



universidad
de león

***Hidatidosis en la Región de Coquimbo, Chile:
Epidemiología en población humana y genotipificación de
quistes hidatídicos.***

TESIS DOCTORAL DE D^a NICOLE DOMINIQUE URRIOLA URRIOLA
Programa de Doctorado Ciencias Veterinarias y de los Alimentos

Nicole Dominique Urriola Urriola

Tutores: Dr.Giuliano Bernal Dossetto

Dr. Valentín Pérez Pérez

León 2021

1. ÍNDICE GENERAL

1. ÍNDICE GENERAL	2
2. LISTADO DE ABREVIATURAS	1
3. RESUMEN	2
4. ABSTRACT	5
5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	8
<i>INTRODUCCIÓN.....</i>	<i>9</i>
<i>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</i>	<i>11</i>
HISTORIA DE LA EQUINOCOCOSIS QUÍSTICA O HIDATIDOSIS.....	11
BIOLOGÍA Y CICLO DE VIDA.....	16
CEPAS DE <i>ECHINOCOCCUS GRANULOSUS</i>	27
EPIDEMIOLOGÍA DE UNA DE LAS PARASITOSIS DESATENDIDAS EN EL MUNDO: EQUINOCOCOSIS QUÍSTICA (CE)	35
6. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	52
7. CAPITULO 1.....	55
<i>CONOCIMIENTO, FACTORES DE RIESGO Y EPIDEMIOLOGÍA DE EQUINOCOCOSIS EN ÁREAS RURALES DE LA REGIÓN DE COQUIMBO, UNA ZONA ENDÉMICA</i>	<i>56</i>
RESUMEN.....	56
ABSTRACT	57
INTRODUCCIÓN	58
MATERIALES Y MÉTODOS.....	61
2. Diseño de estudio	61
3. Cuestionario	63
4. Consideraciones éticas.....	64
5. Análisis de Datos	65
RESULTADOS.....	65
Seropositividad	65
Cuestionario	70
*P<0,05.....	73
DISCUSIÓN	74
8. CAPITULO 2.....	80
<i>HAPLOTIPOS DE ECHINOCOCCUS GRANULOSUS SENSU STRICTO EN CHILE Y SU COMPARACIÓN A TRAVÉS DE SECUENCIAS DEL GEN MITOCONDRIAL COX 1 CON HAPLOTIPOS DE SUD AMÉRICA Y OTROS CONTINENTES.....</i>	<i>81</i>
RESUMEN.....	81
ABSTRACT	83
INTRODUCCIÓN	85
MATERIALES Y MÉTODOS.....	89

1. Origen de los quistes hidatídicos	89
2. Extracción de DNA y amplificación gen cox1	92
4. Comparación de las secuencias obtenidas en este trabajo con secuencias cox1 depositadas en GenBank.....	94
5. Diversidad y estructuración genética de la población	95
RESULTADOS.....	103
DISCUSIÓN	123
<u>9. CONCLUSIONES, APORTACIONES Y SUGERENCIAS PARA FUTUROS TRABAJOS</u>	<u>127</u>
<u>10. ANEXOS</u>	<u>133</u>
<u>11. BIBLIOGRAFIA</u>	<u>151</u>

Índice de Tablas

Tabla 1. Clasificación Taxonómica De <i>Echinococcus Granulosus</i>.	19
Tabla 2. Especies De <i>Echinococcus</i> Y Cepas De <i>Echinococcus Granulosus</i>. (Tabla Modificada De Thompson, 2020).	31
Tabla 3. Seroprevalencia De Equinococosis Quística En La Provincia De Limarí, Región De Coquimbo De Acuerdo A Edad Y Sexo En 1221 Muestras.....	66
Tabla 4. Variables Demográficas Y Factores De Riesgo Según El Estado De La Equinococosis Quística (Ce) Para 908 Adultos Examinados Con Elisa-Igg- Equinococosis, En La Provincia De Limarí, Coquimbo.	67
Tabla 5. Regresión Logística Multivariada De Factores Asociados Con Ce Positiva, En Adultos Diagnosticados Con Método De Elisa En La Provincia De Limarí, Coquimbo, Chile 2017	71
Tabla 6. Factores De Riesgo Según Nivel De Escolaridad Para 908 Adultos Encuestados, En La Provincia De Limarí, Coquimbo.....	72
Tabla 7. Origen Y Número De Muestras Analizadas En Este Estudio.	90
Tabla 8. Secuencias Del Gen Mitocondrial Citocromo Oxidase Sub Unidad 1 (Cox1) De <i>Echinococcus Granulosus S.S.</i> Y <i>E. Granulosus S.L.</i>, Utilizadas En Este Estudio	97
Tabla 9. Sitios De Segregación Entre Las Secuencias Del Gen Cox1 De Los Haplotipos De <i>E. Granulosus S.S.</i> Identificados En Este Estudio (Haplotipos Egclom01-06, 8-23, Egcloco07; Egclcco03, Egclba01-16, 19, 20; Egclbco17,18,21; Egclhco01), En Comparación Con La Secuencia De Haplotipos De <i>E. Granulosus S.S.</i> Descritos Por Yanagida Y Colaboradores (2012), Bowles Y Colaboradores, (1992) Y Kamenetzky Y Colaboradores, (2002). Las Posiciones De Los Nucleótidos Se Numeran A Partir Del Primer Nucléotido Del Gen.....	106
Tabla 10. Estadísticos Genéticos Para Las Poblaciones Analizadas De <i>Echinococcus Granulosus</i>.	108
Tabla 11. Índices De Fijación De Fisher (Triángulo Inferior) Y Snn (Triángulo Superior) De <i>Echinococcus Granulosus S.S.</i>, En Las Tres Regiones Analizadas.	108
Tabla 12. Análisis De Amova De Las Secuencias Del Gen Cox1 De Las Tres Poblaciones De <i>Echinococcus Granulosus S.S.</i> Analizadas.	108

Tabla 13. Sitios De Segregación De Las Secuencias Del Gen Cox1 De Los Haplotipos De *E. Granulosus* S.S. Descritos Para Chile, Perú, Bolivia Y Argentina En Latinoamérica. Las Posiciones De Los Nucleótidos Se Numeran A Partir Del Primer Nucleótido Del Gen. 112

Tabla 14. Sitios De Segregación De 61 Secuencias Del Gen Cox1 De *E. Granulosus* S.S. Descritos Para Austria, Hungría, Bulgaria, Italia, Rumania, Portugal, Grecia E Inglaterra En Europa. Las Posiciones De Los Nucleótidos Se Numeran A Partir Del Primer Nucleótido Del Gen. 113

Tabla 15. Sitios De Segregación De 95 Secuencias Del Gen Cox1 De *E. Granulosus* S.S. Descritos En Países Como: Turquía, Kirgistán, Kurdistán Y China, En Asia. Las Posiciones De Los Nucleótidos Se Numeran A Partir Del Primer Nucleótido Del Gen. 115

Tabla 16. Sitios De Segregación De Secuencias Del Gen Cox1 De *E. Granulosus* S.S. Descritos En Países Como: Paquistán, Irán Y Arabia Saudita, En Medio Oriente. Las Posiciones De Los Nucleótidos Se Numeran A Partir Del Primer Nucleótido Del Gen. 117

Figura 16. (A) Red De Haplotipos Construida Con Las Secuencias Del Gen Cox1 De Las 45 Muestras De *E. Granulosus* S.S. Analizadas En Este Estudio, 46 Secuencias Descritas Para Chile Y 16 Secuencias Descritas En Medio Oriente. (B) Haplotipos, Índices De Diversidad Haplotípica E Índices De Neutralidad Para 62 Haplotipos Descritos En Asia Y Chile. 118

Tabla 17. Sitios De Segregación De Secuencias Del Gen Cox1 De *E. Granulosus* S.S. Descritos En África Y Australia. Las Posiciones De Los Nucleótidos Se Numeran A Partir Del Primer Nucleótido Del Gen. ... 119

Tabla 18. Índices De Diversidad Y Neutralidad Para Las Diferentes Poblaciones Analizadas. 122

Índice de Figuras

Figura 1: <i>Echinococcus Granulosus</i>, Verme Adulto, Se Observa Su Escólex Con Ventosas Y Ganchos Y La Estróbila Con Tres Proglótidas, La Última Grávida De Mayor Tamaño.	17
Figura 2. Ciclo De Vida De <i>Echinococcus Granulosus</i>.	18
Figura 3. Huevo De <i>Echinococcus Granulosus</i>.	22
Figura 4. Corte Histológico De La Pared De Un Quiste Hidatídico. Muestra La Adventicia, La Cutícula Laminar, Una Delgada Germinativa (Prolígera) Y Vesículas Prolígeras Libres Con Escólices En El Interior.	25
Figura 5. Protoescólices Liberados De Un Quiste Hidatídico. Los Dos Protoescólices En El Lado Derecho De La Imagen Están Evaginados. (Www.Cdc.Gov).....	26
Figura 6. Distribución De <i>Echinococcus Granulosus</i> Y Equinococosis Quística (Ce), Alrededor Del Mundo, 2011. (Who, 2020).....	37
Figura 8. Origen Geográfico Y Número De Hospederos De <i>Echinococcus Granulosus Sensu Stricto</i> Utilizados En Este Estudio.....	91
3. Análisis De Secuencias Y Construcción De Árboles Filogenéticos	93
Figura 9. Electroforesis En Gel De Agarosa (0,8%). Visualización De Dna Genómico En Muestras De Bovinos.	93
Figura 10. Producto De Pcr, Gen Cox1 (450 Pb), Quistes Hidatídicos De Ovinos.	94
Figura 11. Árbol Filogenético De <i>Echinococcus Granulosus</i> S.L, Utilizando Secuencias De 450pb Del Gen Cox1, Aisladas Desde 46 Quistes Hidatídicos De Distintos Hospederos De Tres Regiones Ganaderas De Chile. El Árbol Fue Construido Con El Método De Máxima Verosimilitud (MI) Utilizando El Método Evolutivo Kimura 2 Parámetros (K2p). <i>Taenia Crassiceps</i> Y <i>Taenia Hydatigena</i> Se Utilizaron Como Outgroup.	105
Figura 12. A) Red De Haplotipos Construida Con Las Secuencias Del Gen Cox1 De Las 45 Muestras De <i>E. Granulosus</i> S.S. Analizadas En Este Estudio. B) Haplotipos, Índices De Diversidad Haplotípica E Índices De Neutralidad Para 46 Muestras De <i>E. Granulosus</i> S.S. Analizadas. N: Número De Muestras, K: Número De Haplotipos, Hd: Diversidad Haplotípica, Pi: Diversidad Nucleotídica.	107
Figura 13. (A) Red De Haplotipos Construida Con Las Secuencias Del Gen Cox1 De Las 46 Muestras De <i>E. Granulosus</i> S.S. Analizadas En Este Estudio, 39 Secuencias Descritas Para Chile, 27 Secuencias Descritas En Perú, 9 Para Bolivia Y 30 En Argentina. (B) Haplotipos, Índices De Diversidad Haplotípica E Índices De Neutralidad Para 105 Secuencias Descritos En Latinoamérica.	111

Figura 14. (A) Red De Haplotipos Construida Con Las Secuencias Del Gen Cox1 De Las 45 Muestras De E. Granulosus S.S. Analizadas En Este Estudio, 27 Secuencias Descritas Para Chile Y 59 Secuencias Descritas En La Europa. (B) Haplotipos, Índices De Diversidad Haplotípica E Índices De Neutralidad Para 131 Haplotipos Descritos En Europa Y Chile..... 114

Figura 15. (A) Red De Haplotipos Construida Con Las Secuencias Del Gen Cox1 De Las 46 Muestras De E. Granulosus S.S. Analizadas En Este Estudio Y 95 Secuencias Descritas En Asia. (B) Haplotipos, Índices De Diversidad Haplotípica E Índices De Neutralidad Para 141 Haplotipos Descritos En Asia Y Chile... 116

Figura 17. (A) Red De Haplotipos Construida Con Las Secuencias Del Gen Cox1 De Las 46 Muestras De E. Granulosus S.S. Analizadas En Este Estudio Y 38 Secuencias Descritas En África. (B) Haplotipos, Índices De Diversidad Haplotípica E Índices De Neutralidad Para 84 Haplotipos Descritos En África Y Chile. 120

Figura 18. (A) Red De Haplotipos Construida Con Las Secuencias Del Gen Cox1 De Las 46 Muestras De E. Granulosus S.S. Analizadas En Este Estudio Y 19 Secuencias Descritas En Australia. (B) Haplotipos, Índices De Diversidad Haplotípica E Índices De Neutralidad Para 84 Haplotipos Descritos En Australia Y Chile. 121

Índice de Anexos

ANEXO 2: CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA ADULTOS..... 134

ANEXO 3: CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL MENOR DE EDAD..... 137

ANEXO 4: ENCUESTA HIDATIDOSIS 139

ANEXO 5. DÍPTICO EDUCATIVO SOBRE HIDATIDOSIS 141

ANEXO 6. VALIDACIÓN ENCUESTA HIDATIDOSIS REGIÓN DE COQUIMBO..... 143

AGRADECIMIENTOS

A los doctores Dr. Giuliano Bernal y Dr. Valentín Pérez por su apoyo y por facilitarme su laboratorio.

A Dagianna González y Yenny Nilo, por apoyar en la realización de los análisis de laboratorio.

Al Dr. Fernando Moraga y a Rodrigo Calderón por facilitar sus equipos de laboratorio y por apoyar en la realización de los análisis de laboratorio.

A todos los que me apoyaron y ayudaron en el trabajo de terreno

A mi madre.

2. LISTADO DE ABREVIATURAS

AMOVA: Análisis de la Varianza Molecular

CE: Equinococosis quística

DNAm: DNA mitocondrial

E. granulosus: *Echinococcus granulosus*

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay: “ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas”

