

IMMUNOLOGIA DELL' INFEZIONE DA *TRICHINELLA SPIRALIS* SENSU STRICTO

F. BRUSCHI

Istituto di Patologia Generale, Università degli Studi di Perugia, Policlinico Montelucre, Perugia

Riassunto. - Vengono considerati differenti aspetti della risposta immunitaria nei confronti del nematode *Trichinella*; in particolare, gli aspetti cellulari ed umorali (mastociti, anticorpi, mediatori dell' infiammazione, interleuchine, eosinofili, macrofagi, neutrofili, ecc.) della risposta alle fasi intestinale e parenterale dell' infezione vengono considerati in dettaglio. Inoltre, viene presa in esame la genetica della risposta immune al parassita come pure le problematiche inerenti le interazioni ospite-parassita, con particolare riguardo alla modulazione del sistema immunitario da parte della *Trichinella*. Infine viene esposta una breve panoramica sulle prospettive di vaccinazione.

Summary (The immunology of *Trichinella spiralis* sensu stricto infection). - The different aspects of immune response to the nematode *Trichinella* are considered. The enteral and parenteral phases of infection are evaluated in detail as regards the contribution of different participants: cells (mast cells, lymphocytes, eosinophils, neutrophils, macrophages), antibodies, complement, inflammation mediators, interleukins etc. The genetic regulation of the immune response, the modulation of the immune system by the parasite and finally the situation as regards vaccination are discussed.

Introduzione

L' infezione da *T. spiralis sensu stricto*, in particolare quella sperimentale, è stata oggetto di numerosi studi da parte non solo di parassitologi, ma anche di un gran numero di immunologi dal momento che rappresenta un ottimo modello di studio di patologie di rilevante interesse quali, ad esempio, le malattie allergiche.

Ne è scaturita tutta una serie di informazioni che sottolineano ancora una volta la complessità delle interazioni ospite-parassita, la cui comprensione non è soltanto finalizzata alla messa a punto di un vaccino per giungere al controllo della malattia, ma ha anche lo scopo di conoscere meglio le modalità di intervento del sistema immunitario

in risposta ad un agente infettivo. Nell' immunologia dell' infezione da *Trichinella* dobbiamo distinguere la risposta alla fase intestinale e quella alla fase parenterale dell' infezione.

Immunologia della fase intestinale

Il primo incontro delle cellule immunocompetenti dell' ospite con *Trichinella* avviene a livello intestinale. Già dai primi giorni di infezione si hanno delle modificazioni a carico della composizione delle cellule linfoidi che fanno parte del tessuto linfatico associato al tubo digerente o GALT (Gut Associated Lymphoid Tissue) e iniziano a comparire i primi anticorpi specifici diretti contro lo stadio adulto del parassita [1-4]

Gli eventi che seguiranno nei successivi giorni di infezione hanno tutti il significato di preparare l' espulsione degli adulti. I protagonisti di questo processo sono costituiti dagli anticorpi, dai mastociti e loro mediatori con particolare riguardo all' istamina e dai linfociti intestinali.

Per quanto riguarda gli anticorpi, ed in particolare quelli di classe IgA, nell' infezione da nematodi quali il *Nippostrongylus brasiliensis* o l' *Hemonchus contortus* essi svolgono un ruolo nell' immunità protettiva [1]. Nel caso dell' infezione da *T. spiralis*, l' analisi del liquido di perfusione di intestino di animali infettati con il parassita ha dimostrato che esiste una sintesi elevata di IgA a questo livello. E' stato ipotizzato che le IgA siano coinvolte nel processo di immunità intestinale. Diverse sono le prove sperimentali a sostegno di questa ipotesi. La inoculazione di cellule con caratteristiche delle cellule B, isolate dalla linfa del dotto toracico di ratti immuni, per esempio, oltre a conferire l' immunità nel ratto non immune come anche sono capaci di fare le cellule T, determina l' espulsione degli adulti dall' intestino, più rapidamente delle cellule T. I linfociti B della linfa del dotto toracico contengono in maggioranza IgA ed esprimono IgA alla superficie, per cui la protezione trasferita con le cellule B del dotto toracico

è verosimilmente conferita da cellule producenti IgA. Ancora, i neonati allattati da madri immuni sono protetti dall'infezione da *T. spiralis* [5].

Molto recentemente [6] è stata osservata una chiara correlazione in topi di ceppo NIH che sono "fast responder", cioè che espellono rapidamente i parassiti dall'intestino, tra la produzione di IgA dirette contro antigeni di superficie dello stadio adulto e l'accelerata espulsione di questo stadio dal tratto gastro-intestinale. Ciò è avvalorato dall'incapacità di sintetizzare IgA contro questi antigeni da parte di topi che sono "slow responder", cioè che espellono in minor misura i parassiti.

Le secrezioni intestinali, la bile e così pure le loro componenti immunoglobuliniche purificate sono in grado di interferire con la vitalità e la fecondità della *Trichinella*. E' stato infatti dimostrato [7] che le IgA secretorie, purificate dalla bile di ratti immuni, sono in grado di ridurre la fecondità delle femmine adulte *in vitro*.

L'infezione sperimentale da *Trichinella*, come pure da altri nematodi intestinali, è responsabile di un aumento di mastociti nella mucosa intestinale. Questo fenomeno sembra essere dipendente dalle cellule T; Ruitenberg e Elgersma [8] infatti hanno dimostrato che in topi geneticamente privi di timo (i cosiddetti topi "nude"), infettati da *T. spiralis*, si ha un ridotto accumulo di mastociti e di leucociti globulari (mastociti degranulati) come pure una ridotta espulsione di adulti, rispetto ad animali con timo funzionante. Questi risultati chiariscono inequivocabilmente il rapporto tra mastociti, che sono sotto il controllo delle cellule T, e l'espulsione intestinale dei parassiti. Ulteriori informazioni sul ruolo dei mastociti nella fase intestinale dell'infezione da *T. spiralis* sono state ottenute in topi geneticamente deficienti in questo tipo di cellule (w/w⁻). In questo particolare ceppo di topi, la comparsa di mastociti intestinali in corso di infezione è più lenta, l'infezione intestinale è più prolungata e si ha riduzione dell'espulsione dei parassiti rispetto a quanto avviene negli animali che non presentano il deficit. Il trasferimento di cellule provenienti dal midollo osseo, ma non dai linfonodi, di topi non deficienti in mastociti, infettati precedentemente, ripristina la risposta mastocitaria intestinale e la capacità di espellere i parassiti [9]. L'accumulo delle cellule mastocitarie a livello intestinale potrebbe essere mediato dalla Interleuchina 3 (IL3) liberata da linfociti T helper che riconoscono antigeni parassitari, localizzati a livello intestinale.

