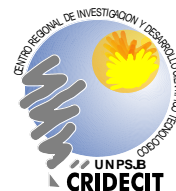




Departamento de Bioquímica  
Centro de Investigación y Desarrollo Científico Tecnológico  
Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud  
Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco



TESIS DOCTORAL

Efectividad de la vacuna EG95 en ovinos  
en relación con la dinámica de transmisión  
en un modelo natural en El Chalía y  
aspectos socioeconómicos de la hidatidosis  
en el Área Programática Sur de la Provincia  
de Chubut

Tesista: Bioq. Mónica Graciela Souto

Directora: Dra. Paula Sánchez Thevenet

Codirector: Dr. Juan Angel Basualdo Farjat

Asesor *in situ*: Dra. Adriana Pérez

2021

## **Agradecimientos**

En primer lugar, quiero agradecer a mi directora de tesis, Dra. Paula Sanchez Thevenet por su confianza y su apoyo permanente para realizar y terminar la presente tesis.

Al Dr. Angel Basualdo Farjat por aceptar ser el codirector en este proyecto.

A la Dra. Adriana Pérez por su predisposición y ayuda en todo momento.

A la Dra. María Angélica Fajardo, por estar, apoyarme y no dejar que afloje en momentos difíciles de este camino.

A la bioq. Claudia Torrecillas por ayudarme y brindarme su apoyo en la realización de la tesis y en colaborar en el dictado de la cátedra.

Al vet Oscar Jensen y a su equipo por permitirme participar de campañas de vacunación en El Chalía y poder realizar los muestreos que permitieron obtener datos de la tesis.

A la vet. Alejandra Sandoval por facilitarme datos de pacientes afectados de hidatidosis y su acompañamiento en los viajes al El Chalía.

A las personas que me ayudaron con diferentes etapas del procesamiento de muestras y donde pude realizar mis pasantías: Dra. Nora Pierangeli y Dra. Viviana Soriano (Universidad Nacional del Comahue, Cipolletti - Río Negro), Dr. Eduardo Fernández (Laboratorio de Patologías Prevalentes del Hospital Zonal de Trelew - Chubut), Dr. Gatti (Laboratorio Regional de Salud Ambiental - Viedma - Río Negro).

A los pobladores de El Chalía por la hospitalidad y la confianza que me brindaron.

En lo personal quiero agradecer a mis padres, por todo lo que me brindaron y por su ayuda para recibirme de bioquímica permitiendo finalizar esta tesis.

A Hugo, mi compañero de ruta, por apoyarme para que termine este proyecto (y también me acompañó a El Chalía para realizar los últimos muestreos).

A mis hijos Gonzalo y Leandro, que son la luz de mis ojos, por el tiempo que les quité al estar avocada a esta tarea.

## Publicaciones realizadas en el transcurso del trabajo de tesis

### Capítulo de libro

**Dinámica de la transmisión de la Hidatidosis por *Echinococcus granulosus*. Actualidad y características de su estudio.** Autores: Paula Sánchez Thevenet & Mónica G. Souto. Libro "Temas de Zoonosis 5". Asociación Argentina de Zoonosis. 2011

### Publicaciones en revistas

**Evaluation of the presence of *Echinococcus granulosus sensu lato* in the environment and in hosts in a region endemic for hydatidosis in the province of Chubut (Argentina).** Souto MG, Sanchez Thevenet P, Basualdo Farjat J. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 6 (2016) 42-46.

### Presentaciones a congresos

**EG95: una herramienta efectiva para disminuir el riesgo de equinocosis quística en regiones de accesibilidad compleja.** Souto M, Sanchez Thevenet P, Perez A, Basualdo Farjat J. XI Congreso Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional (SEM-TSI). Avila, España, 28 al 30 de octubre de 2019.

**Estudio de Casos de Hidatidosis Notificados por un Área Programática (Período 2009-2017).** Souto Monica, Sandoval Alejandra, Sanchez Thevenet Paula, Basualdo Farjat Juan. II Congreso Internacional de Zoonosis y IX Congreso Argentino de Zoonosis. Buenos Aires, 5 al 7 de junio de 2018.

**Relationship between the application of the EG95 vaccine and the contamination of canine feces with *Echinococcus spp.* in El Chalía, Argentine Patagonia.** Souto M, Sánchez Thevenet P, Basualdo Farjat J. XX Congreso de la Sociedad Española de Parasitología (SOCEPA) - XV Meeting del European Veterinary Parasitology College (EVPC). Tenerife, España. 19 al 21 de julio de 2017.

**Aspectos Bioéticos en las investigaciones sobre zoonosis en Argentina.** Souto M, Sanchez Thevenet P, Basualdo J. I Congreso Internacional de Zoonosis y Enfermedades Emergentes – VII Congreso Argentino de Zoonosis. Buenos Aires, 8 a 10 de junio de 2011

**Vacuna recombinante EG95 en el hospedero intermediario.** Jensen O, Sánchez P, Jones R, Lightowlers M, Heat D, La Torre D, Iriarte J, Fernandez E, Fernandez R, Martínez G, Mosello M, Lopardo J, Sandoval A, Scarpati A, Souto M, Vaccaro M. XXIII International Congress of Hydatology, Colonia del Sacramento, Uruguay, 9 al 11 de Diciembre de 2009.

**Estudios catastrales sobre parasitosis en la Comarca Sur de la Pcia. del Chubut (Argentina).** Torrecillas C, Sánchez Thevenet P, Souto M, Fajardo M, Ponce G, Gregori Roig P, Mellado I, Córdoba M, Quezada A, Curaqueo M, Macías M, Estrassalino I, Fernández E, Mozzoni C, Borquez F, Gallo D, Jensen O. VI Jornadas de Bioquímica, Comodoro Rivadavia (Chubut, Argentina), 18 al 21 de Agosto de 2009.

**Zoonosis parasitarias en localidades de la comarca Rio Senguer Golfo San Jorge, Chubut, Argentina.** P. Sánchez Thevenet, C. Torrecillas, M. Souto. M. Fajardo, G. Ponce, P. Gregori Roig, I. Mellado, M. Córdoba, A. Quezada, A. Curaqueo, M. Macías, I. Estrazzalino, E. Fernández, M. Mozzoni, F. Borquez, D. Gallo, O. Jensen. III Congreso Latinoamericano de Zoonosis VI Congreso Argentino de Zoonosis Buenos Aires (Argentina). 18, 19 y 20 de Junio de 2008. Libro de resúmenes: P055, Pag. 40.

**INDICE**

INDICE.....	1
RESUMEN .....	10
INTRODUCCION.....	12
1. Aspectos taxonómicos de <i>Echinococcus granulosus</i> sensu lato .....	12
2. Aspectos biológicos de <i>Echinococcus granulosus</i> sensu lato.....	14
3. Ciclo de transmisión de la equinococosis quística .....	18
4. Aspectos inmunológicos de la equinococosis quística en el humano.....	20
5. Aspectos clínicos de la equinococosis quística .....	21
6. Diagnóstico de la equinococosis quística .....	22
6.1. Diagnóstico por imagen .....	22
6.2. Diagnóstico de laboratorio.....	24
7. Tratamiento de la equinococosis quística.....	26
8. Aspectos epidemiológicos y epidemiología molecular de la equinococosis quística .....	27
9. Factores que influyen en la dinámica de transmisión de la equinococosis quística.....	30
10. Medidas de control de la EQ y sus particularidades en la Provincia de Chubut .....	31
10.1. Control en el hospedero definitivo .....	32
10.2. Control en el hospedero intermediario natural.....	34
10.3. Control en el ser humano como hospedero accidental .....	35
10.4. Educación para la salud como estrategia de control .....	35
10.5. Sistemas de Información Geográficos en el control de la EQ .....	36
11. Vacuna EG95 .....	36
11.1. Generalidades de las vacunas y aspectos específicos de la vacuna EG95 .....	36
11.2. Antecedentes de la vacuna EG95.....	38
11.3. Desarrollo de la vacuna EG95.....	39
11.4. Estudios de seguridad de la vacuna EG95.....	40
11.5. Estudios de eficacia de la vacuna EG95.....	40
11.6. Estudios de efectividad de la vacuna EG95.....	41
12. Impacto socio-económico de la equinococosis quística .....	43
JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO .....	46
OBJETIVOS.....	47

OBJETIVO GENERAL.....	47
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	47
MATERIALES Y METODOS.....	48
1. Objetivo 1: describir la situación equinococica en El Chalía (Chubut, Argentina) en forma previa y posterior a la implementación de la vacuna EG95.....	48
1.1. Diseño.....	48
1.2. Área y período de estudio.....	48
1.3. Metodología.....	54
1.3.1 Determinación de la frecuencia de aparición de hidatidosis en humanos.....	54
1.3.2 Determinación de la frecuencia de aparición de EQ en ovinos.....	54
1.3.3 Determinación de la prevalencia de equinococosis canina.....	56
1.3.4 Búsqueda de huevos de Taeniidae en agua.....	57
1.3.5 Búsqueda de huevos de Taeniidae en suelo.....	58
1.3.6 Búsqueda de huevos de Taeniidae en materia fecal canina ambiental.....	59
1.3.7 Detección de coproantígenos de <i>Echinococcus</i> spp.....	60
2. Objetivo 2: definir los aspectos inmunobiológicos en animales vacunados con EG95.....	61
2.1. Diseño.....	61
2.2. Área y período de estudio.....	62
2.3. Metodología.....	62
2.3.1 Determinación de anticuerpos anti EG95 en ovinos vacunados.....	64
2.3.2 Determinación del título de anticuerpos anti EG95 en ovinos vacunados.....	65
3. Objetivo 3: evaluar la influencia de la inmunidad adquirida en el hospedero intermediario sobre la dinámica de transmisión de la EQ en El Chalía.....	65
3.1. Diseño.....	65
3.2. Área y período de estudio.....	65
3.3. Metodología.....	66
4. Objetivo 4: valorar el impacto socioeconómico de la enfermedad en El Chalía y en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut.....	66
4.1. Diseño.....	66
4.2. Área y período de estudio.....	66
4.3. Metodología.....	66
5. Objetivo 5: describir los factores condicionantes de la aplicación de la vacuna EG95 en el terreno.....	68

5.1. Diseño.....	68
5.2. Área y período de estudio.....	68
5.3. Metodología.....	68
6. Análisis de datos.....	69
7. Bioseguridad.....	69
8. Aspectos ético-legales.....	69
RESULTADOS .....	71
1. Objetivo 1: describir la situación equinococica en El Chalía (Chubut, Argentina) en forma previa y posterior a la implementación de la vacuna EG95.....	71
1.1. Determinación de la frecuencia de aparición de hidatidosis en humanos.....	71
1.2. Determinación de la frecuencia de aparición de equinococosis quística en ovinos.....	72
1.3. Determinación de la frecuencia de aparición de equinococosis en perros .....	74
1.4. Determinación de la presencia de huevos de Taeniidae en agua y suelo .....	75
1.5. Determinación de la presencia de huevos de Taeniidae en materia fecal canina recolectada del ambiente .....	77
1.6. Determinación de la presencia de antígenos de <i>Echinococcus</i> spp. en materia fecal canina ambiental. ....	78
2. Objetivo 2: definir los aspectos inmunobiológicos en animales vacunados con EG95 .....	80
2.1. Determinación de anticuerpos anti EG95 en ovinos vacunados.....	80
2.2. Determinación del título de anticuerpos anti EG95 en ovinos vacunados .....	81
3. Objetivo 3: Influencia de la inmunidad adquirida en el hospedero intermediario sobre la dinámica de transmisión de la hidatidosis en El Chalía durante los años 2008 al 2015. ....	82
4. Objetivo 4: valorar el impacto socioeconómico de la enfermedad en El Chalía y en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut.....	83
4.1. Aspecto social de la enfermedad en El Chalía.....	83
4.2. Aspectos socioeconómicos de la enfermedad en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut.....	83
5. Objetivo 5: describir de los factores condicionantes de la aplicación de la vacuna EG95 en el terreno. ....	89
DISCUSION.....	92
CONCLUSIONES .....	107
ANEXO 1 .....	109
ANEXO 2 .....	113

BIBLIOGRAFIA..... 116

## INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

## TABLAS

Tabla 1: especies causantes de equinococosis quística en ganado y/o humanos, hospederos y denominación de cepas y genotipos utilizadas originalmente.....	13
Tabla 2: clasificación ultrasonográfica (US) de los quistes hidatídicos y comparación entre las clasificaciones de Gharbi (1981) y la actual aceptada de la WHO-IWGE.....	23
Tabla 3: tasas (por 100.000 hab) de casos notificados de equinococosis quística en Argentina por regiones. Período 2011-2017.....	29
Tabla 4: sueros de corderos obtenidos por cada unidad doméstica (UD) según fecha. ....	55
Tabla 5: número de muestras de materia fecal canina ambiental estudiadas en distintos períodos según unidad doméstica muestreada. N=45. ....	59
Tabla 6: frecuencias absolutas y relativas de casos humanos positivos para <i>E. granulosus</i> por HAI. El Chalía (Chubut, Argentina), 2007. N=20.....	71
Tabla 7: frecuencias absolutas y relativas de casos humanos positivos para hidatidosis por ecografía abdominal. El Chalia (Chubut, Argentina), 2007. N= 23.....	71
Tabla 8: frecuencias absolutas y relativas de aparición de sueros de cordero positivos para hidatidosis por ELISA según establecimiento estudiado. El Chalía (Chubut, Argentina). N= 40 sueros. ....	72
Tabla 9: frecuencias absolutas y relativas de aparición de sueros de ovinos positivos e indeterminados para hidatidosis por ELISA. El Chalía (Chubut, Argentina). N= 47 sueros. ....	73
Tabla 10: frecuencia de aparición de <i>E. granulosus</i> y de otros parásitos en prueba de arecolina. El Chalía (Chubut, Argentina). 2007. N= 48.....	74
Tabla 11: frecuencia de aparición de <i>Echinococcus</i> spp. y de otros parásitos en prueba de arecolina. El Chalía (Chubut, Argentina). 2015. N= 16.....	75
Tabla 12: presencia de formas parasitarias en muestras compuestas de suelo, según técnica analítica utilizada. El Chalía (Chubut, Argentina). 2009. N= 7.....	76
Tabla 13: presencia de formas parasitarias en muestras de suelo, según técnica analítica utilizada. El Chalia (Chubut, Argentina). 2015. N= 4.....	76
Tabla 14: detección de coproantígeno para <i>Echinococcus</i> sp. según unidad doméstica estudiada (N=22). 2009. El Chalía, Argentina.....	79
Tabla 15: número de ovinos y caprinos que recibieron la 1° y 2° dosis de la vacuna EG95 entre diciembre de 2007 y enero de 2008 en El Chalía.....	80
Tabla 16: determinación de la presencia de anticuerpos antiEG95 en muestras de ovinos según unidad doméstica (N=26). El Chalía. 2007-2009.....	81
Tabla 17: resumen comparativo de los resultados obtenidos en El Chalía pre-post vacunación, expresado como porcentaje de muestras positivas sobre el total de muestras analizadas. ....	82
Tabla 18: perfil demográfico de los 70 casos reportados por el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut.....	84
Tabla 19: incidencia anual media de hidatidosis discriminada por departamento en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut. Período 2009-2017.....	85
Tabla 20: tipo de tratamiento recibido en los casos reportados por el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut. Período 2009-2017.....	86
Tabla 21: ámbito de realización de la cirugía en los casos reportados por el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut. Período 2009-2017.....	86

Tabla 22: años de vida prematuramente perdidos reportados por el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut. Período 2009-2017. ....	87
Tabla 23: costo por paciente con quiste hidatídico hepático según flujo del proceso clínico atendido en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut. ....	88
Tabla 24: comparación del gasto sanitario total (en dólares) derivado de costos directos de atención sanitaria de pacientes con hidatidosis y tratamiento quirúrgicos según diferentes fuentes. ....	89
Tabla 25: condicionantes de la aplicación de la vacuna EG95 a campo, según categoría de factor cultural (C), técnica (T), logística (L) o ambiental (A), componentes y solución propuesta para disminuir su influencia sobre la cobertura vacunal. ....	90

## FIGURAS

Figura 1: diagrama del estadio adulto de <i>Echinococcus granulosus</i> s.l. ....	15
Figura 2: diagrama del huevo de <i>Echinococcus granulosus</i> s.l. ....	16
Figura 3: diagrama del metacestode de <i>Echinococcus granulosus</i> s.l. ....	17
Figura 4: esquema del ciclo de transmisión de <i>Echinococcus granulosus</i> s.s. ....	19
Figura 5: características de las imágenes ecográficas y clasificación de la OMS de las etapas evolutivas. Fuente: adaptado de Pinto PP. Diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la hidatidosis. 2017 (24). ....	23
Figura 6: localización geográfica del área de estudio: a) Argentina; b) Provincia de Chubut y El Chalfá. Fuente: reproducción con autorización del Instituto Geográfico Nacional. ....	49
Figura 7: representación esquemática de la distribución de unidades domésticas (1 a 25) en El Chalfá (Chubut, Argentina). ....	50
Figura 8: ambiente y camino de acceso a El Chalfá (Chubut, Argentina). Fuente: foto propia. ....	50
Figura 9: imágenes de la cría de ovinos en El Chalfá. a) rebaño pastando; b) ovinos en corral. Fuente: foto propia. ....	51
Figura 10: localización de la Comarca Río Senguer Golfo San Jorge (Chubut, Argentina). ....	52
Figura 11: campaña de vacunación con EG95 realizada en El Chalfá en el año 2009 con personal del Departamento de Zoonosis de la provincia de Chubut. Fuente: foto propia. ....	53
Figura 12: extracción de sangre por punción de la vena yugular en ovinos. El Chalfá, enero 2008. Fuente: foto propia. ....	55
Figura 13: perros preparados para la prueba de purga con bromhidrato de arecolina en El Chalfá, 2015. Fuente: foto propia. ....	57
Figura 14: ejemplar de <i>Taenia</i> spp. obtenido mediante prueba de bromhidrato de arecolina a partir de perros de El Chalfá. Abril 2015. Fuente: foto propia. ....	57
Figura 15: toma de muestra de agua en una unidad doméstica en El Chalfá. Abril 2015. Fuente: foto propia. ....	58
Figura 16: toma de muestra de materia fecal canina en una unidad doméstica en El Chalfá. Abril 2015. Fuente: foto propia. ....	60
Figura 17: inoculación vía subcutánea de ovinos durante la campaña de vacunación con EG95 realizada en El Chalfá en el año 2009, junto a pobladores locales. Fuente: foto propia. ....	63
Figura 18: esquema de vacunación realizado en El Chalfá. ....	63
Figura 19: esquema de distribución de los establecimientos en los que se aplicó la vacuna EG95 (color amarillo) en El Chalfá entre 2007 y 2009 (Chubut, Argentina). ....	64
Figura 20: localización geográfica del Área Programática Sur de la Provincia de Chubut. ....	67
Figura 21: representación esquemática según distribución de sueros de corderos positivos para hidatidosis en establecimientos de El Chalfá (Chubut, Argentina). Período 2007 - 2008. Rojo: sueros positivos; verde: sueros negativos. ....	73
Figura 22: huevos de Taeniidae hallados en muestras de heces caninas recolectadas del ambiente, El Chalfá (Chubut, Argentina). 2009. Aumento 400x. ....	77
Figura 23: representación esquemática de la distribución de materia fecal canina ambiental positiva para huevos de Taeniidae en establecimientos de El Chalfá (Chubut, Argentina). Rojo: positiva; verde: negativa. ....	78
Figura 24: representación esquemática según distribución de muestras de materia fecal canina ambiental positivas y negativas al coproantígeno de <i>Echinococcus</i> sp. en establecimientos de El Chalfá (Chubut, Argentina). Rojo: coproantígeno positivo; verde: coproantígeno negativo. ....	79

Figura 25: localización de los quistes hidatídicos en los casos reportados por el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut. Período 2009-2017..... 86

**LISTADO DE ABREVIATURAS**

Abreviatura	Significado
ADN	Acido desoxirribonucleico
APCs	células presentadoras de antígenos
AVAD	años de vida ajustados por discapacidad
AVD	años vividos con discapacidad
AVISA	años de vida saludables
AVPP	Años de vida prematuramente perdidos
CD	Costos directos
cox 1	Citocromo oxidasa subunidad 1
ELISA	Enzimoinmunoensayo
EQ	Equinococosis quística
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
HAI	Hemaglutinación indirecta
HD	Hospedero definitivo
HI	Hospedero intermediario
HPGD	Hospitales Públicos de Gestión Descentralizada
IAM	Incidencia Anual Media
IC 95%	Intervalo de confianza de 95%
IFN- $\gamma$	Interferón gamma
IL	Interleucina
IWGE	Informal Working Group on Echinococcosis
MFCa	Materia fecal canina ambiental
nad 1	NADH deshidrogenasa subunidad 1
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PC	Programa de control
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
QH	Quiste hidatídico
RMN	Resonancia magnética nuclear
SENASA	Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria
SIG	Sistemas de Información Geográficos
SNC	Sistema nervioso central
SNVS	Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud
TAC	Tomografía axial computada
Th	Linfocitos T helper
TNF- $\alpha$	Factor de necrosis tumoral alfa
UD	Unidades domésticas
US	Ultrasonografía
US\$	Dolares
WHO	World Health Organization

## **RESUMEN**

La región patagónica se considera endémica para la equinococosis quística (EQ). La provincia de Chubut (Patagonia, Argentina) tiene una elevada prevalencia de EQ (10 casos/100.000 hab.) y desde 1984 tiene un programa de control (PC) basado en desparasitación canina con praziquantel. No obstante, aún persisten elevadas tasas de la enfermedad en entornos de accesibilidad geográfica compleja. Dentro de las nuevas herramientas para el control de la enfermedad se encuentra la vacuna EG95 contra *Echinococcus granulosus*, cuya eficacia ha sido comprobada en numerosos ensayos clínicos con ovinos. Para su incorporación a los programas de control es necesario conocer, además, su efectividad y los factores que favorecen o condicionan su aplicación a campo.

El objetivo del presente estudio es evaluar la efectividad de la vacuna EG95 para ovinos como herramienta de control y describir aspectos operativos que condicionan su utilización en una región endémica remota, así como evaluar el impacto económico de la enfermedad en Chubut (Argentina) durante los años 2007 al 2017.

Se implantó un diseño mixto cuantitativo-cualitativo en El Chalía (45°41'S, 70°59'O, 81 hab., 36 % con serología positiva para EQ, 329 Km<sup>2</sup>), comuna habitada por pueblos originarios y sin cobertura del PC durante 15 años previos al estudio. Allí, el PC instaura la vacunación con EG95 de ovinos y caprinos en 2007, con pauta 2+1. Mediante estudio pre-post (2007-2015) vacunación, se determinó: -presencia de huevos de Taeniidae en materia fecal canina ambiental (MFCa), en aguas naturales y en suelo, por Willis y Teleman, - antígenos de *E. granulosus* en MFCa mediante copro-ELISA, y -tasa de equinococosis canina por prueba de arecolina. Y, por estudio cualitativo con diseño fenomenológico más estudio de corte realizado durante el periodo 2009-2017 se evaluó el impacto socioeconómico de la

patología, aportando el presente estudio uno de los primeros datos de impacto económico en la región. Además, y por estudio de intervención-acción, se identificaron los factores que condicionan el uso de la vacuna en terreno.

Se aplicaron 2680 dosis iniciales de vacuna, resultando una cobertura del 17% y 7% en 1° y 2° dosis, respectivamente. La frecuencia de aparición de equinocosis canina varió del 25% al 0%, mientras que los porcentajes de muestras positivas disminuyeron del 14% al 0% para coproantígeno en MFCa y del 9% al 0% para presencia de huevos de Taeniidae (resultados 2007 y 2015 respectivamente). La patología produce en la región estudiada una carga de enfermedad de 160 años prematuramente perdidos, con un coste mínimo por paciente de 1.599 US\$ y un costo sanitario directo total de 94.367 US\$. Los factores que condicionaron la cobertura vacunal fueron culturales, técnicos y logísticos, como: esquema de vacunación incompleto debido a faena de animales para sustento familiar, necesidad de reunir ganado disperso y elevado número de animales a vacunar. Este estudio evidencia que EG95, en condiciones de campo, tiene capacidad de promover la disminución de la tasa de infección canina y la contaminación ambiental con *E. granulosus*. Así, se reduce notablemente el riesgo de infección en el humano. Por tanto, se confirma que es una herramienta efectiva para controlar la enfermedad en regiones remotas y en las cuales se dificulta dar continuidad a las acciones clásicas de los PC.

## **INTRODUCCION**

### **1. Aspectos taxonómicos de *Echinococcus granulosus sensu lato***

*Echinococcus granulosus sensu lato* (s.l.) es un parásito perteneciente al Phylum Platyhelminthes, Clase Cestoda, Orden Cyclophyllidea, familia Taeniidae (Ludwing, 1886), y género *Echinococcus* (Rudolphi, 1801). Este parásito es el agente etiológico de la equinococosis quística (EQ) en humanos y en animales. Cuando la enfermedad afecta al humano, también se la denomina hidatidosis.

Hasta finales de la década de 80' se reconocían cuatro especies dentro del género *Echinococcus*: *E. multilocularis* (Leuckart, 1863), *E. oligathrus* (Diesing, 1863), *E. vogeli* (Rausch & Berstein, 1972) y *E. granulosus* (Batsch, 1786). Sin embargo, era evidente que *E. granulosus* comprendía un grupo más amplio, con variantes respecto a la morfología, la especificidad del hospedero, parámetros bioquímicos y distribución geográfica. En la década de 1990, usando secuencias de ADN mitocondrial que codifican para la subunidad 1 de citocromo oxidasa (cox 1) y para la subunidad 1 de NADH deshidrogenasa (nad 1), se dividió a *E. granulosus* en 8 genotipos (cepas): G1 (oveja), G2 (oveja de Tasmania), G3 (búfalo), G4 (caballo), G5 (vaca), G6 (camello), G7 (cerdo) y G8 (cérvido). Más adelante fueron caracterizadas las cepas G9 (¿humano?) y G10 (cérvido) (1, 2). Posteriormente y basado en estudios moleculares, *Echinococcus granulosus* s. l. se consideró un complejo de especies mostrando importantes variantes respecto a morfología, hospederos, infectividad a humanos y patogenicidad (3). Los genotipos G1, G2 y G3 fueron denominados *E. granulosus sensu stricto* (s.s.), G4 como *E. equinus*, G5 como *E. ortleppi* y G6, G7, G8 y G10 como *E. canadensis*. En el año 2005 fue reportado y reconocido *Echinococcus shiquicus* en la meseta tibetana, y en el 2008 se confirmó como especie válida *Echinococcus felidis* (1, 4).

