

IMPORTÂNCIA DAS VARIAÇÕES ANTIGÊNICAS QUE
PODEM OCORRER EM TRIPANOSOMA

JOSÉ MARTINS DE SOUZA **

RESUMO

Nas tripanosomíades, os primeiros sintomas ocorrem como uma consequência direta da invasão de parasitas na circulação geral e não específicos: febre, linfadenopatia, mal estar geral. Nas tripanosomíases africanas, sintomas específicos, tais como, meningoencefalites e miocardites são de origem imunopatológica.

Antígenos variantes ou de superfície induzem o aparecimento de anticorpos IgM, precipitantes e neutralizantes específicos para cada população e são produzidos repetidamente durante a infecção. Como as populações de tripanosoma no sangue são antigenicamente heterogêneas e como as diferenças na virulência ocorrem entre vários tipos antigênicos, sugeriu-se que a competição biológica entre variantes resulta da predominância de uma variante (a mais virulenta).

Antígenos comuns induzem a produção e anticorpos IgG detectados pelos testes de fluorescência, fixação do complemento e aglutinação indireta. Eles são liberados no fim de cada onda parasitária e quando o trata-

mento é iniciado.

Anticorpos heterófilos e autólogos e fator reumatoide já foram citados na literatura.

A variação antigênica é de fundamental importância no estabelecimento das tripanosomíases, pois permite aos parasitas evadirem dos mecanismos e defesa do hospedeiro.

INTRODUÇÃO

Em se tratando de variação antigênica de protozoários, a literatura se refere com maior frequência à tripanosomíase africana.

As duas formas da doença do sono são causadas por organismos bem relacionados, *T. rhodesiense* e *T. gambiense*. A essencial diferença em sua virulência no homem está refletida nos diferentes hospedeiros reservatórios, bem como nos sintomas que eles produzem no homem. Entretanto, os efeitos patológicos fundamentais, incluindo os efeitos imunológicos durante a infecção, são semelhantes com os dois organismos, e os dois serão tratados aqui, devido aos mesmos processos patogênicos.

* Trabalho do Curso de Especialização em Protozoologia — Universidade Federal de Goiás — Instituto de Patologia Tropical — Departamento de Parasitologia

** Aluno.

Os tripanosomas são inoculados na pele, pela *Glossina* infectada e o parasita multiplica-se no tecido subcutâneo. Do foco primário os tripanosomas invadem a linfa, sangue e tecidos. Os tripanosomas aumentam logaritmicamente no sangue dois a três dias depois de serem detectados na corrente sanguínea. Então eles parecem desaparecer da corrente circulatória, totalmente, mas sua extraordinária capacidade de sobreviver no hospedeiro mamífero, permite à próxima população desenvolver no sangue; esta população que passou por uma dose imuno específica, se reabilitou pela obtenção de antígenos de constituição diferente da população anterior. O intervalo entre cada onda de parasitemia varia de um a oito dias.

Esta parasitemia recorrente significa que o hospedeiro está exposto a uma sequência contínua de infecções com praticamente os mesmos organismos e a diferentes, mas estreitamente relacionadas, reações antígeno-anticorpo a cada hora. O que ocorre em influenza em escala mundial num período de anos, está condensado nas tripanosomíases em um único hospedeiro e a um período de várias semanas ou meses. Os sintomas clínicos que acompanham cada período de parasitemia são tão inespecíficos que se confundem frequentemente com malária influenza. Sinais não específicos ocorrem como efeito imediato da parasitemia, assim a febre acompanha exatamente as ondas parasitemias. A variação antigênica do parasita durante uma infecção sanguínea não é somente qualita-

tivamente complicada mas também, devido às flutuações da parasitemia-qualitativamente inconsistente.

Antes de discutir a resposta do hospedeiro à diferentes antígenos introduzidos durante as tripanosomíases, descreveremos as características dos três principais grupos de antígenos de tripanosomas: 1) antígenos variantes ou de superfície, 2) comuns ou de citoplasma, 3) antígenos nucleares e 4) exoantígenos ou antígenos livres.

