

文章编号: 1000-7423(2009)-01-0017-05

【论著】

旋毛虫 Ts21 重组蛋白的免疫诊断价值及免疫保护作用的研究

王睿, 王中全*, 崔晶

【摘要】 目的 探讨旋毛虫 Ts21 重组蛋白的免疫诊断价值及免疫保护作用。方法 应用旋毛虫 Ts21 重组蛋白 ELISA (Ts21-ELISA) 与肌幼虫 ES 抗原 ELISA (ES-ELISA) 对旋毛虫病与其他寄生虫病患者血清及 5 种旋毛虫 (T1、T2、T3、T4 和 T7) 感染小鼠血清进行检测, 并观察不同剂量旋毛虫感染小鼠后不同时间的血清抗体水平。将 Ts21 重组蛋白皮下注射免疫小鼠 (20 $\mu\text{g}/\text{只}$, 免疫 3 次, 每次间隔 10 d), 末次免疫后 10 d, 每只小鼠用 300 条旋毛虫肌幼虫经口攻击感染, 3.5 d 和 42 d 后剖杀, 观察肠道成虫与肌幼虫数并计算减虫率。结果 Ts21-ELISA 检测旋毛虫病、并殖吸虫病、囊尾蚴病及棘球蚴病患者血清的抗体阳性率分别为 94.7% (18/19)、15.8% (3/19)、9.1% (1/11) 和 7.7% (1/13), 与血吸虫病、华支睾吸虫病患者血清及健康人血清无交叉反应; Ts21 重组蛋白与 ES 抗原 ELISA 检测旋毛虫病患者血清抗体的敏感性与特异性差异均无统计学意义 ($\chi^2=0$, $P>0.05$; $\chi^2=0.358$, $P>0.05$)。Ts21 重组蛋白与 ES 抗原检测 T1 感染小鼠血清的敏感性差异无统计学意义 ($\chi^2=0.104$, $P>0.05$), 与 T2、T3、T4、T7 感染小鼠血清的交叉反应率明显低于 ES 抗原 ($\chi^2=17.069$, $P<0.05$)。小鼠感染 300 条旋毛虫后 4 周, 应用 Ts21-ELISA 检测的血清抗体阳性率为 100% (10/10); 小鼠感染 5 条旋毛虫后 6 周, 血清抗体阳性率为 100% (10/10)。Ts21 重组蛋白免疫小鼠用旋毛虫攻击感染后 3.5 d 和 42 d, 肠道成虫与肌幼虫减虫率分别为 42.71% 和 49.8%。结论 Ts21 重组蛋白可用于旋毛虫病的血清学检测, 但不能忽视与并殖吸虫病、囊尾蚴病及棘球蚴病患者血清的交叉反应。

【关键词】 旋毛虫; Ts21 重组蛋白; ELISA; 血清学诊断; 免疫保护; 小鼠

中图分类号: R532.14

文献标识码: A

Immunodiagnostic Value and Immune Protection of the Recombinant Ts21 Antigen of *Trichinella spiralis*

WANG Rui, WANG Zhong-quan*, CUI Jing

(Department of Parasitology, Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