Dentro de *E. granulosus* s.s. se describieron, en primer lugar, tres genotipos (G1, G2 y G3), basados en estudios de fragmentos de los genes *cox1* y *nad1*. Sin embargo, estudios recientes cuestionan a G2 como genotipo valido (5). Por otro lado, el análisis de genes nucleares ha concluido que G6/G7 y G8/G10 son dos especies diferentes (5). Aún se desconoce la patogenicidad en el ser humano de *E. equinus* y *E. felidis* (6). La Tabla 1 resume la información expuesta anteriormente. Es fundamental considerar que la precisa identificación y diferenciación genotípica tiene importantes implicancias epidemiológicas (3).

Tabla 1: especies causantes de equinococosis quística en ganado y/o humanos, hospederos y denominación de cepas y genotipos utilizadas originalmente.

<b>Especies</b>	<b>Hospedero definitivo</b>	<b>Cepa (Genotipo)</b>
<i>E. granulosus</i> sensu stricto	Perro	Cepa oveja (G1, G2)
<i>E. equinus</i>	Perro	Cepa caballo (G4)
<i>E. ortleppi</i>	Perro	Cepa vaca (G5)
<i>E. canadensis</i> G6/G7	perro, lobo	Cepa camello (G6), cepa cerdo (G7)
<i>E. canadensis</i> G8/G10	lobo, perro	Cepa cérvido (G8, G10)
<i>E. felidis</i>	león	Cepa león

Fuente: adaptado de Ito et al. 2017 (7).

En Argentina se han identificado, hasta el momento, los siguientes genotipos en EQ humana: G1, G5 y G6, y seis genotipos en EQ en el ganado: G1, G2, G3, G5, G6 y G7. El genotipo G1 es el de mayor frecuencia de aparición en casos humanos y en el ganado en el país (8, 9).

## **2. Aspectos biológicos de *Echinococcus granulosus sensu lato***

*E. granulosus* s.l. presenta en su ciclo biológico tres estadios: adulto, huevo y larva. En su estadio adulto o estrobilar mide de 3 a 5 mm de largo y está formado por una cabeza o escólex, un cuello y el estróbilo. El escólex de 0,25 mm de diámetro, tiene un rostelo no retráctil armado por dos coronas de ganchos y cuatro ventosas prominentes. Estas estructuras permiten la fijación del parásito al intestino delgado del hospedero definitivo. El cuello es la zona a partir de la cual se originan tres proglótidos que forman el estróbilo, y cada uno de ellos es una unidad reproductiva hermafrodita con una importante actividad metabólica. Los proglótidos se clasifican en inmaduro, maduro (con órganos sexuales desarrollados) y grávido (con el útero repleto de huevos del parásito). Este último puede contener de 300 a 800 huevos infectantes. En su forma adulta, el parásito carece de aparato digestivo por lo que la adsorción de los nutrientes se realiza por osmosis a través del tegumento (Figura 1) (10, 11, 12).

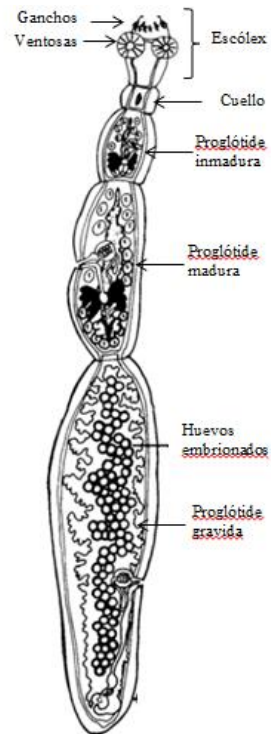


Figura 1: diagrama del estadió adulto de *Echinococcus granulosus* s.l.

Fuente: adaptado de WHO/ OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. 2001 (13).

Los huevos del parásito son esféricos o elipsoidales, y su tamaño varía de 30 a 50  $\mu\text{m}$ . Son morfológicamente idénticos a los provenientes de otros cestodos de la familia Taeniidae. Dichos huevos contienen un embrión u oncósfera rodeada y protegida por distintas membranas. La oncósfera está constituida por células glandulares, musculares y germinales y posee tres pares de ganchos, razón por la cual también se denomina “embrión hexacanto”. La membrana interna del huevo está constituida por una capa granular y por el embrióforo. Este último es una capa relativamente gruesa e impermeable consistente en bloques poligonales compuestos de queratina. La membrana externa, llamada membrana vitelina, desaparece cuando el huevo es liberado del hospedero (Figura 2) (10, 12, 13).

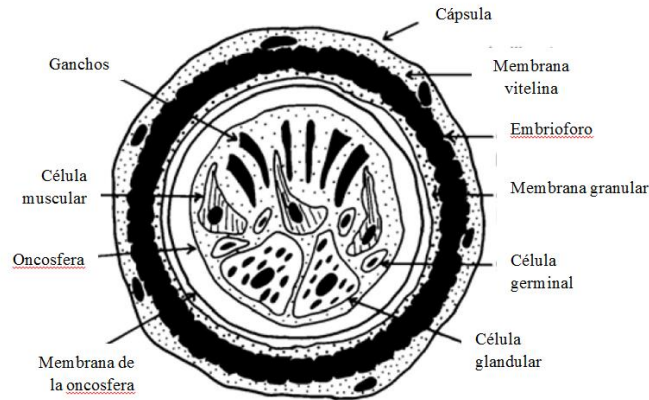


Figura 2: diagrama del huevo de *Echinococcus granulosus* s.l.

Fuente: adaptado de WHO/ OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. 2001 (13).

*E. granulosus* s. l., en su estadio larvario o de metacestode, se denomina hidátide y consiste en una cavidad rodeada por dos membranas, una membrana externa y una membrana interna. La membrana externa o cuticular está constituida por una matriz polisacáridoproteica dispuesta en láminas concéntricas de espesor variable entre 200  $\mu\text{m}$  a 1 cm. Esta membrana es blanda, elástica, semipermeable y resistente mecánicamente. Protege a la capa interna impidiendo el paso de gérmenes y células del hospedero, pero permite el paso de moléculas. La membrana interna, también denominada prolígera o germinativa, está formada por células de tipos musculares, ductales, flamíferas y germinales. Esta capa regula el paso de macromoléculas y genera los demás elementos de la hidátide (10).

La hidátide contiene los siguientes elementos en su interior:

- Vesículas prolíferas: surgen por gemación a partir de la membrana germinal.
- Vesículas hijas: de estructura semejante a una hidátide.

- Protoescólices: se forman en el interior de las vesículas y contienen el escólex invaginado. Dicho escólex está formado por ganchos y ventosas.
- Arenilla hidatídica: formada por vesículas, escólices y ganchos.
- Líquido hidatídico: compuesto por una mezcla compleja de glicoproteínas, lipoproteínas, hidratos de carbono, lípidos y sales minerales.

El establecimiento inicial de la oncosfera en el hospedero intermediario genera una reacción inflamatoria por parte del tejido del hospedero. La misma genera la formación de una envoltura externa, la membrana adventicia, que rodea a la hidátide. El conjunto de hidátide y membrana adventicia se denomina quiste hidatídico (QH) (Figura 3) (10).

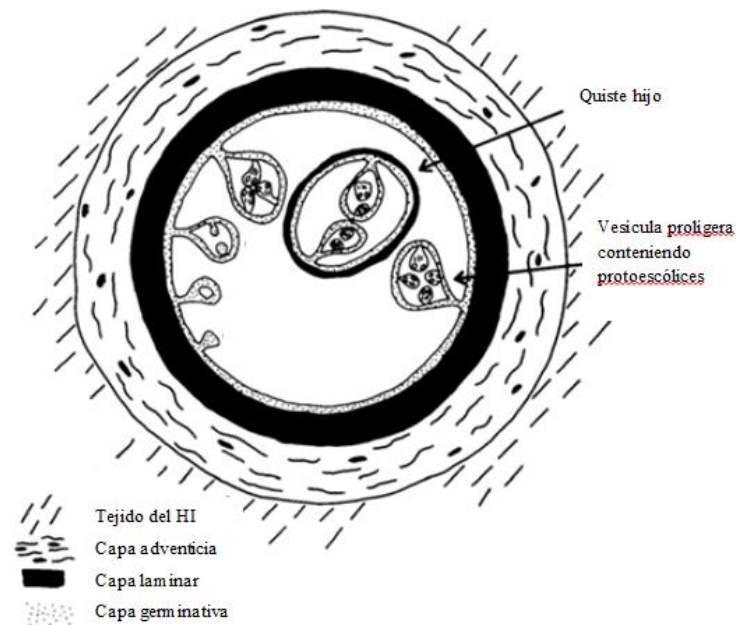


Figura 3: diagrama del metacestode de *Echinococcus granulosus* s.l.

Fuente: adaptado de WHO/ OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. 2001 (13).

### 3. Ciclo de transmisión de la equinocosis quística

La EQ, también conocida como hidatidosis, es una zoonosis producida por el estadio larvario de *Echinococcus granulosus* s.l. La especie de mayor importancia sanitaria para esta enfermedad es *E. granulosus* s.s. La transmisión del parásito ocurre, predominantemente, en un ciclo sinantrópico con un hospedero definitivo (HD) y un hospedero intermediario (HI) (14).

El HD es un animal carnívoro, generalmente el perro (*Canis lupus familiaris*), y aloja en su intestino delgado al estadio adulto del parásito. El HD puede ser infectado por cientos de parásitos y cada uno es capaz de eliminar cientos de huevos por día (15). Los huevos son eliminados con la materia fecal del HD ocasionando la contaminación biológica del medio ambiente (pasturas, suelo y agua) y pueden conservar su capacidad infectante por al menos 41 meses en las condiciones ambientales de la región patagónica (16).

Los HI más habituales son herbívoros u omnívoros y, frecuentemente, son pequeños rumiantes. Los ganados ovino, caprino, vacuno y camélido presentan mayores riesgos de infección (6). El ser humano participa en el ciclo como un hospedador intermediario accidental (Figura 4). Todos los HI pueden alojar en sus vísceras al parásito en su estadio larvario o de metacestode (10).

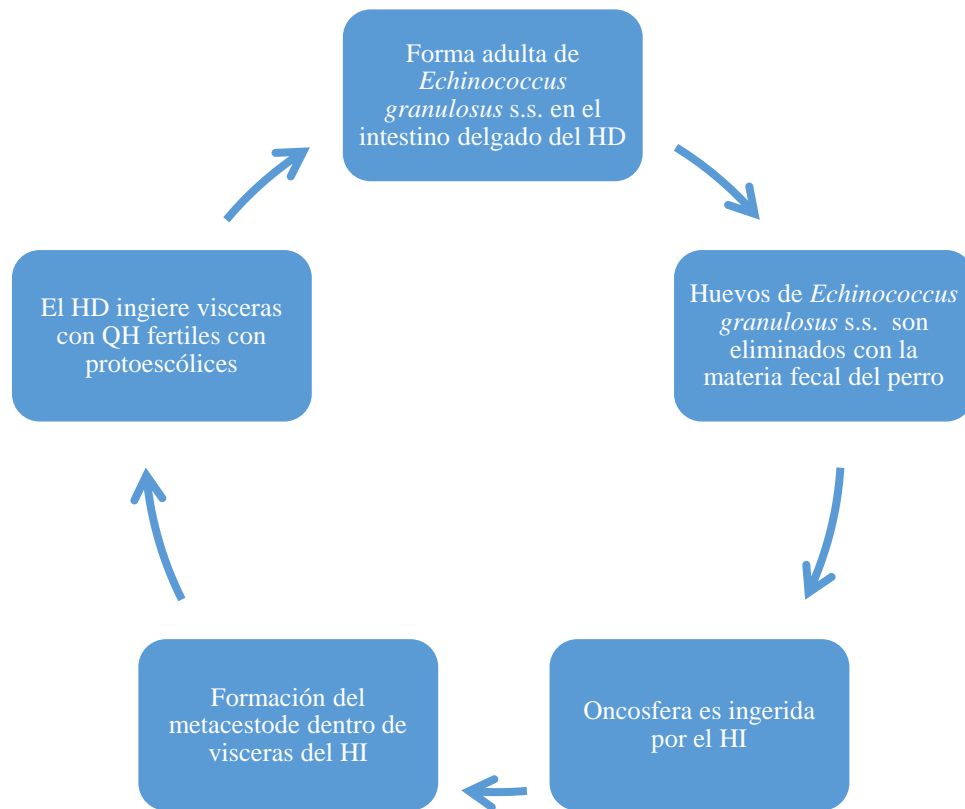


Figura 4: esquema del ciclo de transmisión de *Echinococcus granulosus* s.s.

Cuando los huevos son ingeridos por un HI, se produce la desintegración de los bloques de queratina del embrióforo por la acción de enzimas digestivas como la pepsina y la pancreatina. Ello ocasiona la eclosión del huevo. Una vez liberada la oncosfera, penetra las vellosidades intestinales del HI y a través de la circulación portal llega al hígado, que es el órgano más frecuentemente afectado. Si no se establece allí, la oncosfera pasa al corazón y a la circulación pulmonar, siendo el pulmón la localización extrahepática más frecuente. Si las oncosferas logran eludir estos dos órganos, ingresan a la circulación general y pueden alojarse en cualquier víscera como: riñón, bazo, músculos, cavidad pélvica y abdominal, corazón, mediastino, cerebro, huesos y ovarios, entre otras localizaciones. Una vez asentado,

el embrióforo se transforma en metacestode y se forma el QH, provocando la EQ (11, 12, 15, 17, 18). Los QH se clasifican en fértiles o estériles en función de si contienen o no, protoescólices vivos en su interior.

El ciclo del parásito se completa cuando el HD ingiere QH fértiles ubicados en las vísceras del HI. Los protoescólices vivos liberados del QH, tienen la capacidad de desarrollar un cestode adulto en el intestino del HD. La liberación de los protoescólices se produce por acción de la pepsina gástrica, y se establecen en el intestino delgado con su extremidad anterior ubicada en las criptas de Lieberkühn. A partir del cuello se irán formando los proglótidos. Una vez desarrollado en parásito adulto, los huevos se comenzarán a eliminar entre 37 a 45 días postinfección, dependiendo de la cepa del parásito (10, 11, 13).

#### **4. Aspectos inmunológicos de la equinocosis quística en el humano**

La entrada y desarrollo de *E. granulosus* s.l en el HI genera diferentes mecanismos de respuesta inmune, tanto innata como adaptativa. La eosinofilia es uno de los mecanismos celulares de la inmunidad innata más importantes en la parasitosis (19). Los linfocitos T y B son las células que participan en la inmunidad adaptativa. Los linfocitos T con fenotipo CD4+ se denominan cooperadores, T *helper* o Th, y son los más importantes en cuanto a la producción de citoquinas. Los linfocitos Th se dividen en Th1, Th2, Th17 y T reguladores (Treg) según el patrón de citoquinas que secretan (20). Los linfocitos Th1 producen factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) e interleucina 2 (IL-2) y se relacionan con la activación de la respuesta inmune celular. Los linfocitos Th2 producen las

interleucinas IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13 y están vinculados a la respuesta humoral pero también pueden generar daño al hospedero (20).

La respuesta inmune en pacientes con EQ se ha evaluado investigando marcadores y citoquinas en las células mononucleares de sangre periférica. Como en otras parasitosis, la respuesta inmune hallada es principalmente del tipo Th2, aunque también se observa una elevación de los componentes asociados a una respuesta Th1 (21). La respuesta Th2 da lugar a la producción de anticuerpos IgE mediada por la IL-4 y a la activación de eosinófilos debido a la producción de IL-5 (19).

La respuesta Th2 también puede estar involucrada en la regulación de la respuesta inmune debido a la producción de IL-10 que es inmunosupresora (20).

## **5. Aspectos clínicos de la equinococosis quística**

En el humano la EQ es una enfermedad crónica. Una vez instalado el QH, su velocidad de crecimiento es variable y crece en promedio 1 cm/año. Puede transcurrir de forma asintomática, especialmente en EQ de localización hepática. En un mismo paciente pueden coexistir tanto QH fértiles como estériles. La acción patógena del parásito en el HI depende del órgano involucrado y del tamaño del quiste, pudiendo ser la misma de tipo mecánica y/o inmune. La de tipo mecánica, a su vez, puede ser compresiva u obstructiva, lo cual produce atrofia y disfunción del órgano afectado. La inmunológica es debida a las reacciones del hospedero y va desde urticaria hasta el shock anafiláctico grave. Esta acción se produce por el pasaje de sustancias antigénicas del QH a la circulación. También se pueden presentar

complicaciones relacionadas con la ruptura o infección del QH. La ruptura espontánea, traumática o quirúrgica, puede producir hidatidosis secundaria (10, 17, 22).

## **6. Diagnóstico de la equinocosis quística**

El estudio de la EQ en población humana requiere de la evaluación epidemiológica, el diagnóstico clínico, por imagen y/o de laboratorio. En la evaluación epidemiológica se indaga sobre la historia hidatídica personal y familiar, la procedencia de una zona endémica y el contacto con perros, entre otros datos de interés.

### **6.1. Diagnóstico por imagen**

El diagnóstico clínico y por imagen permite establecer la localización, tamaño y características del QH. Las técnicas disponibles son: ecografía o ultrasonografía (US), radiografía, tomografía axial computada (TAC), y resonancia magnética nuclear (RMN). (10).

La ecografía es el método de elección para diagnóstico de la hidatidosis hepática, debido a su alta sensibilidad y especificidad (23). Gharbi et al. (1981), propusieron una clasificación de los QH en cinco tipos diferentes según su aspecto a la US, desde tipo I hasta tipo V. Posteriormente, en 1995 se conformó una comisión *ad hoc* denominada WHO-IWGE (*Informal Working Group on Echinococcosis*) a fin de estandarizar la detección y clasificación de los QH. En el 2001 surge de este grupo la actual clasificación que reconoce seis grupos (Tabla 2, Figura 5) (24).

Tabla 2: clasificación ultrasonográfica (US) de los quistes hidatídicos y comparación entre las clasificaciones de Gharbi (1981) y la actual aceptada de la WHO-IWGE.

Clasificación WHO-IWGE	Clasificación de Gharbi	Tipo	Aspecto a la US
Tipo CL	No existente	Activo	Lesión quística sin pared
Tipo CE 1	Tipo I	Activo	Lesión con pared, arenilla y signo de copos de nieve
Tipo CE 2	Tipo III	Activo	Lesión multivesiculada, septada y vesículas hijas visibles
Tipo CE 3	Tipo II	Transicional	Lesión unilocular con desprendimiento de la membrana laminar dentro del QH
Tipo CE 4	Tipo IV	Inactivo	Lesión heterogénea sin vesículas hijas, contenido degenerativo
Tipo CE 5	Tipo V	Inactivo	Calcificación total o parcial de la pared

Fuente: adaptado de Armiñanzas C et al. 2015 (18).

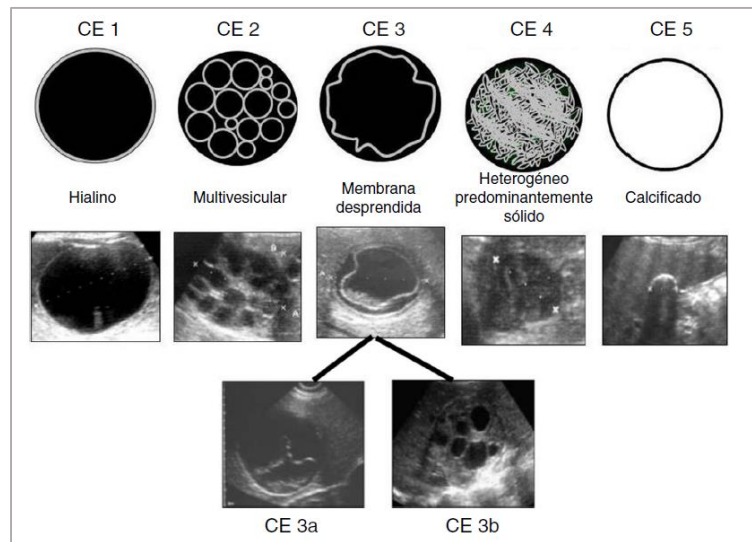


Figura 5: características de las imágenes ecográficas y clasificación de la OMS de las etapas evolutivas.

Fuente: adaptado de Pinto PP. Diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la hidatidosis. 2017 (24).

La radiografía de tórax (frontal y lateral) es el método de elección para la evaluación de QH pulmonares. El estudio radiológico también es de utilidad para QH óseos (25). La TAC y la RMN se emplean en lesiones subdiafragmáticas, lesiones múltiples, en presencia de

quistes complicados con fístulas o abscesos, quistes de localización extraabdominal y como forma de valoración prequirúrgica (18).

## **6.2.Diagnóstico de laboratorio**

El diagnóstico de laboratorio puede hacerse mediante métodos serológicos, examen parasitológico de elementos del QH y métodos moleculares (10).

Las pruebas de laboratorio generalmente muestran resultados inespecíficos: en la mayoría de los casos la eosinofilia es baja ( $< 15\%$ ) o ausente y/o se observa hipergamaglobulinemia en un 30% de casos de hidatidosis. En QH hepáticos los parámetros de laboratorio pueden ser normales o mostrar evidencias de colestasis con o sin aumentos de bilirrubina, transaminasas o  $\gamma$ -glutamyl transferasa. En caso de ruptura de un QH en las vías biliares se observa un aumento de enzimas colestásicas y puede ocurrir hiperamilasemia y eosinofilia (3 – 60%) (10, 17).

Los métodos serológicos resultan una alternativa sensible y específica, ampliamente utilizada en catastros para detección de portadores asintomáticos. El líquido hidatídico está compuesto por una compleja mezcla de antígenos, siendo los más empleados para diagnóstico el antígeno B y el antígeno 5 (12). Los métodos de diagnóstico serológico han ido cambiando según el avance en el campo de la inmunología. Las primeras pruebas empleadas en el diagnóstico de la patología fueron la fijación de complemento desarrollada por Ghedini en 1906 y la intradermorreacción introducida por Casoni en 1911. Ambas técnicas están actualmente en desuso. La prueba de hemaglutinación indirecta (HAI) para hidatidosis fue introducida por Garabedian et al. en 1957. Esta técnica tiene mayor sensibilidad para QH hepáticos que para pulmonares. Posteriormente se desarrollaron

métodos de precipitación en geles como la doble difusión para arco 5, conocida como DD5, y la inmunoelectroforesis (26). Ambas pruebas son altamente específicas, pero no son técnicas prácticas para estudios epidemiológicos. En la actualidad se recomiendan técnicas inmunoenzimáticas como enzimoimmunoensayo (ELISA) para screening y Western blot para confirmación (21).

En pacientes tratados, los títulos de anticuerpos pueden persistir por un largo período de tiempo. Para el seguimiento de pacientes operados y/o bajo tratamiento, se emplea la detección de antígenos circulantes (CAg) y complejos inmunes circulantes (CIC). La serología puede presentar falsos resultados negativos con QH calcificados, y en localizaciones de bajo flujo sanguíneo o por la presencia en sangre de altos títulos de CAg o CIC (27). Como ventaja, cuando el uso de técnicas serológicas de screening se realiza sobre población de menos de 14 años de edad, permite valorar la actividad del ciclo de la enfermedad en el pasado reciente (28).

Los métodos directos basados en microscopía óptica son útiles si se cuenta con muestras de QH (quirúrgicas u obtenidas espontáneamente, como por ejemplo en una muestra de esputo en la hidatidosis pulmonar) y pueden reconocerse elementos de la hidátide tales como protoescolices, vesículas y ganchos. También puede evaluarse la fertilidad y viabilidad del QH (10).

Los métodos moleculares basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se aplican para la caracterización de las distintas cepas de *E. granulosus* en muestras posquirúrgicas de QH. Estos métodos directos aplicados en forma complementaria, suman

información sobre el comportamiento de la/s cepa/s del parásito circulante/s en la población humana afectada (28).

## **7. Tratamiento de la equinocosis quística**

El tratamiento de la EQ se basa en cuatro opciones fundamentales, dependiendo de la situación clínica del paciente y de las características y la localización del quiste hidatídico. Las opciones son: cirugía, drenaje percutáneo, uso de antiparasitarios y la observación sin intervención (“esperar y ver” – “*wait and watch*”). El tratamiento quirúrgico fue considerado durante mucho tiempo el mejor e incluso el único tratamiento de la hidatidosis. Actualmente sigue manteniendo su importancia en QH de gran tamaño, QH complicados (asociados a roturas, fístulas, infecciones y hemorragias) y QH con riesgo de ruptura espontánea (18).

Respecto al drenaje percutáneo, la técnica más empleada es la denominada PAIR (*Punction, Aspiration, Injection and Re-aspiration*) que consiste en la punción del QH, la aspiración del contenido parasitario, la inyección de productos escolicidas y la reaspiración. En este caso también se asocia a tratamiento farmacológico en forma previa y posterior al procedimiento. Las indicaciones de PAIR son pacientes inoperables, que han rechazado la cirugía o en recidivas a pesar de la cirugía. Está contraindicado en los estadios CE2, CE3, CE4 y CE5 y en los QH pulmonares (18).

Para el tratamiento farmacológico se emplean dos benzimidazoles: el mebendazol y el albendazol. Estos fármacos interfieren en la absorción de glucosa a través de la pared del parásito, dando lugar a la depleción de glucógeno y cambios degenerativos a nivel mitocondrial y en el retículo endoplasmático de *E. granulosus*. De los dos fármacos,

actualmente se considera al albendazol como tratamiento de elección, dada su mayor actividad *in vitro* y su mejor absorción y biodisponibilidad (25).

En la opción “esperar y ver” (observación sin intervención) se realiza la monitorización periódica del paciente sin iniciar tratamiento. Se puede realizar en pacientes asintomáticos y no complicados, en general en estadíos CE4 y CE5 (18).

## **8. Aspectos epidemiológicos y epidemiología molecular de la equinocosis quística**

La EQ es una enfermedad presente en todos los continentes, excepto en la Antártida. Las prevalencias más elevadas de EQ se encuentran en parte de Eurasia (región Mediterránea, Federación Rusa, China), África (regiones norte y este), Australia y Sudamérica (14, 29). En este último continente, la EQ afecta en mayor medida a Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Perú y Uruguay (14). En esta región se han aislado hasta el momento seis genotipos en HI: G1, G2, G3, G5, G6 y G7. La mayoría de los casos son causados por *E. granulosus* s.s. (genotipos G1 y G3). El genotipo G1 es el que se encuentra más ampliamente distribuido en Sudamérica y el que se aísla más frecuentemente en muestras de HI y HD. El segundo genotipo más frecuente es el G5, aislado principalmente de vacunos de Brasil (8).

En la República Argentina, la EQ está difundida en todo en el territorio nacional, alcanzando mayor prevalencia en las zonas ganaderas, especialmente en las de cría de ovinos y caprinos. Según SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria) la cantidad de ovinos (HI susceptibles) en el país en marzo de 2018 fue de casi 14.340.000 de animales (30) y las principales áreas endémicas para esta patología en el país son:

- Área Patagónica: comprende las provincias de Tierra del Fuego, Santa Cruz, Chubut, Río Negro y Neuquén.