F de Fu: índice de neutralidad poblacional

Fst: índices de fijación de Fisher

IgG: Inmunoglobulina G

H: diversidad de haplotipos

K: Número de haplotipos

K2P: Modelo evolutivo Kimura 2 Parámetros

ISP: Instituto de Salud Pública de Chile

ML: Método de Máxima verosimilitud

MINSAL: Ministerio de Salud de Chile

N: Número de individuos analizados

OPS: Organización Panamericana de la Salud

π : Diversidad nucleotídica

Tajima`s D: índice de neutralidad poblacional

S: Número de sitios polimórficos detectados

s.l.: sensu lato

s.s.: sensu stricto

SAG: Servicio Agrícola y Ganadero de Chile

Snn: Estadístico del vecino más cercano

WHO: World Health Organization

3. RESUMEN

La Equinococosis quística (CE) o Hidatidosis es una zoonosis cosmopolita crónica causada por el metacésto de un complejo de especies crípticas pertenecientes a *Echinococcus granulosus* s.l., siendo *Echinococcus granulosus* s.s. la especie causante de la mayor parte de los casos de CE humana y se encuentra distribuida en todo el mundo. Esta cestodiasis es un importante problema de salud pública y económico para las poblaciones afectadas, principalmente en zonas rurales y ganaderas. En Sudamérica, Chile es uno de los países en donde la Equinococosis quística es endémica, a pesar de esto y a los programas de intervención para controlar esta parasitosis en regiones y provincias rurales en donde se practica la ganadería caprina y ovina, esta parasitosis sigue presente, siendo las regiones de Aysén, Magallanes, La Araucanía y Coquimbo, las que poseen los índices de prevalencia más altos. En este estudio se determinó la prevalencia de la equinococosis quística y sus posibles factores de riesgo en cuatro comunas de la provincia de Limarí, región de Coquimbo, entre los años 2016-2017 y se evaluó la diversidad genética de *E. granulosus* s.s. en tres regiones endémicas, Coquimbo, La Araucanía y Magallanes, mediante la secuencia de la subunidad 1 del gen mitocondrial de la de la citocromo oxidasa (cox1). Un total de 1221 personas entre 5 - 88 años fueron examinados con el método de ELISA. Los factores de riesgo fueron evaluados por medio de un cuestionario en 908 personas mayores de 18 años. Se utilizó el método de regresión logística para determinar la probabilidad de asociación entre la presencia de la infección equinocócica y los factores de riesgo; y la escolaridad y los factores de riesgo. La diversidad genética y la estructura poblacional de metacéstodos de *E. granulosus* s.s. fue evaluada en tres regiones endémicas de Chile, mediante la secuencia de la sub unidad 1 del gen mitocondrial de la citocromo oxidasa (cox1). Se secuenciaron 46 quistes, 6 de la región de Coquimbo, 18 de la Araucanía y 22 de Magallanes, aislados de distintos hospederos intermediarios, bovinos, caprinos, ovinos y seres humanos. De este modo se observó que la prevalencia general de CE en la población analizada fue de 7,9% (97/1221), 6,71% (21/313) de menores de 18 años y el 8,4% (76/908) de los adultos, no se observaron diferencias significativas entre los grupos etarios analizados. La comuna de Punitaqui presenta la mayor frecuencia relativa 13.33% (12/90) de CE. En el análisis de los factores de riesgo para la CE, el tener agua potable en las casas y el haber tenido equinococosis quística en alguna etapa de

su vida se asociaron con la mayor probabilidad de presentar equinocosis quística. Los resultados de este estudio muestran una alta endemicidad de Equinocosis quística en la provincia de Limarí. Así también, todos los quistes hidatídicos analizados fueron identificados como *E. granulosus s.s.*. Predominó la cepa EG01, detectando 4 haplotipos, EG01, EG1A, EG1D, EgCLOM16, con una baja diversidad de haplotipos ($Hd=0,461\pm 0,00637$) y una baja diversidad de nucleótidos ($0,00181\pm 0,00036$). La red de parsimonia de *cox1* en la población chilena mostró forma de estrella, en donde el haplotipo EG01 se encontró en el centro. Los índices de neutralidad Tajima's *D* y *F* de *Fu*'s fueron negativos para las poblaciones de Coquimbo ($D= -0,93302$; $Fs= -0,003$) y Magallanes ($D= -0,17406$; $Fs= -0,121$), lo que indica un exceso de sitios polimórficos raros, expansión poblacional y una desviación significativa de la neutralidad. Los índices *D* de Tajima y *Fs* de *Fu* fueron positivos para la población de La Araucanía ($D= 0,8695$; $Fs= 1,039$), mostrando niveles bajos de alelos raros o falta de alelos raros. El índice de fijación de Fisher por pares (*Fst*), muestran valores negativos en las poblaciones Coquimbo- La Araucanía ($-0,08761$). El valor de *Fst* más alto y significativo fue entre las poblaciones de La Araucanía- Magallanes ($0,10703$), indicando diferencias entre estas poblaciones. Nuestros resultados muestran que la estructura genética poblacional de *E. granulosus s.s* es compleja, debido a la presencia de diferentes haplotipos en las diferentes regiones a lo largo de Chile, la cual posiblemente se complejice aún más si se utilizan secuencias más largas, que permitan estudiar la microdiversidad de *E. granulosus s.s.* en los diferentes hospederos. De esta forma, se sugiere que para diseñar futuros programas de control de la Equinocosis quística (CE), se deben tener en cuenta la variabilidad de la cepa en cada una de las regiones endémicas.

4. ABSTRACT

Cystic echinococcosis (CE) or Hydatidosis is a chronic cosmopolitan zoonosis caused by the metacestode of a complex of cryptic species belonging to *Echinococcus granulosus s.l.*, being *Echinococcus granulosus s.s.* the species that causes most cases of human CE and is distributed throughout the world. This cestodiasis is a major public health and economic problem for the affected populations, mainly in rural and livestock areas. In South America, Chile is one of the countries where Cystic echinococcosis is endemic, despite this and the intervention programs to control this parasitosis in rural regions and provinces where goat and sheep farming is practiced, this parasitosis is still present, being the regions of Aysén, Magallanes, La Araucanía and Coquimbo, which have the highest prevalence rates. In this study, the prevalence of Cystic echinococcosis and its possible risk factors were determined in four communes of the Limarí province, Coquimbo region, between the years 2016-2017 and the genetic diversity of *E. granulosus s.s.* in three endemic regions, Coquimbo, La Araucanía and Magallanes, through the sequence of subunit 1 of the mitochondrial gene of the cytochrome oxidase (cox1). A total of 1221 people between 5 - 88 years old were examined with the ELISA method. The risk factors were evaluated by means of a questionnaire in 908 people older than 18 years. The logistic regression method was used to determine the probability of association between the presence of echinococcal infection and risk factors; and schooling and risk factors. Genetic diversity and population structure of *E. granulosus s.s.* it was evaluated in three endemic regions of Chile, using the sequence of sub unit 1 of the mitochondrial gene of that of cytochrome oxidase (cox1). 46 cysts were sequenced, 6 from the Coquimbo region, 18 from Araucanía and 22 from Magallanes, isolated from different intermediate hosts, bovines, goats, sheep and humans. In this way, it was observed that the general prevalence of CE in the analyzed population was 7.9% (97/1221), 6.71% (21/313) of those under 18 years of age and 8.4% (76 / 908) of the adults, no significant differences were observed between the age groups analyzed. The commune of Punitaqui presents the highest relative frequency 13.33% (12/90) of CE. In the analysis of risk factors for EC, having drinking water in the home and having had Cystic echinococcosis at some stage in life were associated with a higher probability of presenting Cystic echinococcosis. The results of this study show a high endemicity of Cystic echinococcosis in the province of Limarí.

Likewise, all the hydatid cysts analyzed were identified as *E. granulosus s. s.* The strain EG01 predominated, detecting 4 haplotypes, EG01, EG1A, EG1D, EgCLOM16, with a low diversity of haplotypes ($Hd = 0.461 \pm 0.00637$) and one low nucleotide diversity (0.00181 ± 0.00036). The *cox1* parsimony network in the Chilean population showed a star shape, where the EG01 haplotype was found in the center. The neutrality indices Tajima's *D* and Fu's *F_s* were negative for the populations of Coquimbo ($D = -0.93302$; $F_s = -0.003$) and Magallanes ($D = -0.17406$; $F_s = -0.121$), indicating an excess of rare polymorphic sites, population expansion, and a significant deviation from neutrality. The *D* of Tajima and Fu's *F_s* were positive for the population of La Araucanía ($D = 0.8695$; $F_s = 1.039$), showing low levels of rare alleles or lack of rare alleles. The Fisher fixation index by pairs (*F_{st}*), show negative values in the Coquimbo-La Araucanía populations (-0.08761). The highest and most significant *F_{st}* value was between the La Araucanía-Magallanes populations (0.10703), indicating differences between these populations. Our results show that the population genetic structure of *E. granulosus s. s.* is complex, due to the presence of different haplotypes in the different regions throughout Chile, which may become even more complex if longer sequences are used, which allow studying the microdiversity of *E. granulosus s. s.* in the different hosts. Thus, it is suggested that to design future Cystic echinococcosis (CE) control programs, the variability of the strain in each of the endemic regions should be taken into account.

5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Introducción

La Equinococosis quística (CE) o Hidatidosis es una zoonosis cosmopolita producida por el estado larval del cestodo *Echinococcus granulosus*, el cual ha sido identificado hace siglos como un importante problema de salud pública y económica para las poblaciones afectadas, siendo incluida en el listado de 18 enfermedades desatendidas por la Organización Mundial de la Salud (Budke et al., 2006, Thompson, 2017, WHO, 2020).

La transmisión ocurre entre los hospederos definitivos cánidos y los hospederos intermediarios herbívoros, mientras que la infección humana ocurre por la ingesta de los huevos del parásito eliminados y desprendidos en las heces de los perros infectados (Thompson, 2017).

Los mayores índices de prevalencia de equinococosis se encuentran en países y zonas templadas, en zonas rurales y marginadas, en las cuales se desarrolla principalmente la ganadería ovina y caprina, como es en parte del sur de Sudamérica, todo el litoral Mediterráneo, zona meridional y central de Rusia y las antiguas repúblicas soviéticas, Asia central, China y partes de África (Casulli, 2020, Herrador et al., 2016, Sarkar et al., 2017).

Esta parasitosis es considerada una patología susceptible a medidas de control, aunque para su erradicación se requieren planes y programas a largo plazo, sostenibles en el tiempo e interdisciplinarios, que no siempre se encuentra disponible en los países afectados (Ebrahimipour et al., 2020, Larrieu et al., 2019).

Los primeros planes de control aplicados en el mundo, se realizaron en los territorios insulares de Nueva Zelanda y Tasmania, fueron muy exitosos en la eliminación de la equinococosis quística, para los cuales se utilizaron los conocimientos del ciclo de vida del parásito, su historia de vida y de la infección. Enfocándose en disminuir el número de nuevas infecciones, utilizando la desparasitación con praziquantel o el sacrificio de los hospederos definitivos, la eliminación de las vísceras infectadas de los animales de ganado faenados y la

educación sanitaria de la población humana (Larrieu et al., 2019). Estos resultados generaron expectativas en los programas de segunda generación que se implementaron en zonas continentales de Argentina, Uruguay y Chile, los cuales han tenido efectos moderados o ineficaces en el control de la equinocosis quística, con la consiguiente falta de seguimiento de los mismos en el tiempo (Craig y Larrieu, 2006, Craig et al., 2017, Lightowlers, 2012).

En Chile, el programa de segunda generación se implementó entre los años 1979 - 1997, utilizando un esquema de 8 desparasitaciones de perros al año, con praziquantel o hidrobromuro de arecolina (Craig y Larrieu, 2006), solo la región de Magallanes obtuvo los resultados esperados, aunque al discontinuar el programa la parasitosis ha resurgido y con ello el riesgo para la población humana (Craig y Larrieu, 2006, Larrieu y Zanini, 2012).

Con todos estos antecedentes, la Organización Mundial de la Salud (WHO), recomendó la implementación de nuevos planes pilotos con las herramientas y conocimientos adquiridos sobre la equinocosis quística, con el objetivo de controlar y eliminar este problema de salud pública para el año 2020. El año 2004, la Organización Panamericana de la Salud (OPS), coordinó el proyecto Subregional para la Vigilancia y control de la equinocosis quística, para la vigilancia y el control en Argentina, Brasil, Chile, Perú y Uruguay (Pavletic et al., 2017). En este nuevo programa se han tomado enfoques innovadores para esta enfermedad desatendida, destacándose la cooperación entre los países, implementando o fortaleciendo las actividad de prevención y control, esperando la disminución de su morbi-mortalidad, con la consiguiente menor carga de la enfermedad en la población (Irabedra y Salvatella, 2010).

Para Chile se ha concluido que es factible la reducción de la equinocosis quística, e incluso su erradicación, si se gestiona un plan a nivel nacional, con medidas que complementen la desparasitación de los perros callejeros, registro de los perros con dueño, inspección veterinaria de los animales de abasto y sus carnes en los mataderos, implementación de programas de educación a los diferentes grupos de riesgo y reforzamiento de la vigilancia epidemiológica, buscando activamente los casos humanos, incluida la información sobre

genotipos de *E. granulosus*, factores de riesgo potenciales de infección y supervivencia de huevos de parásitos en el medio ambiente, para desarrollar una estrategia de control basada en la evidencia con las diferentes herramientas disponibles actualmente (Irabedra y Salvatella, 2010, OPS, 2006).

Revisión Bibliográfica

Historia de la Equinococosis quística o Hidatidosis

A lo largo de la historia del hombre en la tierra, este ha sido parasitado por una gran cantidad de parásitos, alrededor de 300 especies de helmintos y 70 especies de protozoos. El estudio de estos parásitos no puede ir separado de la historia humana, ya que su distribución y propagación actual está influenciada por muchos factores, entre ellos las actividades y comportamiento humano, modificando la historia. Actualmente existen unas 40 especies de tenias adultas y 15 formas larvales de ellas, que pueden infectar a los humanos, generalmente de forma accidental (Ashford, R. y W. Crewe, 1998, Cox, 2002), siendo uno de ellos *Echinococcus granulosus*, que provoca la equinococosis quística (CE) o también llamada hidatidosis.

La equinococosis quística (CE) o hidatidosis es una de las zoonosis más graves que afecta a los humanos, descrita desde tiempos remotos hasta la actualidad (Andresiuk et al., 2013, Casulli, 2020, Cox, 2002, Eckert y Thompson, 2017), siendo el humano un hospedero intermediario accidental del ciclo de este cestodo (Acha y Szyfres, 2003).

Echinococcus granulosus tiene como hospederos definitivos a perros y otros cánidos, mientras que animales de ganado como: los caprinos, los ovinos y los bovinos entre otros, forman parte de los hospederos intermediarios en el ciclo de vida de este parásito (WHO, 2020). Los quistes hidatídicos que se forman en los animales de ganado han sido descritos desde la antigüedad, existiendo referencias de ellos en animales de sacrificio en el Talmud de Babilonia, así como en animales de sacrificio para alimento descritas por Hipócrates en el

siglo IV a.C y Galeno en el siglo II d.C. (Grove, 1990). En el Corpus Hippocratorum se encuentran reportes de quistes hidatídicos de humanos, descritos como sacos de moco, glándulas agrandadas, vasos sanguíneos distorsionados, várices linfáticas o acumulaciones de linfa (Cordero del Campiño 2007, Eckert y Thompson, 2017), tiempos en los cuales no se tenía claro que era una enfermedad parasitaria, lo cual fue dilucidado en el siglo XVII, con las observaciones realizadas por Francesco Redi (Redi, 1684), quién describió grupos discretos de hidátides en la pared de las vejigas, definiéndolos como “cuerpos pequeños” en la pared de las vejigas (Eckert y Thompson, 2017).

De igual forma, una gran cantidad de investigadores trabajaron para conocer y describir el ciclo de vida de este cestodo. En 1688 Wepfer observó una etapa del ciclo de vida de las tenias en el hígado de ratones, llamándolos “*latis lumbricus intestinorm*” (*Taenia taeniaeformis*), realizando el vínculo entre la forma intestinal y quística de las tenias. Más tarde, en 1766 Pallas P. S., demostró que estos quistes son las formas larvarias de las tenias. En 1801 Rudolphi introdujo el nombre “*Echinococcus*” en la zoología. Luego, von Siebold (1853) demostró que perros alimentados con quistes hidatídicos de ovejas eliminaban las tenias adultas, compuestas por dos o tres proglótidas, obteniendo por primera vez de forma experimental adultos de *E. granulosus*. Así también, Bernhard Naunyn observó que perros alimentados con quistes humanos también presentaban tenias adultas (Eckert y Thompson, 2017, Grove, 1990).

En 1926, 1928 Dévé y Dew, al experimentar e infectar a cerdos, demostraron que las oncósferas penetran y traspasan la pared intestinal, llegando a las venas portas pequeñas y de esa forma son transportadas por el torrente sanguíneo para alojarse en el hígado. Así, concluyeron que la mayor cantidad de larvas se alojan en el hígado y que otras son transportadas al pulmón y otros órganos, como se observa en humanos, predominando los casos de hidatidosis en hígado, pulmón y en menor prevalencia en otras localizaciones (Eckert y Thompson, 2017; Schantz, 1972). Con respecto a la etiología de la equinococosis quística secundaria, ocurrida luego de la ruptura de un quiste, von Alexinsky (1898) demostró la

formación de quistes luego de inyectar intraperitonealmente arena hidatídica, la cual contiene los protoescólices. Esto también fue corroborado por Dévé al inyectar por vía intraperitoneal arena hidatídica en conejos y observar la formación de nuevos quistes (Eckert y Thompson, 2017).

Los efectos patológicos de esta parasitosis son observados meses o años después de la infección, cursando inicialmente un período asintomático. Las manifestaciones sintomáticas dependen del órgano que estén afectando, de la cantidad de quistes, de su tamaño, estadio de desarrollo y la presión ejercida sobre los órganos adyacentes (WHO, 2020).