【Abstract】 **Objective** To study the immunodiagnostic value and immune protection of the recombinant Ts21 protein of *Trichinella spiralis*. **Methods** ELISA using *T. spiralis* muscle larval excretory-secretory (ES) antigens (Ts21-ELISA) or recombinant Ts21 protein (Ts21-ELISA) was applied to detect the anti-*Trichinella* antibodies in sera from patients with trichinellosis and other parasitic infections as well as mice infected with 5 species of *Trichinella* (T1, T2, T3, T4 and T7). Serum antibody level at different time interval after infection was observed in mice infected with different doses of T1 larvae. Mice were immunized by subcutaneous injection with recombinant Ts21 protein (20 $\mu\text{g}/\text{mouse}$). Ten days after the last immunization, mice were orally infected each with 300 *T. spiralis* larvae. Mice were sacrificed 3.5 d and 42 d after challenge infection, the intestinal adult worms and muscle larvae were respectively collected and the reduction rate of parasite burden was calculated. **Results** When Ts21-ELISA was used to assay the serum samples, the antibody positive rate of patients with trichinellosis, paragonimiasis, cysticercosis and echinococcosis was 94.7% (18/19), 15.8% (3/19), 9.1% (1/11) and 7.7% (1/13), respectively; no cross reaction with sera from cases of schistosomiasis, clonorchiasis and normal persons was observed. The difference of sensitivity and specificity between recombinant Ts21 protein and ES antigens for detecting the serum antibodies in cases with trichinellosis had no statistical significance ($\chi^2=0$, $P>0.05$; $\chi^2=0.358$, $P>0.05$). The sensitivity between recombinant Ts21 protein and ES antigen for testing sera from mice infected T1 showed no significant difference ($\chi^2=0.104$, $P>0.05$), but the cross reaction rate of recombinant Ts21 protein with sera from mice infected with T2, T3, T4 and T7 was considerably lower than that of ES antigens ($\chi^2=17.069$,

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 30471450); 河南省医学科技攻关项目 (No. 200803001); 河南省重大公益性科研项目 (2008)

作者单位: 郑州大学医学院寄生虫学教研室, 郑州 450052

* 通讯作者, E-mail: wangzq@zzu.edu.cn

$P < 0.05$). In mice infected with 300 *T. spiralis* larvae, the serum antibody positive rate detected by Ts21-ELISA was 100% (10/10) at 4 weeks post infection. In mice infected with 5 larvae, the antibody positive rate was 100% (10/10) at 6 weeks post infection. In 3.5 days and 42 days after the immunized mice were challenged with *T. spiralis* larvae, the reduction rate of intestinal adult worms and muscle larvae was 42.7% and 49.8%, respectively. **Conclusion** The recombinant Ts21 protein may be applied to the serodiagnosis of trichinellosis, but its cross reaction with the sera of patients with paragonimiasis, cysticercosis and echinococcosis can not be neglected.

【Key words】 *Trichinella spiralis*; Recombinant Ts21 protein; ELISA; Serodiagnosis; Immune protection; Mouse

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30471450), Henan Provincial Health Department (No. 200803001) and the Major Public Project(2008)

* Corresponding author, E-mail: wangzq@zzu.edu.cn

旋毛虫病是一种严重的人兽共患寄生虫病, 因其无特异的症状和体征, 临床诊断较困难。应用旋毛虫肌幼虫排泄-分泌(ES)抗原或人工合成的泰威糖(tyvelose)抗原进行 ELISA 检测旋毛虫抗体 IgG 具有较高的特异性和敏感性, 是初步诊断旋毛虫感染的首选血清学方法^[1], 也是国际兽医局 (Office International des Epizooties) 和国际旋毛虫病委员会(International Commission on Trichinellosis) 专家组推荐应用的血清学检测方法^[2,3]。然而, 旋毛虫肌幼虫 ES 抗原与其他寄生虫病患者血清亦有一定的交叉反应^[4]; 虽然泰威糖的特异性与稳定性均较好, 但敏感性较低^[5]。旋毛虫 Ts21 蛋白是旋毛虫的 ES 抗原成分之一, 本实验室曾对旋毛虫 Mr 21 000 抗原基因 Ts21 (GenBank 登录号为 U88239) 进行克隆与原核表达, 蛋白质印迹 (Western blotting) 分析发现 Ts21 重组蛋白可被旋毛虫感染小鼠血清及旋毛虫病患者血清识别^[6]。本文对旋毛虫 Ts21 重组蛋白的免疫诊断价值及免疫保护作用进行研究。