Quale potrebbe essere il meccanismo con cui i mastociti mediano l'espulsione degli adulti? Il legame degli anticorpi fissati alla superficie di queste cellule con antigeni parassitari provocherebbe la degranulazione con liberazione di istamina che innescerebbe l'aumentata peristalsi intestinale e quindi l'espulsione (Fig. 1).

Che il fenomeno dell'espulsione sia un evento basato anche su meccanismi immunologici è sicuramente dimostrato dal fatto che essa avviene più intensamente e precocemente in seguito ad una reinfezione, cioè quando esiste la "memoria" di una precedente infezione. Tutte le modificazioni cui va incontro la mucosa intestinale durante la prima infezione come per esempio le variazioni del conte-

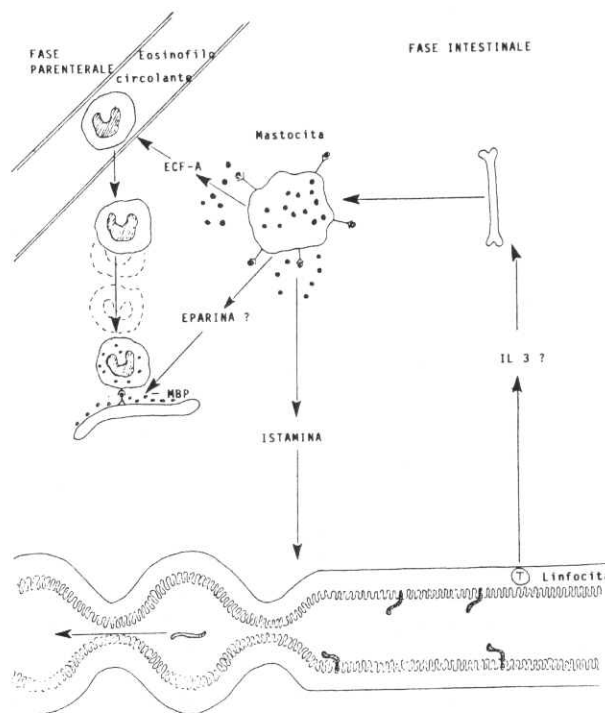


Fig. 1. - Ruolo centrale del mastocita nella risposta immunitaria alla *T. spiralis*. I punti interrogativi rappresentano delle ipotesi.

nuto enzimatico della mucosa o l'infiltrazione di cellule infiammatorie quali neutrofili prima ed eosinofili, macrofagi e plasmacellule dopo, sono amplificate e accelerate in animali che siano stati reinfezzati. Ancora, ratti di ceppo Sprague-Dawley e topi di ceppo NIH espellono una notevole quantità di parassiti già 15 min dopo il loro arrivo nell'intestino. Anche questi eventi sono su base immunologica dal momento che sono accelerati in animali precedentemente infettati.

Le cellule deputate alla conservazione della memoria immunologica sono rappresentate dai linfociti. Queste cellule hanno essenzialmente un ruolo regolatorio nel processo di espulsione. Recentemente [10] sono stati descritti linfociti T che in presenza di IgA svolgono un'azione citotossica nei confronti di alcuni batteri perciò non si può escludere che queste cellule possano svolgere anche un'azione citotossica nei confronti di nematodi intestinali. Le prime osservazioni sul ruolo dei linfociti nell'infezione da *Trichinella* sono di Rose *et al.* [11] i quali hanno dimostrato che linfoblasti di linfonodi mesenterici, provenienti sia da animali normali che precedentemente infettati, una volta iniettati in animali infettati, si localizzano preferenzialmente a livello del piccolo intestino e dei linfonodi mesenterici a dimostrazione che sono questi siti, durante l'infezione, a concentrare cellule linfoidi. Queste cellule che tendono ad accumularsi a livello intestinale sono risultate essere costituite da linfociti T [12].

Il ruolo dei linfociti nel meccanismo di espulsione è stato a lungo studiato dal gruppo di Wakelin, attraverso studi di trasferimento dell'immunità per mezzo di cellule linfoidi [3, 13-15.] Recentemente è stato dimostrato che la

cellula che è in grado di trasferire l'immunità intestinale è rappresentata da una cellula T, con fenotipo L3T4⁺ e Lyt2⁻ [15]. Questo linfocita, in risposta ad antigeni parassitari, potrebbe produrre vari fattori quali Interleuchina 2 (IL2), IL3, γ -Interferone. Come già detto, attraverso la produzione di IL3 il linfocita potrebbe regolare l'accumulo di mastociti nell'intestino che rappresenta il primo passo per arrivare all'espulsione (Fig. 1). Questo ultimo evento, contrariamente a quanto avviene in altre elmintiasi, non è risolutivo per la guarigione nel caso della trichinellosi in quanto l'organismo, già a partire dal quinto-sesto giorno di infezione, inizia ad essere invaso dalle larve migranti (larve "newborn") che attraversano la parete intestinale ed entrano in circolo.

Immunologia della fase parentale

La possibilità di ottenere *in vitro* le larve migranti della *T. spiralis* ha aperto notevoli prospettive allo studio della risposta immunitaria contro questo stadio del parassita, nel periodo che intercorre tra l'attraversamento della mucosa intestinale e l'arrivo alla cellula muscolare, dove ha termine il suo tragitto [2, 4].

Perrudet-Badoux e Binaghi [16] hanno dimostrato che larve migranti "newborn" iniettate e.v. in topi precedentemente infettati con *T. spiralis* vengono distrutte prima di arrivare all'incistamento, dimostrando l'esistenza di una risposta immunitaria alla larva migrante (Tab. 1).

Gli studi della risposta immunitaria contro questo stadio parassitario hanno messo in luce che molti elementi partecipano a questa risposta ed in particolare le cellule effettrici da un lato (eosinofili, neutrofili, macrofagi, ecc.) e gli anticorpi stadio-specifici, dall'altro.

Gli studi che hanno permesso di individuare l'azione citotossica degli eosinofili nei confronti degli elminti, oltre che nella schistosomiasi sperimentale, sono stati effettuati proprio in modelli sperimentali di trichinellosi. L'osservazione più rilevante, anche perché effettuata *in vivo*, a favore del ruolo degli eosinofili nel processo di difesa dalla *Trichinella*, si basa sull'impiego di un antisiero antieosi-

nofili, privo di reazione crociata con i neutrofili. Animali precedentemente trattati con questo siero avevano un maggior grado di infezione (larve muscolari totali) rispetto agli animali trattati con siero normale e naturalmente non presentavano eosinofilia, tipica reazione all'infezione da questo parassita (Fig. 2). Non sono state osservate invece differenze a carico del numero di parassiti espulsi dai due gruppi di animali, suggerendo che il ruolo degli eosinofili nel processo di espulsione intestinale non è certo determinante [17].