Luego de dilucidar que la equinococosis quística (CE) es una enfermedad parasitaria producida por *E. granulosus*, en el año 1928 Schwarz categorizó zonas y países según las tasas de prevalencia de CE, informando que en algunos países de Sudamérica como: Argentina, Paraguay, Uruguay y Brasil existe una alta prevalencia de CE en la población humana, mientras que en Chile, Bolivia, Perú, Ecuador, Colombia, Venezuela y en América del Norte se presentan casos esporádicos. Para Europa reporta prevalencias altas y medias de CE en Francia, Inglaterra, Alemania, Holanda, Grecia y región mediterránea (Portugal, España, Italia). Debido a la aparente falta de información en Asia se informó una baja prevalencia; India con una prevalencia media; China y Japón con una baja prevalencia. Australia, Tasmania y Nueva Zelanda se describieron como zonas de alta prevalencia (Cucher et al., 2016, Deplazes et al., 2017, Larrieu y Zanini, 2012, Pavletic et al., 2017).

De esta forma, Schwarz (1928) describió y clasificó diferentes zonas con respecto a la prevalencia y presencia de *E. granulosus*. Argentina, Australia y Nueva Zelanda componen una zona altamente endémica para *E. granulosus* y para la CE humana, de igual forma estas zonas poseen alta prevalencia de CE en el ganado y animales silvestres, por ejemplo en Australia el 80% de los dingos se encuentran infectados (Eckert y Thompson, 2017; Jenkins et al 2008, Jenkins y Morris, 2003). Estas observaciones corresponden con los registros actuales de prevalencias de CE (Eckert et al 2000, Otero-Abad y Torgerson 2013).

Así también, su declaración y teoría de que la equinococcosis ocurre en todas partes y que su detección depende de la conciencia de la enfermedad, fue apoyada y demostrada décadas después, en las cuales se estudió la epidemiología y el conocimiento sobre esta parasitosis tanto en zonas endémicas y de alta prevalencia, como en otras zonas geográficas (Bingham et al., 2014, Larrieu y Zanini, 2012, Romig et al., 2015).

Entre los investigadores que han aportaron al conocimiento epidemiológico se encuentran Gemmell y colaboradores (Gemmell et al., 1986, Gemmell, et al, 1987), quienes describieron que *E. granulosus* y otros cestodos aseguran su supervivencia debido a una sobredispersión, utilizando una baja diversidad de hospederos intermediarios y definitivos; ovejas y perros respectivamente, los cuales pueden albergar un gran número de parásitos, presentando altas parasitemias, lo que no alteraría el ciclo del parásito, ya que no hay mortalidad del hospedero inducida por el parásito. De esta forma, para entender la dinámica de transmisión, su epidemiología y diseñar un programa de prevención y control de la parasitosis hay que tener en cuenta: 1) el potencial biótico del parásito en el huésped definitivo; 2) adquisición de inmunidad de los hospederos intermediarios; 3) viabilidad de los huevos en el ambiente (Ebrahimipour et al., 2020, WHO, 2020).

En esta búsqueda para dilucidar el ciclo biológico de *E. granulosus*, se han observado gran cantidad de cepas, demostrando variaciones intraespecíficas dependiendo de la región, las cuales poseen diferentes preferencias de huéspedes, diferentes tasas de infectividad en humanos entre otras características (Nakao et al 2013a), factores que junto a los tres puntos descritos anteriormente poseen un impacto en la epidemiología de la parasitosis, como en su prevención y control (Moro y Schantz, 2006, Otero-Abad y Torgerson, 2013).

La búsqueda de un tratamiento farmacológico antihelmíntico ha tenido un largo camino, el cual inició después de dilucidar el ciclo de *E. granulosus*, ya que al realizar el diagnóstico tanto en humanos como en perros y ganado, se tuvo que manejar el hecho de que los quistes

poseen capas, que actúan como barreras para que un antihelmíntico atraviese y llegue a los hidátides ejerciendo su efecto. Observándose en humanos que el albendazol y el prazicuantel son parcialmente efectivos y rara vez constituyen una cura y remisión completa de los quistes, reportándose que entre el 10% - 30% de los quistes mueren después del tratamiento con estos antihelmínticos, entre el 50% - 70% presenta disminución del tamaño y entre el 20% - 30% de ellos no presenta cambios morfológicos (Horton, 1997, Horton, 2003, Todorov et al., 1992), no siendo estos tratamientos completamente satisfactorios, los cuales deben ser complementados con tratamientos quirúrgicos para reseccionar los quistes (Manterola et al, 2011, Manterola et al, 2017, Pinto, 2017).

De esta forma, diversos países, como Nueva Zelanda, Australia, China, Chile y Argentina entre otros, han diseñado estrategias para su prevención y control, los cuales consisten en educación sanitaria, vigilancia de los alimentos para los animales: perros y ganado, cuarentena de animales infectados, registro de perros, desparasitación de perros, eliminación adecuada de vísceras animales y tamizaje en población humana, etc. Estos programas han podido reducir significativamente la prevalencia de hidatidosis en muchas regiones, como Nueva Zelanda, Tasmania y las islas Malvinas quienes lograron consolidar el control y erradicación de la parasitosis (OPS, 2006). Mientras que otras regiones de Sud América han trabajado en la erradicación de esta enfermedad en zonas endémicas acotadas, con programas que se han discontinuado y modificados, por lo cual no han logrado la erradicación de esta parasitosis (Craig y Larrieu, 2006, Larrieu et al., 2004, Pavletic et al 2017). Por lo tanto, a pesar de los descubrimientos y esfuerzos por la erradicación de esta parasitosis, en este siglo XXI, ha llegado el momento y el gran desafío de desarrollar una vigilancia y control activos de la equinococcosis quística, lo que incluye el desarrollo de nuevos ensayos moleculares o serológicos para su detección y diagnóstico, seguimiento activo en los huéspedes humanos y animales de ganado, domésticos y silvestres; mejora en el manejo clínico, mejor comprensión de la contaminación ambiental por los huevos del parásito, y sus vías de transmisión a los humanos, así como las características genéticas de este parásito, la generación de datos epidemiológicos sobre la carga de la parasitosis en la

población y educación a la población, para poner fin a esta antigua parasitosis (Casulli, 2020, Larrieu et al, 2019, Thompson et al., 1995).

Biología y Ciclo de Vida

Echinococcus (Rudolphi, 1801), es un cestodo endoparásito pequeño, clasificada como “tenia verdadera”, perteneciente a la Subclase Eucestoda (tabla 1). Poseen un cuerpo blando comprimido dorsoventralmente, acelomado, triblástico, con una capa celular que recubre el cuerpo. No poseen intestino, el intercambio metabólico se realiza a través del tegumento externo sincitial con microtricos. En el extremo anterior, el escólex, posee un rostelo con dos filas de ganchos y cuatro ventosas musculares. El cuello separa el escólex de la estróbila o cuerpo, el cual está formado por proglótidas en distintos estadios de madurez (figura 1). *Echinococcus granulosus* es una de las especies más extendidas que causa equinococosis quística en humanos, posee un ciclo de vida heteroxénico con dos hospederos, tiene el rango más amplio de hospederos intermediarios, el individuo adulto hermafrodita, se reproduce sexualmente en el hospedero definitivo y la etapa larvaria del metacestodo, el quiste hidatídico, prolifera asexualmente (Cucher et al., 2016, Thompson et al., 1982).

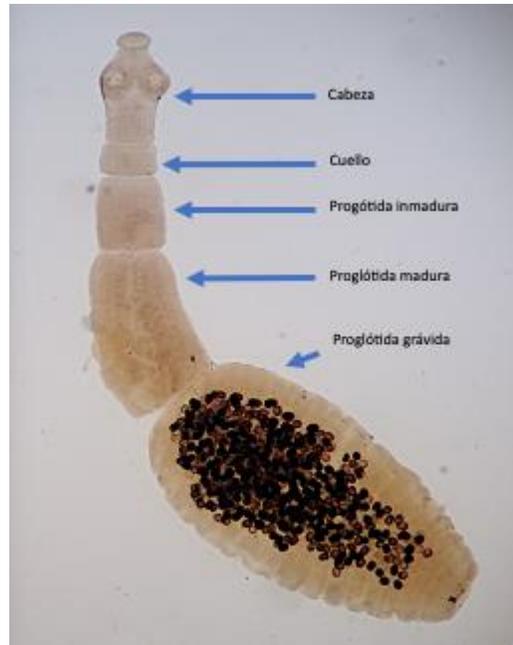


Figura 1: *Echinococcus granulosus*, verme adulto, se observa su escólex con ventosas y ganchos y la estróbila con tres proglótidas, la última grávida de mayor tamaño.

El ciclo de vida de *Echinococcus granulosus* para llevarse a cabo necesita dos hospederos mamíferos (figura 2). Proglótidas grávidas y los huevos salen junto a las heces del hospedero definitivo, un cánido, contaminan el ambiente, los alimentos y el agua de bebida, luego estos huevos son ingeridos por un hospedero intermediario, ganado o mamíferos silvestres, mientras que el humano es un intermediario accidental, en el que se desarrolla la etapa metacéstodo (quiste hidatídico). Dentro del quiste hidatídico se encuentran los protoescólices. El ciclo se completa si el huésped intermediario es ingerido por un hospedero definitivo (Cucher et al., 2016, Eckert et al., 2001, Federer et al., 2016, Hidalgo et al., 2016, Rahman et al., 2015).

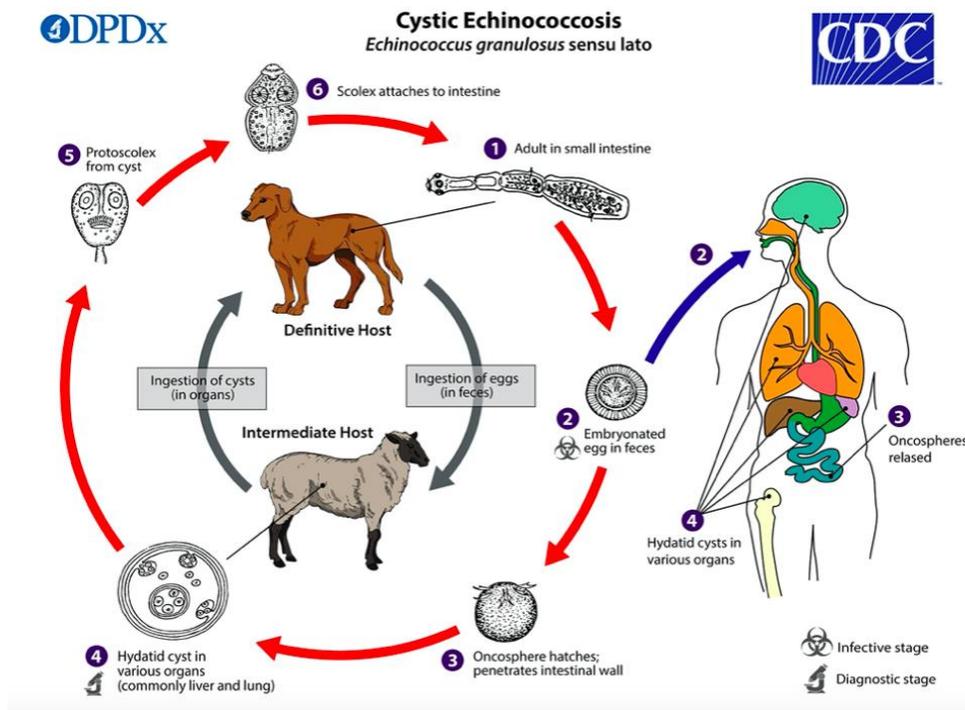


Figura 2. Ciclo de vida de *Echinococcus granulosus*.

1.- parásito adulto (de 3 a 6 mm de largo) reside en el intestino delgado de los hospedadores definitivos, perros u otros cánidos. 2.- Después de la ingestión por un huésped intermediario adecuado (en condiciones naturales: ovejas, cabras, cerdos, vacas, caballos, camellos), el huevo eclosiona en el intestino delgado y libera una oncosfera. 3.- la oncosfera penetra la pared intestinal y migra a través del sistema circulatorio en diversos órganos, especialmente el hígado y los pulmones. 4.- La oncosfera va creciendo y se forma el quiste hidatídico, produciendo protoescólices y quistes hijos que llenan el interior del quiste. El huésped definitivo se infecta al ingerir los órganos que contengan quistes del huésped intermediario infectado. 5.- Después de la ingestión, los protoescólices invaginan y se adhieren a la mucosa intestinal. 6.- Se desarrolla la etapa adulta en 32 a 80 días (Fuente: Center for disease control and prevention CDC, www.cdc.gov).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Echinococcus granulosus*.

Phylum Platyhelminthes
Cuerpo blando, triblástico, acelomado, comprimido dorsoventralmente, con una capa celular cubriendo el cuerpo, sistema excretor formado por protonefridios
Clase Cestoda
Endoparásitos, tubo digestivo ausente, capa externa del cuerpo recubriendo un tegumento sincitial, con microtricos
Subclase Eucestoda
Tenias verdaderas, adultos con un cuerpo elongado (estróbilo), formado por una serie de anillos (proglótidas) con los órganos reproductores, escólex (órgano especializado en la sujeción) en posición anterior, hermafroditas, con ciclos indirectos
Orden Cyclophyllidea
Escólex con 4 ventosas musculares y con rostelo normalmente armado, estróbilo formado por proglótidas en varios estadios de desarrollo, cada segmento claramente marcada por una segmentación marcada, huevos esféricos no operculados, con una oncosfera con 6 ganchos (embrión hexacanto)
Familia Taenidae
Adultos en el intestino delgado de carnívoros y humanos, cualquier mamífero como posible hospedero intermediario; escólex con un rostelo normalmente armado con doble corona de ganchos, genitalia impar en cada proglótide, con el poro genital marginal alternando irregularmente, huevos con una cubierta exterior fuertemente estriada

Los adultos de *Echinococcus granulosus* tienen una longitud de 6-8 mm, presentando 3 proglótidas y raras veces poseen más de cinco proglótidas. Para completar su desarrollo requiere dos huéspedes mamíferos en los cuales completan su ciclo de vida (figura 3). El adulto se localiza en el intestino delgado del hospedero carnívoro, anclado en las criptas de Lieberkühn (Thompson, 2017, Thompson et al., 1979). En el intestino de los perros *E. granulosus* va cambiando de ubicación formando agregaciones, presentando diferentes densidades a lo largo del intestino. La formación de estas agregaciones aún no tienen una explicación clara, las causas pueden ser la atracción entre los gusanos y/o hacia microambientes particulares. Las altas concentraciones locales de gusanos pueden promover su desarrollo, las interacciones competitivas o las respuestas inmunitarias del hospedero que inhiben el desarrollo de los helmintos, por lo tanto se sugiere que el entorno local del hospedero tiene un efecto significativo en el desarrollo del parásito (Constantine et al., 1998).

Su escólex está armado con una doble corona de ganchos, una exterior de ganchos pequeños y una interior de ganchos grandes; y cuatro ventosas. El rostelo posee en su parte anterior una glándula que contiene una sustancia proteica, posiblemente junto a otra sustancia lipídica. Esta estructura posiblemente posee una función histolítica, de significancia nutricional, permitiendo la obtención de nutrientes al lizar las células del hospedero. Otra hipótesis sobre esta estructura, la glándula rostelar aparentemente única en *Echinococcus*, es que posee un rol protector, inhibiendo o inactivando las enzimas digestivas del hospedero, o interfiriendo sobre los mecanismos efectores del sistema inmune (Thompson y Jenkins, 2014, Thompson et al., 1979).

La superficie corporal del cestodo adulto está cubierto por un sincitio citoplasmático, el cual se forma a partir de células localizadas en el parénquima subyacente, células tegumentarias. Este sincitio forma microtricos en la parte externa. Se han observado dos tipos de microtricos, con distribución diferente y posiblemente diferentes funciones. En el estróbilo son rígidas con forma de cuchilla en la mayor parte de su longitud, quizás para aumentar la superficie de absorción del helminto o probablemente sirven para separar la superficie absorbente del

parásito y el hospedador, manteniendo el flujo de nutrientes, mientras que en el extremo del roseto y en el escólex los microtricos son largos y flexibles, posiblemente permiten un contacto mayor con el hospedador y aumente la adhesión (Thompson et al., 1979, Thompson et al., 1982).

