria and visceral leishmaniasis a considerable increase of immunoglobulins, particularly IgM, is observed. Whether these antibodies have a protective action is uncertain, though humoral protection has been demonstrated in malaria and rodent trypanosomiasis. Trypanosomes and malarial parasites can evade the antibody attack by varying the nature of receptors on the surfaces and developing a new serological variant. In certain diseases very little antibody is found, as in cutaneous leishmaniasis and coccidiosis. In these cases, cell-mediated response provides the host protection.

Successful immunization has been achieved only with bovine piroplasmosis and human cutaneous leishmaniasis due to *L. tropica*, by inoculating living organisms. However, in tripanosomiasis great care is needed to prevent

the onset of an overwhelming infection. This difficulty has stimulated experimental studies to attenuate the virulence of protozoa by irradiation, cultivation *in vitro* or in tissue culture, or by drug treatment. Although interesting experimental advances have been made, they have not yet been put to practical use.

Various attempts have been made to use killed protozoa or protozoal fractions prepared from malarial parasites, trypanosomes, *Babesia* and *Anaplasma*. However, generally only low grade protection was observed. With some protozoa, such as malarial parasites, the inability to culture *in vitro* limits the preparation of large amounts of antigen.

The serum of infected animals contains antigen which is derived from the protozoan cell. The serum antigen is often very effective in stimulating protection, and common antigens between species may be present.

It is concluded that owing to the complex and variable nature of the protozoans, a considerable amount of further study is required before practical methods of immunization are developed.

Imunização contra doenças causadas por protozoários (Resumo)

O estudo é dividido em três seções, que se referem às características gerais da reação imunológica em determinadas doenças provocadas por protozoários, ao exame da reação imunológica e aos métodos de imunização.

A maioria dos protozoários provocam reação humoral que pode ser utilizada para fins de diagnóstico. Entretanto, na tripanosomíase, na malária e na leishmaníase observa-se considerável aumento de imunoglobulinas, particularmente de IgM. A ação protetora de tais anticorpos não foi ainda comprovada, embora tenha sido verificada em alguns casos de malária e na tripanosomíase em roedores. Os tripanosomas e os parasitas da malária podem resistir ao ataque do anticorpo provocando alteração da natureza dos receptores nas superfícies e desenvolvendo nova variante serológica. Em algumas doenças —por exemplo, a leishmaníase cutânea e a coccidiose— o número de anticorpos encontrado é muito pequeno. Nesses casos, a reação celular mediata assegura a proteção do hospedeiro.

Mediante a inoculação de organismos vivos,

conseguiu-se imunização eficaz apenas em casos de piroplasmose bovina e de leishmaníase cutânea provocada por *L. tropica* no homem. Entretanto, no que respeita à piroplasmose é necessário grande cuidado, a fim de prevenir que se instale uma infecção generalizada. Tal dificuldade serviu de estímulo a estudos experimentais no sentido de atenuar a virulência dos protozoários por irradiação, cultura *in vitro* ou em tecidos, bem como por tratamento com drogas. Embora já se tenha conseguido consideráveis progressos experimentais, esse processo ainda não foi levado à prática.

Insistiu-se várias vezes no uso de protozoários mortos ou de fragmentos de protozoários, preparados com parasitas da malária, tripanosomas, *Babesia* e *Anaplasma*. Em geral, com esse método só se conseguiu baixo grau de proteção. Com alguns protozoários, tais como o parasita da malária, a impossibilidade de cultura *in vitro* impede a preparação de grandes quantidades de antígeno.

O soro de animais contaminados contém antígeno, que provém da célula protozoária.

Esse antígeno é em geral de grande eficácia na reação de proteção e pode ocorrer a presença de antígenos comuns a algumas espécies.

Chegou-se à conclusão de que, dada a

natureza complexa e variada dos protozoários, cumpre realizar muitos outros estudos sobre o assunto, antes de desenvolver métodos práticos de imunização.

Immunsation contre les maladies protozoaires (Résumé)

L'étude comporte trois parties, dont l'une traite des caractéristiques générales de la réponse immunitaire dans un certain nombre de maladies protozoaires, l'autre de la réponse immunoglobulinique; la troisième examine les méthodes d'immunsation.

La plupart des protozoaires provoquent une réponse humorale qui peut servir à des fins de diagnostic; toutefois, on constate dans la trypanosomiase humaine, le paludisme et la leishmaniose viscérale une augmentation sensible d'immunoglobulines, notamment d'IgM. Il n'est pas certain que ces anticorps exercent une action protectrice, bien que la protection humorale ait été établie dans le paludisme et la trypanosomiase des rongeurs. Les trypanosomes et les parasites paludiques peuvent éviter l'attaque par les anticorps en variant la nature des récepteurs sur les surfaces et en produisant une nouvelle variante sérologique. Dans certaines maladies, telles que la leishmaniose cutanée et la coccidiose, on ne trouve que très peu d'anticorps. Dans ces cas, une réponse au niveau cellulaire assure la protection de l'hôte.

Une immunsation satisfaisante n'a été réalisée qu'avec la piroplasmose bovine et la leishmaniose cutanée humaine causée par *L. tropica* en inoculant des organismes vivants. Toutefois, dans la piroplasmose, il est nécessaire

d'exercer une grande prudence afin de prévenir une infection soudaine et violente. Cette difficulté a stimulé des études expérimentales ayant pour objet d'atténuer la virulence des protozoaires par irradiation, culture *in vitro* ou culture tissulaire, ou traitement médicamenteux. Bien que des progrès intéressants aient été réalisés dans ce domaine, ils n'ont pas encore été mis en pratique.

Divers essais ont été entrepris en vue d'utiliser des protozoaires tués ou des fractions de protozoaires préparées à partir de parasites paludiques, trypanosomes, *Babesia* et *Anaplasma*. Toutefois, il n'a été constaté en général qu'une protection faible. Avec certains protozoaires, notamment les parasites paludiques, l'impossibilité de cultiver *in vitro* limite la préparation de grandes quantités d'antigène.

Le sérum d'animaux infectés, contient de l'antigène qui provient de la cellule protozoaire. Le sérum antigénique est souvent très efficace en stimulant la protection; en outre, des antigènes communs parmi les espèces peuvent être présents.

Les auteurs concluent qu'en raison de la nature complexe et variable des protozoaires il sera nécessaire d'entreprendre de nombreuses autres études avant que l'on puisse mettre au point des méthodes pratiques d'immunsation.