Se con questi studi si è dimostrato che in assenza di eosinofili l'ospite è più esposto all'infezione da *Trichinella* è stato dimostrato anche che elevati livelli di eosinofili possono ridurre il grado di infezione, infatti il trattamento con ciclofosfamide, oltre ad aumentare i livelli di eosinofilia nella trichinellosi murina, riduce anche il grado di infezione rispetto a quello degli animali non trattati con il farmaco [18].

Studi *in vitro* [19-32] hanno evidenziato l'azione citotossica degli eosinofili nei confronti di larve "newborn" di *T. spiralis* in presenza di antisiero in un sistema di citotossicità cellulare anticorpo-mediata (ADCC), nel topo, nel ratto e nell'uomo; la mortalità delle larve è preceduta da una fase di aderenza delle cellule al parassita che avviene solo in presenza di antisiero. E' ipotizzabile che le cellule in causa, siano esse eosinofili o neutrofili, si leghino agli anticorpi, attraverso il recettore per il frammento Fc delle immunoglobuline.

Studi di microscopia elettronica hanno dimostrato che gli eosinofili, dopo aver aderito al parassita, liberano del materiale elettron-denso che si va a depositare sulla superficie della larva. Questo materiale elettron-denso potrebbe essere costituito dalla componente proteica basica più importante contenuta nei granuli degli eosinofili o Major Basic Protein (MBP). Si tratta di una proteina ricca in arginina con un peso molecolare tra 6 e 12 kDa, priva di azione perossidasi. A sostegno di un ruolo di questa proteina nella citotossicità mediata dagli eosinofili, è stato poi dimostrato che *in vitro* essa è capace di determinare la mortalità di larve "newborn" di *T. spiralis* [23]. L'azione della MBP potrebbe essere modulata dai mastociti attraverso la liberazione di eparina che inibisce questa proteina (Fig. 1).

Altre sostanze derivate dagli eosinofili si sono dimostrate capaci di provocare la mortalità delle larve *in vitro*; tra essi i prodotti del metabolismo ossidativo. In particolare l'H₂O₂ prodotta da sistemi enzimici-substrato *in vitro*. Questo effetto veniva inibito dalla catalasi, ma non dalla superossidodismutasi a dimostrazione che l'azione tossica è svolta direttamente dalla H₂O₂. Anche la perossidasi di eosinofili si è dimostrata capace di uccidere *in vitro* le larve "newborn" [32].

Dal punto di vista della regolazione dell'intervento degli eosinofili, questa potrebbe essere sotto il controllo di fattori chemiotattici come il fattore chemiotattico per gli eosinofili dell'anafilassi (ECF-A). Questo viene liberato dai mastociti che si degranulerebbero in seguito al legame degli anticorpi, fissati a queste cellule, con antigeni paras-

Tabella 1. - Esperimento di Perrudet-Badoux e Binaghi che dimostra l'immunità contro le larve newborn (NBL)

G.I. (*)	Gruppo 1	Gruppo 2	Gruppo 3
1	50 LI per os		50 LI per os
30		12000 NBL e.v.	12000 NBL e.v.
Risultati			
60	8000 LI (**)	4000 LI (**)	7000 LI (**)

(*) Giorno di infezione.

(**) Larve muscolari isolate per topo.

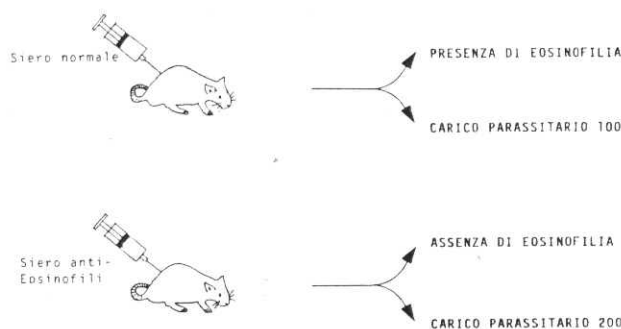


Fig. 2. - Esperimento di Grove e collaboratori che dimostra il ruolo protettivo degli eosinofili, nei confronti della *T. spiralis*, nel topo. I numeri del carico sono indicativi.

sitari, attraverso un meccanismo molto simile a quello delle reazioni di ipersensibilità di tipo I. I neutrofili umani si sono dimostrati *in vitro* capaci di provocare la mortalità delle larve; tuttavia non è ancora chiaro se queste cellule siano più o meno efficaci degli eosinofili. La mancanza di studi *in vivo* ci impedisce di capire il preciso ruolo dei neutrofili nei meccanismi di protezione dell'ospite.

I macrofagi, contrariamente ad altre elmintiasi, non sono stati molto studiati in sistemi utilizzando popolazioni purificate. McKenzie *et al.* [25] hanno osservato che una popolazione costituita per il 98% da cellule mononucleate e dal 2% di eosinofili è in grado di provocare una percentuale di mortalità di larve "newborn" del tutto trascurabile. Sicuramente queste cellule sono in grado di aderire alle larve, precedentemente opsonizzate, ma non è chiara la loro reale capacità citotossica. E' stato dimostrato che soltanto cellule di essudato peritoneale di topi "low line" (LL) di Biozzi sono capaci di provocare il killing di larve "newborn", in presenza di antisiero, a differenza delle cellule di ceppo "high line" (HL) [28]. Questa differenza si potrebbe spiegare con la maggiore funzionalità macrofagica dei topi LL rispetto a quelli HL e potrebbe quindi sostenere l'ipotesi di un ruolo protettivo dei macrofagi. Purtroppo mancano studi sulle caratteristiche degli eosinofili in questi diversi ceppi, per cui non sappiamo se esistono differenze anche per queste cellule che possano spiegare la diversa attività citotossica da parte degli essudati peritoneali dei due ceppi.

Studi *in vivo* che utilizzano degli attivatori macrofagici quali il Bacillo di Calmette e Guérin (BCG) o il *Corynebacterium parvum* dimostrano che in presenza di una funzionalità macrofagica stimolata, l'ospite si difende in maniera più efficace dalla *Trichinella* [33, 34]. Sono stati eseguiti anche studi sull'effetto di infezioni contemporanee con agenti batterici (*Listeria monocytogenes*) [35] e parassitari (*Toxoplasma gondii*) [36] che hanno una localizzazione intramacrofagica e quindi sono in grado di interferire con queste cellule. Se nel primo caso non si ha differenza nella percentuale delle "newborn" che arrivano all'incistamento dopo iniezione e.v., tra animali trattati e controlli, per quanto riguarda topi infettati da *T. gondii*

questi sono più resistenti all'infezione da *Trichinella* degli animali non trattati. Questi diversi risultati dimostrano la complessità del fenomeno.

