

ATTUALI CONOSCENZE SULLA TASSONOMIA, DISTRIBUZIONE E BIOLOGIA DEL GENERE *TRICHINELLA* (NEMATODA, TRICHINELLIDAE)

E. POZIO

Laboratorio di Parassitologia, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Riassunto. - Il genere *Trichinella* ritenuto monospecifico fino al 1972, risulta in realtà composto da almeno sette differenti pool genici; quattro identificati dagli autori sovietici come buone specie *T. spiralis* sensu stricto, *T. nativa*, *T. nelsoni* e *T. pseudospiralis* e tre nuove entità indicate a livello operativo come *Trichinella T3*, *T5*, *T6*. Ogni pool genico presenta un peculiare areale di distribuzione, solo *T. spiralis* è ubiquitaria a causa dell'importazione passiva dovuta all'uomo in tutti i continenti. Il ciclo vitale di questi nematodi si esplica all'interno di un unico ospite dove le larve muscolari ingerite si localizzano nelle cellule colonnari dell'epitelio del duodeno, si trasformano in 4 giorni in vermi adulti, si accoppiano e le femmine producono da 200 a circa 1500 larve "newborn" a seconda della specie. Le larve newborn, attraverso il sistema linfatico, raggiungono il dotto toracico ed entrano nella grande circolazione. Le larve, che raggiungono i muscoli striati, penetrano nelle cellule muscolari ed iniziano la fase di vita parenterale, con un accrescimento di 12 volte (da 80 μm a circa 1 mm) in venti giorni. Dopo questa rapida crescita, la larva divenuta infettante, sopravvive all'interno della cellula muscolare in attesa di essere ingerita da un nuovo ospite.

Summary (Present status of the taxonomy, distribution and biology of the *Trichinella* genus (Nematoda, Trichinellidae). - The *Trichinella* genus, considered monospecific till 1972, is now composed of at least seven gene pools. The Soviet authors identified four of them as good species: *T. spiralis*, *T. nativa*, *T. nelsoni* and *T. pseudospiralis*. The biochemical approach identified three new taxonomic groups called as operational labels *Trichinella T3*, *T5*, *T6*. Each gene pool has a well-defined distribution. *T. spiralis* only has a ubiquitous distribution due to passive importation caused by man. The life cycle of these nematoda unfolds inside of a single warm blood host. The ingested muscle larvae penetrate inside the columnar cells of the small intestine epithelium and develop into adult worms in four days. The females mate and produce 200-1500 larvae (newborn) according to the species from the 5th-6th day. Through the lymphatic vessels, the newborn larvae reach

the thoracic duct and get to the parenteral niche. The larvae, reaching the striated skeletal muscles, penetrate the muscle cells and begin a parenteral life. During the first 20 days the larvae increase from 80 μm to 1 mm. After this rapid growth, the larvae, growing infectant, survive in the muscle cell awaiting ingestion into a new host.

Tassonomia

Introduzione

Fino agli anni '40 la trichinellosi era stata considerata un'infezione legata esclusivamente ai suini, coinvolgente roditori sinantropici e l'uomo. Negli anni successivi si andava evidenziando come la biomassa di questi parassiti presente nei mammiferi selvatici fosse di gran lunga maggiore di quella presente nei suidi domestici [1]. Dal 1943 vari ricercatori incominciarono a notare differenze nella biologia [2-4], epidemiologia [5], patologia [6] e clinica [7] di alcuni isolati di *Trichinella* che furono descritti come ceppi o razze differenziate, in quanto i parassiti studiati non presentavano differenze morfologiche tali da far supporre un differenziamento a livello specifico. Fino al 1972 il genere *Trichinella* (Railliet, 1895) è stato considerato monospecifico in quanto rappresentato dalla sola specie *T. spiralis* (Owen, 1835). Nel 1972, però, Britov e Boev descrissero, in base a studi di ibridazione tra differenti isolati, due nuove specie, *T. nelsoni* e *T. nativa* [8]. Nello stesso anno Garkavi descriveva una quarta specie, *T. pseudospiralis*, l'unica morfologicamente distinguibile dalle altre tre [9]. Successivamente numerosi autori hanno affrontato con differenti approcci il problema della speciazione del genere *Trichinella* [10]. Sono stati compiuti studi di tipo morfologico sull'adulto e sulle diverse fasi larvali [11, 12]. Al microscopio elettronico sono state osservate delle differenze a livello delle appendici copulatorie (pseudoborsa) [13] e della posizione dell'apertura della cloaca [14], ma gli autori non le hanno ritenute sufficienti per elevare al rango

di specie *T. nativa* e *T. nelsoni*. Secondo Bessonov *et al.* [15] le quattro specie di *Trichinella* non possono essere differenziate sulla base del loro cariotipo, a conclusioni contrarie giungono invece Mutafova e Komandarev [16]. Penkova e Romanenko [17] ritengono che il numero dei cromosomi e la loro struttura sia uguale tra le diverse specie di *Trichinella*. Dopo i primi lavori di Britov e Boev [8], numerosi altri studi sono stati compiuti sulla possibilità di incrocio tra gli isolati e sulla validità delle specie descritte. Questi studi hanno portato a due contrastanti risultati, da una parte i lavori degli autori sovietici [18, 19] e bulgari [20] che confermano la visione pluralistica, dall'altra i lavori degli americani [21, 22] che considerano valida una sola specie, *T. spiralis*. Per la differenziazione di ceppi o specie sono stati utilizzati anche vari criteri biologici quali patogenicità e virulenza [23, 24], presenza o assenza di cisti nei muscoli dell'ospite [9], indice di capacità riproduttiva (numero di larve muscolari raccolte/numero di larve inoculate) [25, 26], longevità degli adulti e delle larve in animali di laboratorio [22, 27], distribuzione degli adulti nell'intestino [23, 28], capacità di resistenza alle basse e alte temperature [29], risposta agli antielmintici [30]. Anche studi immunologici sono stati utilizzati per differenziare i diversi isolati. Penkova [31] utilizzando un test di microprecipitazione *in vitro* riteneva i diversi isolati sierologicamente identici. Sukhdeo e Meerovitch [32] analizzando le caratteristiche antigeniche di tre ceppi di diversa origine geografica, per mezzo di un'immunolettroforesi bidimensionale con sieri iperimmuni di coniglio omologhi ed eterologhi, concludevano che solo *T. nativa* poteva essere considerata una buona specie, mentre *T. spiralis* e *T. nelsoni* dovevano essere considerate sottospecie.