材料与方 法

1 旋毛虫虫种与实验动物来源

本实验所用的旋毛虫 (*Trichinella spiralis*, T1)、乡土旋毛虫 (*T. nativa*, T2)、布氏旋毛虫 (*T. britovi*, T3)、伪旋毛虫 (*T. pseudospiralis*, T4) 及纳氏旋毛虫 (*T. nelsoni*, T7), 均引自国际旋毛虫参考中心, 由河南省疾病预防控制中心许汴利教授等惠赠, 本教研室昆明小鼠传代保种。4~6 周龄雄性昆明小鼠与 BALB/c 小鼠均购自郑州大学医学院实验动物中心。

2 旋毛虫 Ts21 重组蛋白与肌幼虫 ES 抗原的制备

旋毛虫抗原基因 Ts21 表达质粒 pMAL-c2X-Ts21 由本室构建, Ts21 重组蛋白的表达及亲和层析纯化按文献^[6]操作, 纯化后的蛋白浓度为 1.886 mg/ml。旋毛虫肌幼虫 ES 抗原的制备按文献^[4]操作, ES 抗原浓度为 6.69 mg/ml。

3 试验血清

T1、T2、T3、T4 和 T7 肌幼虫经口感染昆明小鼠, 300 条幼虫/只, 感染后 1 个月尾静脉采血, 分离血清, -20°C 保存备用。并殖吸虫病、华支睾吸虫病、囊尾蚴病和棘球蚴病患者血清均为来本室就诊后确诊的患者血清; 日本血吸虫病和旋毛虫病患者血清分别由安徽医科大学沈继龙教授和大理学院申丽洁教授惠赠。

4 ELISA 检测

应用旋毛虫 Ts21 重组蛋白与肌幼虫 ES 抗原分别建立 Ts21-ELISA 与 ES-ELISA, 按常规间接 ELISA 方法操作, Ts21 重组蛋白与 ES 抗原的包被浓度均为 5 $\mu\text{g/ml}$, 封闭液为 2% 牛血清白蛋白 (BSA)-PBST。血清稀释度为 1:100, 每份样本加 2 孔, 100 μl /孔。酶结合物为辣根过氧化物酶标记的羊抗人 IgG (工作浓度 1:500, 购自北京中山生物技术有限公司) 或羊抗小鼠 IgG (工作浓度 1:3000, 购自北京鼎国生物制品公司)。底物为邻苯二胺 (OPD)。每次实验时均设旋毛虫感染小鼠阳性血清、正常小鼠阴性血清及 PBS 对照。2 mol/L H_2SO_4 终止反应后用酶标仪 (SUNRISE, 美国 TECAN 公司) 测定样品孔的吸光度 (A_{492} 值)。以待测样本 A 值大于阴性对照 A 值 2.1 倍时判为阳性。

5 旋毛虫感染小鼠血清抗体水平检测

将 30 只雄性昆明小鼠随机均分成 3 组, 每只分别经口感染 300、10、5 条旋毛虫肌幼虫。感染 300 条幼虫小鼠于感染后 2~6 周每周尾静脉采血, 感染 10、5 条幼虫的小鼠感染后 6 周眶静脉采血, ELISA 检测血清抗旋毛虫抗体水平。采血后剖杀, 进行膈肌压片镜检和全身肌肉人工消化法检查^[7], 贝氏法收集幼虫。

6 Ts21 重组蛋白免疫小鼠与攻击感染

60 只 BALB/c 小鼠随机分均为 3 组: 免疫组、佐剂对照组和生理盐水对照组。免疫组: 每只小鼠皮下注射 20 μg Ts21 重组蛋白 (与等量福氏完全佐剂乳

化), 每隔 10d 免疫 1 次, 共 3 次, 末次免疫后 10 d 尾静脉采血, 以 Ts21-ELISA 测定血清抗体滴度; 佐剂对照组: 每只小鼠注射 0.1 ml 福氏完全佐剂加 0.1 ml 生理盐水; 生理盐水对照组: 每只小鼠仅注射 0.2 ml 生理盐水。3 组小鼠均在末次注射后 10 d 经口攻击感染 300 条旋毛虫肌幼虫, 感染后 3.5 d 和 42 d 剖杀, 分别观察小鼠的肠道成虫数和肌幼虫数, 并计算减虫率。减虫率=(生理盐水对照组虫数-试验组虫数)/生理盐水对照组虫数×100%。