Antígenos variantes ou de superfície —

Os antígenos variantes ou de superfície são população específicas e desperta a produção de anticorpos protetores, aglutinantes, precipitinas e lisinas. Vickerman (1969) demonstrou que tripanosomas sanguíneos têm uma camada contínua sobre a película celular e mais tarde (Vickerman & Luckins 1969) provou que os antígenos variantes ficam localizados na camada externa da superfície. Eles consistem de macromoléculas heterogêneas-glicoproteínas e carboidratos; parte dos carboidratos atuam como determinante antigênico com um componente protéico de composição estrutural inconstante, sendo responsável pela heterogeneidade química (Njogu & Humphreys 1972). De acordo com Seed (1972) os antígenos variáveis consistem de dois componentes individuais, um associado a anticorpos protetores e outro sendo aglutinogêneo. Isto implicaria que a cada mudança de uma população variante à outra, no mínimo dois grupos de determinantes antigênicos são modificados.

De acordo com o ponto de vista dos biólogos celulares de que o aparelho de Golgi é a chave que comanda a secreção do produto celular (Whaley et al. 1972), Vickerman (1971) sugerem que a camada externa nos tripanosomas é um produto de secreção da célula e que um aparelho secretor elaborado está presente, consistindo de um aparelho de Golgi bem desenvolvido com vesículas ligadas à membrana e túbulos para transportar o produto da secreção ao bolso flagelar. As estruturas envolvidas na secreção são assim bem elucidadas, mas a questão de como os determinantes antigênicos podem ser modificados durante o curso da infecção permanecem inexplicados.

Cantrell (1958) and Watkins (1964) sugeriram que o mecanismo é realizado inteiramente à mutação por acaso e seleção. De acordo com Watkins, a mutação ocorreria independentemente de estímulos tais como anticorpos do hospedeiro. A teoria de Watkins é baseada em observações em camundongos sugerindo que variações antigênicas aparecem três dias depois da inoculação e afirma que este tempo não é suficiente para a produção de anticorpos. Uma objeção a esta teoria é que dos experimentos de Gray (1962) ele afirma que numa dada cêpa de tripanosoma ocorrem variações antigênicas de acordo com um padrão preestabelecido. Gray inoculou vários animais com a mesma cêpa e apareceram variantes em sequência similar em cada infecção. Gray afirmou ainda que qualquer variante desen-

volvida de uma cêpa de tripanosoma, quando inoculada em um novo hospedeiro, poderá reaparecer consistentemente, com o mesmo tipo antigênico, "o tipo antigênico básico da cêpa". A reversão deste tipo antigênico básico aparece depois da transmissão por moscas, assim como depois de passagem por seringa (Gray 1965).

Ritz (1914, 1916) afirmou que a variação antigênica é devida a influências de anticorpos de hospedeiro e isto foi confirmado por observações posteriores. Gray (1965) e Vickerman (1969) supondo uma capacidade adaptativa da célula, sugeriu que as sucessivas substituições da camada de superfície são devidas a um processo organizado contido na constituição genética da célula. Por esta hipótese a regularidade dos processos podem ser explicados satisfatoriamente. Entretanto, se nós sugerimos que os tripanosomas individuais são capazes de mudar de uma camada de superfície antigênica para outra, não há resposta ainda porque aparentemente somente alguns indivíduos em cada população escapam dos mecanismos de defesa do hospedeiro, usando o seu esquema genético fixo. Pode acontecer que os tripanosomas da corrente sanguínea sejam pegos de surpresa embora os tripanosomas contidos nos tecidos sejam relativamente protegidos da ação neutralizante dos anticorpos. O estimulante indutivo para a variação antigênica. Pode ser, ou os anticorpos a baixa concentração, ou outros fatores relacionados à resposta imune do hospedeiro, tais como células