Tassonomia biochimica

Un diverso approccio tassonomico, basato sullo studio biochimico di diversi taxa, è stato intrapreso dagli anni '70 in poi. Il primo lavoro in questo campo, sui parassiti del genere *Trichinella*, effettuato su dischi di gel di polyacrilamide, mostrò alcune differenze tra i ceppi saggiati [33]. Boczon e coll. [34] comparando i pattern proteici evidenziati calcolarono che *T. spiralis* e *T. pseudospiralis* erano simili all'81%. Nel 1982 Flockhart *et al.* [35] evidenziarono un polimorfismo isoenzimatico tra cinque ceppi di *Trichinella* di diversa origine geografica. Successivamente numerosi autori hanno dimostrato un polimorfismo isoenzimatico all'interno del genere *Trichinella*, alcuni ritenendolo non sufficiente ad elevare al rango di specie i taxa descritti dagli autori sovietici [36, 37], altri invece ritenendolo sufficiente per considerare valide le quattro specie [38]. Sono stati pure intrapresi studi sul DNA che hanno confermato la presenza di un'ampia variabilità all'interno di questo gruppo di parassiti, ma non hanno convinto gli autori ad elevare al rango di specie i diversi pool genici osservati [39-43]. Questi studi, miranti a risolvere il problema della speciazione del genere *Trichinella*,

hanno evidenziato l'esistenza di differenze al suo interno, ma non sono riusciti a standardizzare un metodo di identificazione, e soprattutto ad analizzare un congruo numero di isolati provenienti da differenti aree geografiche.

Recentemente sono stati studiati i pattern elettroforetici di 27 sistemi enzimatici per 120 isolati di *Trichinella* provenienti da diverse aree zoogeografiche [44, 45]. L'analisi biochimica di un così elevato numero di isolati (fino ad ora erano stati comparati i profili enzimatici di non più di 25 isolati [10]) ha permesso di risolvere, almeno parzialmente il problema tassonomico ed in particolare ha evidenziato la presenza di almeno sette cluster denominati: T1, T2, T3, T4, T5, T6 e T7. Gli areali di distribuzione e le principali specie di mammiferi serbatoio dei diversi taxa sono:

T1 (identificabile con *T. spiralis* sensu stricto)

E' presente in quasi tutti i paesi europei: Spagna, Francia, Olanda, Gran Bretagna, Irlanda, Germania Federale, Danimarca, Polonia, Ungheria, Austria, Bulgaria, Unione Sovietica (sembra assente in Italia). Tra i paesi asiatici è presente in Cina e Tailandia. E' inoltre presente in Nuova Zelanda (molto probabilmente importato), in Canada e negli Stati Uniti. Questa specie, considerata dagli autori americani come "specie domestica", oltre al suino domestico è stata isolata dal cinghiale (*Sus scrofa*), volpe (*Vulpes vulpes*), gatto selvatico (*Felis silvestris*), cavallo domestico e ratto norvegico (*Rattus norvegicus*) in Europa, negli Stati Uniti anche nella lince (*Lynx rufus*) e nell'orso bruno (*Ursus americanus*), in Asia nei suidi domestici e selvatici, in Nuova Zelanda nel ratto norvegico. Si può inoltre supporre la presenza di questa specie anche nelle regioni asiatiche dell'Unione Sovietica, in Messico, Cile, Argentina ed Egitto. L'areale di distribuzione di questo parassita sembra legato attualmente all'areale di distribuzione del suino domestico e/o selvatico. E' quindi probabile che in molte aree *T. spiralis* sia stata introdotta dall'uomo. Questo parassita è ed è stato il principale agente eziologico della trichinellosi umana legata al consumo di carni di suino, in Europa (specialmente nelle regioni centro settentrionali), in alcune regione asiatiche (Cina e Tailandia), nel continente americano (Stati Uniti, Canada, Messico, Cile ed Argentina) e in Africa (Egitto e Nigeria).

T2 (identificabile con *T. nativa*)

E' considerata una specie "artica". L'areale di distribuzione comprende le estreme regioni settentrionali europee (isole Svalbard), la Groenlandia, le estreme regioni del Canada, l'Alaska, e l'Unione Sovietica a sud fino alla latitudine di Vladivostok. Secondo gli autori russi è pure presente nel nord della Svezia e in Unione Sovietica a sud fino al Mar Caspio [19]. E' stata trovata praticamente in tutte le specie animali carnivore od onnivore che popolano queste regioni: orso bianco (*Ursus maritimus*), volpe

polare (*Alopex lagopus*), volpe rossa (*Vulpes vulpes*), lupo (*Canis lupus*), tigre siberiana (*Panthera tigris*), procione (*Nyctereutes procyonoides*), gatto selvatico (*Felis cuptilura*), lince (*Felis lynx*), cane domestico, ecc. ed inoltre in alcuni cetacei (*Monodon monocerus*) e pinnipedi (*Odobenus rosmarus*, *Phoca groenlandica*, *Erignathus barbatus*). Le popolazioni umane di queste regioni, in particolare gli eschimesi, abituati a consumare carne cruda, sono infettati da questo parassita più volte durante la loro vita (J. Bohm, comunicazione personale).

T3 (Non identificabile con un taxon già descritto)

Trichinella T3 sembra essere l'unico agente eziologico della trichinellosi animale ed umana in Italia, ed è presente in tutte le regioni esclusa la Sardegna e la Sicilia. Il serbatoio del parassita è rappresentato dai canidi selvatici e sinantropici e in particolare dalla volpe. L'infezione è stata pure riscontrata nel lupo, nell'orso (*Ursus arctos marsicanus*), nel gatto selvatico, sinantropico e domestico, nel cane randagio e domestico, nella faina (*Martes foina*), nel tasso (*Meles meles*), nel ratto norvegico, nel ratto nero (*Rattus rattus*), nel cinghiale selvatico e di allevamento, e nel maiale allevato allo stato brado. Dal 1975 ad oggi in Italia si sono manifestati tre focolai umani causati da carni equine importate dall'estero [46]. In due di questi focolai l'agente eziologico è stato identificato come *Trichinella* T3. In Europa questo parassita è presente in Spagna, Jugoslavia, Bulgaria, Svezia, Unione Sovietica e, secondo gli autori russi, anche in Svizzera, e Iran [19]. È l'agente eziologico della così detta trichinellosi "silvestre" trasmessa all'uomo dalle carni di cinghiale, del maiale domestico allevato allo stato brado, della volpe e dell'orso e, occasionalmente, del cavallo.