-Área de la Pampa Húmeda: se extiende por toda la provincia de Buenos Aires, sur de Santa Fe y Córdoba.

-Área Mesopotámica: comprende el territorio de Corrientes ubicado al sur del río Corrientes y el norte de Entre Ríos hasta el eje de La Paz, Federal y Concordia.

-Área Cuyana: toma toda la provincia de Mendoza y el oeste de San Juan.

-Área del Alta Montaña del Noroeste: comprende el área endémica de las provincias de Tucumán, Salta, Jujuy y Noroeste de Catamarca (31).

Respecto a la información para la notificación de casos humanos de EQ al Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (SNVS), hasta marzo de 2018 provenía de dos módulos principales: Vigilancia Clínica (C2) y Laboratorial (SIVILA). Entre los años 2011 y 2017, se notificaron al SNVS, 2848 casos confirmados de hidatidosis. La frecuencia media de notificación para el período es de 407 casos anuales. Como se observa en la Tabla 3, la tasa promedio nacional es de 1 caso /100.000 habitantes (32).

Tabla 3: tasas (por 100.000 hab) de casos notificados de equinocosis quística en Argentina por regiones. Período 2011-2017.

Región	Año						
	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Centro *	0,24	0,51	0,50	0,58	0,51	0,51	0,48
Cuyo*	0,38	0,69	0,41	0,60	0,82	0,28	0,94
NEA*	0,16	0,30	0,57	0,19	0,11	0,41	0,57
NOA*	1,33	2,16	2,42	2,38	2,56	2,56	2,16
Sur*	6,82	8,80	4,71	5,04	5,79	5,42	6,53
Total del país	0,77	1,19	0,97	1,02	1,05	1,01	1,08

\*Centro: Buenos Aires, CABA, Córdoba, Entre Ríos y Santa Fe; Cuyo: Mendoza, San Juan y San Luis; NEA: Corrientes, Chaco, Formosa y Misiones; NOA: Catamarca, Jujuy, La Rioja, Salta, Santiago del Estero y Tucumán; Sur: Chubut, La Pampa, Neuquén, Río Negro, Santa Cruz y Tierra del Fuego.  
(Fuente: adaptado de Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud. 2011-2017).

En la región de Patagonia el perro es el principal HD en el ciclo doméstico de transmisión, y los zorros grises (*Lycalopex griseus*) y colorados (*Lycalopex culpaeus*) pueden cumplir este rol en el ciclo silvestre y sinantrópico. Los animales del sector ganadero que pueden actuar como HI son principalmente los ovinos y caprinos y, en menor medida, los bovinos, porcinos y equinos. Según SENASA, en la región hay 8.232.000 ovinos y 1.239.000 caprinos (31). Los animales silvestres que pueden participar como HI en la región son el guanaco (*Lama guanicoe*) y la liebre (*Lepus europaeus*) (33).

En cuanto a humanos, como se refleja en la Tabla 3, la tasa de notificación de casos en el período 2011-2017 para la región Sur es 2,7 veces mayor a la tasa del NOA y a su vez, es 6 veces superior a la tasa promedio nacional.

En la provincia de Chubut (Patagonia Argentina) solamente ha sido reportado el genotipo G1 en muestras de parásitos adultos (34). En esta provincia según el Programa Nacional de Control de Enfermedades Zoonóticas del Ministerio de Salud, en el año 2010 la prevalencia de equinocosis canina en perros, determinado por medio de la técnica de arecolina, fue del

2,1% y la prevalencia de hidatidosis ovina en Chubut se ubicó entre el 0-10%, según el origen de las tropas faenadas (33). La tasa de casos en humanos en Chubut (Argentina) para el año 2017 fue de 10,6 casos cada 100.000 habitantes, representando un valor 1,6 veces más elevado que el valor medio de la Patagonia y 10 veces superior a la media nacional.

### **9. Factores que influyen en la dinámica de transmisión de la equinocosis quística**

Los factores que influyen sobre la dinámica de transmisión de la hidatidosis se distinguen en: factores parasitarios intrínsecos, factores parasitarios extrínsecos y factores del medio socio-ecológico.

Dentro de los factores parasitarios intrínsecos se incluye la variabilidad intraespecífica debido a que los diferentes genotipos difieren en ciclos biológicos, especificidad y afinidad por los hospederos, distribución geográfica, tiempo de maduración en el HD, antigenicidad, localización del metacestodo en el HI y producción de protoescólices (28). Otro de los factores intrínsecos importantes es el potencial biótico, el cual es relativamente bajo para *E. granulosus* comparado con otros miembros de la familia Taeniidae como *Taenia hydatigena* y *T. ovis* (28). También son importantes la vitalidad y viabilidad de los huevos en el ambiente que está relacionada con características bioquímicas de la composición de los mismos (35).

Los factores parasitarios extrínsecos incluyen la temperatura, la humedad y la dispersión de los huevos del parásito en el ambiente.

Entre los factores del medio socio-ecológico están la cantidad de HD y de HI susceptibles de contraer la parasitosis, y la resistencia inmunológica que adquieren en un ambiente

contaminado. También es importante evaluar el tipo de prácticas agrícolas realizadas, el nivel de conocimiento de la población y la legislación y control que lleva a cabo la autoridad correspondiente.

La presencia del parásito en el ambiente y en sus HD y HI, sumado a la identificación de los factores mencionados, contribuye a la elaboración de modelos matemáticos predictivos de la transmisión de la enfermedad en un escenario geográfico concreto, y permite planificar acciones adecuadas de control. La mayor parte de tales modelos coinciden en que el uso de antihelmínticos en el HD conjuntamente con la vacunación en el HI no humano, es la combinación más efectiva como estrategia de control (36).

#### **10. Medidas de control de la EQ y sus particularidades en la Provincia de Chubut**

Los programas de control de una enfermedad tienen como objetivo adoptar medidas sanitarias para lograr la disminución de la transmisión de la misma y conseguir una disminución de su incidencia (37). Las actividades realizadas en este marco deben contar con técnicas y procedimientos bien definidos, con recursos calificados y cuantificados para alcanzar los propósitos previamente indicados, con una duración limitada en el tiempo y con un punto de partida (diagnóstico de situación) conocido. Deben ser evaluados técnica, financiera y socialmente, y contar con el mandato y respaldo de las autoridades.

En Sudamérica, los programas de control de la hidatidosis estuvieron inicialmente, basados en las experiencias realizadas en las islas de Tasmania y Nueva Zelanda, realizando la desparasitación canina con bromhidrato de arecolina y utilizando el antihelmíntico Praziquantel como principales acciones de control (38).

El primer intento de control de EQ en la Patagonia se dio mediante el “Programa Piloto de Estudio y Lucha contra la Hidatidosis” desarrollado en la provincia de Neuquén (Departamento de Huiliches), durante el período 1970-1988. Este programa realizó el tratamiento de canes utilizando el tenífugo bromhidrato de arecolina y logró reducir la tasa de prevalencia de equinocosis canina de 28,2 x 100 (1970) a 1,2 x 100 (1985). A partir de 1978-1980 los programas de control extendieron su cobertura geográfica al resto de la provincia de Neuquén y a las provincias de Río Negro, Chubut y Santa Cruz. Si bien se mantiene la estrategia de tratamiento antiparasitario a los perros, actualmente se basa en el uso del praziquantel como droga tenicida. Además, se implementaron otras actividades de control como la educación sanitaria (principalmente en escuelas primarias, visitas domiciliarias y medios masivos de comunicación), el control de la faena en mataderos y la atención médica mediante el diagnóstico en terreno y el tratamiento (39).

En Chubut, el Programa de Control de la Hidatidosis se implementó a partir del año 1980, basando su estrategia en la atención veterinaria, la información, la ingeniería sanitaria, la legislación, la atención médica, la educación para la salud y la investigación científica (33).

### **10.1. Control en el hospedero definitivo**

En los HD el Programa de Control de la Provincia de Chubut implementó las acciones de diagnóstico y tratamiento. La importancia de evaluar la infección en el HD en el marco de un programa de control, radica en que la vigilancia epidemiológica es una herramienta que permite definir el problema, establecer las estrategias de intervención y evaluar el progreso en el programa (40). El método “*gold standard*” para el diagnóstico de la infestación es la identificación de ejemplares adultos del parásito en el intestino del perro *post mortem*. A pesar de que esta técnica es 100% específica, no es aplicable en estudios a gran escala y su

uso es controvertido por razones éticas y legales. El método convencional *in vivo* se realiza con la prueba de arecolina basada en el uso de bromhidrato de arecolina, una droga parasimpaticomimética que actúa sobre el intestino delgado del perro produciendo un efecto tenífugo. Se administra por vía oral y, aproximadamente una hora después de su administración, los perros parasitados eliminan en las heces las formas adultas de los helmintos. Estos ejemplares se detectan mediante la observación directa del contenido intestinal expulsado. Esta técnica es altamente específica pero su sensibilidad es variable (entre 60-70%) dependiendo de la carga parasitaria y de la experiencia del observador. Una de las ventajas de la técnica es el impacto educativo que genera en los propietarios de los perros. El proceso requiere de estrictas medidas de bioseguridad y produce en algunos perros reacciones adversas (41, 42).

Otra técnica de diagnóstico usada en el HD es la detección de antígenos en muestras de materia fecal canina (coproantígenos). Allan et al. (1992) desarrollaron una técnica de coproantígeno por enzimoimmunoensayo usando anticuerpos policlonales contra antígenos somáticos. Este método permite la detección de infecciones en el período prepatente y tiene una sensibilidad de 80% y una especificidad que varía entre el 77 al 99% (43). Mediante este método, el diagnóstico positivo de heces recogidas del ambiente en un área endémica, expresa que en ese sitio hay perros parasitados con *E. granulosus* y por lo tanto el ambiente se encuentra contaminado. En base al porcentaje de heces positivas al coproantígeno, el área bajo vigilancia epidemiológica se clasifica por niveles de riesgo en infección baja (<5%), media (5-10%) o alta (>10%). El diagnóstico negativo significa que en las muestras examinadas no había *E. granulosus*, lo que puede deberse a que efectivamente el parásito no

está presente, a que la prevalencia es muy baja, a que el número de muestras analizadas fue insuficiente, o que por azar, se han tomado solo muestras negativas (31).

También puede realizarse la técnica de copro-PCR que detecta ADN del parásito en materia fecal canina. La misma presenta mayor sensibilidad y especificidad que el coproantígeno pero es costoso y requiere equipamiento más complejo (43).

El tratamiento antihelmíntico de los canes se realiza con praziquantel, que es un derivado isoquinolínico de administración oral con una eficacia del 100%. La administración del antiparasitario debe realizarse cada 35 a 45 días (dependiendo del genotipo circulante) con dosis de 5 mg/kg para garantizar dicha eficacia (31, 42). En Chubut, el Programa de Control utiliza desde el año 1984 la prueba de arecolina y posteriormente implementó la administración de praziquantel.

## **10.2. Control en el hospedero intermediario natural**

En los HI los quistes hidatídicos crecen lentamente y les lleva varios años alcanzar un tamaño que produzca los síntomas y la enfermedad. El diagnóstico se basa principalmente en los hallazgos durante la necropsia (42). El control sanitario de la faena en mataderos se mantiene como fuente de información para los sistemas de vigilancia y como método de decomiso de vísceras afectadas (39). Los test serológicos son menos sensibles y específicos que los realizados para determinar la enfermedad en humanos y no están aún validados para utilizar como método de vigilancia en los HI animales (42).

El control en los HI se puede llevar a cabo por medio de la vacuna EG95 que previene la infección de ovinos y caprinos, y de esta forma, se disminuye la oferta de quistes hidatídicos a los HD.

### **10.3. Control en el ser humano como hospedero accidental**

En el ciclo biológico de la hidatidosis el ser humano se incorpora como un hospedero accidental. Las acciones realizadas en la población por el Programa de Control de la Hidatidosis en Chubut, incluyen la búsqueda de portadores asintomáticos a través del diagnóstico serológico y la realización de ecografías abdominales a campo. La búsqueda está orientada a grupos de riesgo como habitantes de áreas endémicas, principalmente áreas rurales ganaderas, priorizando los menores de 15 años (44). La detección de personas asintomáticas portadoras de QH permite establecer el tratamiento en forma precoz, previniendo complicaciones de la patología.

### **10.4. Educación para la salud como estrategia de control**

La Educación para la Salud es un proceso que facilita el aprendizaje y el desarrollo de habilidades personales que deben conducir a una mejora de la salud de la población y generar la alfabetización en este ámbito. Este proceso debe encaminarse al aprendizaje tanto en la esfera cognitiva como en la afectiva y psicomotora, y a conseguir cambios conductuales que refuercen las conductas positivas y modifiquen comportamientos perjudiciales para la salud (45).

Las actividades de educación sanitaria en el marco del Programa de Control de Hidatidosis se realizan en escuelas, en visitas domiciliarias y a través de los medios de comunicación. Estas actividades se centran en los peligros que genera la alimentación de los perros con vísceras de ganado crudas o insuficientemente cocidas, y en los beneficios de la adecuada higiene alimentaria y de la desparasitación periódica de los canes. El material educativo usado consta de proyecciones audiovisuales, folletos y afiches. Los principales

efectores de las acciones educativas son los agentes sanitarios de atención primaria de la salud y los docentes en las escuelas de áreas endémicas (44).

### **10.5. Sistemas de Información Geográficos en el control de la EQ**

Dada la complejidad y diversidad de los sistemas ecológicos en la EQ, es necesario utilizar nuevas herramientas de vigilancia epidemiológica que tomen en cuenta las relaciones entre la enfermedad y el ambiente. La vigilancia epidemiológica de la EQ, basada en unidades de observación ambiental, se vería ampliamente favorecida en su análisis epidemiológico mediante el uso de Sistemas de Información Geográficos (SIG), que incluyan la información disponible (44). Los SIG son herramientas informáticas que, entre otras utilidades, permiten enlazar distintas bases de datos en función de las coordenadas geográficas de cada dato almacenado. Estos sistemas también facilitan la representación espacial de la información enlazada, así como la valoración de posibles asociaciones entre los datos (46). No hay constancia que el Programa de Control de la Provincia de Chubut este implementando estas estrategias en la actualidad.

## **11. Vacuna EG95**

### **11.1. Generalidades de las vacunas y aspectos específicos de la vacuna EG95**

La vacunación se refiere a la administración de un producto inmunobiológico que estimula el sistema inmunitario, induciendo una respuesta inmunitaria específica en un individuo. Las características que debe reunir una vacuna son: seguridad, inmunogenicidad, eficacia protectora, efectividad, eficiencia y estabilidad (47).

Los diferentes tipos de vacunas que existen, hasta el momento, son los siguientes (20):

- Vacunas de microorganismos vivos atenuados

- Vacunas de microorganismos muertos
- Vacunas de toxoides
- Vacunas de subunidades
- Vacunas recombinantes
- Vacunas de ácidos nucleicos
- Vacunas conjugadas

La vacuna EG95 contra EQ de aplicación en el HI es de tipo recombinante. Es una proteína de 16,5 kDa y posee 153 aminoácidos. Las vacunas recombinantes se preparan a partir de una secuencia de DNA que codifica para una proteína de interés. Esta secuencia de DNA se inserta en un plásmido que se utiliza como vector para transfectar una bacteria. Entre las bacterias más empleadas esta *Escherichia coli* (20). Las vacunas recombinantes son más seguras, y al igual que otros tipos de vacunas, necesitan de adyuvantes y de la administración de varias dosis y refuerzos (48).

La vacuna EG95 se aplica en forma conjunta con el adyuvante Quil A, vía subcutánea en diferentes HI animales. Un adyuvante es una sustancia que se incorpora a las vacunas con el objetivo de incrementar su inmunogenicidad (47). Las características de un adyuvante ideal deberían ser, entre otras, seguro, biodegradable, químicamente estable, capaz de desarrollar una respuesta inmune efectiva, de fácil preparación y de bajo costo. Actualmente no existe un adyuvante que reúna todas estas características (49). En cuanto a las clasificaciones de los adyuvantes existen varias. Una de las clasificaciones más aceptadas tiene en cuenta su mecanismo de acción, según sea un sistema de liberación o adyuvantes inmunopotenciadores (48). Dentro de los primeros se pueden mencionar las sales minerales, emulsiones y micropartículas. Dentro de los adyuvantes inmunopotenciadores, que activan los receptores

celulares induciendo la liberación de citoquinas, se encuentran las saponinas. Quil A es una saponina extraída de la corteza de *Quillaja saponaria molina*. QS21 es una fracción purificada de Quil A y actúa mejorando la presentación de antígenos a células presentadoras (APCs) e induciendo la producción de linfocitos T citotóxicos estimulados por la secreción de citoquinas de células Th1 y Th2 (50, 51).

La importancia de la vacunación para la Salud Pública radica en que, las vacunas no solo generan una protección individual, sino también una protección colectiva, porque contribuye a interrumpir la cadena de transmisión de la enfermedad (47). Las diferentes experiencias realizadas sobre ovinos, indican que el plan de elección para la aplicación de la vacuna EG95 es de dos dosis con un mes de separación entre ellas y luego una única dosis de refuerzo anual. En nuestro país el Manual de Procedimientos de Hidatidosis del SENASA recomienda desde el año 2007 el uso de la vacuna EG95, aunque comercialmente se encuentra disponible a partir del año 2010 (52).

### **11.2. Antecedentes de la vacuna EG95**

En la década del '60 Sweatman et al. fueron los primeros en describir la resistencia de los ovinos a la reinfección luego de ser expuestos a huevos de *E. granulosus*. En 1966 Gemmell publicó estudios en los cuales aplicó oncosferas activadas a ovinos, vía intramuscular, induciendo altos niveles de inmunidad al desafío oral con huevos de *E. granulosus* y una reducción del 90% en el desarrollo de QH. Ensayos similares usando extractos de oncosferas solubilizados en dodecil sulfato de sodio, también indujeron protección de los ovinos al desafío oral. Estos ensayos demostraron que las oncosferas o sus productos de secreción, son una rica fuente de antígenos que protegen al HI (53). El desafío posterior fue identificar los componentes de la oncosfera que estimularan esa respuesta

inmune. En 1996 Heath y Lawrence obtuvieron sueros de ovinos, algunos inoculados con oncosferas enteras y otros con extractos de oncosferas desnaturalizados o no, y realizaron ensayos para evaluar la letalidad *in vitro* sobre oncosferas. De esta forma demostraron que los antígenos de la oncosferas, más que sus productos de excreción/secreción, podían ser fuente de antígenos protectivos (53).

### 11.3. Desarrollo de la vacuna EG95

En la década del '90, con los avances en técnicas de ADN recombinante, el Dr. David Heath de la Ag Research (Nueva Zelanda) y el Dr. Marshall Lightowlers de la Universidad de Melbourne (Australia) pudieron desarrollar la vacuna EG95 a partir de RNAm obtenido de la oncosfera del parásito. En primer lugar, se activaron oncosferas *in vitro* para formar una librería de cDNA. Las proteínas resultantes fueron enfrentadas con sueros de ovinos hiperinmunizados con oncosferas de *E. granulosus* que mostraron ser inmunes a desafíos orales. Se eligieron seis posibles proteínas candidatas y cada cDNA fue clonado en *E. coli*, usando el plásmido vector pGEX, y expresado como una proteína de fusión unido a glutatión-S-transferasa (GST). La GST permite la purificación de la proteína de los extractos de *E. coli*. Una dosis de 50 µg de cada antígeno purificado fue testado junto a un adyuvante oleoso en animales. Los ovinos recibieron dos inmunizaciones con un intervalo de un mes y posteriormente fueron sometidos a un desafío oral con huevos de *E. granulosus*. Luego de seis meses se realizó la autopsia y la inspección de hígado y pulmones. De los seis antígenos evaluados, la proteína EG95 mostró la mayor protección (96%). Este antígeno fue evaluado con diferentes adyuvantes.

Los adyuvantes probados con la proteína EG95 fueron las saponinas, ISA 70 y Quil A, siendo este último el que indujo la producción de mayores niveles de anticuerpos y una mayor

persistencia de la protección contra los desafíos con los huevos del parásito, además de una mínima reacción inflamatoria en el sitio de inoculación (53, 54).

#### **11.4. Estudios de seguridad de la vacuna EG95**

La seguridad de la vacuna EG95 fue evaluada monitoreando el sitio de inoculación en los animales por al menos un mes después de la inyección, midiendo tamaño de hinchazón producida, tiempo que ésta tarda en desaparecer y presencia de dolor. La seguridad en ovinos y vacunos preñados demostró que no incrementó el número de abortos o de animales nacidos muertos respecto a los controles, y constatando la ausencia de efectos teratogénicos (54).

#### **11.5. Estudios de eficacia de la vacuna EG95**

La eficacia de una vacuna evalúa los efectos sanitarios cuando se aplica en condiciones óptimas e ideales, basándose en las ventajas que proporciona a los individuos a quienes se inmuniza (55). La eficacia de la vacuna EG95 fue evaluada en diferentes países como Argentina, Australia, China y Nueva Zelanda (56). Estas experiencias se basaron en aplicar una, dos o tres dosis de la vacuna a ovinos y caprinos libres de la enfermedad. Los animales vacunados y los controles fueron desafiados por vía oral con huevos de *Echinococcus granulosus* s.s., cinco a doce meses después de la vacunación. Posteriormente los animales fueron sacrificados a fin de constatar la presencia de quistes hidatídicos en sus vísceras (54). Los ensayos en Argentina fueron llevados a cabo en ovinos, en la localidad de Sarmiento (Chubut) a partir de 1995. Estos ensayos se realizaron con cohortes de 20 a 90 animales y los porcentajes de protección logrados contra la infección hidatídica fueron del 82-85% con una dosis, del 98-99% con dos dosis y del 100% con tres dosis de la vacuna (54, 57). En China se realizaron estudios a fin de evaluar la protección al desafío natural y se demostró una protección del 85-89% luego de dos dosis y una protección del 94-98% con tres dosis (54).

La transferencia materna de los anticuerpos producidos por la vacuna, a través del calostro, fue estudiada en un ensayo realizado en Chubut (Argentina) sobre diez ovejas y constatándose una protección del 98% para los corderos nacidos de dichas madres hasta los 40 días de vida (57). A su vez los estudios realizados en corderos y terneros de madres vacunadas revelaron niveles elevados de anticuerpos hasta 3 meses en los corderos, y de 4 a 5 meses en los terneros (54).

En China, se realizaron ensayos a gran escala en dos provincias vacunando 50.000 y 100.000 corderos. Luego de 15 meses se realizó la necropsia de 30 animales controles, de los cuales el 50% resultó infectado con 1 a 50 quistes mientras que de 30 animales vacunados, solo en un cordero se encontró un QH (54). La vacuna también ha sido probada en otros animales tales como caprinos y vacunos confirmando la protección a la infección por *E. granulosus* s.s. (53).

#### **11.6. Estudios de efectividad de la vacuna EG95**

En las vacunaciones es importante distinguir entre eficacia protectora y efectividad de los programas de vacunación. La eficacia de EG95, antes comentada, ya fue estudiada, pero la efectividad de su uso en un programa aun es materia pendiente. La efectividad evalúa los efectos sanitarios en el conjunto de la población objeto, cuando las condiciones de vacunación son las habituales de la práctica o uso clínico y son distantes de las óptimas. Lo habitual, es que para cualquier intervención de salud pública la eficacia sea superior a la efectividad. Existen diversas formas de evaluar la efectividad. Puede ser de forma experimental, como en los ensayos comunitarios aleatorizados, o de forma observacional, como los estudios de cohortes, estudios de casos y controles o los denominados “*before-after*

*studies*”. Estos últimos son estudios llevados a cabo para comparar los niveles de un problema de salud antes y después de una intervención sanitaria (55, 58).

Para EG95 se realizó un ensayo comunitario no aleatorizado de efectividad, en la provincia de Río Negro (Argentina) entre los años 2009 y 2015. Antes de la introducción de la vacuna el 56,3% de los animales de 6 años fueron positivos a la necropsia. Este valor disminuyó a 21,1% en 2015. El número de QH por animal disminuyó de 1,4 a 0,3. El número de establecimientos productores con al menos un animal infectado disminuyó de 94,7% en 2009 a 23,5% en 2015. La respuesta humoral a la vacunación mostró un aumento de los títulos luego de la aplicación de una segunda dosis y alcanzó un máximo después del refuerzo anual (59). En esta experiencia la cobertura de vacunación no fue del 100% y el nivel de protección de los animales fue del 62%, valor por debajo del obtenido en estudios experimentales de eficacia, en los cuales se ubicó entre el 90-100%. Estas diferencias pueden responder a dificultades geográficas, sociales y culturales inherentes a un estudio de campo (60). Este estudio sugiere que pueden haber otras variables que modifiquen la eficacia de la vacuna EG95 en el terreno, como por ejemplo el nivel de organización y financiación de los programas de control, los lugares de almacenamiento de la vacuna reconstituida, el estado de nutrición de los animales y el tiempo que transcurre entre la parición y la aplicación de la vacuna en corderos. Además, evidencia que la vacunación del ganado requiere una infraestructura importante, debido al elevado número de animales. Sin embargo, se considera que la vacuna EG95 es una herramienta que mejora la efectividad de los programas de control acompañada por la desparasitación de perros y la educación para la salud (60, 61).

## 12. Impacto socio-económico de la equinocosis quística

Los primeros estudios de evaluación económica de los programas de salud aparecieron a finales de los años 1960 y cobraron fuerza a mediados de la década de 1980. Estos primeros estudios utilizaban indicadores de impacto (62).

Se puede definir la Carga de Enfermedad como la medida de las pérdidas en salud que para una población representan tanto las consecuencias mortales como no mortales de las diferentes patologías y lesiones. Esta medida comprende a las muertes prematuras, a los años perdidos por discapacidad y a la disminución o pérdida de la calidad de vida (63). El indicador que resume las medidas de mortalidad y morbilidad es el AVAD (años de vida ajustados por discapacidad), también conocido por sus siglas en inglés DALYs (*Disability-Adjusted Life-Years*) y que se estableció en 1993 como un indicador sintético de salud en el marco del “Informe de Desarrollo Mundial 1993: Invertir en Salud”. Los AVAD combinan los años potenciales de vida perdidos (APVP) más los años vividos con discapacidad (AVD) dentro del proceso salud enfermedad. Un AVAD es por lo tanto un año de vida saludable perdido (64).