7 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件进行数据处理, 应用 χ^2 检验、独立样本的非参检验和单因素方差分析进行统计学分析, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

结 果

1 Ts21 重组蛋白检测旋毛虫病患者血清抗体的敏感性与特异性

Ts21-ELISA 与 ES-ELISA 对旋毛虫病、其他寄生虫病患者血清及健康人血清的检测结果见表 1。Ts21 重组蛋白与 ES 抗原检测旋毛虫病患者血清抗体敏感性、特异性分别为 94.7% (18/19)、94.3% (83/88) 与 100% (19/19)、92.1% (81/88), 2 种方法间的差异均无统计学意义($\chi^2=0, P>0.05; \chi^2=0.358, P>0.05$)。

表 1 Ts21-ELISA 与 ES-ELISA 对旋毛虫病及其他寄生虫病患者血清的检测结果

Table 1 Results of Ts21-ELISA and ES-ELISA for detecting anti-Trichinella antibodies in sera from patients with trichinellosis and other parasitic infections

血清 Serum	样本数 No. samples	阳性数 No. positives (%)	
		Ts21-ELISA	ES-ELISA
旋毛虫病患者 Cases with trichinellosis	19	18(94.7)	19(100)
并殖吸虫病患者 Cases with paragonimiasis	19	3(15.8)	2(10.5)
血吸虫病患者 Cases with schistosomiasis	19	0	0
华支睾吸虫病患者 Cases with clonorchiasis	5	0	0
囊尾蚴病患者 Cases with cysticercosis	11	1(9.1)	1(9.1)
棘球蚴病患者 Cases with echinococcosis	13	1(7.7)	3(23.1)
健康人 Normal persons	21	0	1(4.8)

2 Ts21 重组蛋白对不同种旋毛虫感染小鼠血清的检测结果

结果显示, Ts21 重组蛋白与 ES 抗原检测 T1 感染小鼠血清的敏感性分别为 86.1% (37/43) 与 88.4% (38/43), 二者间的差异无统计学意义 ($\chi^2=0.104, P>$

0.05), 但 Ts21 重组蛋白与其他种旋毛虫感染小鼠血清的交叉反应率明显低于 ES 抗原 ($\chi^2=17.069, P<0.05$) (表 2)。

表 2 Ts21-ELISA 与 ES-ELISA 对不同种旋毛虫感染小鼠血清的检测结果

Table 2 Results of Ts21-ELISA and ES-ELISA for detecting anti-Trichinella antibodies in sera from mice infected with Trichinella spp.

感染小鼠血清 Sera from mice infected with Trichinella spp.	检测份数 No. samples	阳性数 No. positives (%)	
		Ts21-ELISA	ES-ELISA
T1	43	37(86.1)	38(88.4)
T2	18	3(16.7)	16(88.9)
T3	14	1(7.1)	13(92.9)
T4	11	4(36.4)	7(63.6)
T7	11	4(36.4)	9(81.8)

3 旋毛虫感染小鼠血清抗体水平

3.1 300 条旋毛虫感染小鼠 300 条 T1 肌幼虫感染小鼠后 2 周, Ts21-ELISA 与 ES-ELISA 检测的血清抗体阳性率均为 20% (2/10), 感染后 3 周, 阳性率分别为 60%(6/10)和 40%(4/10)($\chi^2=0.8, P>0.05$); 感染后 4~6 周, 阳性率均为 100% (10/10)。小鼠感染旋毛虫后 2~6 周的血清抗体水平变化见图 1, ES-ELISA 检测的血清吸光度值高于 Ts21-ELISA ($Z=-2.130, P<0.05$)。