T4 (identificabile con *T. pseudospiralis*)

È la specie più differenziata dalle altre sia biochimicamente che morfologicamente e, nello stesso tempo la meno conosciuta dal punto di vista epidemiologico e come distribuzione. È stato esaminato un solo isolato di questa specie proveniente da un procione (*Procyon lotor*) del Caucaso (Unione Sovietica). Parassiti con caratteristiche simili sono stati isolati da un corvo (*Corvus frugileus*) e da una volpe (*Vulpes corsac*) nel Kazakistan (URSS) e da un roditore (*Bandicota bengalensis*) nei pressi di Bombay in India [19]. Il parassita è stato pure segnalato in un uccello rapace negli Stati Uniti e in una poiana (*Buteo buteo*) in Spagna [47]. La caratteristica morfologica principale di questa specie è l'assenza di cisti nei muscoli dell'ospite. Le larve muscolari, di dimensioni inferiori a quelle delle altre specie, vivono tra le fibre muscolari senza provocare una reazione tissutale che porta alla formazione della cisti. Secondo alcuni autori questa specie parassiterebbe gli uccelli e solo occasionalmente i mammiferi [48]. Non sono note infezioni umane causate da questa specie di *Trichinella*.

T5 (non identificabile con un taxon già descritto)

Questa entità tassonomica è rappresentata da 2 ceppi, isolati dall'orso bruno (*Ursus americanus*) in Pennsylvania (Stati Uniti). Biochimicamente e biologicamente questi ceppi sono molto simili a quelli europei denominati *Trichinella* T3.

T6 (non identificabile con un taxon già descritto)

Quest'entità tassonomica è attualmente rappresentata da 4 ceppi provenienti dal Montana e dalla Pennsylvania (Stati Uniti), isolati dall'orso grizzly (*Ursus arctos horribilis*), dal puma (*Felis concolor*), dal ghiottone (*Gulo luscus*), e dalla volpe (*Urocyon cinereoargenteus*). Biochimicamente sono simili ai ceppi artici di *T. nativa*.

T7 (identificabile con *T. nelsoni*)

Il nome *T. nelsoni* era stato inizialmente attribuito agli isolati africani a sud del Sahara e poi esteso dagli autori russi ad alcuni isolati europei ed asiatici [8, 19]. L'analisi enzimatica di isolati europei ed africani ha mostrato una profonda differenza tra questi due gruppi. Il nome *T. nelsoni*, per ragioni di priorità, è stato attribuito ai soli parassiti provenienti dalle regioni africane a sud del Sahara, mentre quelli europei sono stati considerati una nuova entità tassonomica denominata a livello operativo come *Trichinella* T3. Il principale serbatoio di *T. nelsoni* è rappresentato dalla iena (*Crocuta crocuta*) [49], il parassita comunque è pure presente nei canidi, felidi e suidi selvatici (*Phacochoerus aethiopicus*). Sono note meno di un centinaio di infezioni umane causate da questo agente eziologico, ma si ritiene che in realtà il numero delle persone che viene a contatto con questo parassita sia notevolmente superiore [50].

Gli autori americani considerano i parassiti appartenenti a *Trichinella* T5 e T6 come "selvatici", per differenziarli da quelli di *T. spiralis* considerati "domestici" [43].

All'interno delle quattro specie e delle tre nuove entità tassonomiche sono state osservate differenze enzimatiche in alcuni dei sistemi saggiati, legate ad un polimorfismo intraspecifico (omozigoti ed eterozigoti) [51].

Oltre ai paesi sopra citati bisogna considerare che il genere *Trichinella* è presente praticamente in tutte le aree dei cinque continenti, la mancanza di segnalazioni non esclude la presenza del parassita. Il genere *Trichinella* sembra essere ubiquitario, dalle regioni artiche a quelle equatoriali, da quelle a clima secco a quelle umide.

In conclusione i risultati conseguiti hanno:

- confermato la validità tassonomica delle 4 specie descritte dagli autori sovietici: *T. spiralis sensu stricto* (T1), *T. nativa* (T2), *T. nelsoni* (T7) e *T. pseudospiralis* (T4) [44, 45];

- evidenziato altre tre nuove entità tassonomiche, attualmente indicate a livello operativo come: *Trichinella* T3, *Trichinella* T5 e *Trichinella* T6 [44, 45];

- adottato un codice internazionale di referenza per ogni isolato [44];
- costituito una criobanca con gli isolati saggiati, conservati in azoto liquido allo stadio di larva "newborn" [52, 53];
- identificato gli areali di distribuzione dei diversi taxa come riportato in Fig. 1 [53];
- identificato le principali specie che fungono da serbatoio dei vari cluster di *Trichinella*.

Biologia

Introduzione

Trichinella è uno dei pochi parassiti a non avere specificità d'ospite. Infatti è stato osservato sia sperimentalmente che attraverso ricerche sulle popolazioni naturali, come questi nematodi possano infettare tutte le specie di mammiferi ed occasionalmente anche gli uccelli (*T. pseudospiralis*) [48].

Prove sperimentali hanno dimostrato che i parassiti del genere *Trichinella* non possono svilupparsi in animali in cui la temperatura corporea sia inferiore ai 37 °C. Se però un vertebrato eterotermo viene mantenuto ad una temperatura intorno ai 37 °C, il parassita compie al suo interno un completo ciclo vitale. Inoltre questi parassiti non possono svilupparsi in vertebrati con una temperatura corporea superiore ai 38-39 °C. Unica eccezione è *T. pseudospiralis* che può parassitare anche gli uccelli, la cui temperatura corporea si aggira intorno ai 40 °C [48].

Il ciclo vitale si compie sempre all'interno di un ospite omeotermo con due diverse generazioni. Assume notevole importanza il tempo trascorso dalle larve muscolari all'interno delle cellule nutrici, nella carcassa dell'ospite. Infatti con la morte dell'ospite il parassita non è più protetto dall'omeotermia ed è sotto l'influenza degli agenti atmosferici. Gli autori sovietici chiamano questa fase del ciclo vitale del parassita "a vita libera", e ritengono che sia

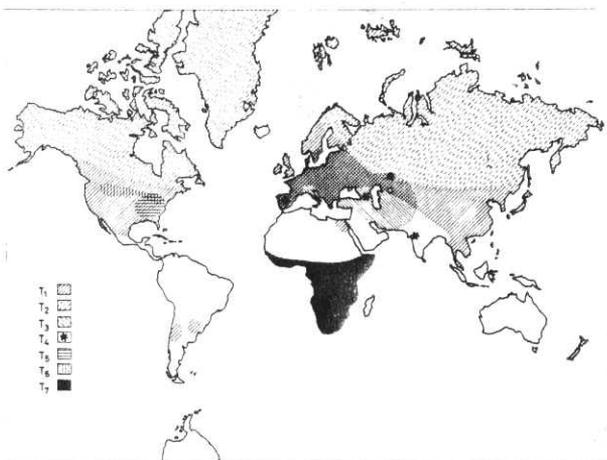


Fig. 1. - Distribuzione geografica dei diversi pool genici di *Trichinella* (da [53] modificato).