Según Budke (2006), la hidatidosis causa más de 1.009.662 DALYs en todo el mundo (65). La estimación de la carga de la EQ en la República Argentina es importante para conocer el impacto que produce en los sistemas de salud del país. Esta herramienta se usa con el fin de instalar programas de control y atención en las áreas que revelan necesidades, y para evaluar el impacto de las acciones de control que se están llevando a cabo. Los AVISA (años de vida saludables) en EQ son los años de vida saludables perdidos a causa de la patología. Este indicador se obtiene sumando las pérdidas por la mortalidad prematura y los

años vividos con discapacidad. En Argentina, durante el transcurso del período 1987-2005 se perdieron en total 47.407,54 AVISA por causa de la EQ. Teniendo en cuenta el Censo Nacional del año 2001, y considerando que el ciclo de la enfermedad predomina en las áreas rurales y silvestres dedicadas a la producción animal, el 10,7 % de la población total del país vive en áreas de riesgo donde el ciclo de transmisión está fuertemente consolidado. De esta manera se podría expresar que el 10,7 % de los habitantes en riesgo del país, vivieron en conjunto 47.407,54 años sin calidad de vida (63).

Los aspectos económicos de los efectos de la hidatidosis también son importantes para la evaluación de los programas de control. Esto permite comparar intervenciones alternativas según los costos y los efectos sobre la salud. En evaluación económica, los costos pueden clasificarse en tangibles e intangibles. Los tangibles son aquellos que pueden cuantificarse, en cambio los intangibles son difíciles de medir y están asociados al dolor y sufrimiento del paciente y su familia. Los costos tangibles pueden subdividirse en directos e indirectos (66). Los costos directos son los asociados al diagnóstico y tratamiento del paciente, y los costos indirectos están vinculados a las pérdidas de productividad.

El impacto socio-económico en la población relacionado a la hidatidosis deriva de la infección en el humano y en el ganado. Los costos directos asociados a la infección en humanos se deben a gastos médicos de diagnóstico, de tratamiento farmacológico, de hospitalización, de tratamiento quirúrgico, de recuperación y de seguimiento del paciente. Según la FAO (2007) si el paciente es intervenido quirúrgicamente el costo se estima en U\$ 4.440; mientras que si el paciente recibe tratamiento con medicamentos el costo es de U\$ 1.400 (67). Los costos indirectos son el ausentismo laboral, la pérdida de productividad y el abandono de las actividades laborales y traslado del grupo familiar a cargo del cuidado del

paciente. Los costos intangibles se asocian a la disminución de la calidad de vida relacionada con la salud del paciente y a las secuelas y consecuencias que implican la pérdida de un órgano (67, 68).

Las principales consecuencias económicas asociadas a la hidatidosis en el ganado también se clasifican en directas e indirectas. Los costos directos son las pérdidas por decomiso de vísceras, especialmente hígado y pulmón de los animales infectados. Los costos indirectos están asociados a la reducción en el rendimiento y la calidad de la lana, la carne y la leche de los mismos y a la disminución de la fertilidad. Estas pérdidas económicas se estiman en un 10% o más y representan un importante impacto en la economía (69, 70). Las pérdidas económicas anuales en el sector ganadero a nivel mundial debidas a la hidatidosis se estiman en US\$ 1.249 millones (65). En la República Argentina se decomisan, por año, 25.000 toneladas de vísceras de ovinos, bovinos, caprinos y porcinos infectadas con hidatidosis (71).

## **JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

En virtud de la escasa evidencia sobre la efectividad de la vacuna EG95 como herramienta dentro de un Programa de Control, el presente trabajo de tesis analizará el impacto de la aplicación de la misma en un contexto particular como El Chalfá (Chubut, Argentina). Además se avanzará en el conocimiento integral de la epidemiología local evaluando el impacto sanitario y económico de la EQ humana en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut, con el fin de aportar información actualizada sobre la situación de la enfermedad en la región, analizando el uso combinado de herramientas tradicionales, conjuntamente con la vacuna EG95, para el control de la patología en un escenario natural de transmisión.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

El objetivo del presente estudio es evaluar la efectividad de la vacuna EG95 para ganado como herramienta de control y describir aspectos operativos que condicionan su utilización en una región endémica remota, así como evaluar el impacto económico de la enfermedad en Chubut (Argentina) durante los años 2007 al 2017.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Describir la situación equinococica en El Chalía (Chubut, Argentina) en forma previa y posterior a la implementación de la vacuna EG95.
2. Definir los aspectos inmunobiológicos en animales vacunados.
3. Evaluar la influencia de la inmunidad adquirida en el HI sobre la dinámica de transmisión de la hidatidosis en El Chalía (Chubut, Argentina) durante los años 2008 al 2015.
4. Valorar el impacto socioeconómico de la enfermedad en El Chalía y en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut durante los años 2009 al 2017.
5. Describir los factores condicionantes de la aplicación de la vacuna EG95 en el terreno y determinar la cobertura alcanzada.

## **MATERIALES Y METODOS**

A continuación, se detallan los aspectos metodológicos del estudio, según cada uno de los objetivos específicos antes detallados (ver. Pág. 47)

### **1. Objetivo 1: describir la situación equinococica en El Chalía (Chubut, Argentina) en forma previa y posterior a la implementación de la vacuna EG95.**

#### **1.1. Diseño**

Para este objetivo se aplicó un diseño observacional longitudinal con componente de estudio pre-post vacunación (*befor-after studies*).

#### **1.2. Área y período de estudio**

Se realizó en El Chalía (Chubut, Argentina) durante los años 2007 al 2015. El Chalía (45°41'S, 70°59'O) (Figura 6) es una comuna rural ubicada en el Departamento Senguer de la provincia de Chubut (Argentina) y tiene una superficie de 32.902 hectáreas, que fueron otorgadas en 1990 en propiedad a los pueblos originarios que habitan la región por Decreto Ley N° 1601 de la Provincia de Chubut. Los recursos hídricos naturales de El Chalía son la laguna Quinchamal, y los ríos Chalía Chico y Chalía Grande. El clima en la zona es frío y seco; con temperaturas extremas que van de los 30 a 40°C de máxima en verano a los -10 °C de mínima en invierno. Hay heladas durante gran parte del año, las precipitaciones son escasas y el viento es constante. Las nevadas invernales aportan agua en tiempo de deshielo y en invierno dejan a la localidad aislada. La comunidad está constituida por pobladores de origen tehuelche y mapuche. La comuna posee 81 habitantes que están distribuidos en aproximadamente 25 unidades domésticas (UD) (Figura 7). Esta población presenta gran

movilidad estacional debido a que, de noviembre a mayo, la mayoría de los varones salen a trabajar a los establecimientos ganaderos (estancias) de la región y, de marzo a noviembre los niños/as en edad escolar están en colegios con modalidad de internado en la localidad de Río Mayo (Chubut, Argentina). La accesibilidad a esta comuna es limitada, debido a factores geográficos (zonas extensas y crecidas de los ríos), climáticos (las nevadas durante los meses de invierno dejan a los pobladores aislados hasta 8 meses al año), y logísticos como caminos en mal estado (Fig.8) (72).

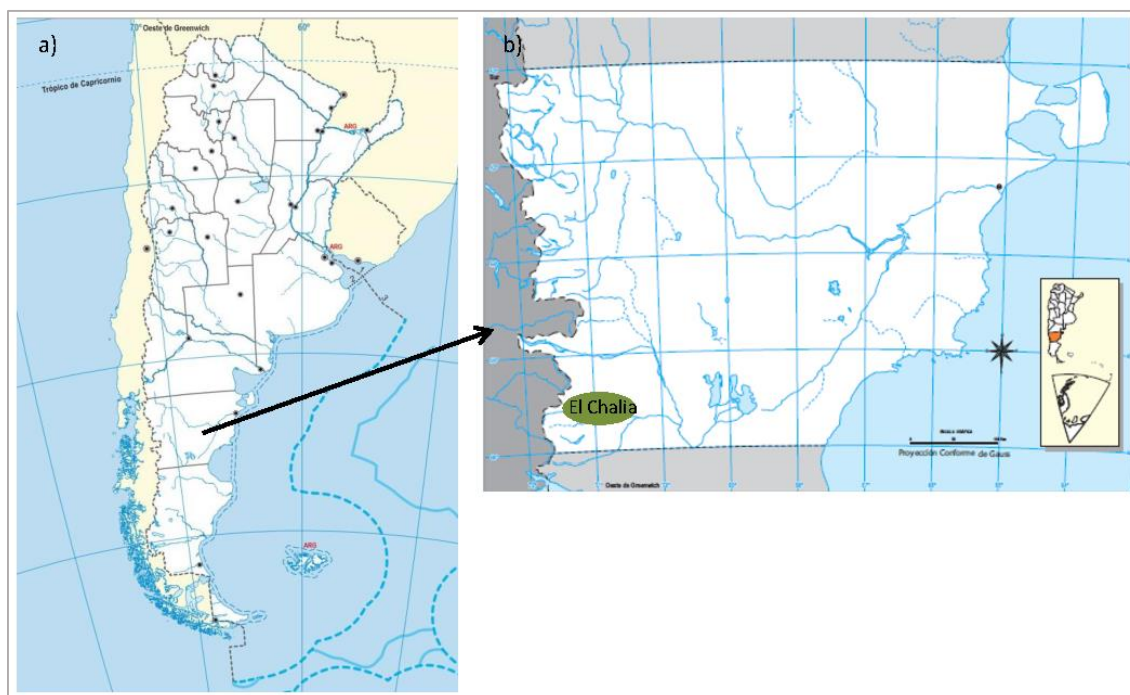


Figura 6: localización geográfica del área de estudio: a) Argentina; b) Provincia de Chubut y El Chalía: Fuente: reproducción con autorización del Instituto Geográfico Nacional.

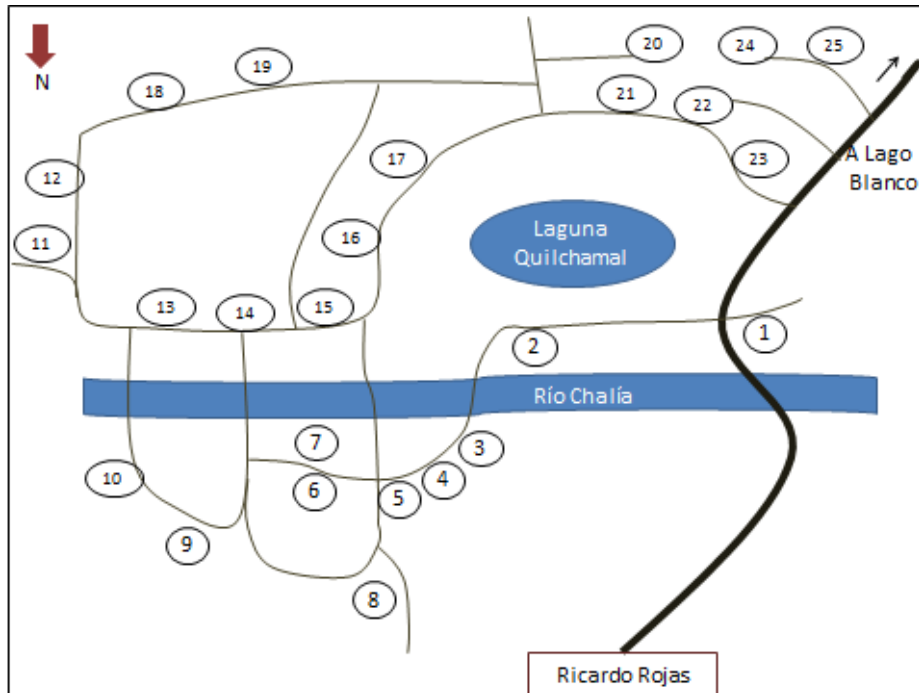


Figura 7: representación esquemática de la distribución de unidades domésticas (1 a 25) en El Chalía (Chubut, Argentina).



Figura 8: ambiente y camino de acceso a El Chalía (Chubut, Argentina).  
Fuente: foto propia.

La cría de ganado ovino y caprino constituye la base de la economía productiva del lugar y su modalidad de explotación es extensiva (72). Según los datos aportados por el Departamento de Zoonosis de la provincia de Chubut (Argentina), en El Chalfía había en el año 2007, aproximadamente, 11.000 ovinos y 1.000 caprinos (Figura 9). Entre las UD que poseen ganado hay un promedio de 270 cabezas por UD (72).

a)



b)



Figura 9: imágenes de la cría de ovinos en El Chalfía. a) rebaño pastando; b) ovinos en corral.  
Fuente: foto propia.

A nivel asistencial, la comuna depende del puesto sanitario de la localidad de Dr. Ricardo Rojas (Chubut, Argentina), el cual dispone de un enfermero y dos agentes sanitarios. Según reportes oficiales esta comuna presenta la mayor frecuencia de aparición de casos humanos de hidatidosis y de perros con equinocosis de la Comarca Río Senguer Golfo San Jorge (Chubut, Argentina) (Figura 10). Los datos registrados para el año 2007 mostraron una frecuencia de hidatidosis en humanos del 39%, mientras que la frecuencia de hidatidosis en toda la comarca fue del 6% (73).



Figura 10: localización de la Comarca Río Senguer Golfo San Jorge (Chubut, Argentina).  
Fuente: documento “Estrategia Provincial para el Sector Agroalimentario” (96).

En 2007 la frecuencia de equinocosis canina registrada fue del 25% (74). Factores de naturaleza socio-cultural y ambientales del lugar favorecen el mantenimiento del ciclo de la enfermedad. Los factores a considerar son: la tenencia de perros y la estrecha convivencia

con las personas. Por ejemplo, se ha constatado que los perros consumen las vísceras que son arrojadas durante la faena domiciliaria de los animales. El Departamento de Zoonosis de la Secretaría de Salud de la provincia de Chubut (Argentina) incorporó desde el año 2007 la vacuna EG95 a las acciones que lleva a cabo dentro del Programa de Control de la hidatidosis en la zona. Así, en El Chalía desde el año 2007 se realizaron sucesivas campañas de vacunación con EG95. Las dosis fueron donadas por la Universidad de Melbourne (Melbourne, Australia) (Figura 11).



Figura 11: campaña de vacunación con EG95 realizada en El Chalía en el año 2009 con personal del Departamento de Zoonosis de la provincia de Chubut. Fuente: foto propia.

### 1.3. Metodología

Para el reconocimiento de la situación equinocócica local pre-post vacunación, se consideraron los siguientes aspectos:

- 1- Frecuencia de aparición de hidatidosis en humanos.
- 2- Frecuencia de aparición de hidatidosis en ovinos.
- 3- Frecuencia de aparición de equinococosis en perros.
- 4- Presencia de huevos de Taeniidae en agua, suelo y materia fecal canina recolectada del ambiente.
- 5- Presencia de antígenos de *Echinococcus* spp. en materia fecal canina ambiental.

#### 1.3.1 Determinación de la frecuencia de aparición de hidatidosis en humanos

Se realizó un catastro durante el año 2007, en 27 personas adultas (20 varones y 7 mujeres) que accedieron a participar del mismo. Se solicitó en cada caso el consentimiento informado para la realización de las pruebas. Se realizaron ecografías abdominales y la obtención de sueros para el diagnóstico serológico. La detección de anticuerpos anti-*E. granulosus* fue realizado *in situ* por técnica de hemaglutinación indirecta (HAI) usando el producto comercial HIDATEST (Sensibilidad: 100%; Especificidad: 99%).

#### 1.3.2 Determinación de la frecuencia de aparición de EQ en ovinos

La determinación de la frecuencia de aparición de hidatidosis en ovinos se llevó a cabo por serología a partir de muestras de suero obtenidas en diciembre de 2007 y en enero de 2008 (Figura 12). Cada suero se obtuvo a partir de sangre extraída por punción venosa, con posterior centrifugación a 2000 rpm por 10 minutos. El suero fue separado y conservado a

-18 °C hasta su procesamiento. La extracción de sangre se efectuó en un animal de cada 10 o 20 vacunados y solamente en el equipo de trabajo en el cual participe personalmente.

El diagnóstico serológico para la detección de anticuerpos anti-*E. granulosus* fue realizado por técnica de ELISA según Gatti et al. (2007) (75). Se procesaron 40 sueros provenientes de 38 corderos menores de un año pertenecientes a seis unidades domesticas (UD) (Tabla 4). Además, se procesaron 7 muestras de suero provenientes de ovejas de más de 1 año de edad. Cada una de las muestras provenía de siete establecimientos diferentes.

Tabla 4: sueros de corderos obtenidos por cada unidad doméstica (UD) según fecha.

Identificación de UD	N° de sueros obtenidos (Diciembre de 2007)	N° de sueros obtenidos (Enero de 2008)
6	0	1
8	10	7 (1)*
12	2	0
14	4	0
19	6	1 (1)*
20	3	6

\*El paréntesis indica el número de animales a los cuales se les sacó una segunda muestra de sangre en Enero de 2008.



Figura 12: extracción de sangre por punción de la vena yugular en ovinos. El Chaliá, enero 2008. Fuente: foto propia.

### 1.3.3 Determinación de la prevalencia de equinocosis canina

La frecuencia de aparición de equinocosis canina se obtuvo a partir de un estudio previo realizado por nuestro grupo, en abril de 2007, en cooperación con el Departamento de Zoonosis de la Secretaría de Salud de la Provincia de Chubut (Argentina) (74). Dicho estudio sobre la situación de parasitosis caninas se realizó mediante la prueba de arecolina. Durante este relevamiento se estudiaron 48 canes en dos zonas de El Chaliá: 11 perros de la zona próxima a la Laguna Quinchamal y 37 perros de la zona cercana a El Galpón. Todas las muestras de contenido intestinal de los perros fueron preservadas en solución fisiológica formulada al 10% para posterior estudio en laboratorio. Se realizó la búsqueda de parásitos intestinales por las técnicas de Telemann y de Willis. Para el estudio de cepas de *E. granulosus*, cinco de los ejemplares adultos hallados de dicho parásito, fueron separados y conservados en etanol 70% de forma individual, en tubos de vidrio herméticamente cerrados y remitidos en condiciones de bioseguridad para su genotipificación según técnica de Kamenetzky et al. (76) al laboratorio de la Cátedra de Microbiología y Parasitología de la Escuela de Medicina de la Universidad Nacional del Comahue (Argentina). Las muestras fueron procesadas analizando las secuencias de ADN mitocondrial (cox 1 y nad 1) (34).

Posteriormente, en abril de 2015 se analizaron 16 perros por la técnica de arecolina. Los perros provenían de 4 UD diferentes (Figuras 13 y 14).



Figura 13: perros preparados para la prueba de purga con bromhidrato de arecolina en El Chalcía, 2015. Fuente: foto propia.



Figura 14: ejemplar de *Taenia* spp. obtenido mediante prueba de bromhidrato de arecolina a partir de perros de El Chalcía. Abril 2015. Fuente: foto propia.

#### 1.3.4 Búsqueda de huevos de Taeniidae en agua

El agua fue recolectada de cuerpos de agua superficial. Se recolectaron 6 muestras en el año 2009 y 3 muestras en el año 2015. Cada muestra provenía de una UD diferente. Las muestras fueron recogidas en recipientes de 8 litros de capacidad con cierre hermético y se

almacenaron protegidas de la luz y a temperatura ambiente, hasta su procesamiento (Figura 15). Para la búsqueda de huevos de Taeniidae las muestras fueron concentradas por centrifugación durante 10 minutos a 1500 rpm. Luego se procesaron por técnicas de Willis y Teleman modificado (77, 78). La búsqueda de huevos se realizó por duplicado usando microscopía óptica convencional con aumento de 400x en microscopio Guangzhou.



Figura 15: toma de muestra de agua en una unidad doméstica en El Chalfá. Abril 2015. Fuente: foto propia.

### 1.3.5 Búsqueda de huevos de Taeniidae en suelo

Las muestras de suelo se recolectaron de 7 UD en el año 2009 y de 4 UD en el año 2015. Cada muestra se obtuvo a partir de cuatro puntos de muestreo diferentes en cada uno de estas UD y a una distancia de 50 m alrededor de cada vivienda. Cada muestra estuvo constituida por 50 g de suelo superficial obtenido a partir de 10 cm<sup>2</sup> de superficie y de 5 cm de profundidad. Las muestras se colocaron en colectores plásticos con cierre hermético y se almacenaron a temperatura ambiente y a resguardo de la luz, hasta su procesamiento. Las

cuatro muestras de suelo provenientes de cada UD, se procesaron como una muestra compuesta (por cuatro porciones de 10 g cada una) en el laboratorio, para lo cual se pasaron por el tamiz y se homogeneizaron. Posteriormente se estudiaron por técnicas de Willis, Faust y Teleman modificado (78, 79). La búsqueda de huevos se realizó por duplicado usando microscopía óptica convencional con aumento de 400x en microscopio Guangzhou.

### 1.3.6 Búsqueda de huevos de Taeniidae en materia fecal canina ambiental

Se recolectaron 22 muestras de materia fecal canina recogidas del ambiente (mfca) de 7 UD en el año 2009 y 23 muestras de mfca de 4 UD en el 2015 (Tabla 5 y Figura 16). Estas muestras se recolectaron de un radio de hasta 50 m alrededor de la casa de cada UD. Las heces se recolectaron en formol al 10%, en colectores plásticos con cierre hermético y se almacenaron al resguardo de la luz y a temperatura ambiente. La búsqueda de huevos de Taeniidae se realizó según las técnicas de sedimentación de Teleman y flotación de Willis. La búsqueda de huevos se realizó por duplicado usando microscopía óptica convencional con aumento de 400x en microscopio Guangzhou.

Tabla 5: número de muestras de materia fecal canina ambiental estudiadas en distintos períodos según unidad doméstica muestreada. N=45.

Código de UD	Marzo 2009	Abril 2015
	N° de muestras estudiadas	N° de muestras estudiadas
8	5	11
19	2	0
13	3	4
12	1	0
9	3	4
14	4	0

15	4	0
11	0	4
Total	22	23



Figura 16: toma de muestra de materia fecal canina en una unidad doméstica en El Chaliá. Abril 2015. Fuente: foto propia.

### 1.3.7 Detección de coproantígenos de *Echinococcus* spp.

La determinación de coproantígeno de *Echinococcus* spp. se realizó sobre una alícuota de cada una de las 45 muestras de mfca. Para ello esta alícuota se recogió en un colector estéril sin conservante y se inactivó en freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 21 días. Para la obtención de coproantígenos a cada muestra se le agregó buffer PBS 0.15 M con 0.3% de Tween 20, en relación 1:1. Se agitó cada muestra con vórtex a 1000 rpm durante 30 segundos y se centrifugó a 3500 rpm durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se separó el sobrenadante

conservándolo a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento. La detección de coproantígenos de *Echinococcus* spp. se realizó sobre estos sobrenadantes por técnica de ELISA según Allan et al. (1992) (80). Se consideró como valor de corte una absorbancia de 0.293. Las muestras de mfca se procesaron individualmente, y como su resultado expresa la situación sanitaria del espacio físico que se analiza, o sea de cada UD, el valor se presenta como el índice de infección del sitio que es objeto de estudio. Según las “Normas técnicas y manual de procedimientos para el control de la hidatidosis” (31) del Ministerio de Salud de la Nación del año 2009, se aplica una ecuación para calcular el índice de infección ambiental según:

$$\text{Índice de infección ambiental} = \frac{\text{Muestras positivas} \times 100}{\text{Total de muestras}}$$

El resultado es el porcentaje de heces de perros positivas, lo cual además de indicar la presencia del parásito, permite estratificar la UD por niveles de riesgo (31) de acuerdo a:

- ✓ Menor de 5 %: infección baja
- ✓ De 5 a 10 %: infección media
- ✓ Mayor de 10 %: infección alta

## **2. Objetivo 2: definir los aspectos inmunobiológicos en animales vacunados con EG95**

### **2.1. Diseño**

Para este objetivo se aplicó un diseño observacional longitudinal con componente de estudio pre-post vacunación (*befor-after studies*).

## 2.2. Área y período de estudio

El presente trabajo se realizó en El Chalfá (Chubut, Argentina) durante los años 2007 al 2009.

## 2.3. Metodología

Las dosis de vacuna EG95 administradas a los animales de El Chalia correspondieron a lotes donados por el Dr. Marshall Lightowlers (Universidad de Melbourne, Australia) al Departamento de Zoonosis de la provincia de Chubut (Argentina). La vacuna se presentó liofilizada y se conservó a 4°C. El día de la vacunación cada liofilizado se reconstituyó con 100 ml de agua destilada estéril y se mantuvo a 4°C hasta el momento de su aplicación. La vacuna EG95 se inoculó por vía subcutánea en la tabla del cuello o la axila de los animales utilizándose para ello material descartable (Figura 17). La cantidad administrada en cada dosis fue de 1 ml de vacuna reconstituida representando una dosis de 50 µg de proteína EG95. Cada animal vacunado contó con una caravana identificatoria.

A fines de mejorar el aspecto logístico, el grupo de trabajo se separó en 4 equipos y cada uno asistió a diferentes UD para la vacunación.



Figura 17: inoculación vía subcutánea de ovinos durante la campaña de vacunación con EG95 realizada en El Chalfá en el año 2009, junto a pobladores locales. Fuente: foto propia.

El esquema de la vacunación de ovinos y caprinos con la vacuna EG95 en El Chalfá fue el siguiente: dos dosis iniciales con un mes de separación entre ellas y posteriores refuerzos anuales. Las primeras dosis de la vacuna EG95 se aplicaron en diciembre de 2007 y en enero de 2008. A partir de entonces se siguió con los refuerzos anuales (Figura 18 y 19). Los caprinos no fueron incluidos en este estudio para la serología.

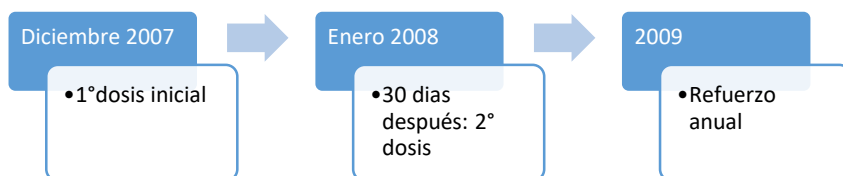


Figura 18: esquema de vacunación realizado en El Chalfá.