Recentemente è stato dimostrato da Jungery *et al.* [37] che la composizione proteica della superficie delle larve migranti ottenute *in vitro* si modifica nelle prime ore di vita, con la comparsa dopo la sedicesima ora di proteine che non sono presenti alla nascita. Ciò sta ad indicare che non solo esistono antigeni stadio-specifici (propri di ciascun stadio), ma vi sono anche antigeni caratteristici dello stato maturativo di uno stesso stadio. Contemporaneamente a queste osservazioni è stato dimostrato che larve "newborn" di differente età hanno una diversa sensibilità alla citotossicità anticorpo-mediata [30, 31]; infatti mentre le larve di due ore sono uccise in grande percentuale dopo 24 ore di incubazione con cellule di essudato peritoneale e antisiero, quelle di venti ore di vita presentano una bassa mortalità, anche dopo 48 ore di incubazione con una uguale popolazione cellulare.

L'osservazione in microscopia elettronica ha dimostrato che le cellule aderenti alle larve di due ore sono esclusivamente costituite da eosinofili che peraltro presentano segni di esocitosi, mentre le cellule che aderiscono alle larve di venti ore sono dei macrofagi che presentano tuttavia segni di attivazione, in corrispondenza delle parti aderenti al parassita. Si può quindi concludere che alla diversa composizione proteica di larve di diversa età, corrisponde una diversa sensibilità ai meccanismi di difesa dell'ospite, con l'acquisizione di un grado di resistenza dopo le prime ore di vita.

Questi studi pongono l'accento sull'importanza di precisare il percorso seguito dalle larve, dalla mucosa intestinale alla cellula muscolare ed il tempo impiegato, al fine di capire quale sia lo stato maturativo acquisito dalle larve prima che giungano al muscolo e quali siano gli organi, possibile sede di un attacco immunitario.

Binaghi *et al.* nel topo [38] e Bruschi *et al.* nel ratto [39] hanno dimostrato che le larve, dopo essere entrate nel circolo venoso, giungono al polmone dove trascorrono un soggiorno di diverse ore; in questo organo si potrebbe svolgere una parte del processo di difesa dell'ospite dal parassita, attraverso meccanismi che devono ancora essere chiariti. Wang e Bell [40] hanno dimostrato che oltre il 90% delle larve che attraversano la mucosa intestinale passano dal fegato e non giungono alla linfa e quindi direttamente al circolo venoso, come si riteneva in passato. Anche a livello epatico si potrebbe avere dunque l'innescio di meccanismi citotossici per il parassita che probabilmente potrebbero chiamare in gioco le cellule di Kupffer.

Per quanto riguarda il ruolo degli anticorpi nella risposta alla fase parenterale (Tab. 2), è stato dimostrato che l'iniezione di siero proveniente da animali infettati *per os*, prima di una successiva iniezione e.v. di larve "newborn", conferisce una protezione del 90% che scende al 70% se il siero proviene da animali iniettati e.v. con larve "newborn". L'iniezione di splenociti immuni e siero conferisce uguale protezione che cellule o siero da soli. Tuttavia se il siero viene iniettato due ore dopo l'iniezione delle larve

"newborn", non si ha protezione [41]. Questi risultati aiutano a capire quelli di Perrudet-Badoux e Binaghi citati in precedenza. Infatti le larve che erano state iniettate e.v. in animali, precedentemente infettati *per os*, non si incistano perché vengono presumibilmente opsonizzate *in vivo* e quindi distrutte dalle cellule effettrici.

Anche altri Autori [29, 42] hanno osservato che iniettando e.v. larve opsonizzate da antisiero, si ha un grado di infezione pari a circa il 50% quello degli animali iniettati con siero "newborn". Risultati analoghi sono stati ottenuti con larve opsonizzate con un anticorpo monoclonale, diretto contro la proteina di 64 kDa che è presente già alla nascita sulla superficie delle larve. Questo anticorpo *in vitro* è capace di mediare l'aderenza di eosinofili alle larve di poche ore di vita e di determinarne la mortalità [29].

L'iniezione e.v. di larve "newborn" costituisce un ottimo modello per valutare gli effetti della sola fase parenterale dell'infezione, dal momento che negli animali così infettati manca la fase intestinale.

Gli studi *in vitro* hanno messo in luce che gli anticorpi che mediano l'aderenza e la citotossicità delle cellule nei confronti delle larve sono di classe IgG nel topo e nell'uomo mentre le IgM non hanno alcuna azione. Il ruolo delle IgE non è ancora ben chiarito anche se l'inattivazione al calore dei sieri immuni (le IgE sono termolabili) sembra ridurre la mortalità dei parassiti da parte delle cellule. Il trattamento di ratti con siero anti-IgE, oltre a ridurre l'eosinofilia che accompagna l'infezione da *T. spiralis*, rende gli animali più sensibili all'infezione (maggiore numero di larve muscolari rispetto ai controlli); ciò potrebbe suggerire un ruolo protettivo di questa classe di anticorpi (Fig. 3) [43].

Il sistema del complemento sembra svolgere anch'esso un ruolo dal momento che l'aderenza e la citotossicità delle cellule si riduce se il siero immune viene precedentemente inattivato a 56 °C per un'ora, una procedura che elimina l'attività del complemento [20].

Una volta che le larve giungono al muscolo, le cellule effettrici sono fuori causa, tuttavia diversi studi sono stati compiuti sull'aderenza delle cellule allo stadio muscolare del parassita.

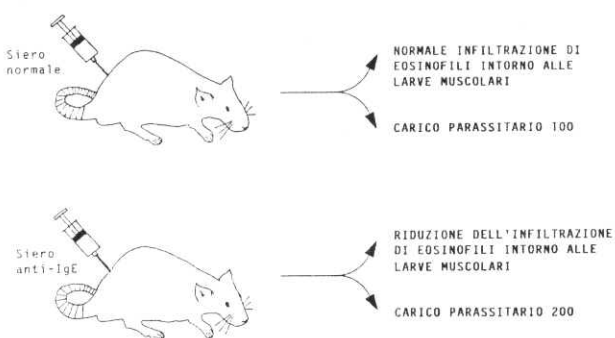


Fig. 3. - Esperimento di Dessein e collaboratori che dimostra il ruolo protettivo delle IgE, nei confronti della *T. spiralis*, nel ratto. I numeri del carico sono indicativi.

Tabella 2. - Ruolo delle diverse classi anticorpali nell'infezione da *T. spiralis*

Fase dell'infezione		Ruolo
IgG	Parenterale	Mediazione della citotossicità
IgE	Intestinale e parenterale	Fissazione sui mastociti che degranulando liberano istamina (fase intestinale) e ECF-A (fase parenterale); mediazione della citotossicità?
IgA	Intestinale	Espulsione dei parassiti dall'intestino? riduzione della fecondità?
IgM	?	?