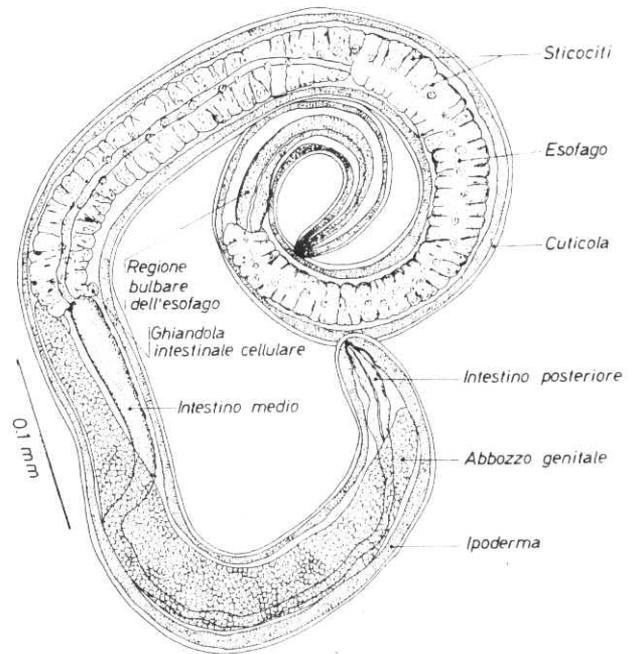


Fig. 2. - Larva muscolare di *Trichinella* maschio di 30 giorni (da [57] modificato).

uno dei principali fattori che hanno portato alla speciazione di questo gruppo di nematodi [19]. Infatti vi è una stretta relazione tra adattamento alle diverse temperature e areali di distribuzione dei diversi pool genici [54]. Il ciclo vitale del parassita nel suo complesso fu descritto già dal 1860 [55], ma solo dopo il 1960 sono state acquisite nozioni sulle fasi enterica e parenterale del parassita [56].

Ciclo Vitale

Fase enterica. - Quando le larve di *Trichinella* presenti nei muscoli (Fig. 2 [57]) di un ospite vengono ingerite da un secondo ospite, la larva L₁ [58] si libera della cellula nutrice (comunemente chiamata cisti) nello stomaco, passa nell'intestino tenue, penetra rapidamente nelle cellule colonnari epiteliali, occupandone oltre 100 [59]. La larva è priva di uno stiletto e non si conoscono i meccanismi che permettono questa penetrazione [60]. La maggior parte delle larve si localizza nel duodeno [61]. Numerosi fattori influiscono sul numero di larve che riesce a stabilirsi nell'intestino: la specie ospite, il sesso, la flora intestinale, l'alimentazione, la temperatura di stabulazione [62, 63].

Nelle infezioni monosessuali, le femmine si localizzano raggruppate nella regione anteriore dell'intestino, mentre nelle infezioni di soli maschi si assiste ad una distribuzione più uniforme dei vermi [61].

Dopo ≈ 10-14 h dall'ingestione, le larve mutano una prima volta, una seconda volta dopo 15-22 h, una terza volta dopo 23-30 h e, verso la 31° h il verme è adulto e si accoppia [59]. Gli organi riproduttivi sono poco differenziati nelle larve L₁ ma maturano rapidamente durante le 30

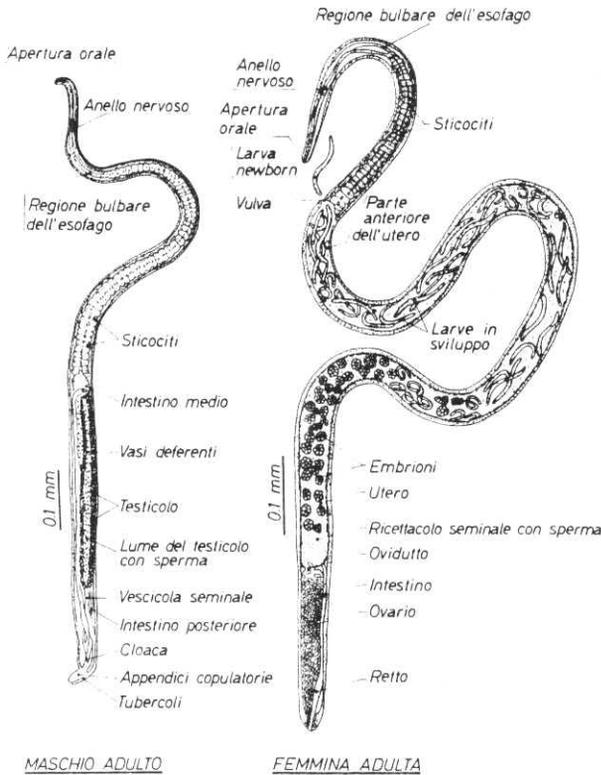


Fig. 3. - Adulti di *Trichinella* sei giorni dopo l'infezione orale (da [57] modificato).

h della morfogenesi. Caso unico tra i nematodi, le larve L_1 sono già sessualmente differenziate [64]. Durante la morfogenesi le larve subiscono dei cambiamenti esterni notevoli: nei maschi L_2 sono già presenti le appendici copulatorie e le strutture ad esse associate; nelle femmine l'ovario e l'ovidutto si sviluppano progressivamente durante le mute [65].

Subito dopo la maturità sessuale si ha l'accoppiamento all'interno delle cellule intestinali [66]. In alcune femmine è stato evidenziato lo sperma già 30 h dopo l'infezione, ma normalmente questo avviene intorno alla 40^a ora [67]. Le femmine presentano un solo ovario ologonico (Fig. 3) [64]. Le uova di $\approx 25 \mu\text{m}$ di diametro hanno 3 cromosomi aploidi, mentre le cellule somatiche ne possiedono 6 [12]. Il rapporto tra i sessi è di 1,5-2 : 1 in favore delle femmine. Si suppone che le femmine emettano un feromone, necessario specialmente nelle infezioni lievi, per attirare i maschi [68]. Sembra che i maschi (Fig. 3) si respingano l'un l'altro per cui si trovano distribuiti più uniformemente nell'intestino, mentre per le femmine sembra succedere il contrario [61, 68].