imuno-competentes. Há uma outra complicação no processo da variação antigênica; Ritz (1914), Lourie & O'Connor (1937) & Broom & Broom (1940) já haviam concluído que as populações de tripanosomas são misturas antigênicamente heterogêneas. Mais recentemente McNeillage et al. (1969) confirmaram que depois de organismos serem inoculados, a população da 1.^a passagem tinha mais de um tipo antigênico ao mesmo tempo. Recentemente Seed & Effron (1973), afirmaram que a antigenidade dos tripanosomas de tecido diferem do tipo sanguíneo em suas propriedades aglutinantes. Mesmo que as diferenças entre formas sanguíneas e de tecido não sejam válidas, isto mostra que muitas variações podem ocorrer ao mesmo tempo. Por isso, se um mecanismo da célula, pre-designado geneticamente está envolvido, ele pode ser facilmente desordenado, para fazê-lo trabalhar de uma maneira desordenada.

Um segundo ponto inexplicado é que desde que diferentes variantes estão presentes no sangue e tecidos do hospedeiro simultaneamente, como podemos explicar o intervalo entre os episódios da parasitemia? Podia-se esperar que algumas populações variantes fossem sobrepostas, continuamente, aparecendo e desaparecendo independentemente; o aparecimento e desaparecimento sincrônico de mais de uma variante durante cada onda parasitêmica (de parasitemia) parece altamente impossível.

Parece ser de relevada importância considerar a ocorrência de competição biológica entre variantes diferentes dentro de cada população de tripanosoma. Ritz (1914) sugeriu que uma variante pode dominar outras. Interações ecológicas dentro da população de tripanosoma pode ser responsável por uma variante predominar sobre outras que são potencialmente ou literalmente suprimidas até o hospedeiro ter a variedade predominante.

Não está claro que mecanismo poderia capacitar uma variante de fazer isto, como não está claro, por exemplo, porque portadores de *S. aureus* usualmente albergam um tipo, embora ampla oportunidade existe para superinfecção por outros tipos de *S. aureus*. De acordo com a hipótese aqui proposta, alguns indivíduos de uma população tornam-se um tipo antigênicamente diferente, como resultado, por exemplo de uma mutação ao acaso. Tripanosomas de qualquer variante pode multiplicar ou reaparecer continuamente enquanto permanecer consistentemente suprimida em número pela variante mais virulenta predominante. Quando uma variante predominante de uma população for erradicada por anticorpos do hospedeiro, é possível que a próxima variedade mais virulenta se torne predominante na próxima onda de parasitemia. Desta maneira, poderão aparecer população na ordem da virulência de subseqüente variação antigênica que é compatível com a regularidade do fenômeno. Para confirmar isto, uma série de experi-

mentos de McNeillage e colegas têm mostrado que ocorrem diferenças na virulência, associadas com diferenças no tipo antigênico (McNeillage & Helbert, 1968). Em pacientes com doença do sono o nível da parasitemia torna-se comumente mais baixo e os intervalos entre os picos se tornam mais prolongados durante o curso da infecção, sugerindo que a última população variante é menos virulenta.

Se admitirmos que cada cepa particular tem um potencial de um certo espectro de variação antigênica uma provável seqüência pode ser esperada. A transmissão para novo hospedeiro significaria que a variante mais virulenta poderia aparecer como tipo predominante da primeira população, como mutação ao acaso pode ocorrer rapidamente, isto é, pode ocorrer no começo e no fim. A teoria da competição biológica sempre proporciona uma explicação para o fenômeno reportado por Gray (1962) que uma certa variante pode ser prevenida por passagem em animais imunizados contra aquela variante específica.

Finalmente, de acordo com Desowitz (1970) uma variação antigênica pode também resultar de uma reação imunológica célula-independente localizada na superfície da célula como uma parte de reação antígeno-anticorpo. Cada vez que isso ocorre, novos determinantes antigênicos poderão ser expostos ou formados, excluindo assim qualquer participação específica pela célula do tripanosoma. É óbvio que se alguém aceita que o material de

superfície seja produzido pela própria célula, por fim aparece uma variante a mais complexa por uma série de reações químicas que seriam necessárias para obter uma nova variante. A ocorrência de populações mistas não pode ser facilmente incluída dentro desta teoria.