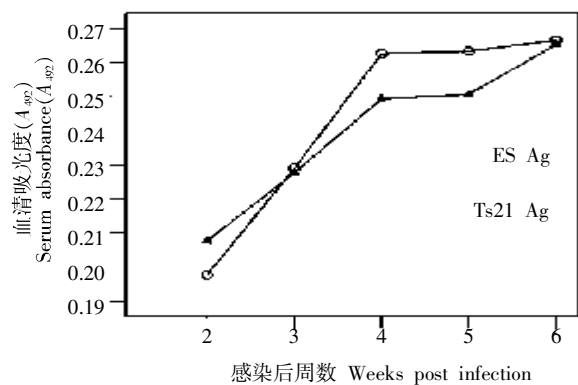


图 1 小鼠感染 300 条旋毛虫肌幼虫的血清抗体水平变化
Fig.1 Serum antibody level in mice each infected with 300 *T. spiralis* muscle larvae

图 1 小鼠感染 300 条旋毛虫肌幼虫的血清抗体水平变化
Fig.1 Serum antibody level in mice each infected with 300 *T. spiralis* muscle larvae

3.2 低剂量旋毛虫感染小鼠 10 条与 5 条旋毛虫幼虫感染小鼠后 6 周, 膈肌压片镜检法和全身肌肉消化法的幼虫检出率与每克肌肉虫荷 (lpg) 及 Ts21-ELISA 与 ES-ELISA 检测的血清抗体水平见表 3, 其中感染 10 条幼虫的 1 只小鼠 (膈肌镜检阴性, 消化法为 0.6 lpg)

血清, Ts21-ELISA 检测阴性而 ES-ELISA 检测阳性; 感染 5 条幼虫的 2 只小鼠(膈肌镜检均为阴性, 消化法虫荷分别为 0.2 lpg 与 1.4 lpg) 血清, Ts21-ELISA

与 ES-ELISA 检测均为阳性。低剂量旋毛虫感染小鼠时, Ts21-ELISA 与 ES-ELISA 检测的血清抗体阳性率差异无统计学意义 ($\chi^2=0, P>0.05$)。

表 3 4 种方法对低剂量旋毛虫感染小鼠后 6 周检测结果的比较
Table 3 Comparison of 4 methods for detection of meat or sera from the infected mice with low dose of *T. spiralis* larvae at 6 weeks post-infection

感染剂量(条/只) Infecting dose	小鼠只数 No. mice	镜检法 Trichinelloscopy		消化法 Digestion		Ts21-ELISA		ES-ELISA	
		阳性数 No. positive(%)	膈肌虫荷 lpg of diaphragm	阳性数 No. positive(%)	肌肉虫荷 lpg of muscle	阳性数 No. positive(%)	A_{492} 值 A_{492} value	阳性数 No. positive(%)	A_{492} 值 A_{492} value
10	10	9(90)	1 554.54±1 400.4	10 (100)	336.51±465.4	9 (90)	0.240±0.056	10 (100)	0.275±0.060
5	10	8(80)	507.26±596.8	10 (100)	188.44±164.7	10 (100)	0.241±0.053	10 (100)	0.292±0.046

4 Ts21 重组蛋白抗旋毛虫感染的免疫保护作用

Ts21 重组蛋白末次免疫小鼠后 10 d, 血清抗旋毛虫抗体阳性率为 100% (20/20), 抗体滴度为 1 : 100 000; 佐剂对照组与生理盐水对照组血清旋毛虫抗体均为阴性。

攻击感染后 3.5 d, 免疫组、佐剂与生理盐水对照组的肠道成虫数差异有统计学意义 ($F=5.690, P<0.05$) (表 4); 组间两两比较, 免疫组的肠道成虫数

明显低于佐剂对照组与生理盐水对照组 ($P<0.05$), 免疫组与生理盐水对照组相比, 成虫减虫率为 42.71%; 佐剂对照组与生理盐水对照组的肠道成虫数差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

攻击感染后 42 d, 虽然免疫组与生理盐水对照组相比肌幼虫减虫率为 49.8%, 但免疫组、佐剂对照组及生理盐水对照组肌幼虫数的差异无统计学意义 ($F=3.205, P>0.05$)。