Il rapporto sessi in favore delle femmine non impedisce che tutte vengano fecondate, quindi alcuni maschi, facilitati dal feromone emesso dalle femmine, ne fecondano più di una [69].

La durata della vita degli adulti è sotto il controllo del sistema immunitario dell'ospite. In alcuni casi (topi nudi) gli adulti sono stati isolati dall'intestino dell'ospite fino a 83 giorni dall'infezione [70]. Normalmente l'80% degli

adulti viene eliminato entro il 40^o giorno e il 95% entro il 65^o giorno dall'infezione. Le femmine producono larve per tutta la durata della loro vita, ma la maggior parte viene prodotta nei primi giorni.

L'embriogenesi inizia verso la 90^a h e le prime larve "newborn" (Fig. 4) vengono prodotte non prima del 5^o giorno [62]. Il numero di larve prodotte da ogni femmina varia da specie a specie e all'interno di ogni singola specie da ceppo a ceppo [46]. Si passa dalle oltre 1600 larve newborn prodotte dalle femmine di alcuni ceppi di *T. spiralis* a meno di 200 per femmine di alcuni ceppi di *Trichinella* T3 e *T. nativa* [52].

Il 97% delle larve "newborn" migra attraverso il sistema linfatico e solo una piccola percentuale si ritrova nel sangue [71]. Con l'aiuto dello stiletto la larva "newborn" penetra nella lamina propria del villo intestinale, di qui nei vasi linfatici e raramente nei capillari. Dai vasi linfatici, attraverso il dotto toracico arriva nella grande circolazione [72]. Entrate nella grande circolazione le larve "newborn" passano nei polmoni causando difetti di perfusione polmonare [73].

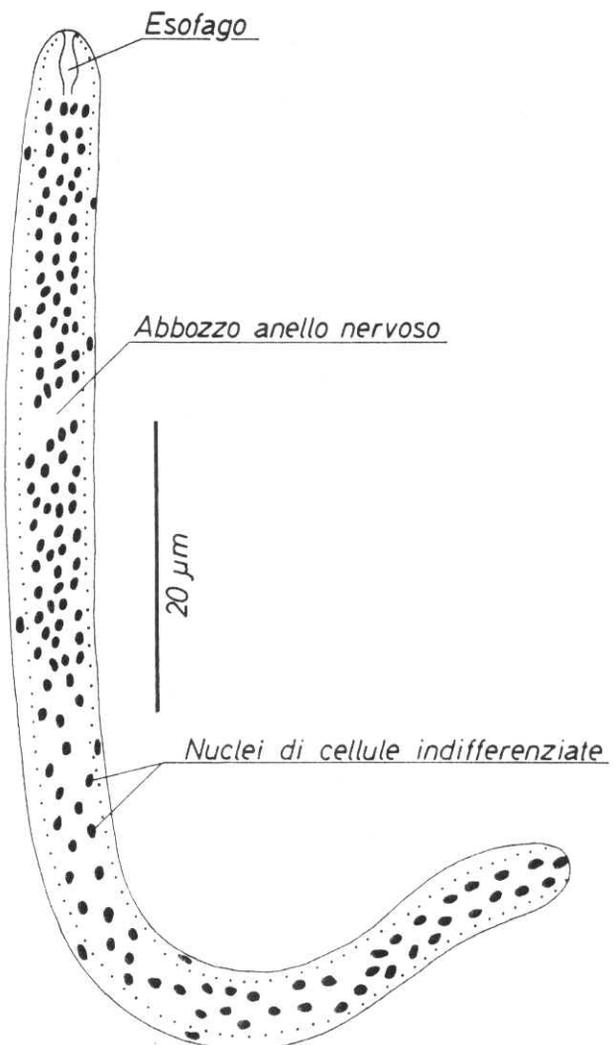


Fig. 4. - Larva newborn di *Trichinella* (da [57] modificato).

Fase parenterale. - Oltre a giungere nelle cellule dei muscoli striati, le larve "newborn" raggiungono numerosi altri siti ma producono solo infezioni fugaci (cuore, cervello, fegato, sangue, liquido cerebrospinale, latte materno) [71], sembra che non possano attraversare la placenta [74]. Le larve "newborn" possiedono un'elettrotassi positiva verso uno stimolo di 120 mV, ed una chemiotassi negativa verso alte concentrazioni di KCl [75]. Differenti gradienti di fosfocreatina e glicogeno non sembrano stimolare il parassita [75]. Alcuni studi avvalorano l'ipotesi che la maggior localizzazione delle larve si abbia nei muscoli più attivi, ma non tutti i risultati lo confermano [76]. Le larve penetrano nella cellula muscolare in circa 10 min con l'ausilio dello stiletto, non sembrano entrare in gioco enzimi litici [58].

Dopo la penetrazione nella cellula inizia la fase di vita parenterale della larva. La larva cresce in maniera esponenziale dal 4° giorno dalla sua penetrazione nella cellula ospite fino al 19° giorno [77]. Le larve muscolari (L₁) presentano un accrescimento di 12 volte, passando dallo stadio di "newborn" (80 µm di lunghezza), allo stadio di larva muscolare infettante (≈ 1 mm di lunghezza), senza tuttavia effettuare, durante questo periodo, nessun ciclo di muta caratteristico dei nematodi [56]. Nei primi 4 giorni la cellula ospite va incontro ad un radicale cambiamento di natura fisiologica e biochimica, che la portano a trasformarsi da una caratteristica cellula muscolare ad una con funzioni e caratteristiche di cellula "nutrice" (cisti) [56]. Non sono ancora note le modalità con cui il nutrimento passa dalla cellula "nutrice" al parassita. Durante la cresci-

ta della larva, l'organo che si sviluppa maggiormente è lo sticosoma. Il numero degli sticociti aumenta da circa 20, del primo giorno, a 50-55 verso il 20° giorno [78]. Gli sticociti hanno una notevole attività antigenica rilevabile già in larve di 14 giorni [79]. Al 20° giorno dalla penetrazione nei muscoli la larva è aumentata di volume di circa 270 volte. A questo punto si è formato un'unico complesso cellula ospite-larva infettante che può rimanere stabile fin quando non inizia il processo di calcificazione [58]. L'inizio del processo di calcificazione varia non solo tra differenti specie ospite, ma da un individuo e un'altro della stessa specie [58]. Dopo l'arresto della crescita della larva la cellula nutrice continua il suo differenziamento con un aumento di collagene [80].