No momento, qualquer hipótese pode ser aceita, mais nenhuma foi confirmada por evidência conclusiva. Antígenos comuns são aqueles que se encontram dentro da célula: no citoplasma e núcleo. Eles parecem permanecer imutáveis durante todo curso da infecção. Os antígenos comuns provocam a produção de anticorpos que são detectáveis por fixação de complemento (Schoenaers et al. 1953) aglutinação indireta (Binz, 1972), pela técnica de imunofluorescência (Sadun et al. 1963) e precipitação. De acordo com Williamson 1964, no mínimo dois antígenos comuns são nucleoproteínas. Os antígenos comuns não são específicos para o *T. (T.) brucei*. Reações cruzadas com outras espécies (Gray 1960) e mesmo com *T. cruzi* (Seah & Marsden 1970) ocorrem. Os antígenos comuns são liberados na queda de cada onda parasitêmica, e sua dinâmica pode ser semelhante a de outras substâncias antigênicas que são repetidamente jogadas na corrente circulatória a vários dias de intervalos. O termo "antígeno estável" como sinônimo de antígeno comum tem a desvantagem de sugerir um grau de estabilidade química que pode não existir.

Exoantígenos — Weitz (1963) afirma que antígenos solúveis no soro de ratos infectados com *T. brucei* reagiram com aglutininas precipitinas e anticorpos protetores. Em outras palavras suas propriedades antigênicas são semelhantes às dos antígenos variantes Allsopp et al. (1971) provaram recentemente a evidência de que antígenos de superfície e exoantígenos são quimicamente idênticos e que antígenos solúveis podem não estar presentes "in vivo" mas ocorrem "in vitro" como resultado da desintegração dos parasitas nestas condições. O exoantígeno pode consistir de partículas cobertas de material de superfície perdida pela célula, o tão chamado plasmanema, primeiro descrito por Wright et al. (1970) como filopodia. Produtos metabólicos dos tripanosomas, alguns dos quais antigênicos, foram demonstrados por Desmet et al. (1970) no sangue. O termo exoantígeno é quase sempre associado somente com antígenos variante que não estão ligados à célula.

Antígenos heterófilos — Houbba & Allison (1966) descobriram aglutininas heterófilas em 85% dos pacientes com *T. gambiense*. Eles sugerem que antígenos como os de Forssmann existem e estão localizados dentro da célula do tripanosoma.

Resposta do hospedeiro —

Observações no homem assim como nos animais deixam a impressão que o fenômeno imune exerce um importante papel na patologia.

O problema da variação antigênica foi amplamente discutido no Ciba Foundation Symposium (1974).

O que provocaria a variação antigênica nos tripanosomas? Qual o mecanismo do processo? É um assunto muito discutido: segundo — Vickerman — Os tripanosomas são capazes de introduzir síntese de um novo antígeno somente em alguns estágios de seu ciclo evolutivo, e é a favor da teoria da mutação e seleção; mas Gray (1965) observou a reversão de uma variante antigênica ao seu estado original o que pesa muito contra essa teoria. Para Raadt, (1974) todo tripanosoma tem um espectro de variação geneticamente fixado em seus genomas, e depois de um certo período de infecção todas as variantes estão presentes; Entretanto, tão logo a 1.^a variante apareça por mutação, os anticorpos já existentes a matarão; a variante que prevalecerá será sempre aquela contra a qual o organismo hospedeiro nunca tenha produzido anticorpos, isto é, a mais virulenta. Para Baker a concentração dos anticorpos é muito importante, assim grande quantidade de anticorpos mata o tripanosoma, porém pouca quantidade serve como alvo que induzirá o gem responsável pela mutação. Goodwin afirma que nos espaços tissulares os tripanosomas receberiam 1/5 da quantidade do soro total da circulação. Que pode ser justamente a quantidade necessária para ativar o próximo gem (Baker). Um dos problemas dessas doenças é o modo pelo qual o hospedeiro age,