表 4 Ts21 重组蛋白免疫小鼠抗旋毛虫攻击感染的保护作用
Table 4 The immune protection of recombinant Ts21 antigens against challenge infection with *T. spiralis* in mice

组别 Group	小鼠只数 No. mice	攻击感染后 3.5 d 3.5 d post-infection		攻击感染后 42 d 42 d post-infection	
		肠道成虫数 No. intestinal adult worms	减虫率 Reduction rate (%)	肌幼虫数 No. muscle larvae	减虫率 Reduction rate (%)
免疫组 Immunized	10	43.60±20.07	42.71	16 973.80±7 111.06	49.80
佐剂对照组 Adjuvant control	10	68.70±28.54	9.72	32 205.00±12 145.33	4.75
生理盐水对照组 Saline control	10	76.10±17.67		33 812.50±24 703.42	

讨 论

本研究应用 Ts21-ELISA 检测旋毛虫患者的血清抗体阳性率为 94.7%, 但与并殖吸虫病、囊尾蚴病及棘球蚴病患者血清仍有一定的交叉反应; 旋毛虫 Ts21 重组蛋白与肌幼虫 ES 抗原诊断旋毛虫患者的敏感性与特异性的差异无统计学意义。徐建余等^[8]报道旋毛虫肌幼虫可溶性抗原中至少含有 36 种抗原成分, Western blotting 分析显示, 血吸虫病患者血清与 Mr 65 000、61 000、49 000、45 000 蛋白有交叉反应, 囊尾蚴病患者血清与 Mr 49 000 和 45 000 蛋白有弱交叉反应。曾庆仁等^[9]发现旋毛虫肌幼虫可溶性抗原与 6 种寄生虫病患者血清有交叉反应, 小于 Mr 60 000 的蛋白与并殖吸虫病、华支睾吸虫病等患者血清呈不同程度的交叉反应。罗庆礼等^[10]发现重组日本血吸虫信号蛋白 14-3-3 (rSj14-3-3) 间接 ELISA 对华支睾吸虫、卫氏并殖吸虫及钩虫感染者的交叉反应

率分别为 13.3%、8.3%和 2.9%。作者亦发现旋毛虫 Ts43 重组蛋白与日本血吸虫病、并殖吸虫病、华支睾吸虫病、棘球蚴病、囊尾蚴病等患者血清亦均有交叉反应^[11]。旋毛虫重组蛋白与其他寄生虫病患者血清产生交叉反应的原因可能与旋毛虫与其他寄生虫之间存在有共同抗原有关^[12]。

300 条旋毛虫(T1)肌幼虫感染小鼠后 4 周, Ts21-ELISA 检测的血清抗体阳性率为 100%; 5 条旋毛虫感染小鼠后 6 周, Ts21-ELISA 检测的血清抗体阳性率为 100%, 其中膈肌压片镜检阴性的 2 只小鼠(消化法检查时每克肌肉分别为 0.2 与 1.4 条幼虫)血清亦为阳性。表明 Ts21-ELISA 亦可用于旋毛虫早期感染与轻度感染的检测。应用 Ts21-ELISA 检测 T1 感染小鼠血清的抗体阳性率为 86%, 但与 T2、T3、T4、T7 感染小鼠血清仍有 7.1%~36.4%的交叉反应, 可能与 Ts21 抗原基因在旋毛虫属内是一保守基因有关, Nagano 等^[13]发现 Ts21 抗原基因的氨基酸序列与伪旋

毛虫 Mr 21 000 抗原基因的同源性为 76%。因此, Ts21 重组蛋白可替代 ES 抗原用于旋毛虫病的血清学诊断与血清流行病学调查, 但不能作为旋毛虫的种特异性抗原用于与其他种旋毛虫 (T2、T3、T4 及 T7) 感染的鉴别诊断。