El cuello o región prolígera (prolífera) es corto e insegmentado formada por células indiferenciadas responsables de dar origen al estróbilo con 3 - 6 proglótidas (Hussain et al., 2005, Thompson y Lymbery, 1988). La primera proglótide siempre está en formación, la segunda generalmente está totalmente formada o madura y el última de ellas grávidas (Eckert et al., 2001). Este es un parásito hermafrodita cuyos conductos reproductivos poseen una abertura común lateral, en el denominado poro genital (Thompson et al., 1995).

Cada una de las proglótidas de la estróbila constituye una unidad reproductiva independiente, pudiendo autoinseminarse o presentar inseminación cruzada, predominando la autofecundación (Lymbery et al., 1997, Thompson y Lymbery, 1988). Ambas formas de fecundación, principalmente la autofecundación constituye una ventaja para este pequeño helminto, por la probabilidad de encuentro entre ellos en el intestino delgado de los hospederos definitivos (cánidos), en especial cuando la infección es leve o débil (Lymbery et al., 1997, Smyth y Smyth, 1969, Thompson, 2017, Thompson y Jenkins, 2014, Thompson et al., 1995).

El primer proglótide es inmaduro, presenta esbozos de gónadas. El penúltimo contiene un ovario bilobulado y aproximadamente 50 testículos, entre 20 - 80, los cuales se sitúan de forma lateral al útero. Los conductos deferentes de los testículos convergen en un cirro que comunica al exterior en un poro genital. El ovario es único y las glándulas vitelógenas se ubican detrás del ovario. El útero se ubica centralmente con pequeñas extensiones laterales (Hussain et al., 2005, Thompson et al., 1984,). La última proglótide grávida es la única unidad reproductora madura, es más ancha y larga, siendo casi la mitad de la longitud total del cuerpo. Está cargada de huevos, siendo estrictamente un saco ovífero (Thompson, 2017).

Echinococcus granulosus alcanza su madurez sexual entre los 29 - 35 días después de infectar al hospedero cánido, produciendo huevos completamente formados después de 34-58 días (Gosttein, 1992, Thompson y Kumaratilake, 1982.2, Thompson et al., 1984).

Los huevos, contienen la forma larvaria infecciosa de *E. granulosus*, tienen forma esférica o elipsoidal, con un tamaño que puede variar entre 30 - 41 μm de diámetro. Estos huevos son difíciles de diferenciar de los huevos de otras tenias, ya que poseen una morfología muy similar, con varias capas y membranas (Cabrera et al., 2002, Craig et al., 1986, Craig et al., 1988, Morseth, 1965). Son muy resistentes, soportan gran variedad de temperaturas, debido a la protección física que le proporciona el embrióforo queratinizado de alta resistencia a la oncosfera, dando un aspecto estriado y oscuro (figura 3) (Colli y Williams, 1972, Eckert et al., 2001, Morseth, 1965, Sánchez Thevenet et al., 2005, Świdorski et al., 2017).



Figura 3. Huevo de *Echinococcus granulosus*.

Una vez que el huevo es ingerido por el hospedero intermediario, quien es un mamífero herbívoro, animales de ganado, silvestres y humanos, se desarrolla la etapa larvaria de *E. granulosus*, la cual está relacionada con la patogenidad de este céstodo (Eckert et al., 2001, Federer et al 2016).

Los huevos ingeridos por el hospedero intermediario eclosionan en el estómago o en el intestino, ocurriendo dos etapas, la primera es de desagregación pasiva de los bloques del embrióforo en el estómago o en el intestino, mientras que en la segunda etapa se activa la

oncósfera y se libera la membrana de la oncósfera. La oncósfera es un "embrión esférico u ovalado bilateralmente simétrico, armado con tres pares de ganchos, que contiene un par de glándulas y está rodeado por envolturas embrionarias" (Holcman y Helth, 1997, Jabbar et al., 2010, Thompson, 2017).

Este proceso de eclosión, al parecer requiere de la presencia de enzimas proteolíticas, pepsina y pancreatina, en el estómago o en el intestino, así como de sales biliares en algunos hospederos, también se ha observado la eclosión en otros ambientes como los pulmones, cavidad peritoneal, entre otros. Es por esto que se ha postulado que el requisito de eclosión no depende específicamente de las características del intestino del hospedero, sino que existen factores que operan en la oncósfera que regulan si el huevo de un ténido se desarrolla en un hospedero intermediario los cuales se expresan en la fase invasora o de establecimiento (Colli y Williams, 1972, Jabbar et al., 2010, Kumaratilake y Thompson, 1981, Thompson et al, 1995).

Una vez que se libera la oncósfera ésta presenta movimientos enérgicos y rítmicos que involucran su musculatura y sus ganchos (Swiderski, 1983), de esta forma penetran en la microvellosidades del yeyuno y en la parte superior del íleon en el intestino delgado (Heath, 1971), para lo cual también utilizan enzimas, mucopolisacaridasas, proteasas y/o hialuronidasa, con las cuales pueden moverse a través de los tejidos (Heath, 1971, Jabbar et al., 2010). Luego las oncósferas de *E. granulosus* migran por los vasos sanguíneos o linfáticos, lo que permite que se alojen en el hígado o en los pulmones u otras localizaciones, Heath (1971) postuló que el tamaño de los vasos quilíferos y vénulas de las microvellosidades de diferentes hospederos puede determinar la distribución de los quistes entre el hígado y los pulmones.

Dew y Dévé, entre los años 1925 y 1949 respectivamente describieron que las oncósferas de *E. granulosus* llegan al hígado a través del sistema portal, mientras que algunos podrían

atravesar el hígado y llegar a los pulmones, dependiendo del diámetro de los conductos sinusoides hepáticos del hospedero intermediario.

De esta forma, la localización final del metacestodo de *Echinococcus* probablemente depende de una serie de factores entre los que se encuentran las características anatómicas y fisiológicas del hospedero y de la especie y cepa del parásito (Health, 1971).

Cuando la oncósfera se ubica en su lugar de predilección ocurre el desarrollo postoncosférico, desarrollándose el metacestodo, el cual causa la equinococosis quística (CE) o Hidatidosis (Eckert et al., 2001).

El metacestodo de *E. granulosus* es una estructura quística unilocular, con forma subesférica, con líquido en su interior. El quiste está formado por una capa germinal o prolígera, de origen parasitario, posee gran cantidad de núcleos y es rica en glucógeno, de la cual se forman directa o indirectamente los constituyentes de la hidátide. También encontramos la capa laminar o cuticular, acelular, quitinosa, resistente, elástica y blanquecina, de espesor variable, rodeada de una capa adventicia fibrosa, formada por el hospedero, resultante de la reacción inflamatoria inicial (figura 4) (Holcman y Heath, 1997, Monteiro et al., 2010, Moro y Schantz, 2009, Silva-Álvarez et al., 2015).

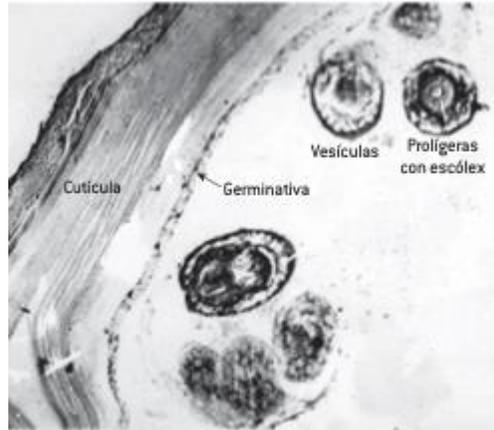


Figura 4. Corte histológico de la pared de un quiste hidatídico. Muestra la adventicia, la cutícula laminar, una delgada germinativa (prolígera) y vesículas prolígeras libres con escólices en el interior.

Los quistes hidatídicos de *E. granulosus* normalmente son uniloculares, con una sola cámara, cuyo crecimiento es expansivo por agrandamiento concéntrico, aumentando su diámetro entre 1 - 5 cm por año. Pequeñas vesículas llamadas cápsulas de cría brotan internamente de la capa germinal y producen múltiples protoescólices por división asexual, proceso totalmente endógeno. Se pueden formar bolsas en las paredes del quiste que forman cámaras secundarias que se comunican con la cámara central, o pueden estar separadas por tabiques incompletos (Siracusano et al., 2012, Thompson, 2017, Vanek, 1980).

En las cápsulas de cría, ocurren sucesivas gemaciones, constituyendo la fase asexual de reproducción de *E. granulosus*, dando origen a numerosos protoescólices, lo cual es asincrónico presentándose diferentes etapas de desarrollo en una misma cápsula de cría al mismo tiempo (Thompson, et al., 1995). Los protoescólices se caracterizan por poseer ganchos y ventosas en el rostelo, junto con un sistema excretor (figura 5). Estos protoescólices madurarán y se transformarán en individuos adultos cuando los quistes son ingeridos por los hospederos definitivos cánidos, así también los protoescólices pueden formar nuevos quistes, cuando son liberados en la cavidad interna del hospedero intermediario debido a la ruptura del quiste (Monteiro et al., 2010).

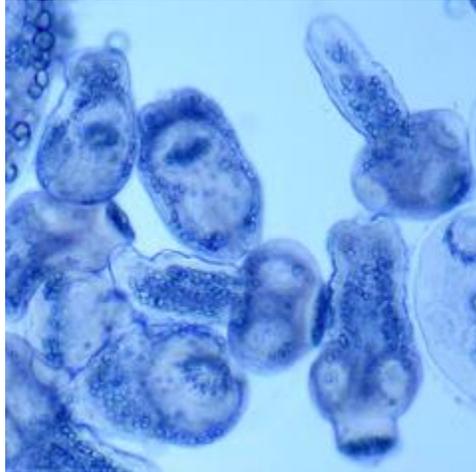


Figura 5. Protoescólices liberados de un quiste hidatídico. Los dos protoescólices en el lado derecho de la imagen están evaginados. (www.cdc.gov)

El líquido hidatídico que se encuentra en el interior del quiste es producido por el metabolismo del parásito, incoloro o transparente, pH 7,4 (Sapunar, 1999). Entre sus componentes está el agua, la glucosa, cloruro de sodio, urea y proteínas con propiedades antigénicas, los cuales son excretados y secretados por el parásito y moléculas derivadas del hospedero (Sapunar, 1999, Silva-Álvarez et al., 2015). Al sedimentar este líquido, se encuentra la arenilla hidatídica, en la cual se encuentran vesículas prolíferas, escólices y ganchos (Sapunar, 1999).

Durante el proceso de infección se produce una interacción entre el huésped-parásito, el resultado de ésta depende del equilibrio logrado entre muchas variables implicadas en la inmunidad del huésped y las estrategias de evasión de *E. granulosus* (Siracusano et al., 2012). *Echinococcus granulosus* se mantiene un período prolongado en el hospedero que infecta, a pesar de los mecanismos de defensa de éste. De este modo han desarrollado una amplia gama de estrategias, como la inmunomodulación, las defensas antioxidantes y la resistencia a enzimas proteolíticas del hospedero entre otros, aunque todas las estrategias aún no están claras del todo (Hewitson et al., 2009, Monteiro et al., 2010).

Echinococcus granulosus posee una variedad de proteínas inmunomoduladoras que interactúan activamente con los procesos inmunitarios humanos innatos y adaptativos, para reducir el impacto de la respuesta del huésped, las cuales son secretadas y expuestas por el quiste hidatídico, entre ellas se han descrito algunas moléculas derivadas del parásito como AgB, EgTeg y EgEF-1 β / δ , que podrían provocar una activación Th2 predominante, mientras que EgTPx y otros componentes de HCF pueden provocar una activación celular Th1 / Th2 concomitante (Siracusano et al., 2012). Otro ejemplo son las lipoproteínas, entre ellas se ha descrito el antígeno B (EgAgB), quién puede estar involucrado en funciones metabólicas esenciales de los parásitos y la inmunomodulación del hospedero, permitiendo su supervivencia (Silva-Álvarez et al., 2015).

Cepas de *Echinococcus granulosus*

Smyth y Davies (1974), al cultivar de forma in vitro protoescolices de *Echinococcus*, obtenidos de diferentes hospederos intermediarios, caballo y ovino, estudiando su desarrollo y segmentación, observaron diferencias en el desarrollo de ambos. La cepa de oveja formó proglótides y creció hasta la madurez sexual, mientras que la cepa del caballo no presentó segmentación u otro desarrollo, mostrando que poseen diferencias fisiológicas, acuñando el término “diferencias fisiológicas de tensión”. Esto constituyó un importante avance para la comprensión de la epidemiología de la hidatidosis, su taxonomía, transmisión a agentes etiológicos y relaciones filogenéticas (Macpherson y Smyth, 1985). Así también, estas observaciones sobre *Echinococcus* abrieron una puerta para el estudio y caracterización de las diferencias fenotípicas y genéticas intraespecíficas del parásito (Thompson y Lymbery, 1990, 1996). Uno de los hallazgos que demuestran que estos descubrimientos son correctos es la ocurrencia simpátrica de distintos ciclos de oveja-perro y caballo-perro en países europeos (González et al., 2002), lo cual fue confirmado ya que la cepa de caballo (*Echinococcus equinus*), no infecta a los humanos (Tompson y Lymbery, 1988).

De esta forma se introdujo el concepto de “cepa” adaptada al hospedador (tabla 2). *Echinococcus granulosus*, se caracteriza por presentar una gran variación en relación a la

especificidad del huésped, epidemiología, morfología, biología del desarrollo, bioquímica, fisiología y genética (Manterola et al., 2006), que permite hablar de subespecies o cepas, que corresponden a factores intrínsecos del parásito que influyen sobre la dinámica de transmisión de la equinococcosis o hidatidosis, especificidad en los patrones del ciclo de vida, antigenicidad y sensibilidad a los agentes quimioterapéuticos (Gutiérrez y Herbosa, 2008, Manterola et al., 2006).

Para identificar las distintas cepas de *E. granulosus* existentes, se han desarrollado una serie de métodos basados en su biología reproductiva, características morfológicas, análisis isoenzimático y análisis de ácidos nucleicos como por ejemplo el uso de la secuenciación de ADN mitocondrial (Alvarez Rojas et al., 2014, Nakao et al., 2010, Thompson, 2020).

Los primeros estudios moleculares que investigaron la variación genética del género *Echinococcus* fueron realizados utilizando Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP) (Thompson y McManus, 2002).

El ADN mitocondrial (ADNmt) es actualmente una de las herramientas más utilizadas para la caracterización genética del parásito y ha demostrado ser útil en la diferenciación de todos los genotipos de *E. granulosus* y las otras especies de *Echinococcus*, actuando como un marcador genético importante para estudiar la estructura génica de las poblaciones de este cestodo zoonótico (Rostami et al., 2013, Sharma et al., 2013). Los análisis de secuencias de ADNmt y caracterización genética pueden proporcionar información precisa y confiable sobre la naturaleza y el grado de variación dentro del conjunto de cepas descritas para *E. granulosus* (Rostami et al., 2013, Sharafi et al., 2014).

El término cepa para *Echinococcus* spp., se utiliza para describir variantes que difieren de otros grupos de la misma especie, en las frecuencias génicas o secuencias de ADN y en uno o más caracteres de importancia para la epidemiología y el control de equinococcosis (McManus et al., 2003). Los primeros trabajos realizados con taxonomía molecular en el

género *Echinococcus*, utilizando las variaciones del gen mitocondrial para la Citocromo C oxidasa subunidad 1 (COX1) y NADH deshidrogenasa subunidad 1 (NADH1), describieron cuatro morfo especies y definiendo los genotipos G1 a G8- G10 para *E. granulosus sensu lato*. El gen Citocromo C Oxidasa (CO1) ha demostrado ser un buen candidato en la clasificación de la variabilidad intraespecífica de *E. granulosus* (Bowles et al., 1992, Bowles y McManus, 1993).

Otros estudios han revelado la existencia de variaciones genéticas dentro del género *E. granulosus*, con ello se han identificado diez genotipos diferentes, de acuerdo a análisis moleculares basados en marcadores genéticos nucleares y mitocondriales (Sharafi et al., 2014). Estos 10 genotipos o cepas se han asociado a diferentes hospederos intermediarios, como ovejas, cerdos, caballos, camellos, bovinos, cabras, etc., (tabla2) (Dinkel et al., 2003, Siles-Lucas et al., 1996, Snabel et al., 2000).