produzindo imunoglobulinas inúteis. Cerca de 95% de globulinas de macacos infectados não são tripanosoma-específicas (Freeman et al. 1970). Terry et al. (1973) sugeriram que as células T. normalmente controlam as B e que em certas circunstâncias as células B podem violar o controle e fazer antígenos próprios sem serem tipados; a infecção por tripanosoma pode, de alguma maneira, dissociar o controle de uma sobre a outra, assim haver célula B em toda parte, fazendo lixo. Isto pode ser o que acontece na leishmaniose visceral com grandes jatos de IgG inespecíficos; mas a imunidade celular pode existir na presença de grande quantidade de anticorpos.

Baker — é verdade que não há variação antigênica no *T. cruzi* no hospedeiro; as ondas parasitêmicas são explicadas pela saída das formas teciduais de tempos em tempos.

Os trabalhos de Brener e Chiari (1963) e Brener (1969) confirmam esta teoria pois tratando *T. cruzi* com soro hiperimune com sua capacidade de penetrar na célula não é alterada. Nussenzweig (1963) demonstrou as diferenças antigênicas entre várias cepas de *T. cruzi* e as classificou em três grupos A, B e C. Uma questão muito importante é saber que tipo de anticorpos são produzidos contra cada tipo de antígeno: exo, endo, e de superfície.

A multiplicação dos tripanosomas na pele, constitui uma fonte contínua de antígenos confinados a um único lugar. Quando anticorpos começam a circular no

sangue, imuno-complexos podem ser formados onde os antígenos estão depositados no tecido e pode resultar de resposta de hipersensibilidade com aumento de permeabilidade vascular (Gell & Combs, 1968) semelhante ao fenômeno de Arthus. Pode-se desenvolver também imunidade mediada por células. Deu aumento da permeabilidade vascular resultante da hipersensibilidade mediada por complexo, pode causar infiltração perivascular de células.

A acentuada predominância de células mononucleares pequenas nestes infiltrados pode ser um argumento favorável ao processo imune mediado por células. As duas questões importantes são: Que antígenos poderiam estar envolvidos nestes processos e por qual mecanismo atuariam?

O quadro característico mais importante da resposta humoral na doença do sono é o aumento da concentração de IgM no soro, 1.^o firmado por Mattern (1963). A IgG é obtida pela resposta direta aos antígenos comuns.

Anticorpos autólogos — Vários anticorpos autólogos têm sido descritos em coelhos infectados com *T. brucei* (Mackenzie et al. 1972). Em uma comunicação preliminar, Mackenzie et al. (1973) afirmaram que anticorpos anti-fígado e anti-Wasserman estão presentes no gado e no homem.

Imuno-suspensão — A má alimentação e anemia são causas que podem diminuir a resposta imune (WHO 1972). Entretanto resistência a infecções concorren-

tes parece fortemente aumentada; em 150 pacientes com doença do sono não se encontrou nenhum caso de malária.

A chave do problema da imunidade das tripanosomíases está certamente mais relacionada com o mecanismo da variação antigênica. Sem se elucidar esses mecanismos, há pouca esperança de sucesso na vacinação e terapêutica. Maiores investigações serão necessárias para elucidação dos mecanismos humoral e celular sem se esquecer contudo que outros mecanismos além destes dois podem ao mesmo tempo ter importante papel no desenvolvimento da patogenia.

SUMMARY

THE IMPORTANCE OF ANTIGENIC VARIATION IN TRYPANOSOMIASIS

In trypanosomiasis the early symptoms occur as a direct consequence of recurrent invasions of parasites into the general circulation — and are not specific: fever, generalized lymphadenopathy, general malaise. Specific symptoms such as meningoencephalitis and myocarditis develop and are considered of immunopathological origin.