Ts21 重组蛋白免疫小鼠后可引起较强的体液免疫应答, 用 300 条旋毛虫肌幼虫攻击感染后, 成虫与肌幼虫减虫率分别为 42.71% 和 49.80%, 结果表明 Ts21 重组蛋白对旋毛虫感染具有部分免疫保护作用。丁利等^[14]用旋毛虫 Ts87 重组蛋白免疫小鼠后的肌幼虫减虫率为 42.3%。旋毛虫重组蛋白的免疫保护作用与接种途径、剂量、不同佐剂、动物品系及攻击感染剂量等有关, 李强等^[15]应用 6 种不同佐剂与旋毛虫 Ts87 重组蛋白一起免疫小鼠, 肌幼虫减虫率为 49.2%~70.8%。作者将编码旋毛虫 Mr 31 000 抗原基因的 DNA 疫苗经肌肉注射和基因枪皮肤注射小鼠, 肌幼虫减虫率分别为 36.5% 和 37.7%^[16]。目前多数研究结果表明, 旋毛虫天然虫体粗抗原的免疫保护效果均优于重组蛋白^[17], 可能是由于天然抗原成分多样, 接种宿主后产生的免疫应答可针对不同发育期的虫体, 而重组蛋白成分单一, 产生的免疫应答只针对某一阶段的虫体。由于重组蛋白疫苗具有安全性好、易于标准化和规模化生产等优势, 如果将旋毛虫的多种重组蛋白制备成混合口服疫苗, 可能会通过增强宿主的肠道排虫反应而提高其免疫保护效果^[18]。