De esta forma, utilizando los genes mitocondriales Citocromo C oxidasa subunidad 1 (COX1) y NADH deshidrogenasa subunidad 1(NADH1) y marcadores de genes que codifican proteínas nucleares para la ARN polimerasa II (RPB2), y su asociación con distintos hospederos, se ha descrito que *Echinococcus* está compuesto por varios de genotipos y variantes mitocondriales llamadas “cepas”, clasificándolas como: *E. granulosus sensu stricto* (genotipo G1-G3), *E. equino* (G4), *E. ortleppi* (G5), *E. intermedius* (G6-G7) y *E. canadensis* (G8-G10) (Tabla 2) (Knapp et al., 2011, Nakao et al., 2010, Nakao et al., 2013b, Thompson, 2020, Yanahida et al., 2017). Sin embargo, en la actualidad aún no están definidos del todo, ya que la taxonomía de esta especie sigue siendo un tema controversial y en estudio, no existiendo una clasificación inequívoca de las especies de *Echinococcus* (Espinoza et al., 2014, Maldonado et al., 2019, Nakao et al., 2015, Thompson, 2008, Thompson & McManus, 2002, Yanahida et al., 2017). Por ejemplo, dentro de la especie *E. granulosus* se han identificado tres genotipos distintos, G1, G2 y G3. *E. granulosus* G2 se diferencia fenotípicamente y G3 por la preferencia del hospedador intermedio, búfalo (Thompson, 2017). Estas características de ambas cepas no han definido del todo el estado taxonómico de ambas cepas, de igual modo los análisis

moleculares tampoco han determinado que constituyan dos especies distintas, por esto se reconocen ambos genotipos debido a sus características fenotípicas y epidemiológicas, a pesar de esto se ha propuesto la exclusión del genotipo G2, ya que no constituye un genotipo separado o un grupo monofilético, sino que pertenece a G3. Se propone la mantención de los genotipos G1 y G3, no existiendo una separación genética entre ellos, tratándose de una sola especie, *E. granulosus* s.s., sugiriendo que existe flujo génico entre ellas (Kinkar et al., 2017, Kinkar et al., 2018).

Tabla 2. Especies de *Echinococcus* y Cepas de *Echinococcus granulosus*. (Tabla modificada de Thompson, 2020).

Especie/ cepa	Cepa/ Genotipo	Infección humana	Hospedero definitivo	Hospedero intermediario	Distribución
<i>E. granulosus</i>	Oveja/ G1	CE/ Común	Perro, zorros, dingo, chacal y hiena	Oveja, (bovino, cerdos, camellos, cabras, otros ungulados, macropodo)	Cosmopolita
	Oveja de Tasmania/ G2	CE	Perro, zorro?	Oveja, (bovino?)	Cosmopolita
	Búfalo/ G3	CE	Perro, zorro?	Búfalo (bovino?)	Cosmopolita
<i>E. equinus</i>	Caballo/ G4	CE/ Desconocida	Perro	Caballo y otros equinos	Paleoártica
<i>E. ortleppi</i>	Bovino/ G5	CE/ Rara	Perro	Bovino	Paleoártica, Etiopía, Neotropical
<i>E. intermedius</i>	Camello/cerdo /G6/G7	CE/ Rara	Perro	Camello, cerdo, oveja	Paleoártica, Etiopía, Neotropical
<i>E. canadensis</i>	Cérvidos/ G8-G10	CE/ Rara	Lobo, perro	Ciervos	Paleoártica y Neártico
<i>E. felidis</i>	León, perro	? / Desconocido	León	Jabalí (zebra, ñus, cerdo salvaje, búfalo, antílopes, jirafa, hipopótamo)	Etiopía
<i>E. multilocularis</i>	Algunas variaciones aisladas	AE / Común	Zorro, perro, gato, lobo, mapache, lobo	Roedores domésticos y cerdos salvajes, perro, monos, (caballos?)	Paleoártica, Neoártica
<i>E. shiquicus</i>	?	? / Desconocido	Zorro tibetano, ?	Picas y roedores	Paleoártica (Tibet)
<i>E. oligarthrus</i>	No reportado	PE / Muy rara	Felinos silvestres	Roedores	Neotropical
<i>E. vogeli</i>	No reportado	PE / Rara	Perro del monte	Roedores	Neotropical

(Thompson y McManus, 2002, Nakao et al., 2010, D'Alessandro y Raush, 2008, Wassermann et al., 2014, Kinkar et al., 2017, Romig et al., 2017, Yanagida et al., 2017, Lymbery et al., 2015, Wang et al., 2018, Maldonado et al., 2019).

CE= Equinococcosis quística, AE= Equinococcosis alveolar, PE= Equinococcosis poliquística ? : Desconocido

Los genes mitocondriales COX 1 y NADH 1, permiten diferenciar los genotipos G4 y G5, los cuales constituyen 2 especies diferentes *E. equinus* y *E. ortleppi* respectivamente. Ambos céstodos poseen como hospedero definitivo a los perros y sus hospederos intermediarios están bien definidos, siendo altamente específicos, *E. equinus* solo se ha descrito en caballos y otros equinos, mientras que *E. ortleppi* produce quistes fértiles en ganado bovino y solo *E. ortleppi* es infeccioso para los humanos, produciendo CE. Esta alta especificidad de los hospederos en el ciclo de estos dos céstodos, al parecer favorece la distribución geográfica acotada y la disminución del acceso de los perros a los metacéstodos, alojados en las vísceras del ganado, debido a las medidas sanitarias tomadas en las zonas endémicas (Cucher et al., 2016, Thompson 2020).

Los genotipos G6, G7, G8, G10 se han aislado en humanos, los cuales fueron agrupados en una sola especie, *E. canadensis*, manteniendo su circulación en ciclos en los cuales los cérvidos, cerdos y camellos constituyen los hospederos intermedios (Nakao et al., 2010), esta clasificación fue controvertida y debatida por un tiempo, ya que no refleja su ecología y distribución geográfica (Thompson, 2020). De este modo se sabe que G6 y G7 presentan principalmente un ciclo doméstico, en donde cabras, camellos y cerdos son los hospederos intermediarios y los perros son los hospederos definitivos, mientras que los genotipos G8 y G10 circulan principalmente en un ciclo silvestre, en el cual los alces y renos son los hospederos intermediarios y los lobos los hospederos definitivos (Larimäe et al., 2018, Lymbery et al., 2015, Šarkūnas et al., 2019). Estas cepas se han definido utilizando genes mitocondriales para su clasificación, observando la evolución del linaje materno, el cual puede tener una trayectoria diferente a la de las especies. Las mutaciones en el DNAm se fijan en la población, separándose el nuevo linaje ancestral, de esta forma las mutaciones se van fijando en ambos, linaje ancestral y linaje nuevo, lo que permite que continúe la divergencia. Para realizar la delimitación de las especies se tiene que observar si existe intercambio genético. (Saarma et al., 2009). Laurimäe y colaboradores (2018) al realizar la filogenia en base a 6 loci nucleares agruparon los genotipos G6/G7 y G8/G10 en clados distintos. Esto puede estar concordando con su distribución geográfica, ya que las 4 cepas

son en gran parte alopátricas. Estudios realizados por Yanagida et al., (2017) sugieren la posibilidad de flujo génico entre las cuatro cepas, las evidencias de Laramäe y colaboradores (2018) muestra una clara división entre los dos clados, los cuales pueden ser considerados dos especies distintas si aplicamos el concepto de especie evolutiva. También sugieren que uno de los factores que influyen en el bajo flujo génico es el modo de reproducción de *E. granulosus* s.l., ya que se reproducen principalmente por autofecundación (Lymbery et al., 2015, Thompson, 2017). De esta forma, el potencial evolutivo de diferenciación genética y de divergencia de especies es mayor (Lymbery, 2017).

Además, estos cuatro grupos genotípicos son en gran parte alopátricos. La cepas G6 y G7 son simpátricas en Turquía, Argentina y Perú (Moro y Schantz, 2009, Lymbery et al 2015), con un ciclo principalmente doméstico. Mientras que los genotipos G8 y G10 coexisten en la parte norte de Eurasia y América del Norte (Lavikainen et al., 2003), principalmente en un ciclo silvestre, por lo tanto la probabilidad de que estos genotipos coexistan en el mismo hospedero definitivo y exista fecundación cruzada es baja. Debido a todos estos antecedentes estos genotipos pueden ser considerados especies diferentes (Laramäe et al., 2018). Los genotipos G8/G10 corresponden a *E. canadensis*, mientras que el nombre específico de G6/G7 aún necesita más análisis, para los cuales Thompson (2008) y Saarma y colaboradores (2009) propusieron *E. intermedius*.

Algunos investigadores han cuestionado la validez del genotipo G9, el cual podría corresponder al genotipo G7, ya que aún existe controversia con la identificación de las cepas de *E. granulosus* (Bowles et al., 1992, Lavikainen et al., 2003, Scott et al., 1997, Snábel et al., 2000). A excepción del genotipo G4, todas las otras cepas encontradas pueden infectar a los seres humanos (Ahmed et al., 2013). El genotipo G1 es el más extendido y es responsable de la mayor parte de los casos de hidatidosis humana en el mundo (Álvarez Rojas et al., 2016, Lightowlers, 2012).

Echinococcus oligarthrus y *E. vogeli* poseen ciclos silvestres en el neotrópico, Centro Sur América, y causan la equinococosis poliquística en humanos (PE). *E. oligarthrus* posee como hospederos definitivos a grandes felinos, entre ellos encontramos jaguares, panteras, ocelotes, pumas y gato colo colo entre otros (D`Alessandro y Raush, 2008, Maldonado et al., 2019, Romig et al., 2017). Los metacestodos de *E. oligarthrus* se desarrollan en roedores y ungulados y accidentalmente en humanos. Los pocos casos reportados probablemente indican lo complejo de sus ciclos y que no todos los hospederos han sido descritos (Arrabal et al., 2017). Esta equinococosis neotropical al no estar del todo comprendida, requiere un examen médico complejo para proporcionar la intervención adecuada. Sólo unos pocos casos se han identificado y notificado de forma inequívoca como consecuencia de infecciones por *E. oligarthrus* (Maldonado et al., 2019).

E. vogeli tiene como hospedero definitivo a los perros del monte y a grandes roedores como hospederos intermediarios, pacas y agutíes (D`Alessandro y Raush, 2008, Romig et al 2017). Los casos de equinococosis poliquística humana se atribuyen a perros domésticos que pueden estar actuando como hospederos definitivos, los cuales pueden estar siendo alimentados con las vísceras de pacas, ya que su carne constituye una fuente de proteína para las personas (Romig et al., 2017).

Echinococcus multilocularis posee una amplia distribución en zonas templadas y frías del hemisferio norte. Causa la equinococosis o hidatidosis alveolar (AE). Sus hospederos definitivos corresponden a cánidos domésticos y silvestres, mientras que sus hospederos intermediarios son pequeños mamíferos (Romig et al., 2017). Aunque se ha descrito una gran diversidad genética, con patrones polimórficos que se encuentran en distintas zonas geográficas como Europa, Asia, América del Norte y China, lo que ha dado lugar a una serie de cepas diferentes a las que se hace referencia en la literatura como: europea, asiática, mongol y norteamericana, los cuales pueden estar influenciados por los movimientos antropogénicos de los hospederos intermediarios, se considera que *E. multilocularis* constituye una sola especie, no observando distintos linajes a lo largo de su distribución, que

justifique su reconocimiento taxonómico, a pesar de esto se necesitan más estudios (Nakao et al., 2009, Romig et al., 2017). Uno de los factores preocupantes en esta zoonosis es la urbanización de la parasitosis, como se ha reportado en Japón y Europa en donde los coyotes se han adaptado a zonas urbanas de forma exitosa, aumentando el riesgo para la salud pública (Deplazes et al., 2017).

Una de las especies de *Echinococcus* que aún es un desafío por investigar es la especie hermana de *E. multilocularis*, *Echinococcus shiquicus*. Ambas especies coexisten en una región restringida geográficamente de la meseta Qinghai-Tibet de China (Romig et al., 2017, Wang et al., 2018). Ambas especies poseen ciclos selváticos complejos que incluyen varias especies de vida silvestre, en el cual pequeños roedores constituyen los hospederos intermediarios más importantes en el condado de Shiqu en la meseta tibetana oriental, sus dinámicas poblacionales locales son importantes en la transmisión de la AE y de *E. shiquicus* (Wang et al., 2018).

Hasta el momento no se han reportado casos de equinococosis causada por *E. shiquicus*, así como se desconoce su potencial zoonótico, pero si se ha encontrado ADN de *E. shiquicus* en sus heces y se desconoce el papel de los perros en la transmisión de *E. shiquicus* (Boufana et al., 2013, Thompson, 2020).

Epidemiología de una de las parasitosis desatendidas en el mundo: Equinococosis Quística (CE)

La equinococosis quística es una es una infección zoonótica de humanos, crónica y debilitante, causada por los estadios larvarios del céstodos pertenecientes al complejo de especies de *Echinococcus granulosus sensu lato*. Se han descrito cinco especies que afectan la salud de los humanos, causando esta parasitosis, *E. granulosus s.s.*, *E. equinus*, *E. ortleppi*, *E. canadensis* y *E. intermedius*, las cuales afectan a más de 1 millón de personas en todo el mundo y son responsables de los altos costos en el sistema de salud. Debido a esto, está priorizada por la OMS e incluida como una de las parasitosis desatendidas (Kinkar et al., 2018,

Laurimäe et al., 2018, Larrieu et al., 2019, Manciuilli et al 2020, McManus et al., 2003, WHO, 2020).

Este helminto se transmite principalmente entre los perros y el ganado doméstico, particularmente las ovejas. La CE humana ocurre en casi todo el mundo, excepto en la Antártica, en todas las comunidades pastorales y áreas de pastizales del mundo subdesarrollado y desarrollado. (Laurimäe et al., 2018, Larrieu et al ., 2019, Lightowlers, 2012, Moro y Schantz, 2006, Romig et al ., 2017,).

Las lesiones de CE se encuentran principalmente en el hígado y en los pulmones, pero prácticamente cualquier parte del cuerpo puede ser afectada: páncreas, bazo, riñones, corazón, sistema nervioso central, huesos, entre otros. Los síntomas de una persona dependen de la cantidad de quistes presentes, el tamaño y la ubicación de éstos. El crecimiento de un quiste interfiere con las funciones del órgano en el cual se aloja o causa dolor, ocasionando la sintomatología en las personas, por compresión o efecto masa. La rotura de los quistes de CE puede causar anafilaxia e incluso la muerte. El crecimiento de los quistes de CE es relativamente lento, y muchos pacientes no se diagnostican hasta muchos años después de haber sido infectados (Lightowlers, 2012, McManus et al., 2006).

Para reducir o eliminar esta parasitosis, en muchos países endémicos se han implementado programas de control de la CE (Laurimäe et al., 2018, Larrieu et al ., 2019, Lightowlers, 2012, Romig et al., 2017).

La CE se presenta principalmente en la cuenca del Mediterráneo, Oriente Medio, Asia Central, China Occidental, Federación Rusa, América Latina y África del Norte y Este. Su prevalencia puede superar el 5%, con tasas de incidencia de 50/100.000 personas-año en algunas zonas como América del Sur (principalmente Perú y Argentina), África Oriental (principalmente Kenia) y Asia (principalmente China) (Monge-Maillo et al., 2019, Moro y Schantz, 2009, WHO, 2020).