The surface or variant antigens elicit agglutinating, neutralizing and precipitating IgM antibodies, which are specific for each parasitemic population and are newly produced repeatedly during the infection. As trypanosoma populations in the blood are antigenically heterogeneous and as differences in virulence occur amongst various antigenic types, it is suggested that biological competition between variants results in one, the most virulent type, predominating each time.

Common antigens elicit IgG antibodies as detected by fluorescent and complement fixation tests and indirect agglutination. They are released at the end each parasitemic wave and when trypanosomal treatment is started. Heterophile and autologous antibodies and rheumatoid factor have been reported.

The antigenic variation is very important in the establishment of the trypanosomiasis so allows the parasites of soaping the defence mechanism of the host.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- LISOPP, B. A., NJOGU, A. R. & HUMPHRYES, K. C. (1971) — Nature and location of *Trypanosoma brucei* to 4S antigen. *Exp. Parasitol.* 29, 271-subgroup exoantigen and its relationship 284.
- BRENER Z. (1969) — The behaviour of slender and stout forms of *Trypanosoma cruzi* in the blood stream of normal and immune mice. *Ann Trop. Med. Parasitol.* 63(2), 215-220.
- BREMER, Z. & CHIARI, E. (1963) — Variações morfológicas observadas em diferentes amostras de *Trypanosoma cruzi* Inst. Med. Trop. São Paulo 5 (5), 220-224.
- BROOM, J. C. & BROWN, H. C. (1940) — Studies in trypanosomiasis. IV. Notes on the serological characters of *Trypanosoma brucei* after cyclical development in *Glossina morsitans*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 64, 395-400.
- CANTRELL, W. (1968) — Mutation rate and antigenic variation in *Trypanosoma equiperdum*. *J. Infect. Dis.* 103, 263-271.
- DESMET, G., WANE, A. & MATTERN, P. (1970) — Antigenes somatiques et sériques mis en évidence au cours de la trypanosomiase a trypanosoma gambiense. *C. R. Séances Soc. Biol. Fil.* 164, 1879-1886.
- DESOWITZ, R. S. (1970) — in *Immunity to Parasitic Animals* (Jackson, G. J., Herman, R., & Singer, I., eds.), vol. 2, pp. 551-596, Appleton-Century-Crofts, New York.
- FREEMAN, T., SMITHERS, S. R. TARGETT, G. A. T. & WALKER, P. J. (1970) — Specificity of immunoglobulin G in rhesus monkeys infected with *Schistosoma mansoni*, *Plasmodium knowlesi* and *Trypanosoma brucei*. *J. Infect. Dis.* 121, 401-406.
- GELL, P. G. H. & COOMBS, R. R. A., (1968) Section IV. pp. 575-596, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- GRAY, A. R. (1962) — The influence of antibody on serological variation in *Trypanosoma brucei*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 56, 4-13.
- GRAY, A. R. (1960) — Precipitating antibody in trypanosomiasis of cattle and other animals. *Nature (Lond.)* 186, 1059.
- GRAY, A. R. (1965) — Antigenic Variation in a strain of *Trypanosoma brucei* transmitted by *Glossina morsitans* and *G. Palpalis*. *J. Gen. Microbiol.* 41, 159-214.
- HOUBA, V. & ALLISON, A. C. (1966) — M-Anti-globulins (rheumatoid-factor-like globulins) an other gammaglobulins in relation to tropical parasitic infections. *Lancet* 1, 848-852.
- LOURIE, E. M. & O'CONNOR, R. J. (1937) — A study of *Trypanosoma rhodesense* relapse strains in vitro. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 31, 319-340.
- MACKENZIE, A. R., BOREHAM, P. F. L. & FACER, C. A. (1972) — Non-trypanosoma specific components of the elevated IgM levels in rabbit trypanosomiasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 66, 344-345.