La maggior parte degli studi sulla biologia di *Trichinella* sono stati effettuati su animali di laboratorio utilizzando ceppi di *T. spiralis sensu stricto* [53]. I recenti studi tassonomici hanno mostrato come in realtà il genere *Trichinella* sia un complesso di differenti pool genici [44]. Attualmente sono ancora molto scarsi i lavori sulla biologia di questi differenti gruppi, ma i primi studi già dimostrano come quanto sopra riportato, riguardo al ciclo vitale, vari da un gruppo ad un altro, non tanto nelle linee generali, quanto nei tempi, localizzazioni e specializzazioni delle larve e degli adulti a differenti nicchie dell'ambiente entozoico delle diverse specie ospite [81].

Ricevuto il 7 marzo 1989.

Accettato il 3 maggio 1989.

BIBLIOGRAFIA

1. ROTH, H. 1950. Nouvelles expériences sur la trichinose avec considérations spéciales sur son existence dans les régions artiques. *Bull. Off. Int. Epizoot.* **34**: 197-220.
2. RAPPAPORT, I. 1943. A comparison of three strains of *Trichinella spiralis*. I. Pathogenicity and extent of larval development in the musculature. *Am. J. Trop. Med.* **23**: 343-350.
3. RAPPAPORT, I. 1943. A comparison of three strains of *Trichinella spiralis*. II. Longevity and sex ratio of adults in the intestine and rapidity of larval development in the musculature. *Am. J. Trop. Med.* **23**: 351-362.
4. SCHAD, G.A., NUNDY, S., CHOWDHURY, A.B. & BANDYOPADHYAY, A.K. 1967. *Trichinella spiralis* in India. II. Characteristics of a strain isolated from a civet cat in Calcutta. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **61**: 249-258.
5. NELSON, G.S., BLACKIE, E.J. & MUKUNDI, J. 1966. Comparative studies on geographical strains of *Trichinella spiralis*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **60**: 471-480.
6. KOZAR, Z. & KOZAR, M. 1965. A comparison of the infectivity and pathogenicity of *Trichinella spiralis* strains from Poland and Kenya. *J. Helminthol.* **39**: 19-34.
7. FORRESTER, A.T.T., NELSON, G.S. & SANDER, G. 1961. The first record of an outbreak of trichinosis in Africa south of the Sahara. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **55**: 503-517.
8. BRITOV, V.A. & BOEV, S.N. 1972. Taxonomic rank of various strains of *Trichinella* and their circulation in nature. *Vestn. Akad. Nauk SSSR* **28**: 27-32.
9. GARKAVI, B.L. 1972. Species of *Trichinella* isolated from wild animals. *Veterinariya* **10**: 90-91.
10. POZIO, E., ROSSI, P., AMATI, M. & MANCINI BARBIERI, F. 1987. Differenziazione genetica del genere *Trichinella* attraverso l'analisi isoenzimatica. *Parassitologia* **29**: 49-62.
11. BOEV, S.N., BRITOV, V.A. & ORLOV, I.V. 1979. Species composition of Trichinellae. *Wiad. Parazytol.* **25**: 495-503.