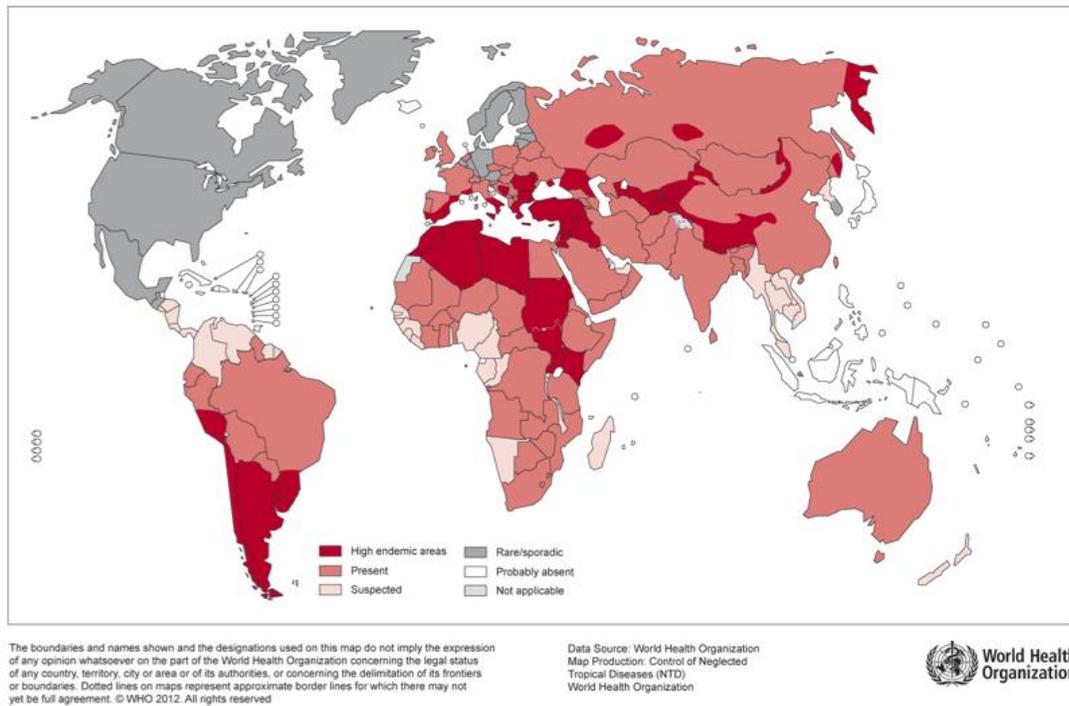


Figura 6. Distribución de *Echinococcus granulosus* y equinococosis quística (CE), alrededor del mundo, 2011. (WHO, 2020)

En Norteamérica, el panorama epidemiológico y geográfico de la CE humana es algo confuso porque la equinococosis no es una enfermedad notificable a nivel nacional en las personas y, cuando hay datos disponibles, la especie / genotipo y la fuente (autóctona o adquirida en el extranjero) de CE en casos humanos rara vez se informa (Deplazes et al., 2017). A pesar de esto, se han reportado diferentes cepas de *Echinococcus* en humanos, animales de ganado y animales silvestres. En Canadá, Alaska y las latitudes septentrionales de los Estados Unidos se han descrito las cepas G8 y G10, correspondientes a *E. canadensis* que posee un ciclo silvestre, donde los hospederos definitivos son lobos y otros cánidos y los hospederos intermediarios son cérvidos (Deplazes et al., 2017, Grocholski et al., 2019, Raush, 1967, Schurer et al., 2012, 2014). Así también, se han identificado los coyotes como hospederos definitivos de *E. canadensis* en la costa atlántica de Norte América, zona en la cual no habitan los lobos (*Canis lupus*), de esta forma los coyotes (*C. latrans*) pueden expandir la distribución de *E. canadensis* en Estados Unidos y Canadá, siendo más probable que los coyotes

contaminen las zonas verdes urbanas y los entornos periurbanos con parásitos zoonóticos (Schurer et al., 2018).

En Canadá se ha reportado la presencia de *Echinococcus granulosus s.l.*, cepas G8 y G10 (*E. canadensis*) en heces de perro. En el norte de Saskatchewan habitan pueblos indígenas que viven en comunidades rurales y remotas, las cuales poseen un mayor riesgo de exposición e infección con ciertas zoonosis fecales caninas en comparación con otros canadienses (Deplazes et al., 2017, Santa et al., 2018). Himsworth y colaboradores (2010 a, b), sugieren que esto se debe a las grandes poblaciones de perros domésticos, con poca inspección veterinaria y que deambulan por las localidades de forma libre, expuestos al contacto con otros perros infectados, heces caninas y otros desechos; como las vísceras de cérvidos silvestres infectadas con quistes hidatídicos que pueden ser ingeridos por los perros domésticos, ya que estas comunidades cazan estos cérvidos silvestres para su consumo.

Esta parasitosis se tornó relevante para la comunidad canadiense una vez que se conoció el año 2008 el caso de una niña de 6 años con CE cerebral al norte de Saskatchewan. Se realizaron estudios poblacionales y se encontraron anticuerpos para *E. granulosus* en la población, de igual forma este céstodo fue detectado con la técnica de PCR en heces de perros, identificándose como *E. granulosus* G10. Concluyendo que probablemente el 11% de las personas están expuestas a *E. granulosus* a través del contacto indirecto con heces caninas en el medio ambiente (Himsworth et al., 2010a). A pesar de estas cifras de exposición de la población y que ésta sea una parasitosis emergente, no existe un programa de cribado en la población humana para la equinococosis quística en Canadá (Grocholski et al., 2019).

Echinococcus granulosus se ha descrito en ciclos silvestres y sinantrópicos en Norte América, aproximadamente desde el Ártico de Alaska hasta la frontera norte de los Estados Unidos. El ciclo sinantrópico o semi sinantrópico observado en Alaska, en donde los perros de trineo constituyen uno de los reservorios de *E. granulosus* y los renos salvajes son los hospederos intermediarios, ha cambiado con los años debido a la transformación del estilo de vida de las

personas, como ocurrió con los Inupiat del norte de Alaska, quienes al volverse sedentarios presentaron mayor cantidad de casos de CE, al infectarse con los huevos de *E. granulosus* que se encontraban en las heces de perros (Rausch, 2003).

El genotipo G1 de *E. granulosus* s.s. se ha reportado en áreas del oeste de Estados Unidos donde se crían ovejas, así como en Arizona, California, Nuevo México y Utah (Carmena y Cardona, 2013). El año 2009, Foreyt y colaboradores reportaron la presencia de *E. granulosus* adultos en el intestino de lobos (*Canis lupus*), en los estados de Idaho y Montana, así también, durante su estudio se detectaron quistes hidatídicos en alces, venados y cabras montesas en Idaho y en alces en Montana, los cuales constituyen el hospedero intermediario de *E. granulosus*.

La equinococosis es una parasitosis conocida pero prácticamente ausente en México. En la zona central de México se ha descrito *Echinococcus intermedius* G7, en ganado porcino, siendo importante el ciclo cerdo-perro (Flisser et al., 2015, Rodríguez-Prado et al., 2014, Steta y Torre, 2009). La cepa G5, *E. ortleppi*, fue descrita el año 2004 en un paciente humano que presentaba un quiste hepático (Maravilla et al., 2004). De igual forma, se ha reportado la presencia de *E. granulosus* G1 humanos, y animales de ganado, cerdos y ovejas, en diversos estados de México como: Morelos, Zacatecas, Oaxaca y Estado de México (Steta y Torre, 2009, Villalobos et al., 2007). La presencia del genotipo G1 de *E. granulosus*, a pesar de presentarse pocos casos de CE en humanos es de importancia para la salud pública debido a su reconocida infectividad (Laurimäe et al., 2016, Villalobos et al., 2007).

De esta forma, la poca información reportada de quistes hidatídicos genotipados en México, crea una brecha en el conocimiento de la infección tanto en animales de ganado y en la infección humana con respecto a lo sucedido en otras zonas de América, aunque en los últimos años se han realizado estudios de genotipificación de quistes hidatídicos de animales y humanos, los cuales permitirán comprender la epidemiología de la CE en la población mexicana (Totomoch - Serra y Manterola, 2020).

En América Central y El Caribe existen pocos registros de CE, siendo estos informados de forma esporádica en diversos países como Guatemala, El Salvador, Honduras, Cuba, Panamá (Escalante et al., 2012, Sánchez et al., 1992, Sousa y Lombardo Ayala., 1965) y Costa Rica (Brenes Madrigal et al. 1977). Muchas veces estos casos no son autóctonos, Sousa y Lombardo Ayala (1965) describieron el primer caso autóctono en Panamá, quienes sugieren que el quiste corresponde a *E. granulosus* y que es necesario realizar otros estudios que confirmen la identificación de la especie. Luego el año 1992 fue descrito el segundo caso autóctono, describiendo un quiste hepático en una niña de 8 años, cuya identificación específica morfológica fue de *E. vogeli* (Sánchez et al., 1992).

Estos reportes de CE en centro América anteriormente descritos, son esporádicos tanto en animales y humanos. En la equinocosis causa pérdidas económicas debido a ganado infectado, siendo común la equinocosis hepática en cerdos (5,2%), ovejas (2,1%), cabras (0,9%) y bovinos (0,3%), en perros también se ha detectado una alta prevalencia de esta infección (25%). Esto puede explicarse por los hábitos de las personas, la contaminación ambiental por heces de animales, la pobreza y los deficientes estándares de higiene en Haití, constituyendo un riesgo para la salud de la población, aunque esto es en gran parte desconocido en la actualidad (Blaise y Raccurt, 2007).

Ya en el año 1849 Raush realizó el primer registro de *E. granulosus* en el continente Americano. A pesar de esto y a los esfuerzos realizados para obtener el conocimiento sobre la CE, su epidemiología, frecuencia y factores que determinan su prevalencia e incidencia, así como la distribución y presencia de las distintas cepas en Sudamérica, aún se encuentra incompleto (Alvarez Rojas, 2016).

Esta parasitosis es catalogada como una enfermedad desatendida que requiere una atención específica entre las poblaciones pobres y rurales, de algunos países del Cono Sur, debido a su endemismo o hiperendemismo, presentando prevalencias de CE superiores al 5%, con tasas de incidencia de 50/100.000 personas-año, como se puede observar en Perú y Argentina

entre otros (Cucher et al., 2016, Jercic et al., 2019, Monge-Maillo et al., 2019, Pavletic et al., 2017).

Estas altas prevalencias se observan en el sur de Brasil, en la Patagonia y Pampas de Argentina, suroeste de Bolivia, centro sur y tierras altas de Perú y Uruguay y regiones del valle central, sur y extremo sur de Chile (figura 6), siendo esta parasitosis una enfermedad de gran importancia sanitaria y socioeconómica (Alvarez Rojas, 2016, Deplazes et al., 2017, Eckert et al., 2001). Debido a esto el año 2004 la Organización Panamericana de la Salud (OPS) coordinó el Proyecto Subregional de Vigilancia y Control de la CE, solicitado por Argentina, Chile, Brasil y Uruguay, al cual Perú se unió el año 2013, este proyecto se conoce actualmente como Iniciativa CE, cuyo objetivo es crear estrategias y planes de control para la CE (Cucher et al., 2016, Palvetic et al., 2017).

En estos países la CE se mantiene en la población principalmente por ciclos domésticos de transmisión que involucran a perros y herbívoros como las ovejas, porcinos, bovinos, caprinos, caballos y camélidos, describiendo múltiples especies y cepas de *Echinococcus*, como *E. granulosus s.s.* (G1-G3), *E. ortleppi* (G5), y *E. intermedius* (G6-G7) (Alvarez Rojas, 2016, Desplazes et al., 2017).

En Argentina, Chile y Uruguay esta parasitosis es de notificación obligatoria y en Brasil, sólo el estado de Río Grande do Sul cumple con esta normativa. En Argentina, la CE es de declaración obligatoria desde el año 1960 (Ley Nacional N ° 15465); en Chile, desde el año 1985 (Decreto No. 11/85); y en Uruguay, desde 1939 (Ley No. 9852). Tanto Argentina como Uruguay cuentan con programas nacionales de vigilancia y control, en Chile, no existe un programa nacional, pero si programas regionales (Martínez, 2015, Pavletic et al., 2017).

Así también, existen diferencias entre estos países al definir un caso confirmado de CE humana, siendo Argentina aquel que tiene una definición más completa, ya que incorpora el diagnóstico por imagen y serológico o identificación microscópica directa de los

protoescolicos, Chile al igual que Uruguay solo confirma un caso de forma histopatológica o con visualización microscópica directa de los protoescolicos (Pavletic et al., 2017, Minsal, 2015).

En Argentina la CE se extiende por todo el país, con mayor prevalencia en zonas rurales y ganaderas de cría de ovinos y caprinos, con infraestructura sanitaria deficiente, escaso conocimiento de la parasitosis y población de perros sin atención veterinaria, calculando que aproximadamente el 30% del país (1.211.912 Km²) es asentamiento del ciclo zoonótico de *E. granulosus* (Álvarez et al., 2018, Amaya et al 2016, Msal, 2012).

Entre los años 2009 y 2014 se registraron 3542 casos, con una incidencia de 1-2/100.000 habitantes. En especial estas tasas son más altas en el sur, la Patagonia en las provincias de Neuquén y Chubut, el noroeste, en provincias de Catamarca, Santiago del Estero y Salta) y la oriental provincia de Entre Ríos (Pavletic et al., 2017).

Amaya y colaboradores durante el año 2016, al realizar un estudio en la provincia de Córdoba, ubicada al noroeste argentino, para estimar el porcentaje de heces de perro infectadas con equinocosis, determinaron que entre el 11,4% y el 30,5% de las muestras fueron positivas, demostrando la circulación de *E. granulosus* en toda la provincia y que los perros son un importante hospedero definitivo.

Debido a que Argentina presenta la mayor diversidad de cepas de *Echinococcus* de América del Sur se han realizado variados estudios, que describen la presencia de *E. granulosus s.s.* en la región patagónica, en ovinos de la provincia de Chubut y personas de Río Negro la cepa G1, se reportaron infecciones humanas por *E. granulosus s.s.* G1 y *E. intermedius* G6 y G7 en Neuquén, la mayor parte de los quistes hepáticos estudiados correspondieron a las cepas G1 y G6 (Alvarez Rojas, 2016, Debiaggi et al., 2017).

En la provincia de Neuquén, Debiaggi et al., (2017) describieron por primera vez en Sudamérica la coinfección humana por *E. granulosus s.l.* cepas G1 y G7 y la infección humana con *E. intermedius* en esta provincia.

La presencia de *E. intermedius* G6 es alta en la población humana de Neuquén, en esta provincia la mayor parte de la población rural cría cabras bajo un modelo de producción con grandes movimientos migratorios cada año (trashumancia), desde pequeñas áreas cercanas a sus hogares en invierno hasta tierras fértiles en la sierra en verano. La trashumancia implica un estrecho contacto entre las familias, el ganado y los perros pastores, y este hecho podría incrementar el riesgo de infección humana por *E. intermedius* G6, ya que las cabras son el principal reservorio de esta especie / genotipo en Neuquén (Debiaggi et al., 2017, Soriano et al., 2010).

En las otras provincias patagónicas endémicas para la CE, se describe la cepa G1 en humanos (Chubut y Río Negro), y en ganado ovino (Kamenetzky et al., 2002).

Andreusiuk y colaboradores (2013), informaron la presencia de G1 de ovino y bovino, G2 de un solo ovejas y G5 de un aislado de bovinos, en la provincia de Buenos Aires, la cepa G5 también fue aislada en perros en Catamarca (Kemenetzky et al., 2002). Anteriormente, el año 2002 la cepa G1 y G2 fueron aisladas desde quistes de ovejas. Debido a esto, y a que el genotipo G1 es el más importante en la CE humana, junto con haber sido reportada en humanos en esta provincia (Kamenetzky et al., 2000, 2002), sugieren que es de importancia generar programas efectivos para el control de la parasitosis.

Para la provincia de Buenos Aires, también fue reportada la cepa G6 para humanos, así como al sur del país en La Pampa y Río Negro (Kamenetzky et al., 2002).

En el noroeste Argentino (que incluye las provincias de Catamarca, Santiago del Estero y Salta) se ha descrito la cepa G1 y G6 en humanos y perros, al igual que en Buenos Aires. En Tucumán se encuentra *E. granulosus* G2 en humanos y ovinos y la cepa G1 en humanos y

bovinos, mientras que en la provincia de Corrientes se encuentra la cepa G1 en humanos. En la provincia de Santa Fe se ha descrito *E. intermedius* G7 en cerdos (Kamenetzky et al., 2000, 2002, Laurimäe et al., 2018).