L'aderenza sembra mediata soprattutto dal complemento; ciò è possibile perché a questo stadio i parassiti posseggono il recettore per la frazione C₃ del complemento. Anche le IgG specifiche sono in grado di mediare l'aderenza. E' chiaro tuttavia che le cellule, pur aderendo, non sono in grado di provocare la mortalità dello stadio muscolare, quindi non è ancora comprensibile il significato di questa interazione cellula-parassita.

Genetica della risposta immunitaria alla *T. spiralis*

La risposta immunitaria all'infezione da *T. spiralis* non è la stessa in tutte le specie come pure in ceppi diversi della stessa specie. Ciò suggerisce che esista un controllo geneticamente prestabilito della risposta o di una parte di essa.

Wassom *et al.* [44] hanno valutato il controllo genetico della risposta immunitaria a tutte le fasi dell'infezione, valutando il grado di questa in vari ceppi di topo che differivano per assetto genico. I risultati hanno evidenziato che il controllo è ad opera sia di geni legati sia di geni non legati al sistema maggiore di istocompatibilità (H-2 nel topo); in particolare i geni legati al sistema H-2 sarebbero in parte localizzati nelle subregioni I-A e I-B ed in parte nella regione D.

Per quanto riguarda il controllo genetico della risposta intestinale è stato osservato da Wakelin [45] che esistono dei ceppi di topo che rispondono lentamente all'insediamento degli adulti (i C57BL/10 per esempio) e ceppi di topo che rispondono con una rapida espulsione (NIH, SWR, DBA₁). Questi ultimi ceppi posseggono un aplo-tipo H-2^d che è posseduto anche da topi di ceppo B10.G che invece rispondono lentamente. Ciò dimostrerebbe che il controllo dell'espulsione di adulti non è legato a geni H-2.

E' stato ipotizzato che mentre i geni H-2 regolano la risposta immunitaria linfocitaria, i geni non H-2 controllerebbero la risposta infiammatoria generata dagli stessi linfociti, mediante liberazione di linfocine.

Cellule T specifiche per gli antigeni di *Trichinella*, di ceppi di topo suscettibili e resistenti all'infezione, sono state clonate ed è stato visto che mentre i cloni delle cellule T provenienti da ceppi suscettibili con aplotipo H-2^K riconoscono gli antigeni di *Trichinella* in associazione con molecole I-E, i cloni T ottenuti da ceppi resistenti sono I-A piuttosto che I-E ristretti, cioè riconoscono l'antigene in associazione con molecole I-A [46].

Altri studi sono stati effettuati su ceppi di topo, geneticamente selezionati [28, 30, 47]. Perrudet-Badoux *et al.* hanno studiato la risposta all'infezione da *T. spiralis* in topi di Biozzi, geneticamente selezionati per la capacità di produrre anticorpi ("low line" e "high line" di Biozzi). È stato osservato che, infettando gli animali con una bassa carica di larve muscolari, i topi LL che posseggono un basso titolo di anticorpi reaginici hanno un grado di infezione doppio dei topi HL che invece posseggono alti titoli di anticorpi reaginici. Ancora, Perrudet-Badoux *et al.* hanno dimostrato che le cellule di topi LL sono in grado di provocare la mortalità di larve "newborn" in presenza di antisiero a differenza delle cellule di topi HL.

Recentemente Binaghi *et al.* [30] hanno osservato che larve "newborn" di due ore hanno una uguale infettività nei due ceppi di topi, ma le larve di venti ore sono più infettanti nei topi HL che in quelli LL.

Jungery e Ogilvie [27] hanno studiato la cinetica degli anticorpi diretti contro vari stadi della *T. spiralis* in topi NIH (fast responder) e C₃H (slow responder) ed hanno osservato quindi che mentre in topi NIH gli anticorpi, evidenziati con il test di aderenza degli eosinofili, diretti contro le "newborn" compaiono a partire da circa 25 giorni di infezione per scomparire prima dei 60 giorni, nei topi C₃H gli anticorpi anti-"newborn" compaiono verso i 35 giorni e scompaiono prima dei 70 giorni; l'analisi in immunoprecipitazione della reattività degli anticorpi diretti contro le varie componenti proteiche dei vari stadi mostra che mentre i topi NIH producono subito anticorpi contro tutte le componenti della superficie delle larve, i topi C₃H sono in grado di produrne contro una determinata componente proteica solo dopo un mese di infezione. Per quanto riguarda la comparsa di anticorpi diretti contro la larva muscolare che presenta due componenti proteiche di superficie è stato visto che i topi NIH producono anticorpi contro entrambe le componenti a partire dal 4° giorno di infezione mentre i topi C₃H producono anticorpi contro una sola componente proteica, a partire dal 30° giorno di infezione.

Interazioni tra parassita e sistema immunitario dell'ospite

Come in altre parassitosi anche nella trichinellosi il parassita è in grado di evadere la risposta immunitaria dell'ospite attraverso vari meccanismi, quali il sequestro anatomico, la diversificazione delle proteine di superficie tra stadio e stadio e nell'ambito di uno stesso stadio, e la modificazione delle funzioni dei leucociti. Inoltre, il pa-

rassita è in grado di modulare la risposta immunitaria dell'ospite contro sé stesso, ma paradossalmente non sempre questo meccanismo è a vantaggio del parassita.

Per quanto riguarda il sequestro anatomico questo meccanismo viene messo in atto dalle larve muscolari, una volta che sono incistate nei muscoli. In questa maniera il sistema immunitario, pur continuando ad essere stimolato dai prodotti parassitari, liberati dalle larve incistate, è inefficace nell'indurre l'eliminazione dei parassiti stessi, dal momento che esiste la parete della cisti. È stato ipotizzato che la stimolazione del sistema immunitario da parte delle larve muscolari potrebbe servire per evitare che in corso di una reinfezione altre larve giungano nell'organismo, evocando una risposta immunitaria amplificata che sarebbe pregiudizievole per la sopravvivenza delle larve della prima infezione [48].

Per quanto riguarda le modificazioni della superficie del parassita questo meccanismo è a vantaggio soprattutto delle larve "newborn"; infatti gli anticorpi diretti contro lo stadio adulto non sono in grado di riconoscere le proteine presenti sulla superficie delle larve migranti, perché differenti; in questa maniera le larve migranti saranno riconosciute solo dagli anticorpi specifici per questo stadio che compaiono però soltanto dopo circa quattro settimane, cioè quando la larva è già arrivata dentro la cellula muscolare e quindi non può essere più attaccata dalle cellule effettrici. L'opsonizzazione delle larve "newborn" con un anticorpo monoclonale che riconosce gli antigeni presenti sulle larve muscolari non ne riduce l'infettività, a dimostrazione della stadio-specificità degli antigeni di superficie. Inoltre le larve "newborn" con l'acquisizione di nuove proteine di superficie acquistano una resistenza alle cellule effettrici [30, 31, 37].