12. BESSONOV, A.S., PENKOVA, R.A. & GUMENSHEHIKOVA, V.P. 1978. *Trichinella pseudospiralis* Garkavi, 1972: morphological and biological characteristics and host specificity. In: *Trichinellosis*. C.W. Kim & Z.S. Pawlowski (Eds). University Press, New England, Hanover, New Hampshire. pp. 79-93.
13. BARUS, V., TENORA, F., WIGER, R., GENOV, T. & KOMANDAREV, S. 1979. Scanning electron microscopic studies on males of *Trichinella* species. *Folia Parasitol.* **26**: 97-101.
14. HULINSKA, D. & SHAIKENOV, B. 1980. Scanning electron microscopic studies on developmental adult stages of four *Trichinella* species. *Angew. Parasitol.* **21**: 150-158.
15. BESSONOV, A.S., PENKOVA, R.A. & USPENSKY, A.V. 1975. On the independence of *Trichinella* species. *Wiad. Parazytol.* **21**: 561-575.
16. MUTAFOVA, T. & KOMANDAREV, S. 1976. On the karyotype of a laboratory *Trichinella* strain from Bulgaria. *Z. Parasitenkd.* **48**: 247-250.
17. PENKOVA, R.A. & ROMANENKO, L.N. 1973. The investigation of *Trichinella* chromosomes. *Proc. All-Union K.I. Skryabin Inst. Helminthol.* **13**: 80-85.
18. BRITOV, V.A. 1977. Detection of the genetic relationship among nematode species of the genus *Trichinella*. *Genetika* **13**: 1025-1029.
19. SHAIKENOV, B. & BOEV, S.N. 1983. Distribution of *Trichinella* species in the old world. *Wiad. Parazytol.* **29**: 595-608.
20. KOMANDAREV, S., BRITOV, V.A. & MIHOV, L. 1975. Identification of two *Trichinella* strains from Bulgaria. *C.R. Acad. Bulg. Sci.* **28**: 1541-1542.
21. SUKHDEO, M.V.K. & MEEROVITCH, E. 1977. Comparison of three geographical isolates of *Trichinella*. *Can. J. Zool.* **55**: 2060-2064.
22. BELOSEVIC, M. & DICK, T.A. 1980. *Trichinella spiralis*: comparison with an arctic isolate. *Exp. Parasitol.* **49**: 266-276.
23. BELOSEVIC, M. & DICK, T.A. 1979. *Trichinella spiralis*: comparison of stages in host intestine with dose of an arctic *Trichinella* sp. *Exp. Parasitol.* **48**: 432-446.
24. DICK, T.A. & CHADEE, K. 1981. Biological characterization of some North American isolates of *Trichinella spiralis*. In: *Trichinellosis*. C.W. Kim, J. Ruitenberg & T.S. Teppema (Eds). Reed Books, Surrey, England. pp. 23-27.
25. ZIMOROI, I. 1964. Natural outbreaks of trichinellosis in Kursk Region. Tesi in: Dick, T.A. (1983). Species and intraspecific variation. In: *Trichinella and Trichinosis*. W.C. Campbell (Ed.). Plenum Press, New York e Londra. pp.31-73.
26. ARAKAWA, A. & TODD, A.C. 1971. Comparative development of temperate zone and arctic isolates of *Trichinella spiralis* in the white mouse. *J. Parasitol.* **57**: 526-530.
27. CHADEE, K.C. & DICK, T.A. 1982. Biological characteristics and host influence on a geographical isolate of *Trichinella* (Wolverine: 55° 00' N, 100° 00' W, 1979). *J. Parasitol.* **68**: 451-456.
28. SUKHDEO, M.V.K. & MEEROVITCH, E. 1980. A biological explanation for the differences in infectivity of geographical isolates of *Trichinella*. *Can. J. Zool.* **58**: 1227-1231.
29. POZIO, E., LA ROSA, G., ROSSI, P. & FICO, R. 1989. Survival of *Trichinella* muscle larvae in frozen wolf tissue in Italy. *J. Parasitol.* **75**: 472-473.
30. CHADEE, K., DICK, T.A. & FAUBERT, G.N. 1983. Sensitivity of *Trichinella* sp. isolates to thiabendazole. *Can. J. Zool.* **61**: 230-235.
31. PENKOVA, R.A. 1974. Identification of *Trichinella* species by the use of microprecipitation test on live larvae. *Bull. All-Union K.I. Skryabin Inst. Helminthol.* **13**: 80-85.
32. SUKHDEO, M.V.K. & MEEROVITCH, E. 1979. A comparison of the antigenic characteristics of three geographical isolates of *Trichinella*. *Int. J. Parasitol.* **9**: 571-576.
33. OZERETSKOVSKAYA, N.N., ROMANOVA, V.I., ALEKSEEVA, M.I., PEREVERSEVA, E.V. & USPENSKII, S.M. 1970. Human trichinosis in the Soviet arctic and the characteristics of the strain of arctic *Trichinella*. In: *Productivity and conservation in Northern circumpolar lands*. W.A. Fuller & P.G. Kevan (Eds). INNC Publ. Ser. n. 10. pp. 133-142.
34. BACZON, K., HADAS, E. & SZELAG, K. 1978. Enzymes and protein patterns of *Trichinella spiralis* and *Trichinella pseudospiralis* larvae. In: *Trichinellosis. Proceedings of the 4. international conference on trichinellosis*. C.W. Kim & Z.S. Pawlowski (Eds). University Press, New England, Hanover, New Hampshire. pp. 101-111.
35. FLOCKHART, H.A., HARRISON, S.E., DOBINSON, A.R. & JAMES, E.R. 1982. Enzyme polymorphism in *Trichinella*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **76**: 541-545.
36. MYDYNSKI, L.J. & DICK, T.A. 1985. The use of enzyme polymorphisms to identify genetic differences in the genus *Trichinella*. *J. Parasitol.* **71**: 671-677.
37. FUKUMOTO, S., TAKECHI, M., KAMO, H. & YAMAGUCHI, T. 1987. Comparative studies on soluble protein profiles and isozyme patterns of seven *Trichinella* isolates. *Parasitol. Res.* **73**: 352-357.

38. POZIO, E. 1987. Isoenzymatic typing of 23 *Trichinella* isolates. *Trop. Med. Parasitol.* **38**: 111-116.
39. DICK, T.A., CURRANS, J. & KLASSEN G. 1985. Genetics and molecular biology of *Trichinella*. In: *Trichinellosis. Proceedings of the 6. international conference on trichinellosis*. C.W. Kim (Ed.). State University of New York Press, Albany. pp. 118-128.
40. CHAMBERS, A.E., ALMOND, N.M., KNIGHT M., SIMPSON, A.J.G. & PARKHOUSE, R.M.E. 1986. Repetitive DNA as a tool for the identification and comparison of nematode variants: application to *Trichinella* isolates. *Mol. Biochem. Parasitol.* **21**: 113-120.
41. KLASSEN, G.R., THIESSEN, J.P. & DICK, T.A. 1986. Restriction endonuclease analysis of repetitive sequences in the *Trichinella* genome: three strain-specific patterns. *J. Parasitol.* **72**: 772-775.
42. KLASSEN, G.R., THIESSEN, J.P. & DICK, T.A. 1986. Strain-specific 1.7 kilobase repetitive deoxyribonucleic acid sequence family in *Trichinella spiralis*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **21**: 227-233.
43. DAME, J.B., MURRELL, K.D., WORLEY, D.E. & SCHAD, G.A. 1987. *Trichinella spiralis*: Genetic evidence for synanthropic sub-species in sylvatic hosts. *Exp. Parasitol.* **64**: 195-203.
44. POZIO, E., LA ROSA, G., ROSSI, P. & MURRELL, K.D. 1989. New taxonomic contribution to the genus *Trichinella* Railliet, 1895. I. Biochemical identification of seven clusters by gene enzyme systems. In: *ICT 7th Trichinellosis*. C.E. Tanner (Ed.). S.S.I.S. Press, Madrid. pp. 76-82.
45. LA ROSA, G., POZIO, E. & ROSSI, P. 1989. New taxonomic contribution to the genus *Trichinella* Railliet, 1895. II. Multivariate analysis on genetic and biological data. In: *ICT 7th Trichinellosis*. C.E. Tanner (Ed.). S.S.I.S. Press, Madrid. pp. 103-108.
46. POZIO, E., CAPPELLI, O., MARCHESI, L., VALERI, P. & ROSSI, P. 1988. Third outbreak of trichinellosis caused by consumption of horse meat in Italy. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* **63**: 48-53.
47. CALERO, R., MARTINEZ, F., HERNANDEZ, S. & ACOSTA, I. 1978. Parasitacion de *Buteo buteo* (Aves: Accipitridae) por *Trichinella* sp. en el parque zoológico de Jerez de la Frontera. *Rev. Iber. Parasitol.* **38**: 135-138.
48. DICK, T.A. 1983. Species and intraspecific variation. In: *Trichinella and Trichinosis*. W.C. Campbell (Ed.). Plenum Press, New York e Londra. pp. 31-73.
49. SACHS, R. 1975. On the epidemiology of trichinellosis in Africa. In: *Animal research and development*. Institute for Scientific Cooperation, Tübingen, West Germany. pp. 130-138.
50. POZIO, E., LA ROSA, G. & ROSSI, P. 1989. La trichinellosi nelle aree tropicali. *Med. Trop. Coop. Sviluppo* (in stampa).
51. LA ROSA, G., POZIO, E. & ROSSI, P. 1989. Biochemical resolution of European and African isolates of *Trichinella nelsoni*. Britov and Boev, 1972. *J. Parasitol.* (in stampa).
52. ROSSI, P., POZIO, E., LA ROSA, G. & BRUSCHI, F. 1989. Cryopreservation of *Trichinella* newborn stage larvae: Technical and biological aspects. In: *ICT 7th Trichinellosis*. C.E. Tanner (Ed.). S.S.I.S. Press, Madrid. pp. 18-23.
53. POZIO, E., LA ROSA, G. & ROSSI, P. 1989. *Trichinella* reference centre. *Parasitol. Today* **5**: 169-170.
54. LA ROSA, G., POZIO, E. & ROSSI, P. 1988. Identificazione degli areali di differenti pool genici del genere *Trichinella* Railliet, 1895 (Nematoda, Trichinellidae). In: *52. Convegno Nazionale Unione Zoologia Italiana*, 12-16 settembre, Camerino. p. 29.
55. LEUCKART, R. 1860. *Untersuchungen über Trichina spiralis*. Winter, Leipzig. pp. 1-57.
56. DESPOMMIER, D.D. 1983. Biology. In: *Trichinella and Trichinosis*. C.W. Campbell (Ed.). Plenum Press, New York e Londra. pp. 75-151.
57. VILLELLA, J.B. 1970. Life cycle and morphology. In: *Trichinosis in man and animals*. S.E. Gould (Ed.). C.C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois. pp. 19-60.
58. DESPOMMIER, D.D. 1975. Adaptive changes in muscle fibers infected with *Trichinella spiralis*. *Am. J. Pathol.* **78**: 477-496.
59. WRIGHT, K. 1979. *Trichinella spiralis*: An intracellular parasite in the intestinal phase. *J. Parasitol.* **65**: 441-445.
60. BRUCE, R.C. 1970. Structure of the esophagus of the infective juvenile and adult *Trichinella spiralis*. *J. Parasitol.* **56**: 540-549.
61. SUKHDEO, M.V.K. & CROLL, N.A. 1981. The location of parasites within their hosts: Factors affecting longitudinal distribution of *Trichinella spiralis* in the small intestine. *Int. J. Parasitol.* **11**: 163-168.
62. DENHAM, D.A. & MARTINEZ, A.R. 1970. Studies with methyridine and *Trichinella spiralis*. 2. The use of the drug for study the rate of larval production in mice. *J. Helminthol.* **44**: 357-363.
63. CASTRO, G.A., JOHNSON, L.R., COPELAND, E.M. & DUDRICK, S.J. 1974. Development of enteric parasites in parenterally fed rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **146**: 703-706.
64. VILLELLA, J.B. 1958. Observations on the time and number of molts in the intestinal phase of *Trichinella spiralis*. *J. Parasitol.* **44**: 41.