En Brasil *E. granulosus s.l.* es causante de la equinococosis quística (CE), la cual se observa principalmente en el sur del país, debido a que los perros (*Canis familiaris*) se alimentan con las vísceras de animales de ganado infectados, constituyendo este un factor de riesgo, como ocurre en la zona sur ganadera de Brasil (de la Rue et al., 2006, das Neves et al., 2017). El agente de CE se encuentra en un área de aproximadamente 100.000 kilómetros cuadrados en la región sur de Brasil, cerca de las fronteras con Uruguay y Argentina (de la Rue, 2008, de la Rue et al., 2006).

La infección varía del ganado ya que aproximadamente el 25% de los vacunos y el 3% de los caprinos se encuentran parasitados, mientras que las prevalencias en humanos aún no están claras debido a la subnotificación de los casos, la falta de notificación a nivel nacional y la escasez de estudios epidemiológicos dificultan la evaluación de la situación de la equinococosis en la población (Farias et al, 2004, de la Rue et al., 2006, 2011). Entre los años 2004 - 2009 se reportaron 91 casos de CE humana (Pavletic et al., 2017).

En el estado de Río Grande do Sul se encuentra presente *E. ortleppi* (G5) y *E. intermedius* (G7) en bovinos y *E. granulosus s. s.* G1 en ganado bovino y caprino (Balbinotti et al., 2012, de la Rue et al., 2006, Urach Monteiro et al., 2016). Sin embargo, las infecciones humanas han sido causadas por genotipos G1, G3 y G5 (Cucher et al., 2016, de la Rue et al., 2011).

La información epidemiológica de la CE y las especies y cepas presentes de *Echinococcus* en Bolivia es limitada y escasa a pesar de la existencia de comunidades pastoriles y rurales pobres, altamente endémicas, donde las personas crían ganado y están en estrecho contacto con perros (Alvarez Rojas, 2016, Jarovsky et al., 2020). Recientemente Jarovsky et al., (2020)

describieron la cepa G1 en un quiste hidatídico de un niño, siendo este uno de los escasos reportes existentes, junto al de Kamenetzky et al., (2000).

En Chile la estructura genética poblacional de *E. granulosus s.l.* no es tan compleja como en otros países. Se presentan aproximadamente cada año 827 casos a lo largo del país, reportando una incidencia cercana a 5/100.000 habitantes (Pavletic et al., 2017). Las regiones del sur de Chile como lo son Bío Bío, La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén y Magallanes, y por el norte la región de Coquimbo, son aquellas que presentan las tasas de prevalencia más altas, las cuales comparten características de ruralidad y ganadería ovina, caprina y bovina (Alvarez Rojas et al., 2017, Manterola y Otzen, 2016, Pavletic et al., 2017).

A lo largo de Chile se ha descrito *E. granulosus s.s.* G1 en ganado caprino, ovino y bovino (Alvarez Rojas et al., 2017). En la región de la Araucanía fue descrito *E. intermedius* G6 en un quiste proveniente de una persona, esta descripción es de importancia de salud pública por ser el primer registro de esta cepa, aunque no se sabe el lugar o localidad donde ocurrió la infección parasitaria de esta persona (Manterola et al., 2008). Espinoza y colaboradores (2014), realizaron el primer registro de *E. granulosus* G3 en un quiste aislado desde ganado bovino. De igual forma, Corrêa y colaboradores (2018) describieron *E. ortleppi* (G5) en quistes aislados desde bovinos de la zona central de Chile.

En la región de Coquimbo, se ha descrito *E. granulosus* G1 en ganado caprino (Alvarez Rojas et al., 2017). También, un estudio de coproantígenos en heces caninas demostró que la transmisión de CE puede ocurrir en zonas rurales y urbanas (Acosta-Jamett et al., 2010). También se ha reportado la positividad de las fecas de zorro chilla (*Lycalopex griseus*), lo que podría indicar la existencia de un ciclo silvestre que podría permitir la permanencia y transmisión del parásito en la zona estudiada (Acosta-Jamett et al., 2015).

Perú presenta altas tasas de equinocosis quística (CE) en humanos. Entre los años 2004 - 2009 acumuló un total de 20.785 casos, con un promedio anual de 3.463 casos. Su tasa de

incidencia entre estos años fluctuó entre 12-10/100.000 personas. La mayor incidencia se registró en la Sierra Central y Sur, específicamente en Arequipa, Cusco, Huancavelica, Junín, Pasco y Puno (Pavletic et al., 2017).

Echinococcus granulosus s.s. cepa G1 y *E. intermedius* G6, fueron descritos en quistes aislados desde personas, que estaban alojados en hígado y pulmón (Santivañez et al., 2008). *E. intermedius* G7 fue descrito en cerdos criados en la ciudad de Lima por Moro y colaboradores (2009), también describieron *E. intermedius* G6 aislado desde quistes de cabras y humanos y *E. granulosus* s.s. (G1) desde ovejas, cabras, bovinos, cerdos y humanos.

Al sur de Perú, en la ciudad de Puno fue aislada desde alpacas la cepa de *E. granulosus* G1 y en la ciudad de Ayacucho fueron aislados los genotipos G1 y G7 en cerdos (Sánchez et al., 2012).

Uruguay presenta las tasas más bajas, entre los años 2004 y 2009 acumuló 179 casos con un promedio de 29,8 casos por año, entre estos años la incidencia varió entre 1,0 - 0,2/100.000 habitantes (Pavletic et al., 2017). Existe poca información sobre la presencia de cepas. En quistes de bovinos fue descrito *E. granulosus* s.s. G1 (Kamenetzky et al., 2002, Cucher et al., 2016), de igual forma fue descrito *E. ortleppi* (G5) en quistes bovinos (Cucher et al., 2016).

En Europa del sur y sureste, *E. granulosus* s.s. (cepa oveja, G1-G3) es el principal agente de la CE (Deplazes et al., 2017). La prevalencia de CE tanto en animales como en humanos en Europa no está del todo completa, ya que no todos los sistemas de notificación son iguales y eficientes. El proyecto FP7 HERACLES (Human Cystic Echinococcosis ReseArch in Central and Eastern Societies) entre sus objetivos proporcionará datos prospectivos sobre la epidemiología y las características clínicas de la CE en humanos (Rossi et al., 2016).

En Europa se han aplicado una serie de programas de control contra la hidatidosis. En el Norte, el año 2002 Islandia fue declarada libre de esta parasitosis en su territorio (Craig y

Larrieu, 2006). Esto fue logrado con un plan de control que duró más de 100 años, en el cual se tomaron una serie de medidas entre las cuales se encuentra la reducción de la población de perros al aplicar impuestos por su tenencia, evitar que los perros comieran vísceras crudas de los animales faenados, mejora de la higiene en las casas, construcción de mataderos, etc., (Sigurdarson, 2010).

En la zona llamada Fennoscandia, que se encuentra compuesta por Noruega, Suecia, Finlandia y parte de Rusia, se han identificado los genotipos mitocondriales de *E. canadensis* G8 y G10 (Oksanen y Lavikainen, 2015). El ciclo se perpetúa principalmente entre los lobos como definitivos y los cérvidos como huéspedes intermediarios, debido a la disminución de los perros de trineo, su participación en el ciclo ha disminuido. *Echinococcus canadensis* (G10) se identificó en Finlandia en lobos, cérvidos y en un ser humano (Oksanen y Lavikainen, 2015). La información sobre la prevalencia y la epidemiología molecular de *Echinococcus* spp. del Reino Unido e Irlanda es limitada (Boufana et al., 2015, Deplazes et al., 2017). Halsby y colaboradores (2014) reportaron un total de 62 casos acumulados de CE entre 2005 - 2009 para Inglaterra y Gales, mientras que Escocia y el norte de Irlanda no presentaron ningún caso.

A partir de quistes aislados desde caballos cautivos se identificó *E. equinus* G4. *Echinococcus granulosus* s.s. G1, fue identificado en quistes de oveja y bovinos, en heces de perros de granja y raposeros, así como en quistes aislados desde personas (Boufana et al., 2015, Craig et al., 2012).

La equinococosis sigue siendo en la actualidad la zoonosis más importante del sur de Europa, principalmente en la zona del Mediterráneo, en donde la principal vía de transmisión es el ciclo doméstico como que involucra a perros como hospedero definitivo y pequeños animales de granja, pequeños rumiantes, como hospederos intermediario (Deplazes et al., 2017, Velasco-Tirado et al., 2017).

La crianza tradicional de cabras y ovejas, la proximidad con los animales, el faenamiento clandestino en los hogares con déficit en instalaciones para eliminar las vísceras de los animales, el elevado número de perros callejeros y de pastoreo, por lo general, las familias rurales poseen uno o más perros para pastorear, cazar y/o de compañía. En el área mediterránea, el pastoreo es una ocupación importante, siendo muy común la trashumancia. Estos son algunos de los factores de riesgo más importantes que permiten la propagación de la CE en el sur de Europa (Deplazes et al., 2017, Otero-Abad y Torgerson, 2013).

Se han implementado una serie de programas de control para la CE, de las cuales solo se ha controlado esta parasitosis en partes de Chipre y en las otras áreas la disminución de las prevalencias fueron sólo temporales (Deplazes et al., 2017, Economides et al., 1998, Eckert et al., 2001).

En España, *E. granulosus* es altamente endémica en varias regiones. Las regiones más afectadas son las del Nordeste, Centro y Oeste del país (Comunidades Autónomas de Aragón, Castilla-La Mancha, Castilla y León, Extremadura, Navarra y La Rioja), con tasas de incidencia de CE humana de 1,1- 3,4 por 100.000 habitantes, mientras que ovinos y bovinos presentan un 23% de infección (Carmena et al., 2008, Eckert et al., 2001).

De las cuatro especies de *Echinococcus* presentes en Europa, *E. granulosus* G1 se ha reportado en quistes aislados de personas en España (Alvarez Rojas et al., 2014, González et al., 2002). Esta cepa también fue caracterizada en animales pequeños de ganado como cabras, ovejas, cerdos y jabalí, así como en perros y lobo ibérico (González et al., 2002, Mwambete et al., 2004, Sobrino et al., 2006).

Echinococcus equinus G4 fue descrito en caballos españoles y la cepa porcina *E. intermedius* G7 se encontró en cabras, cerdo y jabalí. Las cabras y los jabalí se pueden infectar con ambas cepas, G1 y G7, lo cual indica que animales silvestres pueden servir como reservorio para *E.*

granulosus G1, lo cual implica que se deben desarrollar programas de control que los incluyan (Mwambete et al., 2004).

En Portugal se estima que la incidencia de CE humana en todo el país es de 2,2 por 100.000 habitantes, siendo un problema de salud reconocido (Beato et al., 2013, Eckert et al., 2001). En ovinos, caprinos, bovinos se han encontrado quistes de hígado y pulmón parasitados por *E. granulosus* s.s. G1 y G3, en humanos también se ha encontrado *E. granulosus* G1 y G3, siendo esta la cepa predominante en Portugal (Beato et al., 2010, 2013). En quistes de bovinos también se ha descrito *E. intermedius* G7 (Beato et al., 2013). Guerra y colaboradores (2012) realizaron el primer reporte de *E. intermedius* G7 al muestrear fecas de lobo Ibérico (*Canis lupus signatus*), lo que implicaría un ciclo silvestre de este parásito.

Debido a que comúnmente las infecciones de CE en Europa son asociadas con *E. granulosus* s.s., Kinkar y colaboradores (2016) estudiaron la variabilidad genética y la filogeografía en parte de su principal rango de distribución en Europa, utilizando muestras de quistes de bovinos, ovinos, cerdos, cabras, jabalí y humanos, de Turquía, Italia, España, Albania, Grecia, Rumania y de un paciente originario de Argelia, pero diagnosticado en Finlandia, encontrando una alta variabilidad genética de *E. granulosus* s.s. G1.

En Italia, el análisis de secuencias de COX1 y NAD1 en quistes hidatídicos de ovejas, bovinos, cobo del Nilo (antílope), jabalí, cerdos, búfalos y humanos mostró la presencia de *E. granulosus* s.s. G1-G3 (Busi et al., 2007, Capuano et al., 2006, Varcasia et al., 2006, Vicidomini et al., 2007).

En caballos de Cerdeña, Sicilia y Toscana se ha descrito *E. granulosus* G1 y *E. equinus* (Varcasia et al., 2008). En Cerdeña también se ha identificado la presencia de *E. intermedius* G7 en cerdos, lo cual implica la presencia de al menos dos genotipos en esta localidad (Varcasia et al., 2006).

En Francia, la tasa de incidencia anual de EC se mantuvo estable durante 2005-2012 en $\approx 0,18$ casos por 100.000 habitantes. En humanos se ha descrito la infección por *E. ortleppi* G5, al igual que en ganado bovino (Grenouillet et al., 2014).

A pesar de que todo el país es considerada una zona endémica, la infestación actual por *E. granulosus* de huéspedes intermedios sigue siendo desconocida debido a la ausencia de informes de datos oficiales (Grenouillet et al., 2014, Umhang et al., 2013). Se ha identificado los genotipos G2 y G3 de *E. granulosus* sensu stricto en ganado bovino y ovino, así como en humanos (Umhang et al., 2013). En la isla de Córcega, en porcinos y jabalíes fue identificado *E. intermedius* G6/G7. La presencia de quistes fértiles en los jabalíes estudiados, implica el papel que posee esta especie como hospedero intermediario en el ciclo silvestre de la parasitosis (Umhang et al., 2014).

En Australia y Nueva Zelanda el cestodo *Echinococcus* fue introducido con el ganado, principalmente ovino y perros, llevados por los primeros europeos colonos (Gemmell, 1990, Jenkins y Macpherson, 2003), perpetuando la transmisión de este debido a factores antropogénicos, existiendo un ciclo doméstico entre perros y ovejas, el que permitió altos niveles de infección en humanos, así como el establecimiento de un ciclo salvaje que involucra dingos y marsupiales macrópodos (Romig et al., 2017, Thompson, 2013).

Para el año 2002, Nueva Zelanda y Tasmania, ya habían declarado que la hidatidosis había sido eliminada de sus territorios. Ambos países implementaron programas de control con efectos exitosos reduciendo la transmisión, reduciendo la incidencia de CE humana y los niveles de prevalencia en ovejas y perros (Craig y Larrieu, 2006, Larrieu et al., 2019).

En Australia, *E. granulosus* es el único miembro del género *Echinococcus* que se ha descrito (Jenkins, 2006). Tanto el ganado ovino como los marsupiales macropodos se encuentran parasitados por *E. granulosus* s.s (Kinkar et al., 2019, Romig et al., 2017), comúnmente transmitido en todo el mundo por ovejas (Bowles et al., 1992; Cardona et al., 2013) y

responsable de aproximadamente el 88% de los casos humanos de equinocosis quística (Alvarez Rojas et al., 2014).

La mayor biomasa de *E. granulosus* se encuentra en la vida silvestre, presentándose un ciclo silvestre en el cual los dingos y zorros participan como hospederos definitivos y marsupiales macrópodos (canguros y ualabíes), wombats y jabalíes, forman parte de los hospederos intermediarios (Jenkins, 2006).

Recientemente Jenkins y colaboradores (2019) describieron la presencia de *E. granulosus s.s.* en búfalos de agua en el norte de Australia. Sin embargo, hasta que se haya estimado la prevalencia de la hidatidosis en los búfalos de agua, no se podrá determinar la importancia de su participación en los ciclos silvestre de CE.

6. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

La hidatidosis o equinococosis quística (CE) es una zoonosis cosmopolita, endémica en zonas rurales de pastoreo, de importancia en salud pública (Ito et al 2017, MINSAL, 2017). Es causada por el estado quístico del céstodo *Echinococcus granulosus* (Acosta-Jamett et al., 2010). Este parásito tiene como hospederos definitivos a los perros y otros cánidos, quienes albergan la forma adulta del parásito, mientras que rumiantes, herbívoros y el hombre, cumplen la función de hospederos intermediarios (Alvarez Rojas et al 2014, Craig et al 2007; Romig et al., 2017).