Recentemente è stato osservato che antigeni escreti/secreti di larve muscolari hanno la capacità di modulare alcune funzioni di neutrofili umani, quali la migrazione spontanea che viene stimolata e la chemiotassi che viene inibita. Anche il metabolismo ossidativo sembra ridotto da parte degli estratti parassitari. Non è stata invece osservata alcuna modificazione della fagocitosi [49].

Più complesso è il meccanismo dell'immunomodulazione. Questa si estrinseca essenzialmente attraverso: a) l'induzione dell'eosinofilia che ha il significato di aumentare il numero delle cellule effettrici con azione citotossica; b) l'induzione di elevati livelli anticorpali, soprattutto delle classi IgG, IgM e IgE; c) l'immunodepressione.

Per quanto riguarda l'eosinofilia questo è un fenomeno che nella trichinellosi è dipendente dalle cellule T helper e può essere mediata da prodotti dei linfociti quali l'eosinofiloietina. Sia nel topo sia nell'uomo i livelli più alti di eosinofili circolanti sono raggiunti a 2-4 settimane dall'inizio dell'infezione, in coincidenza quindi con la migrazione delle larve migranti nei tessuti.

Per quanto riguarda l'induzione di elevati livelli anticorpali non è chiaro se nell'infezione da *Trichinella* è preponderante un meccanismo di attivazione policlonale o una stimolazione dei cloni parassita-specifici. Nel primo caso l'aumentata produzione di anticorpi non diretti contro il

parassita e quindi inefficaci ai fini della difesa, potrebbe costituire un meccanismo pro-parassita. L'eosinofilia e l'aumento dei livelli anticorpali della classe IgE sono tra di loro collegati dal momento che l'accumulo di eosinofili nei tessuti ed il conseguente stimolo all'aumentata produzione midollare di queste cellule è innescato proprio dalla degranulazione di mastociti che fissano anticorpi reaginici.

L'infezione da *Trichinella* si accompagna ad una immunodepressione; infatti essa ritarda il rigetto di allotrapianti [50], deprime la risposta ad antigeni non parassitari quali i globuli rossi di montone [51, 52] il virus dell'encefalite B giapponese [53] la tossina colerica [54]. Questa immunodepressione è presente più frequentemente nel periodo in cui compaiono le larve migranti ed è stata ricondotta a prodotti di questo stadio che avrebbero un'azione linfo-citotossica. Sia estratti di larve muscolari che di quelle migranti sono in grado di deprimere la risposta di splenociti di topo al lipopolisaccaride, un attivatore policlonale delle cellule B, mentre solo estratti di larve muscolari sono capaci di deprimere la risposta alla fitoemagglutina, un attivatore policlonale delle cellule T [55].

Prospettive di vaccinazione

Lo studio delle interrelazioni tra sistema immunitario e i vari stadi della *T. spiralis* offre un valido contributo alla comprensione dei meccanismi di difesa nei confronti dei nematodi e più in generale delle modalità delle cellule effettrici del sistema immunitario di rispondere alle infezioni macroparassitarie. Tuttavia queste ricerche sono soprattutto finalizzate alla messa a punto di un sistema di vaccinazione efficace.

Vari sono stati in passato i tentativi di ottenere una protezione nei confronti di una infezione da *Trichinella*, ma i risultati mostrano che ancora non è disponibile un vaccino realmente efficace e facilmente praticabile.

Larve muscolari vive, attenuate dalle radiazioni, si sono dimostrate capaci di dare un certo grado di protezione nei roditori come pure larve sempre allo stadio L1 irradiate

sono in grado di dare una protezione nel maiale. Tuttavia questo approccio risulta impraticabile in una vaccinazione sul campo [56, 57].

Si è cercato quindi di studiare l'effetto di estratti di vari stadi del parassita, come pure di antigeni escreti/secreti. Particolare interesse hanno suscitato alcune proteine dei granuli contenuti negli sticociti dello sticosoma, un organo delle larve muscolari, che sono risultate molto efficaci nell'evocare una risposta immunitaria nel topo e nel ratto. Recentemente sono state isolate dalle larve muscolari tre proteine di 37, 48 e 50/55 kDa, che sono capaci di conferire protezione nel topo. In particolare la proteina di 48 kDa conferisce un livello di protezione comparabile a quello che si ha in seguito all'infezione [58].

Anche antigeni E/S ottenuti dalla cultura di adulti e di larve muscolari si sono dimostrati capaci di dare protezione, sia nel topo che nel maiale. Recentemente è stato dimostrato nel maiale [59] che l'inoculazione di larve "new-born", come pure della loro frazione insolubile offre un grado di protezione di gran lunga superiore a quello dato dagli antigeni E/S delle larve muscolari, con valori rispettivamente di 88,2 e 85,5% per gli antigeni delle larve migranti e solo del 40% per gli antigeni escreti/secreti. Questi risultati aprono nuove prospettive nella vaccinazione dei suini e spingono alla ricerca di antigeni purificati che abbiano la capacità di indurre protezione. La possibilità di purificare nuovi antigeni e di isolare i geni che li codificano consentirà, con tecniche di DNA ricombinante, di ottenere vaccini che offrano garanzie di efficacia nella protezione al punto da essere impiegati su larga scala sul campo.

In alternativa, la produzione di un anticorpo monoclonale che abbia capacità protettiva può aprire la strada ad un vaccino con anticorpi anti-idiotipo che si è dimostrato efficace già in altre malattie parassitarie.

Ringraziamenti

L'Autore ringrazia R.A. Binaghi per il continuo sostegno ed incoraggiamento.

Ricevuto il 7 marzo 1989.

Accettato il 17 aprile 1989.

BIBLIOGRAFIA

1. WAKELIN, D. 1978. Immunity to intestinal parasites. *Nature* 273: 617-620.
2. KAZURA, J.W. 1982. Immunology of *Trichinella spiralis* infection. In: *Immunity to parasitic infections*. S. Cohen & K. Warren (Eds). Blackwell, Oxford. pp. 654-675.
3. WAKELIN, D. & DENHAM, D.A. 1983. The immune response. In: *Trichinella and trichinosis*. W.C. Campbell (Ed.). Plenum Press, New York & London. pp. 265-308.
4. DESPOMMIER, D.D. 1987. The immunobiology of *Trichinella spiralis*. In: *Immune responses in parasitic infections: immunology, immunopathology and immunoprophylaxis*. E.J.L. Soulsby (Ed.). CRC, Boca Raton, Florida. Vol. 1. pp.43-60.
5. PERRY, R.H. 1974. Transfer of immunity to *Trichinella spiralis* from mothers to offspring. *J. Parasitol.* 60: 460-464.
6. ALMOND, N.M. & PARKHOUSE, R.M.E. 1986. Immunoglobulin class specific responses to biochemically defined antigens of *Trichinella spiralis*. *Parasite Immunol.* 8: 391-406.