65. KOZEK, W.J. 1971. The molting pattern in *Trichinella spiralis*. I. A light microscope study. *J. Parasitol.* **57**: 1015-1028.
66. GARDINER, C.H. 1976. Habitat and reproductive behaviour of *Trichinella spiralis*. *J. Parasitol.* **62**: 865-870.
67. ALI KHAN, Z. 1966. The post-embryonic development of *Trichinella spiralis* with special reference to ecdysis. *J. Parasitol.* **52**: 248-259.
68. BONNER, T.P. & ETGES, F.J. 1967. Chemically mediated attraction in *Trichinella spiralis*. *Exp. Parasitol.* **21**: 53-60.
69. BELOSEVIC, M. & DICK, T.A. 1980. Chemical attraction in the genus *Trichinella*. *J. Parasitol.* **66**: 88-93.
70. RUITENBERG, E.J., ELGERSMA, A. & KRUIZINGA, W. 1977. *Trichinella spiralis* in congenitally athymic (nude) mice: Parasitological, serological and haematological studies with observations on intestinal pathology. *Immunology* **33**: 581-587.
71. HARLEY, J.P. & GALLICCHIO, V. 1971. *Trichinella spiralis*: Migration of larvae in the rat. *Exp. Parasitol.* **30**: 11-12.
72. PERRUDET-BADOUX, A. & BINAGHI, R.A. 1978. Immunity against newborn *Trichinella spiralis* larvae in previously infected mice. *J. Parasitol.* **64**: 187-189.
73. BRUSCHI, F., SOLFANELLI, S., ALESSANDRONI, P., POZIO, E. & GIUNTINI, C. 1989. A lung perfusion study in *Trichinella spiralis* infected monkeys. In: *ICT 7th Trichinellosis*. C.E. Tanner (Ed.). S.S.I.S. Press, Madrid. pp. 293-298.
74. DENHAM, D.A. 1966. Infections with *Trichinella spiralis* passing from mother to filial mice pre- and post-natally. *J. Helminthol.* **40**: 291-296.
75. HUGHES, W.L. & HARLEY, J.P. 1977. *Trichinella spiralis*: Taxes of first-stage migratory larvae. *Exp. Parasitol.* **42**: 363-373.
76. STEWART, G.L. & CHARNIGA L.M. 1980. Distribution of *Trichinella spiralis* in muscles of the mouse. *J. Parasitol.* **66**: 688-689.
77. DESPOMMIER, D.D. 1977. Immunity to *Trichinella spiralis*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **26**: 68-75.
78. DESPOMMIER, D.D. & MÜLLER, M. 1976. The stichosome and its secretion granules in the mature muscle larvae of *Trichinella spiralis*. *J. Parasitol.* **62**: 775-785.
79. ZIMMERMAN, E.A., HSU, K.C., ROBINSON, A.G., CARMEL, P.W., FRANZ, A.G. & TANNENBAUM, M. 1973. Studies of neurophysin secreting neurons with immunoperoxidase techniques employing antibody to bovine neurophysin. I. Light microscopic findings in monkeys and bovine tissues. *Endocrinology* **92**: 931-940.
80. TEPPEMA, J.S., ROBINSON, J.E. & RUITENBERG, E.J. 1973. Ultrastructural aspects of capsule formation in *Trichinella spiralis* infections in rats. *Parasitology* **66**: 291-296.
81. LEIBY, D.A. & BACHA, W.J. 1987. A comparison of three geographical isolates of *Trichinella spiralis* from the MidAtlantic United States. *J. Parasitol.* **73**: 207-213.