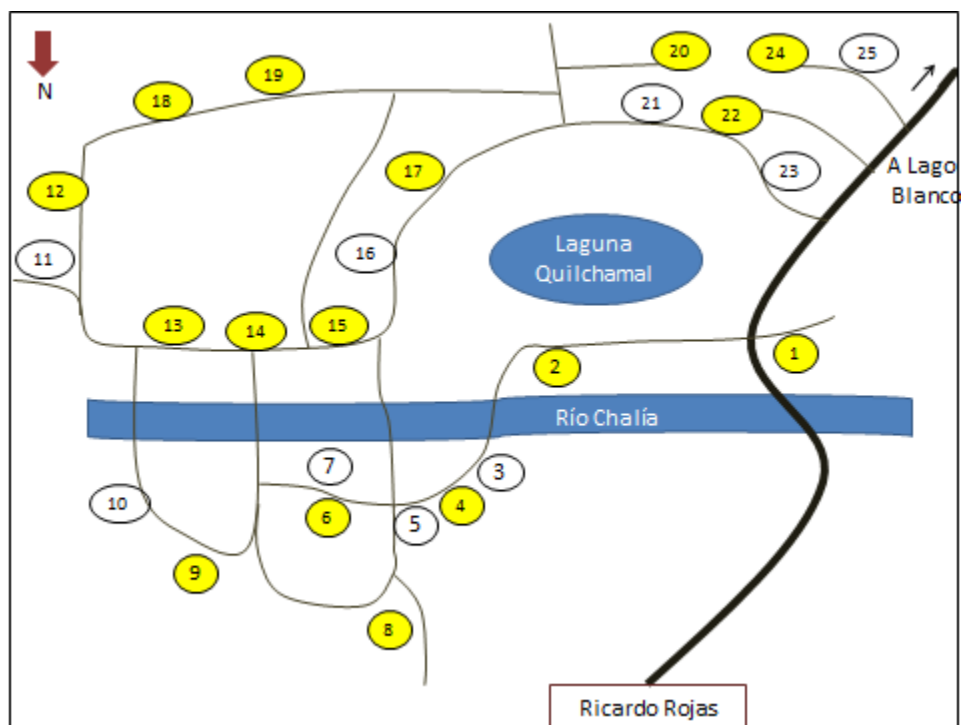


Figura 19: esquema de distribución de los establecimientos en los que se aplicó la vacuna EG95 (color amarillo) en El Chalfá entre 2007 y 2009 (Chubut, Argentina).

### 2.3.1 Determinación de anticuerpos anti EG95 en ovinos vacunados

Durante diciembre de 2007 y marzo de 2009 se realizaron las extracciones de sangre a los animales. Se analizaron 32 muestras distribuidas de la siguiente manera: 18 correspondieron a corderos en forma previa a la aplicación de la 1° dosis de la vacuna (representa el 0,94% de los animales vacunados), 6 muestras correspondieron a corderos a los cuales se les había aplicado la 1° dosis un mes anterior (la extracción fue realizada el día de aplicación de la 2° dosis y representa el 0,79% de los animales vacunados) y 8 muestras correspondían a corderos un año después de aplicar la 2° dosis. La baja cantidad de sueros obtenidos está relacionado a problemas logísticos y de tiempo explicados en las páginas 55 y 63. Los sueros de ovinos se obtuvieron a partir de 10 ml de sangre extraída por punción venosa y se conservaron a  $-18^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento. La determinación de anticuerpos

anti-EG95 se realizó por medio de la técnica de IgG K-ELISA utilizando EG95 como antígeno (57). Esta técnica fue realizada por el Dr. Fernández del Hospital Zonal de Trelew (Chubut, Argentina).

### **2.3.2 Determinación del título de anticuerpos anti EG95 en ovinos vacunados**

El título de anticuerpos anti-EG95 se determinó en las 9 muestras positivas del ensayo anterior. Dos muestras procedieron de corderos después de un mes de la 1° dosis y 7 muestras provinieron de corderos después de un año de la 2° dosis de vacuna EG95. La determinación se realizó por medio de la técnica de ELISA mencionada anteriormente realizando diluciones de los sueros desde 1:100 hasta 1:3200. Se registraron las absorbancias en lector para ELISA a 620 nm a diferentes tiempos hasta los 28 minutos.

## **3. Objetivo 3: evaluar la influencia de la inmunidad adquirida en el hospedero intermediario sobre la dinámica de transmisión de la EQ en El Chalía**

Estos costos intangibles son difíciles de cuantificar y están asociados a factores subjetivos de la persona y sus convivientes, por internaciones prolongadas y otros padecimientos relacionados al desarraigo del paciente de zonas rurales, a la falta de contacto con sus escasos bienes, desvinculación con los afectos y aislamiento de su contexto natural (71).

### **3.1. Diseño**

Para este objetivo se aplicó un diseño observacional longitudinal con componente de estudio pre-post vacunación (*befor-after studies*).

### **3.2. Área y período de estudio**

Este trabajo se realizó en El Chalía (Chubut, Argentina) durante los años 2007 al 2015.

### 3.3. Metodología

La evaluación de la influencia de la vacuna EG95 en El Chalfía entre los años 2007 y 2015 se realizó analizando los resultados en forma previa y posterior a su aplicación, comparando frecuencia de hidatidosis en humanos, frecuencia de hidatidosis en ovinos, prevalencia de equinococosis canina, presencia de huevos Taeniidae en el ambiente y determinación en mfca de huevos de Taeniidae y de coproantígenos. La evaluación de la efectividad y los factores que condicionan la aplicación de la vacuna EG95, se realizó describiendo las campañas realizadas en El Chalfía en diciembre de 2007, en enero de 2008 y en marzo de 2009. El análisis se completó comparando con estudios similares realizados en la provincia de Río Negro (Argentina) entre los años 2009 y 2015 (59, 60, 61).

## 4. Objetivo 4: valorar el impacto socioeconómico de la enfermedad en El Chalfía y en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut

### 4.1. Diseño

Para este objetivo se aplicó un diseño cualitativo de corte fenomenológico y de estudio de costes.

### 4.2. Área y período de estudio

Se realizó en el Área Programática Sur de la provincia de Chubut (Argentina) entre los años 2009 y 2017, y en El Chalfía (Chubut, Argentina) durante el año 2015.

### 4.3. Metodología

Para conocer los aspectos socioeconómicos relacionados a la enfermedad en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut se evaluaron los casos documentados por la División de Zooantroponosis de la Provincia (Ministerio de Salud) para hidatidosis entre

2009 y 2017. El Área Programática Sur incluye los departamentos de Río Senguer, Sarmiento y Escalante (Figura 20). Según el último Censo Nacional correspondiente al año 2010, esta área tiene una población de 203.958 habitantes, de los cuales, más del 91 % (186.583 habitantes) se concentran en el departamento Escalante. Los departamentos de Río Senguer y Sarmiento tienen 5.979 y 11.396 habitantes respectivamente, y su economía está vinculada principalmente a la actividad ganadera.

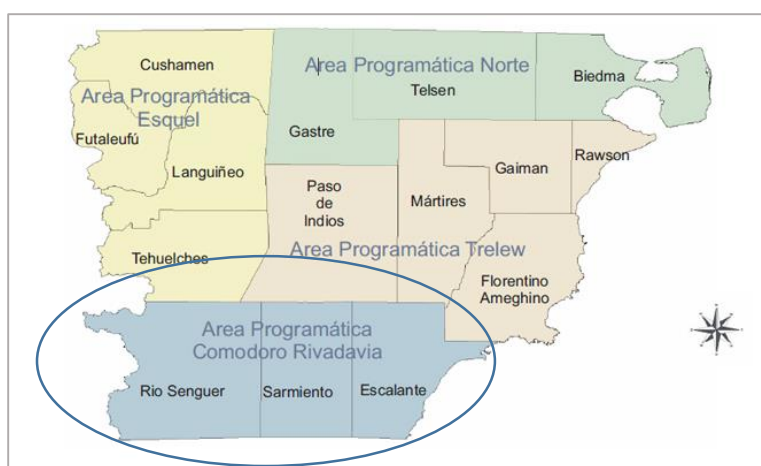


Figura 20: localización geográfica del Área Programática Sur de la Provincia de Chubut.

Fuente: Dirección General de Estadísticas y Censos - Chubut.

Se caracterizaron las variables epidemiológicas de edad, sexo y lugar de residencia. Se evaluó en cada caso localización del quiste hidatídico (QH) y el tratamiento efectuado. Se calculó la incidencia anual media (IAM), los años de vida prematuramente perdidos (AVPP) y se estimaron costos directos (CD) derivados del diagnóstico y del tratamiento usando el Nomenclador Nacional de Hospitales Públicos de Gestión Descentralizada (HPGD). Se realizó una estimación de costos promedio de una cirugía de QH hepático. Se consideró un período de internación de 7 días en el servicio de cirugía. Habitualmente se solicita una ecografía y /o una radiografía de control a los 3, 6 y 12 meses después de la cirugía (en

pacientes asintomáticos). Durante el seguimiento se realizan 3 ciclos de medicación con albendazol con controles de hemograma, perfil hepático y función renal cada 35 a 40 días. Para la estimación de costos también se consideraron datos de FAO (2007). La conversión de pesos a dólares se realizó a través del sitio web del Banco Nación de la República Argentina. Para evaluar los aspectos socioeconómicos de la enfermedad en El Chalía se realizó un cuestionario *ad hoc* a pobladores locales durante el año 2015, respecto a su percepción personal acerca de su estado de salud. En todos los casos se solicitó el consentimiento informado. Los modelos de cuestionario y consentimiento informado se encuentran en el Anexo 1. Se entrevistó a cinco voluntarios (cuatro varones y una mujer).

## **5. Objetivo 5: describir los factores condicionantes de la aplicación de la vacuna EG95 en el terreno**

### **5.1. Diseño**

Para este objetivo se aplicó un diseño cualitativo de corte fenomenológico.

### **5.2. Área y período de estudio**

Se realizó en El Chalía (Chubut, Argentina) entre los años 2008 y 2011.

### **5.3. Metodología**

La información sobre los factores condicionantes recopilada mediante observación a campo de las acciones de aplicación de la vacuna, se documentó en una lista en la cual se identificaron aquellas que se repetían sistemáticamente entre una campaña de vacunación y otra. Se ordenó a estos factores, clasificándolos en aquellos de tipo logísticos, técnicos y

culturales. Se contrastó con lo reportado en la literatura científica en estudios similares. Sobre esta base, se realizó una propuesta de mejora para disminuir la influencia de dichos factores.

## 6. Análisis de datos

Se realizó estadística descriptiva aplicando porcentajes y medidas de tendencia central, según corresponda a cada variable.

Para determinar la frecuencia de aparición de parásitos intestinales en perros, se aplicó el siguiente cálculo:

$$\text{Frecuencia de aparición} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de muestras positivas para parásitos intestinales} \times 100}{\text{N}^\circ \text{ total de muestras analizadas}}$$

Para determinar diferencias entre frecuencias de aparición de casos se utilizó el test de Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ). Se estimó IC95% en los casos que correspondían mediante software win Epi y Excel 2016.

## 7. Bioseguridad

En todas las instancias del presente estudio se aplicaron las medidas de bioseguridad adecuadas para el manejo de muestras potencialmente contaminadas con *Echinococcus* spp. (considerado por OMS como un microorganismo de riesgo 2) u otros organismos.

## 8. Aspectos ético-legales

Se contemplaron los aspectos éticos y legales requeridos en las leyes y directrices nacionales e internacionales referidas a investigación de ámbito sanitario, con personas y con animales. Se aplicó encriptamiento a la base de datos del estudio y codificación de las UD, a fin de preservar los datos de los propietarios. Toda la información fue tratada de

manera anónima y disociada de la identidad del paciente. El presente estudio fue aprobado por el Comité de Bioética Área Programática Sur de la Provincia de Chubut (Argentina) según dictamen que se adjunta en el Anexo 2.

## **RESULTADOS**

A continuación se detallan los resultados obtenidos según cada uno de los objetivos específicos antes detallados (ver. Pág. 47).

### **1. Objetivo 1: describir la situación equinococica en El Chaliá (Chubut, Argentina) en forma previa y posterior a la implementación de la vacuna EG95.**

#### **1.1. Determinación de la frecuencia de aparición de hidatidosis en humanos**

En el año 2007 se realizó un catastro a 27 personas adultas (20 varones y 7 mujeres) sobre un total de 81 habitantes de El Chaliá (población de la provincia de Chubut: 509.108 habitantes). Los resultados obtenidos se muestran en las Tablas 6 y 7. El 36,8% de las 19 muestras de suero obtenidas resultaron positivas en la determinación de anticuerpos anti-*E. granulosus* por el método de HAI. Respecto a las ecografías abdominales, de las 23 personas estudiadas por este método solo una resultó positiva detectándose un QH alojado en hígado.

Tabla 6: frecuencias absolutas y relativas de casos humanos positivos para *E. granulosus* por HAI. El Chaliá (Chubut, Argentina), 2007. N=20

Determinación de hidatidosis por HAI	N	Frecuencia relativa (%)
Positivo	7	36,8
Negativo	12	63,2
Total	19	100

Tabla7: frecuencias absolutas y relativas de casos humanos positivos para hidatidosis por ecografía abdominal. El Chalia (Chubut, Argentina), 2007. N= 23.

Casos de hidatidosis por ecografía abdominal	N	Frecuencia relativa (%)
Positivos	1	4,3
Negativos	22	95,7
Total	23	100

## 1.2. Determinación de la frecuencia de aparición de equinocosis quística en ovinos

La determinación de la frecuencia de aparición de hidatidosis en ovinos se llevó a cabo por la técnica de ELISA, a partir de las 40 muestras de suero obtenidas entre Diciembre de 2007 y Enero de 2008 provenientes de corderos nacidos en 2007. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 8 y Figura 21. Se obtuvieron siete sueros positivos y uno indeterminado (UD n°12) para hidatidosis. Paralelamente se procesaron 7 muestras de suero provenientes de ovejas de más de 1 año de edad, resultando en este caso, dos positivas (28,57%), dos negativas (28,57%) y tres indeterminadas para hidatidosis (42,86%). La comparación entre ambos grupos se muestra en Tabla 9.

Tabla 8: frecuencias absolutas y relativas de aparición de sueros de cordero positivos para hidatidosis por ELISA según establecimiento estudiado. El Chalfá (Chubut, Argentina). N= 40 sueros.

Código de UD	N° de sueros procesados	N° de sueros positivos para hidatidosis	Frecuencia relativa de sueros positivos para hidatidosis (%)
6	1	0	0
8	17	5	29,4
12	2	0	0
14	4	1	25
19	7	0	0
20	9	1	11,1
Total	40	7	17,5

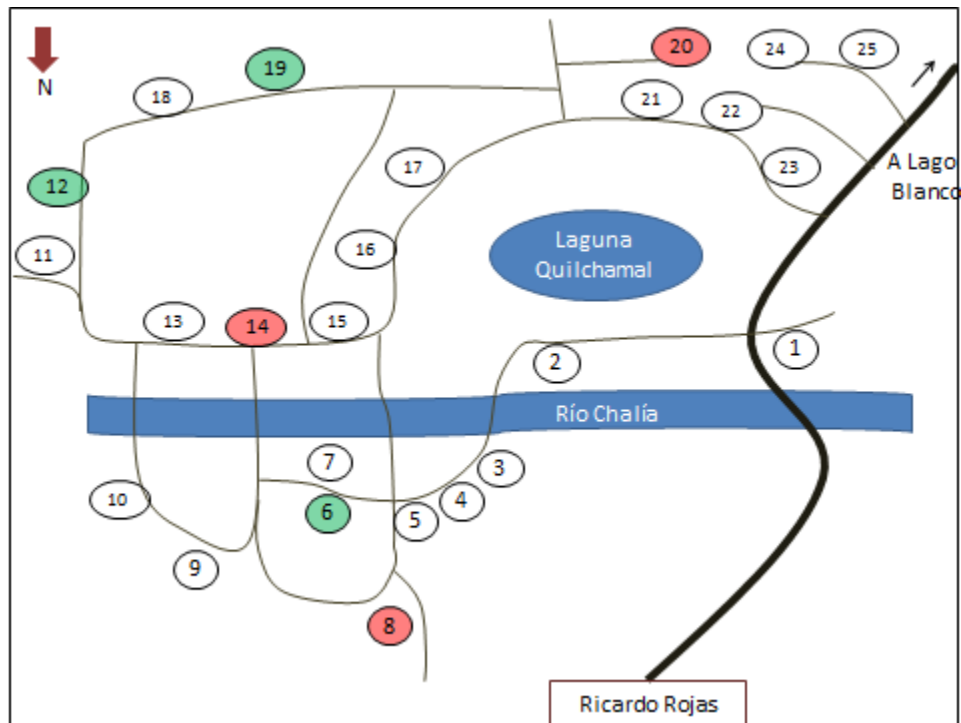


Figura 21: representación esquemática según distribución de sueros de corderos positivos para hidatidosis en establecimientos de El Chalía (Chubut, Argentina). Período 2007 - 2008. Rojo: sueros positivos; verde: sueros negativos.

Tabla 9: frecuencias absolutas y relativas de aparición de sueros de ovinos positivos e indeterminados para hidatidosis por ELISA. El Chalía (Chubut, Argentina). N= 47 sueros.

	Corderos nacidos en 2007		Ovinos de más de 1 año de edad	
	n	%	n	%
Sueros procesados	40	100	7	100
Muestras positivas	7	17,5	2	28,6
Muestras indeterminadas	1	2,5	3	42,9

### 1.3. Determinación de la frecuencia de aparición de equinocosis en perros

La frecuencia de aparición de equinocosis canina se obtuvo mediante la prueba de arecolina. En el año 2007 la frecuencia fue de 25% (N=48), estimándose una prevalencia del 25,00% (IC 95% = 12,75%, 37,25%). En la Tabla 10 se observan las frecuencias de aparición de *E. granulosus* y de otros parásitos intestinales hallados, según zona de procedencia de los perros.

Tabla 10: frecuencia de aparición de *E. granulosus* y de otros parásitos en prueba de arecolina. El Chalfá (Chubut, Argentina). 2007. N= 48.

	Sitio de muestreo				Total	
	Laguna Quilchamal		El Galpón			
	Muestras procesadas	%	Muestras procesadas	%	Muestras procesadas	%
Parásitos hallados	11	100	37	100	48	100
<i>E. granulosus</i>	4	36,4	8	21,6	12	25
<i>Taenia</i> spp	5	45,4	15	40,5	20	41,6
<i>Hymenolepis</i> sp.	0	0	1	2,7	1	2,1
Ascarideos	2	18,2	3	8,1	5	10,4

En relación a los ejemplares de *E. granulosus* s.l. hallados en la zona durante la búsqueda de parásitos por la técnica de arecolina, la genotipificación en todos los casos correspondió a la cepa oveja/G1.

En el año 2015 se estudiaron 16 perros, los cuales fueron negativos para *Echinococcus* sp. (Tabla 11).

Tabla 11: frecuencia de aparición de *Echinococcus* spp. y de otros parásitos en prueba de arecolina. El Chalfá (Chubut, Argentina). 2015. N= 16.

Código de UD	Total perros analizados	<i>Echinococcus</i> spp.		<i>Taenia</i> spp.	
		N	%	N	%
8	6	0	0	4	66,7
9	3	0	0	0	0
13	4	0	0	0	0
14	3	0	0	0	0
Total	16	0	0	4	25

#### 1.4. Determinación de la presencia de huevos de Taeniidae en agua y suelo

Del total de muestras de agua estudiadas en el año 2009 (N=6) y en el año 2015 (N=3) ninguna resulto positiva para huevos de Taeniidae. En las muestras de agua del año 2009 se hallaron otros elementos como diatomeas y cianobacterias.

Respecto a las muestras compuestas de suelo analizadas, en el año 2009 (N=7) los resultados obtenidos en relación a la presencia de parásitos se muestran en la Tabla 12 y los resultados para el año 2015 en la Tabla 13.

Tabla 122: presencia de formas parasitarias en muestras compuestas de suelo, según técnica analítica utilizada. El Chalfá (Chubut, Argentina). 2009. N= 7.

Código de UD	Telemann modificado	Willis	Faust
8	Se observan larvas de Nematodes	No se observan formas parasitarias	No se observan formas parasitarias
9	No se observan formas parasitarias	No se observan formas parasitarias	No se observan formas parasitarias
12	No se observan formas parasitarias	Se observan larvas de Nematodes	No se observan formas parasitarias
13	No se observan formas parasitarias	No se observan formas parasitarias	No se observan formas parasitarias
14	No se observan formas parasitarias	No se observan formas parasitarias	No se observan formas parasitarias
15	No se observan formas parasitarias	No se observan formas parasitarias	Se observan larvas de Nematodes
19	Se observan larvas de Nematodes	No se observan formas parasitarias	No se observan formas parasitarias

Tabla 3: presencia de formas parasitarias en muestras de suelo, según técnica analítica utilizada. El Chalfá (Chubut, Argentina). 2015. N= 4.

Código de UD	Telemann modificado	Willis
8	No se observan formas parasitarias	Se observan larvas de Nematodes
9	No se observan formas parasitarias	No se observan formas parasitarias
11	No se observan formas parasitarias	No se observan formas parasitarias
13	Se observan huevos de <i>Toxocara</i> spp.	No se observan formas parasitarias

### 1.5. Determinación de la presencia de huevos de Taeniidae en materia fecal canina recolectada del ambiente

En el año 2009, de 22 mfca estudiadas, 2 (9,1 %) resultaron positivas para huevos de Taeniidae (Figuras 22 y 23). Las muestras positivas provenían de dos UD diferentes, resultando contaminados 2/7 establecimientos estudiados, con un índice de infección ambiental de 25% y 33%, respectivamente.

Además, en las muestras estudiadas se encontraron otros parásitos intestinales de interés zoonótico. Las formas y especies halladas correspondieron a quistes de *Entamoeba* spp (27%), quistes de *Giardia* spp (9%), larvas de nematodos (27%) y huevos larvados de *Toxocara* spp (13%).



Figura 182: huevos de Taeniidae hallados en muestras de heces caninas recolectadas del ambiente, El Chalía (Chubut, Argentina). 2009. Aumento 400x.

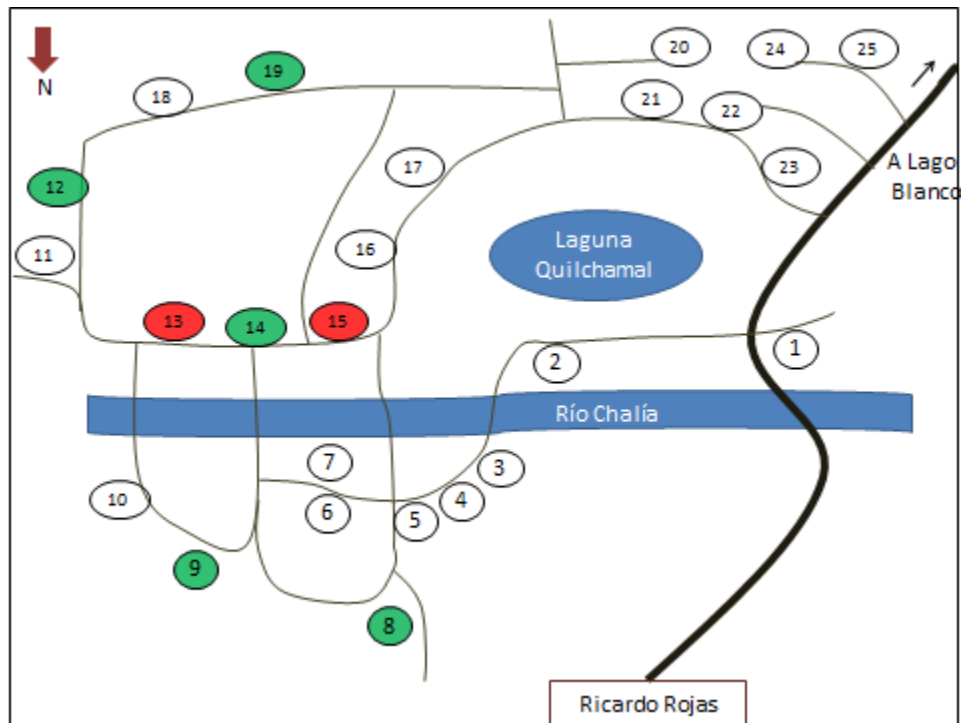


Figura 23: representación esquemática de la distribución de materia fecal canina ambiental positiva para huevos de Taeniidae en establecimientos de El Chaliá (Chubut, Argentina). Rojo: positiva; verde: negativa.

En el año 2015 de las 23 muestras de mfca analizadas ninguna resultó positiva para huevos de Taeniidae. En relación a la presencia de elementos parasitarios se encontraron 3 muestras positivas para quistes de *Giardia* spp. (13%) y una muestra positiva para quistes de *Entamoeba* spp. (4%).

#### 1.6. Determinación de la presencia de antígenos de *Echinococcus* spp. en materia fecal canina ambiental.

Para el año 2009, la frecuencia de aparición de muestras positivas de mfca para coproantígenos de *Echinococcus* spp. fue de 3/22 (13,6 %). Estas muestras provenían de 2 UD diferentes (Tabla 14 y Figura 24). En el año 2015 resultaron las 23 muestras negativas para antígenos de *Echinococcus* spp.

Tabla 14: detección de coproantígeno para *Echinococcus* sp. según unidad doméstica estudiada (N=22). 2009. El Chalfía, Argentina.

UD	Muestras positivas	Muestras negativas	Índice de infección ambiental por UD
8	0	5	0%
9	0	3	0%
12	0	1	0%
13	1	2	33,3%
14	2	2	50%
15	0	4	0%
19	0	2	0%

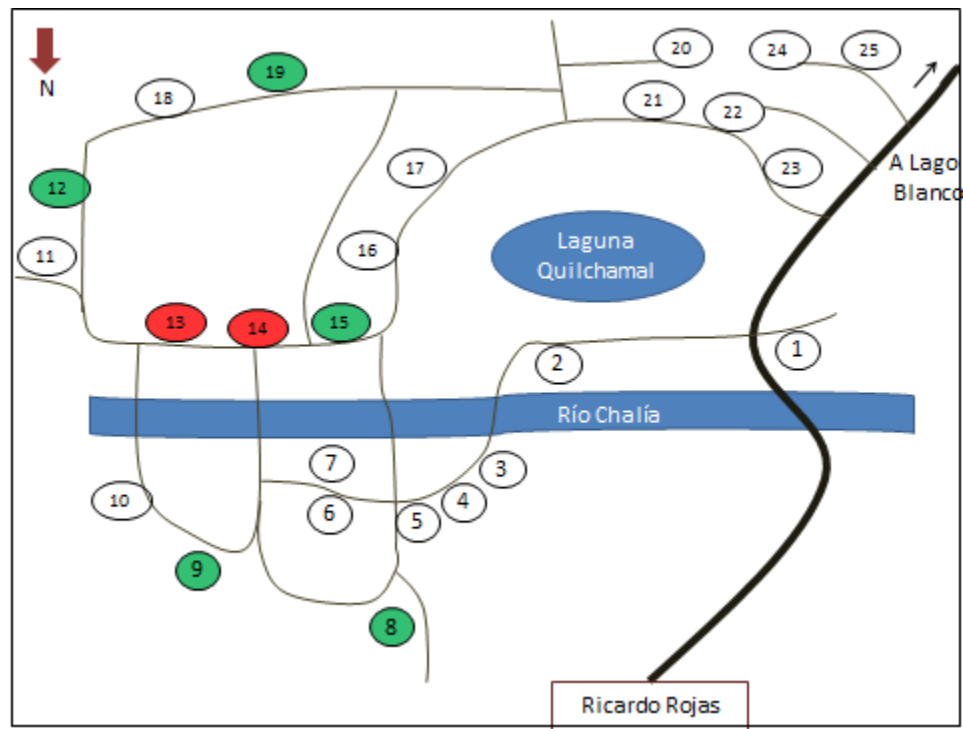


Figura 19: representación esquemática según distribución de muestras de materia fecal canina ambiental positivas y negativas al coproantígeno de *Echinococcus* sp. en establecimientos de El Chalfía (Chubut, Argentina). Rojo: coproantígeno positivo; verde: coproantígeno negativo.