7. JACQUELINE, E., CRINQUETTE, J., BOUT, D., BAROIS, J. & VERNES, A. 1981. *Trichinella spiralis* in rats: in vivo effects of the bile and in vitro action of secretory IgA from bile. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* **56**: 395-400.
8. RUITENBERG, E.J. & ELGERSMA, A. 1976. Absence of intestinal mast cell response in congenitally athymic mice during *Trichinella spiralis* infection. *Nature* **265**: 258-260.
9. ALIZADEH, H. & MURRELL, K.D. 1985. Requirement of bone-marrow cells and mast cells for the immune expulsion of *Trichinella spiralis* in mast-cell deficient w/w^m mice. In: *Trichinellosis*. C. W. Kim (Ed.). The State University of New York Press, Albany, New York. pp. 31-35.
10. TAGLIABUE, A., VILLA, L., BORASCHI, D., PERI, G., DEGORI, V. & NENCIONI, L. 1985. Natural antibacterial activity against *Salmonella typhi* by human T4+ lymphocytes armed with IgA antibodies. *J. Immunol.* **135**: 4178-4184.
11. ROSE, M.L., PARROTT, D.M.V. & BRUCE, R.G. 1976. Migration of lymphoblasts to the small intestine. I. Effects of *Trichinella spiralis* infection on the migration of mesenteric lymphoblasts and mesenteric T lymphoblasts in syngeneic mice. *Immunology* **31**: 723-727.
12. ROSE, M.L., PARROTT, D.M.V. & BRUCE, R.G. 1976. Migration of lymphoblasts to the small intestine. II. Divergent migration of mesenteric and peripheral immunoblasts to sites of inflammation in the mouse. *Cell. Immunol.* **27**: 36-41.
13. WAKELIN, D. & DONACHIE, A.M. 1980. Genetic control of immunity to parasites: adoptive transfer of immunity between inbred strains of mice characterized by rapid and slow immune expulsion of *Trichinella spiralis*. *Parasite Immunol.* **2**: 249-260.
14. WAKELIN, D. & DONACHIE, A.M. 1981. Genetic control of immunity to *Trichinella spiralis*: donor bone marrow cells determine responses to infection in radiation chimaeras. *Immunology* **43**: 787-792.
15. GRENCIS, R.K., RIEDLINGER, J. & WAKELIN, D. 1985. L3T4-positive T lymphoblasts are responsible for transfer of immunity to *Trichinella spiralis* in mice. *Immunology* **56**: 213-218.
16. PERRUDET-BADOUX, A. & BINAGHI, R.A. 1978. Immunity against newborn *Trichinella spiralis* larvae in previously infected mice. *J. Parasitol.* **64**: 187-189.
17. GROVE, D.I., MAHMOUD, A.A.F. & WARREN, K.S. 1977. Eosinophils and resistance to *Trichinella spiralis*. *J. Exp. Med.* **145**: 755-759.
18. FAUBERT, G.M. 1982. The reversal of the immunodepression phenomenon in trichinellosis and its effect on the life cycle of the parasite. *Parasite Immunol.* **4**: 13-20.
19. KAZURA, J.W. & GROVE, D.I. 1978. Stage-specific antibody-dependent eosinophil-mediated destruction of *Trichinella spiralis*. *Nature* **274**: 588-589.
20. MACKENZIE, C.D., PRESTON, P.M. & OGILVIE, B.M. 1978. Immunological properties of the surface of parasite nematodes. *Nature* **276**: 826-828.
21. BASS, D.A. & SZEJDA, P. 1979. Eosinophils versus neutrophils in host defence. Killing of newborn larvae of *Trichinella spiralis* by human granulocytes in vitro. *J. Clin. Invest.* **64**: 1415-1422.
22. BASS, D.A. & SZEJDA, P. 1979. Mechanisms of killing of newborn larvae of *Trichinella spiralis* by neutrophils and eosinophils. Killing by generators of hydrogen peroxide in vitro. *J. Clin. Invest.* **64**: 1558-1564.
23. WASSOM, D.L. & GLEICH, G.J. 1979. Damage to *Trichinella spiralis* newborn larvae by eosinophil major basic protein. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **28**: 860-862.
24. KAZURA, J.W. & AIKAWA, M. 1980. Host defense mechanisms against *Trichinella spiralis* infection in the mouse: eosinophil-mediated destruction of newborn larvae in vitro. *J. Immunol.* **124**: 355-361.
25. MACKENZIE, C.D., JUNGERY, M., TAYLOR, P.M. & OGILVIE, B.M. 1980. Activation of complement, the induction of antibodies to the surface of nematodes and the effect of these factors and cells on worm survival in vitro. *Eur. J. Immunol.* **10**: 594-601.
26. KAZURA, J.W. 1981. Host defense mechanisms against nematode parasites: destruction of newborn *Trichinella spiralis* larvae by human antibodies and granulocytes. *J. Infect. Dis.* **143**: 712-718.
27. JUNGERY, M. & OGILVIE, B.M. 1982. Antibody response to stage-specific *Trichinella spiralis* surface antigens in strong and weak responder mouse strains. *J. Immunol.* **129**: 839-843.
28. PERRUDET-BADOUX, A., BOUSSAC-ARON, Y. & BINAGHI, R.A. 1981. Anti *Trichinella* defense in genetically selected mice: in vitro studies. In: *Trichinellosis*. V. C.W. Kim, E.J. Ruitenberg & J.S. Teppema (Eds). Reedbooks, Chertsey. pp. 115-118.
29. ORTEGA-PIERRES, G., MACKENZIE, C.D. & PARKHOUSE, R.M.E. 1984. Protection against *Trichinella spiralis* induced by a monoclonal antibody that promotes killing of newborn larvae by granulocytes. *Parasite Immunol.* **6**: 275-284.
30. BINAGHI, R.A., VENTURIELLO, S.M. & BRUSCHI, F. 1985. Increased infectivity and resistance to cytotoxicity during maturation of migrant *Trichinella spiralis* larvae. In: *Trichinellosis*. C.W. Kim (Ed.). The State University of New York Press, Albany, New York. pp. 47-51.
31. GANSMÜLLER, A., ANTEUNIS, A., VENTURIELLO, S.M., BRUSCHI, F. & BINAGHI, R.A. 1987. Antibody-dependent in vitro cytotoxicity of newborn *Trichinella spiralis* larvae: nature of the cells involved. *Parasite Immunol.* **9**: 281-292.
32. RUITENBERG, E.J. 1981. Killing of newborn larvae of *Trichinella spiralis* by eosinophil peroxidase in vitro. *Eur. J. Immunol.* **11**: 843-845.
33. RUITENBERG, E.J. & STEERENBERG, P.A. 1973. Possible immunosuppressive effect of *Corynebacterium parvum* on infection with *Trichinella spiralis*. *Nature (New Biol.)* **242**: 149-150.