- MACKENZIE, A. R., BOREHAM, P. F. L. & FACER, C. A. (1973) — Autoantibodies in African trypanosomiasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 67, 268.
- MACNEILLAGE, G. J. C., HERBERT, W. J. (1968) — Infectivity and Virulence of Trypanosome antigenic types. *J. Comp. Pathol.* 78, 345-349.
- MCNEILLAGE, G. J. C., HERBERT, W. J. & LUMSDEN, W. H. R. (1969) — Antigenic type of first relapse variants arising from a strain of *Trypanosoma (Trypanosozoon) brucei*. *Exp. Parasitol.* 25, 1-7 NJOGU, A. R. & HUMPHRYES, K. C. (1972) — The nature of the 4S antigens of the brucei subgroup trypanosomes. *Esp. Parasitol.* 31, 178-187.
- NUSSENZWEIG, V. (1963) — Immunological types of *Trypanosoma cruzi*, in VII Int. Congr. Trop. Med. Malaria, Rio de Janeiro, Abstracts of papers, p. 131.
- RAADI, P. DE (1974) — Trypanosomiasis and Leishmaniasis with Special reference to Chagas disease In Ciba Foundation Symposium, p. 199-224. Associated Scientific Publishers-Amsterdam-London-New York.
- RITZ, H. (1914) — Uber Rezidive bei experimenteller Trypanosomiasis. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 27, 1355-1358.
- RITZ, H. (1916) — Uber Rezidive bei experimenteller Trypanosomiasis II Arch. Schiffs & Tropenhyg. 20, 397-422.
- SADUN, E. H., DUXBURY, R. E., WILLIAMS, J. S. & ANDERSON, R. I. (1963) — Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of African and American trypanosomiasis in man. *J. Parasitol.* 49, 385-388.
- SCHOENAERS, F. NEUJEAN, G. & EVENS, F. (1953) — Valeur pratique de la reaction de du complement dans la maladie du sommeil R. T. gambiense. Ière partie: Le diagnostic de la maladie. *Ann Soc. Belge Med. Trop.* 33, 141-169.
- SEAH, S. & MARSDEN, P. D. (1970) — Complement fixation test in *Trypanosoma rodesense* infection with cultured *Trypanosoma cruzi* as antigen. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 64, 279-283.
- SEED, J. R. (1972) — *Trypanosoma gambiense* and *T. equiperdum* characterization of variant specific antigens. *Exp. Parasitol.* 31, 98-108.
- SEED, J. R. & EFFRON, H. G. (1973) — Simultaneous presence of different antigenic populations of *Trypanosoma brucei gambiense* in *Microtus montanus*. *Parasitology* 66, 269-278.
- TERRY, R. J., FREEMAN, J. HUDSON, D. M. & LONGSTAFFE, J. A. (1973) — Immunoglobulin M production and immunosuppression in trypanosomiasis: a linking hypothesis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 67, 263.
- VICKERMAN, K. (1969) — On the surface coat flagella adhesions in trypanosomes. *J. Cell Sci.* 5, 163-193.
- VICKERMAN, K. (1971) — in *Ecology and Physiology of Parasites* (Fallis, A. M. ed.), pp. 58-89, University of Toronto Press, Toronto.
- VICKERMAN, D. & LUCKINS, A. G. (1969) — Localization of variable antigens in the surface coat on *Trypanosoma brucei* using ferritin conjugated antibody. *Nature (Lond.)* 224, 1125-1126.
- WATKINS, J. F. (1964) — Observations on antigenic variation in a strain of *Trypanosoma brucei* growing in mice. *J. Hyg.* 62, 69-80.
- WEITZ, B. (1963) — Immunological relationships between African trypanosomes and their hosts. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 113, 400-408.
- WHALEY, W. G., DAUWALDER, M. & KEPHART, J. E. (1972) —

Golgi apparatus: influence on cell surfaces. *Science* 175, 596-599.

55 WRIGHT, K. A., LUMSDEN? W. H.

R. & HALES, H. (1970) — The formation of filopodium-like processes by *Trypanosoma* (T.) *brucei*. *J. Cell. Sci.* 6, 285-297.