## 2. Objetivo 2: definir los aspectos inmunobiológicos en animales vacunados con EG95

Las primeras dosis de la vacuna EG95 se aplicaron en diciembre de 2007. Un mes después, en enero de 2008, se procedió a colocar la segunda dosis. Se observó una disminución en la cantidad de animales vacunados entre la 1° y la 2° dosis (Tabla 15).

Tabla 4: número de ovinos y caprinos que recibieron la 1° y 2° dosis de la vacuna EG95 entre diciembre de 2007 y enero de 2008 en El Chalía.

Número de ovinos vacunados		Número de caprinos vacunados	
1° dosis (dic 2007)	2° dosis (enero 2008)	1° dosis (dic 2007)	2° dosis (enero 2008)
1920	760	428	190

### 2.1. Determinación de anticuerpos anti EG95 en ovinos vacunados

La determinación de anticuerpos anti EG95 se realizó por medio de la técnica de IgG K-ELISA. Se analizaron 32 muestras provenientes de 26 ovinos. De las 32 muestras, 18 correspondían a corderos extraídas en forma previa a la aplicación de la 1° dosis de la vacuna EG95. En todas esas muestras se constató la ausencia de anticuerpos anti EG95. En las 6 muestras que correspondían a corderos a los cuales se les había aplicado la 1° dosis de vacuna, se demostró la presencia de anticuerpos en 2 de ellas (33,3%) y de las 8 muestras que correspondían a corderos con una 2° dosis, se encontró anticuerpos en 7 de ellas (87,5%) (Tabla 16).

Tabla 5: determinación de la presencia de anticuerpos antiEG95 en muestras de ovinos según unidad doméstica (N=26). El Chaliá. 2007-2009.

UD	N° de animales estudiados	N° de muestras analizadas	Anticuerpos anti EG95 (diciembre 2007)		Anticuerpos anti EG95 después de 1 mes de 1° dosis (enero 2008)		Anticuerpos anti EG95 después de 1 año de 2° dosis (marzo 2009)	
			n	N° sueros positivos	n	N° sueros positivos	n	N° sueros positivos
4	2	2	2	0	*	*	*	*
6	5	6	3	0	1	1	2	2
8	2	4	2	0	2	0	*	*
9	1	1	1	0	*	*	*	*
13	3	3	3	0	*	*	*	*
14	5	6	1	0	2	1	3	3
19	8	10	6	0	1	0	3	2
Total (%)	26	32	18	0 (0%)	6	2 (33,3%)	8	7 (87,5%)

\*sin muestras

## 2.2. Determinación del título de anticuerpos anti EG95 en ovinos vacunados

El título de anticuerpos anti-EG95 se determinó en las 9 muestras positivas del ensayo anterior. Se trabajó con diluciones de los sueros desde 1:100 hasta 1:3200. De las 2 muestras que correspondían a corderos a los cuales se les había aplicado la 1° dosis de vacuna, en una de ellas el título de anticuerpos fue positivo hasta la dilución 1:100, mientras que en la otra, el título fue positivo hasta la dilución 1:200. De las 7 muestras que correspondían a corderos con una 2° dosis, en 2 casos (28,6%) fueron positivos hasta la dilución 1: 200, en 3 muestras (42,8%) hasta la dilución 1:400, en una muestra (14,3%) hasta la dilución 1:1600 y en otra muestra (14,3%), hasta la dilución 1:3200.

**3. Objetivo 3: Influencia de la inmunidad adquirida en el hospedero intermediario sobre la dinámica de transmisión de la hidatidosis en El Chalía durante los años 2008 al 2015.**

En El Chalía las primeras dosis de vacuna EG95 se aplicaron en diciembre de 2007. Las variables analizadas entre los años 2008 y 2015 son la frecuencia de equinocosis canina y las determinaciones ambientales (agua, suelo y mfca). Respecto a las variables de frecuencia de hidatidosis en humanos y en ovinos únicamente pudo realizarse las determinaciones en los años 2007 y 2008. Los resultados se resumen en la Tabla 17.

Tabla 17: resumen comparativo de los resultados obtenidos en El Chalía pre-post vacunación, expresado como porcentaje de muestras positivas sobre el total de muestras analizadas.

Variable	Pre vacunación	Post vacunación
Equinocosis canina por arecolina	25%	0%
Huevos Taeniidae en agua	0%	0%
Huevos Taeniidae en suelo	0%	0%
Huevos Taeniidae en mfca*	9,1%	0%
Coproantígeno en mfca	13,6%	0%
Serología reactiva para hidatidosis en humanos	36,8%	Sin datos
Hidatidosis en humanos por ecografía abdominal	4,3%	Sin datos
Hidatidosis en ovinos por serología	17,5%	Sin datos

\*mfca: materia fecal canina ambiental

En la campaña realizada en diciembre de 2007 se necesitaron 4 equipos de trabajo (cada uno con 4 personas) para vacunar 1920 ovinos y 428 caprinos distribuidos en 16 UD. Esta actividad demoró 4 días de trabajo. En enero de 2008, se aplicó la segunda dosis a 760

ovinos y 190 caprinos. La diferencia en la cantidad de animales a vacunar estuvo relacionada a varios factores, como la faena, la venta de animales y el hecho que el dueño de cada UD debía reunir el ganado el día previo a realizar la vacunación. Otros aspectos identificados que influyen en la vacunación fueron: la experiencia del personal involucrado, el número de animales a vacunar y las condiciones de conservación de la vacuna.

#### **4. Objetivo 4: valorar el impacto socioeconómico de la enfermedad en El Chalía y en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut**

##### **4.1. Aspecto social de la enfermedad en El Chalía**

Se administró un cuestionario a cinco personas de El Chalía para contar con información de la patología, desde su propia perspectiva. De las cinco personas entrevistadas, una sola refirió haber sido diagnosticado de hidatidosis a los 15 años. Esta persona comentó que la consulta médica se produjo por un fuerte dolor en la espalda y que fue operado en tres ocasiones (dos veces por QH en el pulmón y una vez por un QH hepático) en el Hospital Regional de Comodoro Rivadavia (Chubut). Esta persona manifestó que en la última cirugía estuvo internado aproximadamente un mes. Los otros cuatro encuestados no padecieron hidatidosis. Todos consideraron su estado de salud como bueno o muy bueno.

##### **4.2. Aspectos socioeconómicos de la enfermedad en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut**

Los aspectos socioeconómicos relacionados a la enfermedad en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut se evaluaron analizando los 70 casos documentados por la oficina sanitaria para hidatidosis entre 2009 y 2017.

Tabla 18: perfil demográfico de los 70 casos reportados por el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut.

VARIABLE		N	%
SEXO	MUJERES	33	47,1
	VARONES	37	52,9
	TOTAL	70	100,0
RANGO DE EDAD	2 a 4	2	2,9
	5 a 9	7	10,0
	10 a 14	5	7,1
	15 a 24	13	18,6
	25 a 34	3	4,3
	35 a 44	11	15,7
	45 a 54	12	17,1
	55 a 64	12	17,1
	> 65	2	2,9
	Sin especificar	3	4,3
	TOTAL	70	100,0

El sexo masculino fue el más afectado (53% hombres vs. 47% mujeres). No se observó una diferencia significativa entre casos en varones y en mujeres ( $p=0,6328$ ). El rango de edad de los casos estuvo comprendido entre los 2 y los 78 años, con una media de 35 años y moda de 15 a 24 años (Tabla 18).

Respecto al lugar de residencia, 44 casos (63%) residían en el departamento Escalante, que incluye a las ciudades de Comodoro Rivadavia y Rada Tilly, como principales núcleos urbanos, con una población de 186.583 habitantes según el último censo y una economía basada principalmente en la industria petrolera. Se realizó el cálculo de incidencia anual

media (IAM) y se obtuvo un valor de 2,6 casos/100.000 hab. durante el periodo analizado (Tabla 19). En el departamento de Río Senguer se registraron 11 casos (16%) con una IAM de 20,4 casos /100.000 habitantes. A este departamento pertenece la comuna rural de El Chaliá.

Tabla 19: incidencia anual media de hidatidosis discriminada por departamento en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut. Período 2009-2017.

Departamento de residencia actual	Casos de hidatidosis	Población	IAM (casos/100.000 hab)
Escalante	44	186.583	2,6
Río Senguer	11	5.979	20,4
Sarmiento	13	11.396	12,7

La incidencia anual media en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut fue de 3,7 casos/100.000 hab.

El diagnóstico en cada caso depende de la localización del QH. En el Hospital Regional de Comodoro Rivadavia se realiza el diagnóstico por imagen (ecografías, radiografías y/o TAC) y por técnicas serológicas (HAI y ELISA).

La localización de los QH fue predominantemente hepática. Se reportaron 50 casos (60%) de QH hepáticos y 17 casos (20%) con localización pulmonar. Se reportaron 13 casos (18,6%) con QH localizados en más de un órgano y 16 casos con otras localizaciones diferentes a las más frecuentes antes mencionadas (riñón, vías biliares y bazo principalmente) (Figura 25).

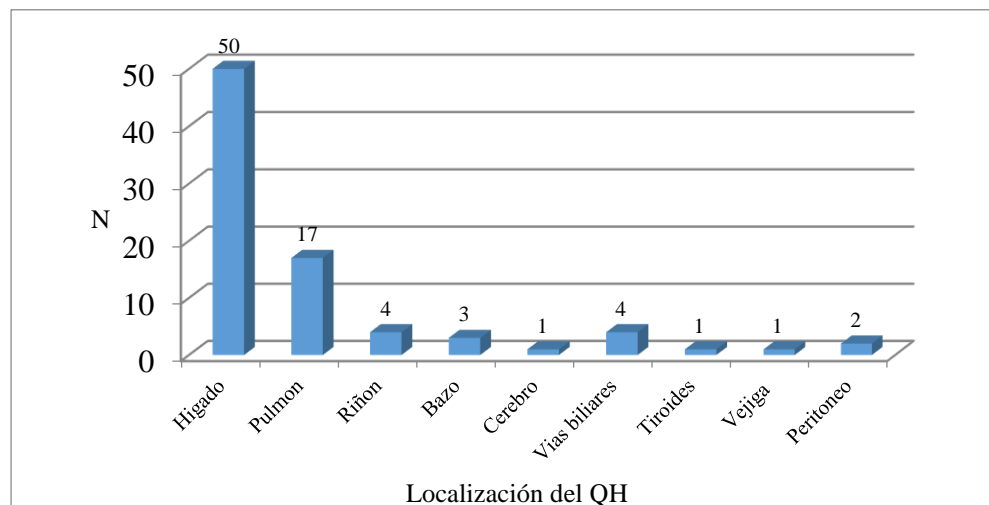


Figura 205: localización de los quistes hidatídicos en los casos reportados por el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut. Período 2009-2017.

De los 70 casos analizados, el 84% recibió tratamiento quirúrgico. Los casos no quirúrgicos recibieron el tratamiento farmacológico con albendazol. El 52,5% de las cirugías fueron realizadas en hospitales públicos (30 intervenciones realizadas en el Hospital Regional de Comodoro Rivadavia) (Tablas 20 y 21).

Tabla 20: tipo de tratamiento recibido en los casos reportados por el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut. Período 2009-2017.

Tratamiento	N	%
Quirúrgico	59	84,29
No quirúrgico	11	15,71

Tabla 21: ámbito de realización de la cirugía en los casos reportados por el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut. Período 2009-2017.

Ámbito de la cirugía	N	%
Hospital público	31	52,54
Centro privado	27	45,76
Sin especificar	1	1,69

Se reportaron 5 fallecidos entre los 70 casos analizados por lo que la tasa de letalidad por hidatidosis fue del 7,1%. Estas 5 defunciones representan 160 años de vida prematuramente perdidos (AVPP) (Tabla 22).

Tabla 22: años de vida prematuramente perdidos reportados por el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut. Período 2009-2017.

Grupo de edad	Marca de clase	Años perdidos	Nº defunciones	APVP
2 a 4	3	77	0	0
5 a 9	7,5	72,5	0	0
10 a 14	12,5	67,5	0	0
15 a 24	20	60	1	60
25 a 34	30	50	0	0
35 a 44	40	40	2	80
45 a 54	50	30	0	0
55 a 64	60	20	1	20
65 a 74	70	10	0	0
75 a 79	77,5	2,5	1	2,5
TOTAL 2-79 años			5	160

Respecto al costo, cada paciente quirúrgico genera en promedio, como mínimo, un gasto de \$ 67.177 lo cual es equivalente a USD 1.599 (valor del dólar observado al 24 de junio de 2019 de \$42,0) (Tabla 23). Teniendo en cuenta los 59 casos quirúrgicos ocurridos en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut, el gasto total sería de USD 94.367.

Tabla 23: costo por paciente con quiste hidatídico hepático según flujo del proceso clínico atendido en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut.

Proceso	Prestación	Costo unitario \$	Procedimientos N°	Costo por paciente \$
diagnostico	consulta médica	112	2	224
	serología (HAI)	17	1	17
	radiografía	352	1	352
	ecografía de abdomen	1033	1	1033
	tomografía TAC	1977	1	1977
tratamiento	laboratorio prequirúrgico	590	1	590
	hepatograma	313	1	313
	ECG	149	1	149
	cirugía hepática	19667	1	19667
	días de internación cirugía	2660	7	18620
	albendazol 400 mg comp x6	694	1	694
seguimiento	consulta médica	112	3	336
	radiografía	352	3	1056
	ecografía de abdomen	1033	3	3099
	tomografía TAC	1977	3	5931
	albendazol 400 mg comp x6	694	15	10410
	hepatograma	313	3	939
	laboratorio (hemograma, creatinina)	590	3	1770
<b>TOTAL</b>				<b>\$ 67177</b>

Si se realiza la estimación basada en datos publicados por la FAO (2007), que considera el costo del tratamiento quirúrgico en USD 4.440 y el del tratamiento no quirúrgico en USD 1.400, el gasto sanitario medio anual derivado de costos directos de atención sanitaria de los casos asciende a USD 30.817,78 con un costo directo total para el periodo estudiado de USD 277.360.

Se realizó un estudio comparativo de diferentes fuentes acerca de los costos directos generados por la EQ. Los resultados se muestran en la Tabla 24.

Tabla 24: comparación del gasto sanitario total (en dólares) derivado de costos directos de atención sanitaria de pacientes con hidatidosis y tratamiento quirúrgicos según diferentes fuentes.

Lugar	Costo por paciente USD	Referencia
Chile (sector público)	2.678	Venegas et al. 2014 <sup>81</sup>
Comunidad Valenciana (España)	7.698	Rojo Pombo et al. 2017 <sup>82</sup>
Rio Negro (Argentina)	4.605	Bingham et al. 2016 <sup>83</sup>
FAO (2007)	4.440	Farias et al. 2011 <sup>67</sup>
Chubut (Argentina)	1.599	Presente estudio. 2019

##### **5. Objetivo 5: describir de los factores condicionantes de la aplicación de la vacuna EG95 en el terreno.**

La cobertura de la vacunación con la 1° dosis en el Chaliá, durante la campaña realizada en diciembre de 2007, fue de 17,5% para ovinos y de 42,8% para caprinos. La cobertura alcanzada con la segunda dosis de vacunas, distribuidas en enero de 2008, fue de 6,9% para ovinos y de 19% para caprinos.

En la Tabla 25 se muestran los factores condicionantes encontrados que dificultaron la aplicación de EG95 en terreno en las tres campañas de vacunación, así como la solución propuesta para minimizar su influencia sobre la cobertura vacunal.

Tabla 65: condicionantes de la aplicación de la vacuna EG95 a campo, según categoría de factor cultural (C), técnica (T), logística (L) o ambiental (A), componentes y solución propuesta para disminuir su influencia sobre la cobertura vacunal.

<b>Factor condicionante</b>	<b>Categoría</b>	<b>Componente</b>	<b>Solución propuesta</b>
Esquema de vacunación incompleto	C A	- Faena domiciliaria - Pasaje de animales a campos aledaños - Dispersión del ganado - Problemas ambientales	Educación sanitaria
Necesidad de reunir ganado disperso	L	-Necesidad de una planificación temporal exhaustiva -Necesidad de una gran adherencia y compromiso de los ganaderos para colaborar con el programa	Planificación con puesto sanitario y coordinación con propietarios
Necesidad de recurso humano suficiente en terreno	L T	-Disponibilidad de personal técnico idóneo para la aplicación de la vacuna	-Disponibilidad de personal -Capacitación sobre uso y aplicación de la vacuna
Inoculación de 1º dosis de manera tardía	L A	-Disponibilidad de personal técnico idóneo para la aplicación de la vacuna - Problemas ambientales	Tener conocimiento exacto de las fechas de parición del ganado Tener disponibilidad de personal
Zonas remotas	A	-Accesibilidad limitada. -Complejidad temporal	Planificación exhaustiva priorizando estaciones meteorológicas favorables

En 2014, durante las Jornadas Iberoamericanas de Hidatidosis y otras zoonosis, se destacaron los siguientes condicionantes a la aplicación de la vacuna EG95 en países de Latinoamérica (84):

- Elevada demanda operativa en la aplicación
- Necesidad de realizar las campañas de vacunación en cortos períodos de tiempo
- Pastoreo antes de la vacunación
- Condiciones de mantenimiento de la vacuna una vez reconstituida
- Estado nutricional de los animales vacunados
- Falta de interés de los propietarios en la aplicación de la vacuna
- Continuo movimiento de animales originando esquemas incompletos de vacunación

Los factores mencionados son de tipo logístico, técnico, cultural y ambiental y coinciden con los hallados en las campañas de vacunación realizadas en El Chaliá.

## **DISCUSION**

La equinococosis quística, causada por *Echinococcus granulosus* s.l., es una infección crónica y debilitante, que ocurre en las comunidades pastoriles y áreas de explotación pecuaria ovina y caprina del mundo. En varios países endémicos se han implementado programas de control para reducir o eliminar la enfermedad (85). En la Provincia de Chubut (Argentina), existe desde 1984 el Programa de Control de la Hidatidosis, siendo uno de los programas pioneros en Sudamérica, junto al de la Provincia de Neuquén (1972), primer programa instaurado, y al de Tierra del Fuego (1976) (38). Todos los programas han basado su estrategia, fundamentalmente, en la desparasitación canina periódica con praziquantel, cuya probada eficacia y adecuada relación coste-beneficio, la han convertido en una herramienta indispensable de control. Además, se han realizado claras mejoras tecnológicas en el diagnóstico de la equinococosis canina para la vigilancia, la caracterización genética de las cepas de parásitos, y la vacunación contra la infección en el ganado (34, 53, 86).

Las estrategias de control deben ser adecuadas y sostenibles a fin de beneficiar, principalmente, a las zonas endémicas para equinococosis. A pesar de los esfuerzos realizados por estas estructuras de control, los avances que se han logrado en la disminución de la aparición de la enfermedad han sido moderados, y el impacto en la prevalencia entre los seres humanos ha sido leve (85). Un obstáculo importante para el control en áreas continentales y que, como antecedente, fue exitoso en escenarios insulares como Nueva Zelanda y Tasmania, ha sido el requisito de administrar praziquantel a los perros de las zonas rurales ocho veces al año (38). A ello se suma a escala continental, los problemas de accesibilidad geográfica a zonas remotas, la discontinuidad en el sostenimiento de las medidas de control derivada de situaciones de crisis económica que supusieron recortes

presupuestarios y/o falta de apoyo a los programas de control, y las barreras culturales y antropológicas que disminuyen la efectividad de la educación sanitaria. Estas situaciones, hacen necesario que se siga en la búsqueda de herramientas cuya aplicación se vea menos condicionada por los factores mencionados, con tiempos de aplicación más distanciadas entre sí, y que ofrezca nuevos puntos de corte en el ciclo de transmisión de la enfermedad (87). En este contexto, la vacuna EG95 de aplicación en el hospedero intermediario animal, ha supuesto una candidata ideal que, *a priori*, en base a su elevada eficacia en ensayos clínicos controlados (54, 56, 57), supone resultados prometedores con respecto a cambiar la historia del control de la EQ. Sin embargo, una vez que las vacunas han sido aprobadas, deben ser sometidas a un seguimiento continuo para evaluar su seguridad y efectividad, así como su impacto en la población dentro del contexto de los Programas de Control (88). En este sentido, se ha postulado que con frecuencia las vacunas o inmunoterapias fallan en inducir una adecuada respuesta inmune o en reducir la incidencia y prevalencia en función de la expectativa generada por su eficacia comprobada (89). De la misma manera, la vacuna EG95 podría presentar en terreno una menor eficacia, ya que numerosos condicionantes biológicos y socio-ambientales podrían influir negativamente en su esperado éxito. De allí, la necesidad de generar evidencia con base científica sobre los aspectos de efectividad del uso de la vacuna y de identificar los factores condicionantes de su aplicación.

Como se ha mencionado en numerosas ocasiones a lo largo de este trabajo, existen escasos estudios a campo que hayan definido la efectividad de la vacuna EG95 y, menos aún, en el contexto de las acciones de un programa de control. Al inicio de la presente investigación no se registraban estudios de esta naturaleza y, durante su desarrollo, comenzó en la Provincia de Rio Negro (Argentina) un estudio de características similares (59, 60, 61).

Es evidente que, tras finalizar la fase de estudios controlados, se hace necesario desarrollar investigaciones de efectividad de la vacuna EG95 a campo y de su implementación dentro de los programas de control de la EQ. Los estudios de efectividad son realizados por métodos observacionales a fin de evaluar la protección generada en un contexto real (88). Considerando lo detallado, el presente estudio desarrollado en la región de El Chalía (Chubut, Argentina), supone un aporte sobre el uso de la vacuna en escenarios remotos, con particularidades culturales y socioeconómicas que han supuesto hasta la fecha, un obstáculo en el control de la EQ.

Los resultados obtenidos sobre la frecuencia de aparición de casos humanos en El Chalía, en el año 2007 se reportó un 36,8% de sueros positivos para hidatidosis. En el caso de las ecografías abdominales se halló un 4,3% de personas con QH en el hígado. La discordancia de estos resultados puede deberse a diferentes situaciones: una localización extrahepática de los QH, persistencia de anticuerpos en personas operadas, discordancia entre las personas que realizaron las ecografías respecto las que realizaron el examen de sangre (26, 27).

Según el Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud –Ministerio de Salud- en el año 2007 hubo 349 casos reportados de hidatidosis en todo el país. Esta cifra representa 0,89 casos por cada 100.000 habitantes. Para el mismo año en la provincia de Chubut se registraron 26 casos (5,7 por cada 100.000 habitantes), en la provincia de Neuquén, 50 casos (9,3 por cada 100.000 habitantes) y en la provincia de Santa Cruz, 14 casos (6,3 por cada 100.000 habitantes) (25). Estos datos muestran que el valor registrado en El Chalía es superior a la media nacional y provincial.

Si se compara el valor registrado con otras zonas altamente endémicas de Latinoamérica, también se observan valores superiores de frecuencia de aparición de EQ en El Chalfía. Un estudio realizado en Ingeniero Jacobacci (Río Negro, Argentina) en el año 2009 mostró una prevalencia del 7,1% (90), mientras que otro estudio realizado en la comunidad rural de Yanahuanca, (Pasco, Perú) en el año 2004 determinó una prevalencia de hidatidosis del 5,5% (91). El valor hallado en El Chalfía supera a estas zonas de características rurales y reconocidas como altamente endémicas para la hidatidosis. La elevada frecuencia de aparición de la enfermedad en El Chalfía podría explicarse por el estrecho contacto del poblador con el perro en las tareas vinculadas a la cría del ganado ovino, y desde el punto de vista sanitario, a que por un largo período el Programa de Control no tuvo acceso a esta comuna (Jensen O, comunicación personal). Esta situación de accesibilidad sigue siendo compleja. Por ejemplo, durante el año 2015, no se pudieron obtener muestras humanas debido a que no se programó dentro de las actividades realizadas por el Departamento de Zoonosis de la Secretaría de Salud de la Provincia de Chubut.

En relación a la hidatidosis en hospederos intermediarios animales, la primera respuesta inmune en un ovino, principalmente de tipo IgG, aparece después de 4-6 semanas desde el contacto con el parásito. La determinación de la frecuencia de aparición de hidatidosis en ovinos realizada en este estudio por la técnica de ELISA, mostró un elevado porcentaje de casos positivos (18% en corderos y 29% en ovinos de más de 1 año). En un estudio realizado en la provincia de Río Negro en el año 2013, se reportó 26% en corderos y 61% de frecuencia de aparición en ovinos de más de 6 años (61). Si bien el valor obtenido en El Chalfía es inferior que el reportado para corderos en la provincia de Río Negro, en ambos casos se observa un incremento de casos positivos con la edad de los animales. Este mismo

comportamiento ha sido descripto por otros autores (6, 36), destacando que la prevalencia de la enfermedad se incrementa conforme avanza la edad del animal. La prevalencia de hidatidosis en animales jóvenes, como corderos, puede indicar el nivel de transmisión actual en un establecimiento dado. Por lo tanto, la vigilancia epidemiológica en el ganado es una importante herramienta para estimar la dinámica de transmisión en un área geográfica determinada. En este sentido, la tasa de infección en corderos hallada, corrobora la presencia activa del ciclo de transmisión de la hidatidosis y explica el elevado carácter endémico que tiene la misma en El Chalía (92).

Una limitación que emergió *a posteriori*, es que no se pudieron realizar determinaciones de frecuencia de aparición de la enfermedad en ovinos en forma posterior a la implementación de la vacuna EG95 debido al reducido tiempo en la última campaña de muestreo y que no coincidió con la aplicación de la vacuna.

En Chubut, en el año 1984 la equicocosis canina en áreas rurales, determinada por la técnica de arecolina, era del 70%. Con la implementación del tenicida praziquantel, en el año 2001 la mayoría de los departamentos de la provincia redujeron a menos del 3% el porcentaje de perros positivos (33). En la Provincia de Rio Negro, para el año 2013 se ubica este valor en el 4% de perros positivos (61). Los valores registrados de equinocosis canina en El Chalía en el año 2007 (25%), superan en 8 veces los valores del resto de la provincia de Chubut, y en 6 veces a la provincia de Rio Negro. Esto supone tanto una activa circulación del parásito, como un elevado riesgo de infección.