34. GROVE, D.I. & CIVIL, R.H. 1978. *Trichinella spiralis*: effects on the host-parasite relationship in mice of BCG attenuated *Mycobacterium bovis*. *Exp. Parasitol.* **44**: 181-189.
35. FRANCO-LOAYZA, A. 1979. *Effect of Listeria monocytogenes infection on the murine host response to Trichinella spiralis*. Masters Thesis. Case Western Reserve University, Cleveland, Ohio.
36. COPELAND, D. & GROVE, D.I. 1979. Effects of *Toxoplasma gondii* (Gleadle strain) on the host-parasite relationship in trichinosis. *Int. J. Parasitol.* **9**: 205-210.
37. JUNGERY, M., CLARK, N.W.T. & PARKHOUSE, R.M.E. 1983. A major change in surface antigens during the maturation of newborn larvae of *Trichinella spiralis*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **7**: 101-109.
38. BINAGHI, R.A., PERRUDET-BADOUX, A. & BOUSSAC-ARON, Y. 1981. Mechanisms of immune defense against *Trichinella spiralis* newborn larvae. In: *Trichinellosis* V. C.W. Kim, E.J. Ruitenberg & J.S. Teppema (Eds). Reedbooks, Chertsey. pp. 85-89.
39. BRUSCHI, F., SOLFANELLI, S. & BINAGHI, R.A. 1989. Migration of *Trichinella spiralis* newborn larvae in the rat. A scintigraphic study. In: *ICT 7th Trichinellosis*. C.E. Tanner (Ed.). S.S.I.S. Press, Madrid. pp. 46-51.
40. WANG, C.H. & BELL, R.G. 1986. *Trichinella spiralis*: Newborn larval migration route in rats reexamined. *Exp. Parasitol.* **61**: 76-85.
41. MOLONEY, A. & DENHAM, D.A. 1979. Effects of immune serum and cells on newborn larvae of *Trichinella spiralis*. *Parasite Immunol.* **1**: 3-12.
42. PERRUDET-BADOUX, A., BINAGHI, R.A., BOUSSAC-ARON, Y. & RUITENBERG, E.J. 1981. Antibody-dependent mechanisms of immunity against migrating larvae of *Trichinella spiralis*. *Vet. Parasitol.* **8**: 89-94.
43. DESSEIN, A.J., PARKER, W.L., JAMES, S.L. & DAVID, J.R. 1981. IgE antibody and resistance to infection. I. Selective suppression of the IgE antibody response in rats diminishes the resistance and the eosinophil response to *Trichinella spiralis* infection. *J. Exp. Med.* **153**: 423-436.
44. WASSOM, D.L., DAVID, C.S. & GLEICH, G.J. 1979. Genes within the major histocompatibility complex influence susceptibility to *Trichinella spiralis* in the mouse. *Immunogenetics* **9**: 491-496.
45. WAKELIN, D. 1980. Genetic control of immunity to parasites: infection with *Trichinella spiralis* in inbred and congenic mice showing rapid and slow responses to infection. *Parasite Immunol.* **2**: 85-98.
46. WASSOM, D.L., KRCO, C.J. & DAVID, C.S. 1985. Genetic control of host resistance to *Trichinella spiralis* infections of mice. In: *Trichinellosis*. C.W. Kim (Ed.). The State University of New York Press, Albany, New York. pp. 129-139.
47. PERRUDET-BADOUX, A., BINAGHI, R.A. & BOUSSAC-ARON, Y. 1978. *Trichinella spiralis* infection in mice. Mechanism of the resistance in animals genetically selected for high and low antibody production. *Immunology* **35**: 519-522.
48. BINAGHI, R.A., BRUSCHI, F. & VENTURIELLO, S.M. 1983. Immunomodulation in parasitic diseases. In: *Immunomodulation. New Frontiers and Advances*. H.H. Fudenberg, H.D. Whitten & F. Ambrogi (Eds). Plenum Press, New York & London. pp. 197-208.
49. BRUSCHI, F., CARULLI, G., AZZARA, A., MARINI, A., RUOCCO, L. & AMBROGI, F. 1989. Modulating effects by *Trichinella spiralis sensu stricto* excretory/secretory antigens of human neutrophil functions. *Wiad. Parazytol.* (in stampa).
50. SVET-MOLDAVSKI, G. J., SHAGHJAN, G. S., LITOVCHENKO, T. A., CHERNYSKHOVSKAYA, I. Y., MKHEIDZE, D. M., OZERETS-KOVSKAYA, N. N. & KADAGHIDZE, Z. G. 1970. Inhibition of skin allograft rejection in *Trichinella* infected mice. *Transplantation* **9**: 69-75.
51. FAUBERT, G. & TANNER, C. E. 1971. *Trichinella spiralis*: inhibition of sheep hemagglutinins in mice. *Exp. Parasitol.* **30**: 120-126.
52. FAUBERT, G. M. 1976. Depression of the plaque-forming cells to sheep red cells by the newborn larvae of *Trichinella spiralis*. *Immunology* **30**: 485-490.
53. CYPESS, R.H., LUBINECKI, A.A. & MCD. HAMMOND, W. 1973. Immunosuppression and increased susceptibility to Japanese B encephalitis virus in *Trichinella spiralis* infected mice. *Proc. Soc. Exp. Med. Biol.* **143**: 469-475.
54. LJUNGSTRÖM, I. 1979. *Trichinella spiralis*: formation of specific antibodies and modulation of the immune response. Thesis, University of Stockholm, Stockholm, Sweden.
55. LJUNGSTRÖM, I. & FERRANTE, A. 1985. The *in vitro* and *in vivo* immunodepression by *Trichinella spiralis*, a preliminary report. In: *Trichinellosis* C.W. Kim (Ed.). The State University of New York Press, Albany, New York. pp. 63-70.
56. BALDELLI, B. 1984. Attualità in tema di vaccinazione antielmintica. *G. Mal. Infett. Parassitol.* **36**: 529-539.
57. MURRELL, K.D. 1985. Prospects for vaccination. In: *Trichinellosis*. C. W. Kim (Ed.). The State University of New York Press, Albany, New York. pp. 201-210.
58. SILBERSTEIN, D.S. & DESPOMMIER, D.D. 1984. Antigens from *Trichinella spiralis* that induce a protective response in the mouse. *J. Immunol.* **132**: 898-904.
59. MARTI, H.P., MURRELL, K.D. & GAMBLE, H.R. 1987. *Trichinella spiralis* immunization of pigs with newborn larval antigens. *Exp. Parasitol.* **63**: 68-73.