参 考 文 献

- [1] Wang ZQ, Cui J. Diagnosis and treatment of trichinellosis[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2008, 26(1): 53-57. (in Chinese) (王中全, 崔晶. 旋毛虫病的诊断与治疗[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2008, 26(1): 53-57.)
- [2] Gamble HR, Pozio E, Bruschi F, et al. International Commission on Trichinellosis: recommendations on the use of serological tests for the detection of *Trichinella* infection in animals and man [J]. Parasite, 2004, 11(1): 3-13.
- [3] Dupouy-Camet J, Kociecka W, Bruschi F, et al. Opinion on the diagnosis and treatment of human trichinellosis[J]. Expert Opin Pharmacother, 2002, 3(8): 1117-1130.
- [4] Cui J, Wang ZQ, Zhang D. Study on specific diagnostic antigens in excretory-secretory products from muscle larvae of *Trichinella spiralis*[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2003, 21(5): 268-271. (in Chinese) (崔晶, 王中全, 张灯. 旋毛虫肌幼虫排泄分泌物中特异性诊断抗原的研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2003, 21(5): 268-271.)
- [5] Piergili-Fioretti D, Castagna B, Frongillo RF, et al. Re-evaluation of patients involved in a trichinellosis outbreak caused by *Trichinella britovi* 15 years after infection[J]. Vet Parasitol, 2005, 132(1-2): 119-123.
- [6] Wang ZQ, Lu L, Cui J, et al. Prokaryotic expression of the antigen gene Ts21 of *Trichinella spiralis* and identification of its recombinant protein[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2007, 25(6): 442-446. (in Chinese) (王中全, 逯莉, 崔晶, 等. 旋毛虫抗原基因 Ts21 的原核表达与重组蛋白鉴定[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2007, 25(6): 442-446.)
- [7] Wang ZQ, Lai LH, Cui J. Anti-*Trichinella* antibody levels in muscle juice of experimentally infected mice[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2007, 25(3): 171-174, 179. (in Chinese) (王中全, 来利红, 崔晶. 实验感染小鼠肉汁中抗旋毛虫抗体水平的研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2007, 25(3): 171-174, 179.)
- [8] Xu JY, Cheng DX. Analysis on specificity of *Trichinella spiralis* infective larval antigens[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 1998, 16(2): 151-152. (in Chinese) (徐建余, 程道新. 旋毛虫感染期幼虫抗原的特异性分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1998, 16(2): 151-152.)
- [9] Zeng QR, Zhou JC, Zeng XF, et al. Cross reaction between the soluble antigens of *Trichinella spiralis* muscle larvae and sera from patients with schistosomiasis[J]. J Hunan Med Univ, 1997, 22(6): 475-477. (in Chinese) (曾庆仁, 周金春, 曾宪芳, 等. 旋毛虫肌幼虫可溶性抗原与日本血吸虫病患者的血清的交叉反应[J]. 湖南医科大学学报, 1997, 22(6): 475-477.)
- [10] Luo QL, Wang ZC, Li M, et al. Application of indirect ELISA with recombinant signaling protein 14-3-3 of *Schistosoma japonicum* for the immunodiagnosis of schistosomiasis[J]. Chin J Zoonosis, 2007, 23(3): 231-235. (in Chinese) (罗庆礼, 王志成, 李敏, 等. 应用重组信号蛋白 14-3-3 间接 ELISA 诊断日本血吸虫病[J]. 中国人兽共患病学报, 2007, 23(3): 231-235.)
- [11] Ren DF, Cui J, Wang ZQ, et al. Prokaryotic expression of the antigen gene Ts43 of *Trichinella spiralis* and identification of its recombinant protein[J]. Chin J Zoonosis, 2008, 24(6): 539-542. (in Chinese) (任道锋, 崔晶, 王中全, 等. 旋毛虫抗原基因 Ts43 原核表达及重组蛋白鉴定[J]. 中国人兽共患病学报, 2008, 24(6): 539-542.)
- [12] Zhang D, Wang ZQ, Cui J. Studies on common antigens among *Trichinella spiralis*, *Paragonimus westermani* and *Clonorchis sinensis*[J]. J Trop Dis Parasitol, 2003, 1(4): 193-196, 203. (in Chinese) (张灯, 王中全, 崔晶. 旋毛虫、卫氏并殖吸虫及华支睾吸虫之间共同抗原的研究[J]. 热带病与寄生虫学, 2003, 1(4): 193-196, 203.)
- [13] Nagano I, Wu Z, Nakada T, et al. Molecular cloning and characterization of a 21 kDa protein secreted from *Trichinella pseudospiralis*[J]. J Helminthol, 2001, 75(3): 273-278.
- [14] Ding L, Zhu XP, Yang J, et al. Protective immunity in mice after immunized with Ts87 recombinant protein of *Trichinella spiralis* [J]. Acta Parasitol Med Entomol Sin, 2003, 10(4): 207-211. (in Chinese) (丁利, 诸欣平, 杨静, 等. 旋毛虫 Ts87 重组蛋白诱发小鼠保护性免疫的研究[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2003, 10(4): 207-211.)
- [15] Li Q, Yang J, Yang YP, et al. Effect of Different adjuvant formulations on the induced protection of mice immunized with recombinant protein Ts87 of *Trichinella spiralis* [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2007, 25(2): 101-105. (in Chinese) (李强, 杨静, 杨雅平, 等. 不同佐剂对旋毛虫 Ts87 重组蛋白免疫小鼠保护性的影响[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2007, 25(2): 101-105.)
- [16] Wang ZQ, Cui J, Wei HY, et al. Vaccination of mice with DNA vaccine induces the immune response and partial protection against *T. spiralis* infection[J]. Vaccine, 2006, 24(8): 1205-1212.
- [17] Cui J, Wang ZQ, Li YL. Vaccine against trichinellosis[J]. Foreign Med Sci Parasit Dis, 2004, 31(5): 216-222. (in Chinese) (崔晶, 王中全, 李雍龙. 旋毛虫病疫苗[J]. 国外医学寄生虫病分册, 2004, 31(5): 216-222.)
- [18] Dea-Ayuela MA, Rama-Iníguez S, Bolas-Fernández F. Vaccination of mice against intestinal *Trichinella spiralis* infections by oral administration of antigens microencapsulated in methacrylic acid copolymers[J]. Vaccine, 2006, 24(15): 2772-2780. (收稿日期: 2008-06-24 编辑: 高石)