En el muestreo realizado durante el año 2015, tras la introducción de la vacuna, no se detectó la presencia de *E. granulosus* en perros y se encontró un 25% de perros con *T.*

*hidatígena*. El bromhidrato de arecolina es un tenífugo que elimina, además de *E. granulosus*, otras tenias como *T. hydatigena* y *T. ovis*. Estas tenias llegan al hospedero canino a través de la misma vía que *E. granulosus* por la ingestión de vísceras crudas. Por ello, el hallazgo de otros cestodes es indicativo de los malos hábitos y costumbres vinculados a la faena así como también de una incorrecta desparasitación de los caninos.

La presencia de huevos de Taeniidae en el ambiente es un aspecto importante a evaluar en la transmisión de la hidatidosis. La contaminación ambiental por oncósferas de *E. granulosus* es una de las fuentes del daño a la salud de las personas y de la infección del ganado. Diferentes autores coinciden en que el cambio climático y los factores antropogénicos podrían impactar en la distribución y transmisión de la EQ debido a cambios en la dinámica de las poblaciones animales y en las condiciones de supervivencia de los huevos (93). El reconocimiento de la situación ambiental puede realizarse mediante la detección del parásito o sus constituyentes en diferentes muestras. En el presente trabajo se evaluó la presencia de huevos de Taeniidae en agua, suelo y materia fecal canina ambiental, de forma previa y posterior a la implementación de la vacuna EG95. Respecto a las muestras de agua y suelo, el resultado fue negativo para huevos del parásito en todas las muestras evaluadas. Debido a la sensibilidad de la técnica utilizada, este resultado no demuestra, de manera concluyente, la ausencia del mismo. Los motivos que explican el resultado podrían ser: una baja prevalencia, una escasa cantidad y número de muestras, la extensa superficie de los campos que dificulta el muestreo de suelo, la baja sensibilidad de la técnica de muestreo de agua utilizada, entre otras. Se debe destacar que las técnicas de detección de parásitos en muestras ambientales es un aspecto pendiente de mejora. Este último punto podría mejorarse recolectando 1500 a 2000 litros de agua filtrados en forma intermitente.

Las muestras de heces caninas constituyen una mejor manera de evaluar la contaminación ambiental para realizar vigilancia epidemiológica en regiones endémicas y para estudiar la efectividad de los programas de control, ya sea mediante estudios coproparasitológicos para detección de huevos como la detección de coproantígenos de *Echinococcus* sp. usando la técnica de ELISA. El índice de infección ambiental basado en estudios de coproelisa es una medida que permite estratificar las UD analizadas por nivel de riesgo (31). El estudio parasitológico y la detección de coproantígenos de las muestras tomadas el año 2009, revelaron un índice de infección ambiental alto (mayor al 10%) en dos de las UD estudiadas, tomando como referencia el estándar establecido en las Normas técnicas y manual de procedimientos para el control de la hidatidosis (31). Las muestras analizadas en el año 2015, post vacuna, resultaron negativas tanto en el estudio coproparasitológico como en la detección de coproantígenos.

En cuanto a los aspectos inmunobiológicos en animales vacunados, las primeras dosis de la vacuna EG95 se inocularon en El Chalfá en diciembre de 2007 en ovinos y caprinos. Un mes después se aplica la segunda dosis observándose una disminución en el número de animales vacunados del 60%. En el caso de ovinos se aplicó la segunda dosis al 40 % y para los caprinos al 44 %. Ésto puede ser consecuencia de varios factores, tales como la faena y venta de los animales, la mortalidad natural del ganado, o por no reunir la totalidad del ganado existente debido a la extensión de los campos. Estos condicionantes son reflejados también por Larrieu et al. (61) quienes los identificaron como factores que dificultan obtener una cobertura vacunal del 100% en su modelo de estudio en Río Negro (Argentina). Según modelos matemáticos se puede lograr el control de la enfermedad con un porcentaje de cobertura menor especialmente si se aplica la vacunación en el hospedero intermediario

animal en forma conjunta con la administración de antihelmínticos a los perros (94). Otro dato a considerar es que la implementación de la vacuna requirió una amplia infraestructura debido al elevado número de animales que se vacunaron en los días que duró cada campaña. Las campañas de vacunación realizadas, requirieron cuatro vehículos con 3 a 4 personas en cada uno, trabajando durante una semana en la zona. En acuerdo con las conclusiones de las Jornadas Iberoamericanas de Hidatidosis, desarrolladas en Colonia del Sacramento (Uruguay) en Abril de 2014, se evidencia que los costos operativos de los esquemas vacunales con EG95 resultan significativamente más elevados que los que suponen los programas de desparasitación canina con Praziquantel (84).

En el presente trabajo se detectó la presencia de anticuerpos anti-EG95 después de la 1° dosis de la vacuna, en el 33% de los ovinos y después de un año de la aplicación de la 2° dosis se detectó en el 87% de los ovinos. También se observó un aumento en el título de anticuerpos: 100-200 después de la 1° dosis y 200-3200 después de la 2° dosis. Esta evolución del título de anticuerpos y el porcentaje de animales respondedores, pueden estar relacionados con el tiempo de producción de los anticuerpos, tal como fuera descrito en trabajos de eficacia de la vacuna (54). La inmunidad de los ovinos frente a *E.granulosus* es mediada por anticuerpos y dependiente del complemento (95). Además, numerosos estudios han demostrado que la vacuna EG95 induce la producción de anticuerpos del tipo IgG, los cuales son capaces de destruir las oncosferas de *E.granulosus in vitro* (96). Por esta razón es importante la producción y título de anticuerpos en los animales vacunados para contrarrestar cualquier oncosfera que ingrese en su organismo y evitar la enfermedad. Es importante destacar que el título de anticuerpos puede verse afectado por una mala conservación de la vacuna reconstituida, por la cantidad real de dosis inyectada o por una deficiente respuesta

inmune del animal y también pueden ocurrir problemas técnicos en la cuantificación de los anticuerpos. Es importante destacar que la baja cantidad de muestras de suero ovino obtenidas está relacionadas a que las extracciones de sangre a los animales se realizó únicamente en los equipos en los que participe personalmente, y en el terreno se extraían muestras a uno de cada 10 o 20 animales.

La dinámica de transmisión de la hidatidosis se evalúa con factores parasitarios intrínsecos, factores parasitarios extrínsecos y factores del medio social. En cuanto a factores intrínsecos es importante analizar las cepas del parásito que circulan en una región o área concreta. En la Argentina, la distribución de cepas está aún en estudio. Se cuenta con reportes que indican la presencia del genotipo G1 en ovejas, cabras, vacas y cerdos; el genotipo G3 en ovejas; genotipo G5 en vacas; el genotipo G6 en cabras y vacas y el genotipo G7 en cerdos. Los genotipos G1, G5, G6 y G7 también se encontraron en perros (97). En el humano se han registrado los genotipos G1, G3, G5 y G6 (98). Hasta el momento los genotipos más frecuentemente aislados en el país son el G1 seguido de G6. En la región de Patagonia se han reportado las cepas G1, G6 y G7 tanto en el HD como en el HI (9, 34). En El Chalía (Chubut, Argentina) hemos constatado que es la cepa G1 la que se encuentra activamente circulando.

Respecto a factores extrínsecos, se puede mencionar las condiciones de clima frío y seco de la zona estudiada como un elemento que puede afectar la viabilidad del parásito en el ambiente. En modelos de laboratorio se vio que los límites de tolerancia a la temperatura de los huevos de *E. granulosus* son +40°C y -70°C, y que la exposición a 0% HR/24 h es letal para los mismos (16). En la Provincia del Chubut (Argentina) nuestro grupo realizó estudios que demostraron que bajo condiciones naturales de clima árido inferior, los huevos pueden conservar su capacidad infectante por al menos 41 meses. Además, se comprobó que la

presencia y dispersión de los huevos de *E. granulosus* se relacionó a los hábitos de defecación y tránsito de perros infectados, al status de infección de cada perro, a la dirección prevalente de los vientos, a la topografía del terreno y a la presencia de focos de agua superficial (16, 28). Considerando esto, es de esperar que los huevos de *E. granulosus* resistan a las condiciones meteorológicas predominantes en El Chalfá (Chubut, Argentina). No obstante, en las muestras de agua y suelo analizadas no se pudieron observar dichos huevos, y tal como se comentó anteriormente, esto puede deberse a limitaciones de la técnica empleada con referencia a su baja sensibilidad. En cambio, la positividad obtenida en los estudios de coproantígeno da cuenta que el parásito se encuentra en el ambiente.

Entre los factores del medio socio-económico se incluyen la desparasitación canina, la educación y la implementación de la vacuna EG95 (28). El Chalfá es una región con una elevada tasa de casos de hidatidosis tanto en humanos como en ovinos y con una alta cantidad de perros con equinocosis. Esto se demostró con los estudios mencionados en el presente trabajo. La implementación del Programa de Control de Hidatidosis en el año 1984, basado principalmente en la desparasitación canina y en la educación disminuyó los valores de prevalencia, pero no logro la eliminación de la problemática de la hidatidosis. A partir del año 2007 la mayor parte de las UD que integran esta comunidad decidieron incluir la vacuna EG95 como una herramienta adicional para el control de la enfermedad. La vacuna EG95 genera anticuerpos y previene la implantación de la oncosfera en los tejidos del HI impidiendo la enfermedad. Al disminuir la oferta de QH por parte de los ovinos al HD, disminuye la equinocosis canina. Esto se observó luego de siete años de implementación de la vacuna. Es importante destacar que en estas UD se siguió con la desparasitación canina.

En acuerdo con Torgerson (2006), la mejor efectividad se logra utilizando herramientas combinadas para el control de la enfermedad (36).

En el presente estudio se observó una disminución en la cantidad de perros con equinocosis canina y en la cantidad de muestras de materia fecal canina ambiental positivas para presencia de huevos de Taeniidae y para coproantígenos de *Echinococcus* spp. Estos resultados indican que, en términos de efectividad, la vacuna EG95 es exitosa cuando se aplica en el contexto de un programa de control. Sin embargo, es importante en el futuro seguir analizando estos indicadores a largo plazo, y evaluar si existen cambios en cuanto a la prevalencia de EQ humana y de EQ en ovinos.

Los casos de hidatidosis provenientes de pobladores de El Chalfá se derivan al Hospital Regional de la ciudad de Comodoro Rivadavia (Chubut, Argentina), que está ubicada a 342 km de la localidad de Dr. Ricardo Rojas (Chubut, Argentina). Esta comuna rural de 219 habitantes, según el censo nacional del año 2010, es la más cercana a El Chalfá. De este modo, a los costos directos de diagnóstico y tratamiento de la enfermedad, hay que sumarle el gasto del traslado y la estadía del paciente y algún familiar acompañante. El costo económico que afronta el paciente también incluye otros costos indirectos como la pérdida de producción de cada UD y los costos intangibles. Estos costos intangibles son complejos de valorar en términos económicos y están asociados a la disminución de la calidad de vida, al dolor, sufrimiento y otras afectaciones personales del paciente y sus familiares por internaciones prolongadas que producen padecimientos relacionados al desarraigo del paciente de zonas rurales, a la falta de contacto con sus bienes, desvinculación con los afectos y aislamiento de su contexto natural (71).

El valor de incidencia anual media (IAM) de hidatidosis encontrado en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut, triplicó a la IAM reportada a nivel nacional (IAM nacional: 1/100.000 hab. para el mismo período). El 20% de los casos ocurrió en menores de 15 años, lo cual es indicativo de la persistencia de la transmisión del parásito en la región.

El 63 % de las personas con hidatidosis residían en el departamento Escalante, que incluye a las ciudades de Comodoro Rivadavia y Rada Tilly. Estas ciudades tienen como principal actividad económica la explotación petrolera, pero concentra el mayor porcentaje de la población del Área Programática Sur de la Provincia de Chubut. Los departamentos que tienen una economía más vinculada a la actividad ganadera, son el departamento de Río Senguer y Sarmiento, pero tienen menor número de habitantes.

El diagnóstico serológico en el Hospital Regional se realiza por técnicas de HAI y ELISA. La técnica serológica de ELISA, tiene una alta sensibilidad para QH de localización hepática pero no es tan elevada para localización pulmonar. La sensibilidad también, tiende a ser más baja en estadios iniciales (CE1) y en QH inactivos (CE4 y CE5) que en estadios intermedios. También pueden aparecer reacciones cruzadas en pacientes infectados por otros helmintos (especialmente neurocisticercosis producida por *Taenia solium*) y en pacientes con cirrosis o procesos oncológicos (21). En el 60 % de los casos estudiados, el QH fue de localización hepática y en el 20% la localización fue pulmonar. Estos datos coinciden con lo reportado en la bibliografía que establece que las principales localizaciones de los QH son en primer lugar el hígado (70 % de los casos humanos), seguido de los pulmones (20%).

En el presente estudio también se encontraron QH en riñón, bazo, vías biliares, peritoneo, cerebro, vejiga y tiroides. Estos datos concuerdan con los datos aportados por otros autores (99) que refieren que existen otras localizaciones, como SNC, corazón y riñones y que, si bien son menos frecuentes, generalmente, son de grave pronóstico.

La mayoría de los casos analizados recibió tratamiento quirúrgico. La cirugía puede realizarse por vía laparoscópica o abierta y siempre se asocia con tratamiento farmacológico desde la semana previa a la cirugía hasta cuatro semanas después de la misma, a fin de minimizar el riesgo de hidatidosis secundaria por diseminación de protoescolices (18). Los casos no quirúrgicos recibieron el tratamiento farmacológico con albendazol. El tratamiento farmacológico produce cambios morfológicos en los QH (cambios de tipo ecográfico) luego del primer mes de terapia y menos frecuentemente disminución del tamaño del mismo (25).

La tasa de letalidad a nivel nacional actualmente es de 1,8% y según un estudio de Guarnera (2009) sobre Hidatidosis en Argentina, la tasa de letalidad para todo el país en el período 1987-2005 fue del 4,4 % (63). Según datos de la OPS en Latinoamérica durante el año 2015, la letalidad varió entre 1,8% en Argentina hasta el 9% en Uruguay (100). La tasa de letalidad del 7,1% obtenida en el presente estudio supera casi en 4 veces a la tasa nacional actual. Las 5 defunciones ocurridas por esta patología entre los casos analizados, representan 160 años de vida prematuramente perdidos (AVPP). Los AVPP reflejan de una mejor manera el costo que genera una muerte, especialmente si ocurre de manera prematura (63). En estudios realizados en la Argentina entre el año 1987 y 2005 los AVPP totales debidos a EQ en el país fue de 17.632 (63). Es importante destacar que las acciones de control eficaces y efectivas realizadas, disminuirían la prevalencia de hidatidosis y su impacto en la población en términos de tasas de mortalidad y AVPP.

Los costos económicos cuantificados por el presente estudio son 1,7 veces menores que los reportados para Chile (sector público) (81) y 3 veces menores que los estimados en la Provincia de Rio Negro (83). Siendo los costos de diagnóstico y manejo clínico similares, la diferencia puede deberse a que el estudio realizado en este trabajo se basó en los costos de una cirugía de QH hepático sin complicaciones y que el Nomenclador de HPGD tiene costos menores que los usados en la gestión privada. Adicionalmente se destaca que, el adecuado y oportuno diagnóstico y tratamiento deriva en un mejor pronóstico de la patología y en una menor tasa de complicaciones. Por esto, la experiencia del equipo médico juega un rol clave en la disminución de los costos sanitarios directos.

Entre las limitaciones en la evaluación de costos del presente trabajo se contempla la falta de accesibilidad a cada una de las historias clínicas de los pacientes, impidiendo obtener un valor de costos reales. El análisis de pérdidas económicas y de carga de enfermedad sería importante evaluarlo en futuras investigaciones en esta comunidad. También indagar si la vacuna EG95 logra disminuir el impacto social y económico de esta enfermedad. Pero esta respuesta llevará años hasta lograr que la vacuna cambie la dinámica de transmisión en el particular escenario de El Chalía.

Es importante destacar las limitaciones que tuvo la realización del presente trabajo. Muchas de ellas están relacionadas con la dificultad de acceso a la zona de estudio. Como se comentó anteriormente, El Chalía está ubicado a más de 350 km de la ciudad de Comodoro Rivadavia y por razones climáticas no se puede acceder en cualquier época del año. Además, los muestreos realizados se adaptaron al cronograma de actividades que el Programa de Control de Hidatidosis de la Provincia de Chubut realiza en la zona. Esta situación limitó la

frecuencia de los muestreos y el número de muestras ambientales y de muestras de sangre humana y de animales obtenidas en cada campaña realizada.

Finalmente se destaca que en este estudio se han identificado factores que condicionan la aplicación de la vacuna EG95, varios de los cuales han sido confirmados en estudios similares posteriormente llevados a cabo (59, 60, 61, 85). Además, podrían afectar la eficacia y efectividad de la vacunación y son de naturaleza logística, geográfica, técnica y cultural. Estos factores podrían explicar la diferencia entre el 90-100% de protección documentada en los ensayos experimentales y el 62% (56,3% prevalencia inicial, 21,1% prevalencia después de la intervención) registrado en el estudio de Larrieu et al. (2019). Estas dificultades son especialmente claves en áreas endémicas y, deben tenerse en cuenta a la hora de planificar las campañas de vacunación, a fin de mejorar el impacto de las mismas. Soluciones tales como las propuestas en este estudio, de entrenamiento previo del personal en técnicas de aplicación del vacuna, de registro documentado de los animales vacunados, de campañas de sensibilización previa a los ganaderos sobre la importancia de la vacunación de su ganado, o de planificación temporal exhaustiva, aportarían una vía de optimización de la cobertura y por tanto de la efectividad de la aplicación de EG95. No obstante lo comentado, este estudio demuestra que la vacuna EG95 es una herramienta valiosa para reducir la transmisión de *E. granulosos*, incluso en circunstancias de adversidad como la accesibilidad geográfica y cultural compleja de zonas remotas como la estudiada.

## **CONCLUSIONES**

- 1- La IAM de hidatidosis en el Área Programática Sur de la Provincia de Chubut es al menos tres veces superior que la reportada a nivel nacional.
- 2- El valor de prevalencia de hidatidosis en El Chalfía es notablemente superior a la media nacional y provincial, y a la reportada en otras zonas rurales endémicas para esta patología.
- 3- Los animales vacunados con EG95 generaron diferentes títulos de anticuerpos.
- 4- La frecuencia de aparición de equinocosis canina y la presencia de huevos de Taeniidae y coproantígenos de *E. granulosus* en materia fecal canina ambiental, disminuyen luego de la aplicación de la vacuna EG95 en El Chalfía (Chubut, Argentina) en el marco de acciones de control programadas.
- 5- Los factores condicionantes de la aplicación de la vacuna EG95 son de naturaleza cultural, logística, técnica y ambiental y pueden ser prevenidos mediante una rigurosa planificación y sensibilización de la población objeto.
- 6- La implementación de la vacuna EG95 necesita de una importante infraestructura técnica y logística para ser llevada a cabo, factor este que puede condicionar su efectividad.
- 7- Los costos derivados de la atención sanitaria de pacientes con hidatidosis obtenidos en el presente estudio, son menores que los reportados en escenarios epidemiológicos similares, pudiendo estar esto relacionado a un menor número de complicaciones de los quistes hidatídicos de localización hepática.

- 8- Se debería continuar evaluando la efectividad de la vacuna EG95 en El Chalía a fin de analizar el impacto a largo plazo en el control de la hidatidosis.

**ANEXO 1**

Encuesta y consentimiento informado

**ENCUESTA PARA EL PROYECTO DE TESIS DE DOCTORADO: Aspectos inmunobiológicos y efectividad de la vacuna EG95 en ovinos y caprinos en relación con la dinámica de transmisión en un modelo natural.**

Tesista: Bioq. Mónica Graciela Souto; Directora: Dra. Paula Sanchez Thevenet; Co – Director: Dr. Juan Angel Basualdo Farjat.

Sexo:

Edad:

Lugar de nacimiento:

1. ¿Tuvo o tiene actualmente hidatidosis? Si No

Si la respuesta es negativa pase a pregunta 11.

Si la respuesta es positiva responda:

2. ¿A qué edad se diagnosticó?
3. ¿El diagnóstico fue:
- durante una campaña del Programa de Control de Hidatidosis de Provincia?
  - durante una consulta médica por malestar físico?
  - durante una consulta médica por otra enfermedad que tenía diagnosticada?
  - por acudir al médico ante un consejo del agente sanitario?
  - Por otra situación distinta a las anteriores? Especificar.
4. Para el diagnóstico:
- Le sacaron sangre?
  - Le hicieron una radiografía?
  - Le hicieron una ecografía?
  - Le hicieron otros procedimientos diagnosticos?
5. El tratamiento fue:
- quirúrgico?
  - con medicamentos?
  - No tuvo tratamiento?
6. ¿Estuvo internado a causa de la hidatidosis?

Si la respuesta es negativa pase a pregunta 10.

Si la respuesta es positiva responda:

7. La hospitalización fue en el Hospital Regional de Comodoro Rivadavia? Si No

8. ¿Cuántos días de internación tuvo?
  - a. Menos de 7 días
  - b. Entre 8 y 15 días
  - c. Entre 16 y 30 días
  - d. Más de 30 días
9. ¿Estuvo acompañado por familiares durante la internación?
10. ¿Tiene secuelas de la hidatidosis?
  - a. A nivel respiratorio
  - b. A nivel digestivo
  - c. Otras secuelas
11. ¿Padece otras enfermedades?
  - a. Problemas respiratorios
  - b. Problemas digestivos
  - c. Problemas cardíacos
  - d. Problemas musculares y/o en huesos
  - e. Otros problemas:
12. ¿Cómo considera que es su estado general de salud?
  - a. Muy malo
  - b. Malo
  - c. Regular
  - d. Bueno
  - e. Muy bueno

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PROYECTO DE TESIS DE DOCTORADO: Aspectos inmunobiológicos y efectividad de la vacuna EG95 en ovinos y caprinos en relación con la dinámica de transmisión en un modelo natural.**

Tesista: Bioq. Mónica Graciela Souto; Directora: Dra. Paula Sanchez Thevenet; Co – Director: Dr. Juan Angel Basualdo Farjat.

La Bioquímica Mónica Souto, es una investigadora de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB), que está realizando un estudio sobre la utilidad en terreno de la vacuna EG95 contra la hidatidosis, que se aplica en animales. Los beneficios directos e indirectos de este estudio para Ud. consisten en que ofrecerá información que pueda permitir a las autoridades del Ministerio de Salud identificar los problemas y necesidades de personas con hidatidosis en su localidad, y en que contribuirá a definir la utilidad en terreno de la vacuna EG95 para decidir aspectos de su estrategia de uso en condiciones reales.

Para la realización de este trabajo la Bioq. Souto necesitará conocer datos de las personas que tengan o hayan tenido hidatidosis y que habiten en El Chalía (Chubut, Argentina). Para ello, realizará entrevistas personales o buscara dicha información en las historias clínicas de las personas afectadas. El procedimiento del estudio no implica riesgo o daños previsibles para el participante o su familia. Este procedimiento incluye: a) responder a un cuestionario sobre los problemas que considera Ud. le ha ocasionado la hidatidosis b) otorgar permiso a través de la firma de este documento, para acceder a su historia clínica o de la persona afectada por la enfermedad que esté bajo su tutela legal y, c) recolección de muestras del ambiente y de sangre de animales, para evaluar la presencia del parásito, por parte de la investigadora. Se estima que su participación le implicará aproximadamente 15 minutos.

Su participación en el estudio es voluntaria y no tiene ninguna obligación de hacerlo. Además, puede renunciar a participar en cualquier momento, sin que ello implique perjuicio o cambios para Ud.

El estudio y sus procedimientos han sido aprobados por el Comité de Ética de la Provincia de Chubut (Chubut) y por la Comisión de Doctorado de la Facultad de Ciencias Naturales de la UNPSJB. Ud. puede preguntar cualquier duda sobre esta investigación a la Bioq. Souto al celular 0297-154006727.

La información que se obtenga a partir de este estudio será tratada de forma segura, anónima y confidencial. Su identidad no se publicara durante el mismo ni en futuras publicaciones. Además una vez finalizado, Ud. recibirá un informe de los resultados de la investigación.

He leído el formulario de consentimiento y voluntariamente consiento en participar en este estudio.

**Firma del participante:**

Fecha:

Firma del representante legal (si es necesario):

Fecha:

Relación con el participante:

He explicado el estudio al individuo arriba representado y he confirmado su comprensión para el consentimiento informado.

**Firma del investigador:**

Fecha:

**ANEXO 2**

Dictamen de Comité de Bioética APSur

**COMITÉ DE BIOÉTICA APSur**  
IRIGOYEN 950. COMODORO RIVADAVIA. CHUBUT

DICTAMEN ÚNICO DE APROBACIÓN POR CONSENSO Nº 08/2014

Ingresa el Proyecto de Tesis Doctoral: "Aspectos inmunobiológicos y efectividad de la vacuna EG95 en ovinos y caprinos en relación con la dinámica de transmisión en un modelo natural" de la tesista Bioquímica Mónica Souto, con la Dirección de la Dra. Paula Sánchez Thevenet y la Co-dirección del Dr. Juan Ángel Basualdo Farjat.-----

Se deja constancia de que este Comité de Bioética es de carácter Consultivo, por lo que no efectúa evaluación de Proyectos de Investigación. Por consiguiente, la Evaluación requerida por la tesista en su presentación, (primer párrafo; 17 de Julio del 2014) no es de incumbencia de este Comité.-----

Respecto a los aspectos éticos del Consentimiento Informado para el sujeto de investigación, se recomienda que el documento escrito contenga toda la información a ser comunicada a la persona, para cumplir con el principio ético sustantivo del consentimiento informado. Este será *la base o la guía para la explicación verbal y discusión de estudio con el sujeto o su representante legal.*-----

El consentimiento informado individual es un documento que contempla:

- Asegurar que la persona controle la decisión de participar o no en una investigación clínica.-----
- Asegurar que la persona participe sólo cuando la investigación sea consistente con sus valores, intereses y preferencias.-----
- Verificar que la información brindada por el investigador principal o una persona capacitada (especialmente designada por el mismo) sea adecuadamente comprendida por el participante (la información debe ser veraz clara y precisa) y que le hayan sido informadas otras alternativas disponibles y las posibles consecuencias de su participación en el estudio.-----

En virtud de las consideraciones puestas de manifiesto por el Médico Veterinario Oscar Jensen, a quien se recurrió para consultoría externa, el modelo de *consentimiento informado propuesto por la investigadora Mónica Souto, es suficiente y está en acuerdo al proyecto.* El profesional mencionado avala, como responsable del Departamento de Investigación del Ministerio de Salud, que las actividades están propuestas en el marco de trabajos de investigación relacionados a la vacuna EG95 y a la zoonosis Hidatidosis, en la reserva aborígen denominada "El Chalía" (en terreno y en centros asistenciales del departamento Senguer); por lo que determina que las intervenciones a realizar por la bioquímica Mónica Souto, deberán ser coordinadas con el

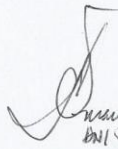
personal técnico del Departamento de Investigación en Salud del Ministerio de Salud.-----

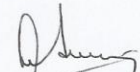
Por lo expuesto, este Comité da por finalizado su análisis y redirecciona a la Bioquímica Mónica Souto a presentar su tesis doctoral ante el Departamento Provincial de Zooantroponosis y el Departamento de Investigaciones en Salud, dependientes del Ministerio de Salud de la Provincia del Chubut , dado como ámbito natural para el desarrollo de la misma.-----


Ningún miembro del Comité de Bioética APSur mantiene potencial conflicto de intereses respecto del Proyecto de Tesis Doctoral ingresado, por lo que habiendo cumplido con el análisis de los aspectos éticos del mismo, los firmantes se pronuncian con un Dictamen Único de Aprobación por Consenso al Proyecto de Tesis Doctoral ingresado bajo el título "Aspectos inmunobiológicos y efectividad de la vacuna EG95 en ovinos y caprinos en relación con la dinámica de transmisión en un modelo natural" de la tesista Bioquímica Mónica Souto, bajo la Dirección de la Dra. Paula Sanchez Thevenet y Co-dirección Juan Angel Basualdo Farjat, cuyos currículos obran en la carpeta de presentación. -----

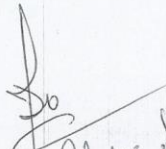
La documentación es sellada y firmada en cada una de sus hojas por los integrantes en representación del Comité de Bioética APSur. Se devuelve el original y se conserva copia. Consta en Acta N° 48 labrada en el día de la fecha. -----

Comodoro Rivadavia, Provincia de Chubut, 01 de noviembre de 2014

  
Juan Carlos  
MI 7666313

  
Julia  
AC 4277720

  
Alejandro  
M.I. 25. 901.015

  
Gladys  
MI 6001620

**BIBLIOGRAFIA**

- 1) Nakao M, Yanagida T, Konyaev S, Lavikainen A, Odnokurtsev V, Zaikov V et al. Mitochondrial phylogeny of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae) with emphasis on relationships among *Echinococcus canadensis* genotypes. *Parasitology*. 2013; 1-12.
- 2) Romig T, Ebi D, Wassermann M. Taxonomy and molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus* sensu lato. *Veterinary Parasitology*. 2015; 213: 76–84.
- 3) Kinkar L, Laurimäe T, Acosta-Jamett G, Andresiuk V, Balkaya I, Casulli A, et al. Global phylogeography and genetic diversity of the zoonotic tapeworm *Echinococcus granulosus* sensu stricto genotype G1. *International Journal for Parasitology*. 2018; 48: 729–742.
- 4) Nakao M, Lavikainen A, Yanagida T, Ito A. Phylogenetic systematics of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae). *International Journal for Parasitology*. 2013; 43: 1017–1029.
- 5) Kinkar L, Laurimäe T, Acosta-Jamett G, Andresiuk V, Balkaya I, Casulli A, et al. Distinguishing *Echinococcus granulosus* sensu stricto genotypes G1 and G3 with confidence: A practical guide. *Infection, Genetics and Evolution*. 2018; 64: 178–184.
- 6) Otero Abad B, Torgerson PR. A systematic review of the epidemiology of Echinococcosis in domestic and wild animals. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013; 7 (6): e2249.

- 7) Ito A, Nakao M, Lavikainen A, Hoberg E. Cystic echinococcosis: Future perspectives of molecular epidemiology. *Acta Tropica*. 2017; 165: 3–9.
- 8) Cucher M, Macchiaroli N, Baldi G, Camicia F, Prada L, Maldonado L, et al. Cystic echinococcosis in South America: systematic review of species and genotypes of *Echinococcus granulosus* sensu lato in humans and natural domestic hosts. *Tropical Medicine and International Health*. 2016; 21 (2): 166–175.
- 9) Debiaggi MF, Soriano S, Pierangeli N, Lazzarini LE, Pianciola L, Mazzeo M, et al. Genetic characterization of human hydatid cysts shows coinfection by *Echinococcus canadensis* G7 and *Echinococcus granulosus* sensu stricto G1 in Argentina. *Parasitol Res*. 2017; 116: 2599-2604
- 10) Sanchez Thevenet P, Jensen O. *Echinococcus granulosus*. En: Basualdo JA, Coto CE, de Torres R. *Microbiología Biomédica*. Buenos Aires: Editorial Atlante; 2006. p. 1251 – 1261.
- 11) D´Alessandro A. Descripción Morfológica, Ciclo Biológico y Distribución Geográfica de las Especies del Género *Echinococcus*. En: Denegri G, Elissondo MC, Dopchiz M Editores. *Situación de la Hidatidosis – Echinococcosis en la República Argentina*. Mar del Plata: Editorial Martín; 2002. p. 19 – 30.
- 12) Silva Álvarez MV. Caracterización estructural y funcional del Antígeno B de *Echinococcus granulosus* [tesis doctoral]. La Plata: Universidad Nacional de La Plata; 2014.

- 13) Thompson RC, McManus DP. Aetiology: parasites and life – cycles. En: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F, Pawlowski ZS, editores. WHO/ OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. Francia; 2001. p 1 – 19.
- 14) Eckert J, Schantz PM, Gasser RB, Togerson PR, Bessonov AS, Movsessian SO et al. Geographic distribution and prevalence. En: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F, Pawlowski ZS, editores. WHO/ OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. Francia; 2001. p. 100 – 142.
- 15) Agudelo Higueta NI, Brunetti E, McCloskey C. Cystic Echinococcosis. J Clin Microbiol. 2016; 54 (3): 518-523.
- 16) Sanchez Thevenet P. Estudio sobre la presencia y viabilidad de *Echinococcus granulosus* y *Taenia hydatigena* con relación a las condiciones del ambiente [tesis doctoral]. Comodoro Rivadavia: Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco; 2006.
- 17) Pawlowski ZS, Eckert J, Vuitton DA, Ammann RW, Kern P, Craig PS et al. Echinococcosis in humans: clinical aspects, diagnosis and treatment. En: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F, Pawlowski ZS, editores. WHO/ OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. Francia; 2001. p. 20 – 66.
- 18) Armiñanzas C, Gutierrez-Cuadra M, Fariñas M. Hidatidosis: Aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos y terapéuticos. Rev Esp Quimioter. 2015; 28 (3): 116-124.

- 19) Gruppi A, Acosta Rodríguez E, Montes C. Respuesta inmunitaria frente a las infecciones parasitarias. En: Fainboim L, Geffner J. Introducción a la inmunología humana. 6<sup>o</sup>ed. Buenos Aires: Ed. Medica Panamericana; 2011. p. 425-437.
- 20) Medina de la Garza C, Castro Corona M. Respuesta inmune contra infecciones por parásitos: factores del parásito y el hospedero involucrados en la respuesta a la infección. En: Salinas Carmona MC. La Inmunología en la Salud y la Enfermedad. 2<sup>o</sup>ed. México: Ed. Medica Panamericana; 2017. p. 307-324.
- 21) Diaz A. Immunology of cystic echinococcosis. *British Medical Bulletin*, 2017; 124:121–133
- 22) Pérez de Mendiola A, Gárate Ormaechea T, Perez Serrano J. Hidatidosis. *Medicine*. 1998; 7 (81): 3776-3781.
- 23) Pinto PP. Diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la hidatidosis. *Rev Chil Cir*. 2017; 69 (1): 94-98.
- 24) WHO Informal Working Group. International classification of ultrasound images in cystic echinococcosis for application in clinical and field epidemiological settings. *Acta Tropica*. 2003; 85: 253-261.
- 25) Ministerio de Salud. Enfermedades infecciosas: Hidatidosis. CABA: Dirección de Epidemiología; 2012. Guía para el equipo de salud N° 11.
- 26) Fernández, E. Ensayo inmunoenzimático cinético dependiente para el diagnóstico de hidatidosis. [Tesis Doctoral]. Comodoro Rivadavia: Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco; 2006.

- 27) Santillan G. Diagnóstico inmunológico. En: Denegri G, Elissondo MC, Dopchiz M Editores. Situación de la Hidatidosis – Echinococcosis en la República Argentina. Mar del Plata: Editorial Martín; 2002. p 113 – 119.
- 28) Sánchez Thevenet P, Souto MG. Dinámica de la transmisión de la hidatidosis por *Echinococcus granulosus*. Actualidad y características de su estudio. En: Basualdo J, Cacchione R, Durlach R. ed. Libro temas de zoonosis V. Buenos Aires: Asociación Argentina de Zoonosis; 2011. p 455-462.
- 29) Jensen O, Sanchez Thevenet P. Hidatidosis by *Echinococcus granulosus*: update and description of the situation in Patagonia (Argentina). En: Research in Helminths Editor Adriana Esteves; 2011.
- 30) SENASA (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria) [base de datos en internet]. Buenos Aires: Ministerio de Producción y Trabajo. [actualizada en marzo 2018; acceso mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/senasa/mercados-y-estadisticas/estadisticas/animal-estadisticas>
- 31) Ministerio de Salud Nación. Normas técnicas y manual de procedimientos para el control de la hidatidosis. Buenos Aires: Ministerio de Salud; 2009.
- 32) Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Boletín integrado de vigilancia [base de datos en internet]. Buenos Aires: Ministerio de Salud [acceso mayo de 2019]. Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/index.php/home/boletin-integrado-de-vigilancia>.

- 33) Jensen O, Sanchez Thevenet P. Consideraciones Epidemiológicas de la Hidatidosis – Echinococcosis en la Patagonia Argentina. En: Denegri G, Elissondo MC, Dopchiz M Editores. Situación de la Hidatidosis – Echinococcosis en la República Argentina. Mar del Plata: Editorial Martín; 2002. p 51 – 55.
- 34) Cucher MA, Macchiaroli N, Baldi G, Camicia F, Prada L, Maldonado L, Avila HG, Fox A, Gutiérrez A, Negro P, López R, Jensen O, Rosenzvit M, Kamenetzky L. Cystic echinococcosis in South America: systematic review of species and genotypes of *Echinococcus granulosus* sensu lato in humans and natural domestic hosts. Trop Med Int Health. 2016; 21(2):166-75.
- 35) Sánchez Thevenet P, Basualdo JA, Alvarez HM. A descriptive study of the occurrence and significance of lipids in *Taenia Hydatigena* eggs. Veterinary Parasitology. 2010; 169: 111-116.
- 36) Torgerson P. Mathematical models for the control of cystic echinococcosis. Parasitology International 2006; 55: 253-258.
- 37) Sáenz González MC, Mirón Canelo JA. Bases generales para la prevención y control de las enfermedades transmisibles. En: Gálvez Vargas R, Sierra López A, Sáenz González MC, Gómez López RI, Fernández – Crehuet Navajas J, Salleras Sanmartí L et al. Piédrola Gil. Medicina Preventiva y Salud Pública. 10° Edición. Barcelona: Masson; 2001.
- 38) Larrieu E, Zanini F. Critical analysis of cystic echinococcosis control programs and praziquantel use in South America, 1974–2010. Rev Panam Salud Pública. 2012; 31(1): 81–7.

- 39) Larrieu E, Díaz M, Costa MT, Cantoni G, Herrero E, Labanchi JL, Zavaleta O. Control de la hidatidosis en áreas continentales: Patagonia. En: Denegri G, Elissondo MC, Dopchiz M Editores. Situación de la Hidatidosis – Echinococcosis en la República Argentina. Mar del Plata: Editorial Martín; 2002. p 153 – 156.
- 40) Torgerson PR, Robertson LJ, Enemark HL, Foehr J, van der Giessen JWB, Kapel CMO, Klun I, Trevisan C. Source attribution of human echinococcosis: A systematic review and meta-analysis. PLoS Negl Trop Dis. 2020;14 (6)
- 41) Eckert J, Gottstein B, Heath D, Lui F. Prevention of echinococcosis in humans and safety precautions. En: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F, Pawlowski ZS, editores. WHO/ OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. Francia; 2001. p 238 – 247.
- 42) Eckert J, Despazes P, Craig PS, Gemmell MA, Gottstein B, Heath D, et al. Echinococcosis in animals: clinical aspects, diagnosis and treatment. En: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F, Pawlowski ZS, editores. WHO/ OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. Francia; 2001. p 72-99.
- 43) Pierangeli N, Soriano S. Hidatidosis en Neuquén: Experiencia en el uso de nuevas herramientas para el control de un viejo problema. En: Basualdo J et al. Temas de zoonosis V. Buenos Aires: Asociación Argentina de Zoonosis. 2011. p 63-69.
- 44) Jensen O, Sanchez Thevenet P. Hidatidosis por *Echinococcus granulosus*. Actualización y descripción de la situación en Patagonia Argentina. En: Jensen O. Hidatidosis en la Patagonia Argentina. Chubut: 2011. p 7 – 45.

- 45) Vioque Lopez J, Garcia de la Hera M., Navarrete Nuñez EM. Educación para la Salud. Conceptos y Métodos. En: Fernandez-Crehuet J et al. Piedrola Gil. Medicina Preventiva y Salud Publica. 12° Edición. Barcelona: Masson; 2016.
- 46) Lardelli Claret P, Jimenez Mejias E, Amezcua C, Martinez Ruiz V. Epidemiología ambiental. En: Fernandez-Crehuet J et al. Piedrola Gil. Medicina Preventiva y Salud Publica. 12° Edición. Barcelona: Masson; 2016.
- 47) Domínguez García A, Torner Gracia N, Salleras Sanmartí L. Inmunización activa y pasiva. En: Fernández – Crehuet Navajas J, Gestal Otero JJ, Delgado Rodriguez M, Bolumar Montrull F, Herruzo Cabrera R, Serra Majen L, et al. Piédrola Gil. Medicina Preventiva y Salud Pública. 12° Edición. Barcelona: Elsevier Masson; 2016.
- 48) Romero Cabello R. Vacuna y vacunación. Fundamentos y manejo de las inmunizaciones. México: Ed. Medica Panamericana; 2013.
- 49) Batista-Duharte A, Lastre M, Pérez O. Adyuvantes inmunológicos. Determinantes en el balance eficacia-toxicidad de las vacunas contemporáneas. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2014;32(2):106–114.
- 50) Cárdenas-Vargas A, Pedroza-Roldán C, Elizondo-Quiroga D. Adyuvantes para vacunas: tipos, aplicaciones y modos de acción. *Rev Mex Cienc Farm.* 2016; 47 (3): 29-47.
- 51) Bastola R, Noh G, Keum T, Bashyal S, Seo J, Choi J, Oh Y, et al. Vaccine adjuvants: smart components to boost the immune system. *Arch. Pharm. Res.* 2017; 40:1238–1248

- 52) SENASA. Manual de Procedimientos Hidatidosis. [base de datos en internet]. Buenos Aires [acceso 10 de mayo de 2018]. Disponible en: <http://www.senasa.gob.ar/manual-de-procedimientos-hidatidosis>
- 53) Gauci C, Heath D, Chow C, Lightowlers M. Hydatid disease: vaccinology and development of the EG95 recombinant vaccine. *Expert Rev. Vaccines*. 2005; 4 (1): 103-112.
- 54) Heath D, Jensen O, Lightowlers M. Progress in Control of Hydatidosis using vaccination – a review of formulation and delivery of the vaccine and recommendations for practical use in control programmes. *Acta Trop*. 2003; 83: 133 – 143.
- 55) Salleras Sanmartí L, Dominguez García A, Navas Alcalá E. Evaluación de la eficacia y la efectividad de las intervenciones preventivas y de los programas de salud. En: Gálvez Vargas R, Sierra López A, Sáenz González MC, Gómez López RI, Fernández – Crehuet Navajas J, Salleras Sanmartí L et al. Piédrola Gil. *Medicina Preventiva y Salud Pública*. 10° Edición. Barcelona: Masson; 2001.
- 56) Lightowlers MW, Jensen O, Fernandez E, Iriarte JA, Woollard DJ, Gauci CG, Jenkins DJ, Heath DD. Vaccination trials in Australia and Argentina confirm the effectiveness of the EG95 hydatid vaccine in sheep. *International Journal of Parasitology*. 1999; 29: 531 – 534.
- 57) Jensen O, Fernández E. Inmunización en el Hospedador Intermediario. Desarrollo de la Vacuna EG95. En: Denegri G, Elissondo MC, Dopchiz M Editores. Situación de

- la Hidatidosis – Echinococcosis en la República Argentina. Mar del Plata: Editorial Martín; 2002. p 169 – 172
- 58) Borrás E, Domínguez A, Salleras L. Evaluación de la efectividad de los programas de vacunación. *Sanit Gac.* 2011; 25 (supl 1): 49-55.
- 59) Larrieu E, Mujica G, Araya D, Arezo M, Herrero E, Santillán G. et al. Impacto de la vacuna EG95 contra la hidatidosis ovina en el Programa de control en la Provincia de Río Negro, ocho años de trabajo (informe preliminar). *Rev Arg Parasitol.* 2017; 19 (1): 30-49.
- 60) Larrieu E, Mujica G, Gauci CG, Vizcaychipi K, Seleiman M, Herrero E, et al. Pilot Field Trial of the EG95 Vaccine against Ovine Cystic Echinococcosis in Río Negro, Argentina: Second Study of Impact. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015; 9 (10).
- 61) Larrieu E, Herrero E, Mujica G, Labanchi JL, Araya D, Grizmado C, et al. Pilot field trial of the EG95 vaccine against ovine cystic echinococcosis in Río Negro, Argentina: Early impact and preliminary data. *Acta Tropica.* 2013; 127: 143– 151.
- 62) Nebot M. Evaluación de la efectividad en salud pública: fundamentos conceptuales y metodológicos. *Gac Sanit.* 2011; 25 (Supl 1):3-8.
- 63) Guarnera E. Hidatidosis en Argentina. Carga de enfermedad. Buenos Aires: OPS; 2009.
- 64) Seuc A, Domínguez E, Díaz O. Introducción a los DALYs. *Rev Cubana Hig Epidemiol* 2000; 38 (2): 92-101.

- 65) Budke C, Deplazes P, Torgerson P. Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. *Emerging Infectious Diseases*. 2006; 12 (2): 296-303
- 66) Garcia-Altes A, Navas E, Soriano MJ. Evaluación económica de intervenciones de Salud Pública. *Gac Sanit*. 2011; 25 (Supl 1):25-31.
- 67) Farías MJ, Medina AG. Estimación del costo para el diagnóstico precoz de la hidatidosis en niños de 5 y 12 años en la provincia de Ñuble, Región del Bio-Bio, Chile. *Rev Chilena Infectología*. 2011; 28: 50-56.
- 68) Gemmel MA, Roberts MG, Beard TC, Campano Díaz S, Lawson JR, Nonnemaker JM. Formulating effective and cost – effective policies in the planning phase for permanent control of *Echinococcus granulosus*. En: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F, Pawlowski ZS, editores. *WHO/ OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern*. Francia; 2001. p. 209 – 217.
- 69) Torgerson PR. Economic effects of echinococcosis. *Acta Tropica*. 2003; 85: 113-118.
- 70) Benner C, Carabin H, Sanchez – Serrano LP, Budke C, Carmena D. Analysis of the economic impact of cystic echinococcosis in Spain. *Bull World Health Organ*. 2010; 88: 49-57.
- 71) Remis JA, Guarnera EA, Parra A. Impacto de la hidatidosis. Influencia de factores ambientales y socioculturales en Tucumán, Argentina. *RAR*. 2009; 73: 303-312.
- 72) Pinotti LV. *Sin embargo existimos*. Buenos Aires: Eudeba; 2001.
- 73) Sánchez Thevenet P, Torrecillas C, Souto M, Fajardo M, Ponce G, Gregori Roig P, Mellado I, Córdoba M, Quezada A, Curaqueo A, Macías M, Estrazzalino I, Fernández

- E, Mozzoni M, Borquez F, Gallo D, Jensen O. Zoonosis Parasitarias en Localidades de la Comarca Rio Senguer Golfo San Jorge, Chubut, Argentina. En: Actas III congreso Latinoamericano de Zoonosis y IV Congreso Argentino de Zoonosis. Buenos Aires; 2008.
- 74) D'Imperio P. Parásitos intestinales de perros (*Canis familiaris*) en zonas rurales del sur de la Provincia del Chubut, Argentina [tesina de grado]. Comodoro Rivadavia: Archivo Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco; 2008.
- 75) Gatti A, Alvarez AR, Araya D, Mancini S, Herrero E, Santillan G, Larrieu E. 2007. Ovine echinococcosis. Immunological diagnosis by enzyme immunoassay. Vet. Parasitol. 143: 112 – 121.
- 76) Kamenetzky L, Gutierrez AM, Canova SG, Haag KL, Guarnera EA, Parra A, García GE, Rosenzvit MC. Several strains of *Echinococcus granulosus* infect livestock and humans in Argentina. Infect Genet Evol. 2002; 2(2):129-36.
- 77) Ayres R, Mara D. Análisis de las aguas residuales para su uso en la agricultura. OMS; 1996.
- 78) Markell EK, John DT, Krotoski W A. Examination of stool specimens. En: Markell E. K., John D. T., Krotoski W. A. (Eds.). Medical Parasitology. 8th Ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1999. p 431 – 471.
- 79) Martínez Fernández A R, Muro Álvarez A., Simón Martín F. Diagnóstico de las parasitosis. En: Cordero del Campillo M., Rojo Vázquez F. A. (Comp). Parasitología Veterinaria. Madrid: McGraw-Hill, Interamericana; 2000. p 158 - 177.

- 80) Allan JC, Craig PS, Garcia Noval J, Mencos F, Liu D, Wang Y et al. 1992. Coproantigen detection for immunodiagnosis of echinococcosis and taeniasis in dogs and humans. *Parasitol.* 104: 347-355.
- 81) Venegas J, Espinoza S, Sánchez G. Estimación del impacto económico de la equinococosis quística en Chile y análisis de las posibles causas que han dificultado su erradicación. *Rev Med Chile* 2014; 142: 1023-1033.
- 82) Rojo Pombo FJ, Gregori Roig P, Sánchez Thevenet P. Hidatidosis: Una Enfermedad Infecciosa Desatendida presente en la Comunidad Valenciana (España). X Congreso Nacional Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional. Bilbao, España; 2017. p 210.
- 83) Bingham G, Larrieu E, Uchiumi L, Mercapide C, Mujica G, Del Carpio M, Hererro E, Salvitti JC, Norby B, Budke CM. The Economic Impact of Cystic Echinococcosis in Rio Negro Province, Argentina. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 94(3), 2016, pp. 615–625.
- 84) OPS/OMS. De la necesidad de generar y revisar las evidencias sobre la utilización de la vacuna EG95 para el control de la hidatidosis quística en ovinos. Jornadas Iberoamericanas de hidatidosis y otras zoonosis. Colonia del Sacramento, Uruguay; 2014.
- 85) Larrieu E, Gavidia CM, Lightowlers MW. Control of cystic echinococcosis: Background and prospects. *Zoonoses Public Health.* 2019; 00:1-11.

- 86) Pierangeli NB, Soriano SV, Roccia I, Bergagna HF, Lazzarini LE, Celescinco A, Kossman AV, Saiz MS, Basualdo JA. Usefulness and validation of a coproantigen test for dog echinococcosis screening in the consolidation phase of hydatid control in Neuquén, Argentina. *Parasitol Int.* 2010; 59(3):394-9.
- 87) Alvarez Rojas CA, Fredes F, Torres M, Acosta-Jamett G, Alvarez JF, Pavletic C, Paredes R, Cortés S; Ministry of Health, SAG and other organizations attending the meeting. First meeting "Cystic echinococcosis in Chile, update in alternatives for control and diagnostics in animals and humans". *Parasit Vectors.* 2016; 9:502.
- 88) Giglio N, Bakir J, Gentile A. Eficacia, efectividad e impacto de vacunas: ¿es lo mismo? *Rev. Hosp. Niños (B. Aires)* 2018; 60 (268): 34-41.
- 89) Pourseif MM, Moghaddam G, Saeedi N, Barzegari A, Dehghani J, Omid Y. Current status and future prospective of vaccine development against *Echinococcus granulosus*. *Biologicals.* 2018; 51:1-11.
- 90) Bingham G, Budke C, Larrieu E, Del Carpio M, Mujica G, Slater M, Moguillansky S. A community-based study to examine the epidemiology of human cystic echinococcosis in Rio Negro Province, Argentina. *Acta Tropica.* 2014; 136: 81–88.
- 91) Chumbe E, Lopera L, Barron E, Ninaquispe B, Gavidia C. Prevalencia de Hidatidosis Humana mediante técnicas de imagen en Yanahuanca, Pasco. *Rev Inv Vet Perú* 2010; 21 (1): 61-67.
- 92) Souto MG, Sanchez Thevenet P, Basualdo Farjat J. Evaluation of the presence of *Echinococcus granulosus sensu lato* in the environment and in hosts in a region

- endemic for hydatidosis in the province of Chubut (Argentina). *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 2016; 6: 42-46.
- 93) Atkinson J, Gray D, Clements A, Barnes T, McManus D, Yang Y. Environmental changes impacting *Echinococcus* transmission: research to support predictive surveillance and control. *Global Change Biology*. 2013; 19, 677–688.
- 94) Torgerson PR. The use of mathematical models to simulate control options for echinococcosis. *Acta Tropica*. 2003; 85, 211-221.
- 95) Heath DD, Koolard J. Serological monitoring of protection of sheep against *Echinococcus granulosus* by the EG95 vaccine. *Parasite immunology*, 2012. 34,40-44.
- 96) Woolard DJ, Gauci CG, Heath DD, Lightowers MW. Epitope specificities and antibody responses to the EG95 hydatid vaccine. *Parasite immunology* 1998. 20, 535-540.
- 97) Kamenetzky L, Cucher M. Hidatidosis: Genotipos de *Echinococcus Granulosus* presentes en Argentina y el mundo. En: Asociación Argentina de Zoonosis. Temas de Zoonosis VI; 2014. p 411 – 421.
- 98) Carmena D, Cardona G. Canine Echinococcosis: Global epidemiology and genotypic diversity. *Acta Tropica* 2013; 128: 441-460.
- 99) Adel F, Ramia JM, Gijon L, de la Plaza R, Arteaga-Peralta V, Ramiro-Perez C. Hidatidosis extrahepática y extrapulmonar. *Cirugía y cirujanos*. 2017;85 (2): 121-126.

- 100) Belhassen-García M, Romero-Alegria A, Velasco-Tirado V, Alonso-Sardon M, Lopez-Bernus A, Alvela-Suarez L et al. Study of Hydatidosis-Attributed Mortality in Endemic Area. PloS ONE. 2014; 9 (3).