Chile está considerado como un país con alta tasa de infección de CE. Constituyendo un problema la costumbre de alimentar a los perros con vísceras crudas de ganado, provenientes de faena domiciliaria, perpetuando el ciclo biológico sinantrópico del parásito (Andresiuk et al 2013, Avila et al 2017, Manterola et al., 2010, Romig et al., 2017).

Notificaciones médicas y estudios de seroprevalencia de CE dividen a Chile en 4 grupos. Hacia el sur la región de Los Lagos, Aysén y Magallanes con una incidencia >30 casos por cada 100.000 habitantes, seguido por las regiones de Coquimbo, Maule y Araucanía, con una prevalencia de 10-30 casos por 100.000 habitantes (Cortes and Valle, 2010, Manterola et al., 2008). Cortes y Valle (2010) reportaron una prevalencia de hidatidosis en el ganado chileno de 24,7% ±3. Coquimbo posee alta prevalencia en ganado caprino, que se incrementó entre los años 1997 y 1998 desde un 5% a 14,4% (González et al 1998).

Echinococcus granulosus presenta altos niveles de variación intraespecífica y varias variantes (cepas), describiéndose 10 genotipos distintos en el mundo (G1 – G10) (Bowles et al., 1992; Nakao et al., 2013). En Sud América los estudios moleculares de *E. granulosus* han demostrado la presencia de varios de estos genotipos. En Argentina se han aislado genotipos G1 y G6 en humanos y G7 en ovinos (Kamenetzky et al., 2002; Moro et al., 2009; Rosenzvit et al., 1999). Los genotipos G1 y G6 han sido descritos para humanos en Perú (Sanchez et al., 2010). En Chile se ha reportado el genotipo G1 y G6 en pacientes de la región sur de Chile (Manterola et al., 2008).

Esta variabilidad intra específica puede estar relacionada con los diversos hospederos intermediarios y ciclos de vida de este parásito, así como, las tasas de desarrollo, antigenicidad, susceptibilidad a agentes quimioterapéuticos, su bioquímica y fisiología, genética, infectividad en humanos y patrones de patogenicidad (McManus et al., 2002, Thompson y McManus, 2002). Esto toma relevancia, ya que en Chile, ente los años 2001 y 2005, solo en el 54,8% de los casos notificados se caracterizó como *E. granulosus*, mientras que el 1,6% fue notificado como *E. multilocularis*. Esta segunda especie puede estar erróneamente diagnosticada, debido a que habita la zona Ártica de Norte América y esté confundiendo con *E. canadense*, *E. vogeli* o *E. oligarthus*, que se han descrito en el Cono Sur (Cortes and Valle, 2010, Basset et al., 1998, Bristow et al., 2012, Larrieu et al., 2000).

Todos estos antecedentes motivan la realización de estudios para establecer la prevalencia actual de hidatidosis en la población humana, e identificar los genotipos de *E. granulosus* en hospederos intermediarios que permita identificar los ciclos del parásito en Chile y en especial en zonas rurales endémicas, identificar los reservorios, factores de riesgo de esta zoonosis y de esa forma poder implementar estrategias de control, desarrollo de vacunas y de prevención sanitaria.

Objetivo General

1. Establecer la prevalencia de hidatidosis en la provincia de Limarí en la región de Coquimbo, Chile.
2. Determinar el genotipo de *Echinococcus granulosus* obtenidos desde quistes hidatídicos, de las regiones de Coquimbo, La Araucanía y Magallanes.

7. CAPITULO 1

CONOCIMIENTO SOBRE EQUINOCOCOSIS QUISTICA O HIDATIDOSIS

Conocimiento, factores de riesgo y epidemiología de equinococosis en áreas rurales de la Región de Coquimbo, una zona endémica

Resumen

La equinococosis quística (CE) o hidatidosis es una zoonosis crónica, cosmopolita causada por el estado larval del cestodo *Echinococcus granulosus*, que constituye un importante problema de salud pública y económico para las poblaciones afectadas. Chile es uno de los países endémicos para la equinococosis quística en Sudamérica, a pesar de esto y a los programas de intervención para controlar esta parasitosis en regiones y provincias rurales en donde se practica la ganadería caprina y ovina, esta parasitosis sigue presente. Este estudio transversal determinó la prevalencia de la equinococosis quística y sus posibles factores de riesgo en cuatro comunas de la provincia de Limarí, región de Coquimbo, entre los años 2016-2017. Un total de 1221 personas entre 5 - 88 años fueron examinadas con el método de ELISA. Los factores de riesgo fueron evaluados por medio de un cuestionario en 908 personas mayores de 18 años. Se utilizó el método de regresión logística para determinar la probabilidad de asociación entre la presencia de la infección equinocócica y los factores de riesgo. La prevalencia general fue de 7,9% (97/1221), con el 6,71% (21/313) menores de 18 años y el 8,4% (76/908) de los adultos, no observando diferencias significativas entre los grupos etarios. La comuna de Punitaqui presentó la mayor frecuencia relativa 13,33% (12/90). El 100% de los adultos participantes completaron el cuestionario, utilizado para identificar los factores de riesgo asociados al riesgo de infección de CE. El tener agua potable en las casas y el haber tenido equinococosis quística en alguna etapa de su vida se asociaron con la mayor probabilidad de presentar equinococosis quística. Los resultados de este estudio muestran una alta endemidad de equinococosis quística en la provincia de Limarí. La evaluación de los factores de riesgo muestra una posible contaminación ambiental, lo que sustenta la implementación de un programa de pesquisa activa, educación y comunicación sostenida en el tiempo.

Abstract

Cystic echinococcosis (CE) or hydatidosis, is a chronic zoonosis caused by the cestode *Echinococcus granulosus* in its larval stage, which results in a relevant economic and public health concern in affected areas. In South America, Chile is one of the endemic countries despite intervention programs in rural provincial areas where caprine and ovine livestock are kept. In this cross-sectional study, between 2016-2017, CE prevalence and its possible risk factors were determined in four communes in the Limarí province, in the Coquimbo region. A total of 1221 people between ages 5-88 were tested with ELISA method. Risk factors were assessed with a questionnaire in 908 adults (people 18 years or older) that was completed by 100% of the participants. A logistic regression model was employed for determining the association probability between risk factors and CE. General prevalence was 7,9% (97/1221), with a 6,71% for the underage group (21/313) and 8,4% (76/908) for the adult group, without statistically significant differences between the groups. The Punitaqui commune presented the highest relative frequency 13.33% (12/90). One hundred percent of the participating adults completed the questionnaire, used to identify the risk factors associated with the risk of CE infection. Household drinking water accessibility and prior cystic echinococcosis in any stage of life were positively associated with presenting CE. These results demonstrate a high cystic echinococcosis prevalence and endemicity in the Limarí province; risk factor assessment indicate a possible environmental infection source which supports the need for the implementation of an active screening strategy, population education and permanent open communication programs.

Introducción

La equinococosis quística (CE) o hidatidosis es una zoonosis cosmopolita causada por el estado larval del cestodo *Echinococcus granulosus*, el cual ha sido identificado hace siglos como un importante problema de salud pública y económica para las poblaciones afectadas, siendo incluida en el listado de 18 enfermedades desatendidas por la Organización Mundial de la Salud (Kinkar et al., 2018, Laurimäe et al., 2018, Larrieu et al., 2019, Manciuilli et al 2020, McManus et al., 2003, Thompson, 2017, WHO, 2020).

Los mayores índices de prevalencia de equinococosis se encuentran en países y zonas templadas, en áreas rurales y marginadas, en las cuales se desarrolla principalmente la ganadería ovina y caprina, como es en parte del sur de Sudamérica (Casulli, 2020, Herrador et al., 2016, Sarkar et al., 2017).

La transmisión de *E. granulosus* ocurre entre los hospederos definitivos cánidos y los hospederos intermediarios herbívoros ungulados, identificando el ciclo doméstico como uno de los más importantes en salud pública, en el cual los perros se infectan al ingerir las vísceras crudas que contienen los quistes hidatídicos, principalmente de ganado ovino y caprino, mientras que el ganado se infecta al ingerir los huevos de este céstodo, que salen junto con las heces de los perros y contaminan el pasto y el agua de riego y bebida (Binhgam et al 2014, Craig et al 2007, Eckert y Deplazes, 2004, Craig et al 2007).

Los humanos constituyen un hospedero intermediario accidental, el cual se infecta por la ingesta de los huevos del parásito eliminados y desprendidos en las heces de los perros infectados, los cuales contaminan el agua o los alimentos, también se infectan por otras vías como el manejo de perros infectados, manejo de heces de perros infectados, vegetación y suelo contaminado, seguido de la transferencia directa de la mano a la boca (Acosta-Jamett et al., 2010c, Bingham et al 2014, Craig et al 2007, Dorjsuren et a., 2020, McManus et al., 2003; Thompson, 2017). Del huevo eclosiona una oncósfera que penetra la pared intestinal, viaja por la circulación a diversos órganos en donde formará quistes (Brunetti et la 2010,

McManus et al 2003). El crecimiento del quiste es lento y por lo general bien tolerado por el huésped, que en ocasiones llega a formar grandes masas (Craig et al 2006, Siracusano et al., 2012, Vanek, 1980, Thompson et al 2017).

En la CE humana se observa el desarrollo de uno o varios quistes hidatídicos uniloculares que se ubican principalmente en el hígado (70%), pero también en los pulmones (20%) y el 10% de ellos se pueden localizar en casi cualquier parte del cuerpo como páncreas, bazo, riñones, corazón, sistema nervioso central, huesos, entre otros. Los síntomas de una persona dependen de la cantidad de quistes presentes, el tamaño y la ubicación de éstos. El crecimiento de un quiste interfiere con las funciones del órgano en el cual se aloja o causa dolor, ocasionando la sintomatología en las personas, por compresión o efecto masa. La rotura de los quistes de *E. granulosus* puede causar anafilaxia e incluso la muerte. El crecimiento de los quistes de CE es relativamente lento, y muchos pacientes no se diagnostican hasta muchos años después de haber sido infectados (McManus et al., 2006, Lightowlers, 2012).

Para reducir o eliminar esta parasitosis, en muchos países endémicos se han implementado programas de control de la CE (Laurimäe et al., 2018, Larrieu et al., 2019, Lightowlers, 2012, Romig et al., 2017). Chile, desde el año 2004, es parte del proyecto conocido actualmente como Iniciativa Sudamericana para el Control y Vigilancia de la Equinococosis Quística/Hidatidosis (PANAFTOSA-OPS/OMS) coordinado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), cuyo objetivo es crear estrategias y planes de control para la CE (Cucher et al., 2016, Palvetic et al., 2017).

En Chile esta parasitosis es de notificación obligatoria desde el año 1985 (Decreto No. 11/85), a pesar de esto, no existe un programa nacional, pero si programas regionales de control (Martínez, 2015, Palvetic et al., 2017). El diagnóstico se realiza con métodos serológicos y por imagen, mientras que la confirmación de un caso es mediante histopatología o con visualización microscópica directa de los protoescolices (Palvetic et al., 2017, Minsal, 2015).

Se presentan aproximadamente cada año 827 casos a lo largo del país, reportando una incidencia cercana a 5/100.000 habitantes (Palvetic et al., 2017). Las regiones del sur de Chile como lo son Bío Bío, La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos, Aysén y Magallanes, y por el norte la región de Coquimbo, son aquellas que presentan las tasas de prevalencia más altas, las cuales comparten características de ruralidad y ganadería ovina, caprina y bovina (Alvarez Rojas, 2017, Manterola y Otzen, 2016, Palvetic et al., 2017), debido a esto esta parasitosis reviste un problema de salud pública en algunas zonas de Chile.

En la región de Coquimbo la equinocosis es una parasitosis endémica. Posee aproximadamente un 18,8% de población rural y el 57,3% de la masa ganadera caprina nacional (INE, 2017), así como ganado ovino. En la provincia de Limarí se concentra el 50,2% del total regional del ganado caprino, equivalente al 28,8% del total nacional y el 32,7% de población rural (INE, 2017). Este tipo de ganadería constituye una economía de subsistencia campesina familiar, con altos niveles de pobreza, en la cual este ganado se mantiene y faena de forma artesanal (Acosta y Jamett., 2015, Cortes y Valle, 2010, Manterola et al., 2008). Junto a estos factores que favorecen y están relacionados con la persistencia, emergencia y reemergencia de la CE, otras características socioculturales favorecen la presencia de esta zoonosis, entre los cuales encontramos la trashumancia, que supone la relación estrecha entre perro-ganado-humano, la falta de centros de faenamiento para consumo familiar de los animales, falta de un programa de evaluación y pesquisa de la parasitosis en la población, por lo cual se desconoce la prevalencia actual- real de la CE y los factores de riesgo asociados con la enfermedad (Gajardo y Castillo, 2017). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es la detección de la CE en la provincia de Limarí, evaluando su prevalencia en la población humana, utilizando la técnica de ELISA IgG-Equinocosis y la identificación de factores de riesgo utilizando un cuestionario en población adulta.

Materiales y Métodos

1. Población y Área de Estudio

El estudio fue realizado en la Provincia de Limarí entre los años 2016 - 2017, una de las tres provincias de la región de Coquimbo, posee aproximadamente 170.579 habitantes, con una densidad de 1.259 habitantes/km² (INE, 2019). Se trabajó en cuatro comunas de esta provincia: Ovalle, Monte Patria, Punitaqui y Río Hurtado, abarcando el 92,19% de la población de la provincia. En estas comunas se desarrolla una economía familiar agrícola con una producción ganadera extensiva de ganado principalmente caprino y ovino. Otras actividades económicas importantes en la provincia son la agrícola vitivinícola y hortícola (INE, 2019).

2. Diseño de estudio

Se realizó un estudio transversal entre Mayo 2016 a Octubre 2017 de en la provincia de Limarí, de la región de Coquimbo, Chile (figura 7). Para estimar el tamaño de la muestra se utilizó la prevalencia de 2,5% de equinocosis humana (Lorca et al., 2006), utilizando Epi Info 6.0 ([wwwn.cdc.gov/epiinfo /](http://wwwn.cdc.gov/epiinfo/)). Durante las visitas de campo, se obtuvieron muestras de sangre de niños y adultos y se recopilaron datos epidemiológicos con un cuestionario estandarizado (anexo 3 y 5). Los participantes mayores de 18 años firmaron y recibieron una copia de un consentimiento informado (anexo 1), los menores de edad dieron su asentimiento y sus tutores firmaron el consentimiento informado del menor de edad (anexo 2).

Se tomaron muestras de sangre a 1221 habitantes, correspondiente el 2,19% de los habitantes de comunas rurales de la provincia de Limarí, 908 adultos y 313 menores de 18 años. Estas muestras fueron analizadas para la pesquisa de equinocosis con el Kit Celquest Hidatidosis ELISA, ATGEN DIAGNOSTICA, utilizando el procedimiento descrito en el manual, y leídas a 450nm en un lector de placas de ELISA Thermo/Multiskan. Las muestras positivas, se enviaron al Laboratorio Clínico del Hospital de La Serena quienes analizaron las muestras por triplicado con el kit ELISA-IgG Hidatidosis, proporcionado por el Instituto de Salud Pública de Chile y aquellas muestras con resultado positivo fueron enviadas al Instituto de Salud Pública (ISP) para su confirmación quienes realizan nuevamente una prueba de ELISA-IgG Hidatidosis

y un análisis de Western Blot, de esta forma intentamos eliminar los resultados falsos positivos debido a reacciones cruzadas con otros parásitos (Eckert y Dsplazes, 2004; WHO 2011) y se cumple con el algoritmo de diagnóstico de Hidatidosis propuesto por el Ministerio de Salud de Chile (MINSAL) . Todos los participantes con resultados positivos para CE, fueron derivados a un médico para su seguimiento y posterior tratamiento, de acuerdo a las directrices del Ministerio de Salud. Las personas adultas, mayores de 18 años, completaron un cuestionario epidemiológico, antes de realizar la toma de muestra de sangre.

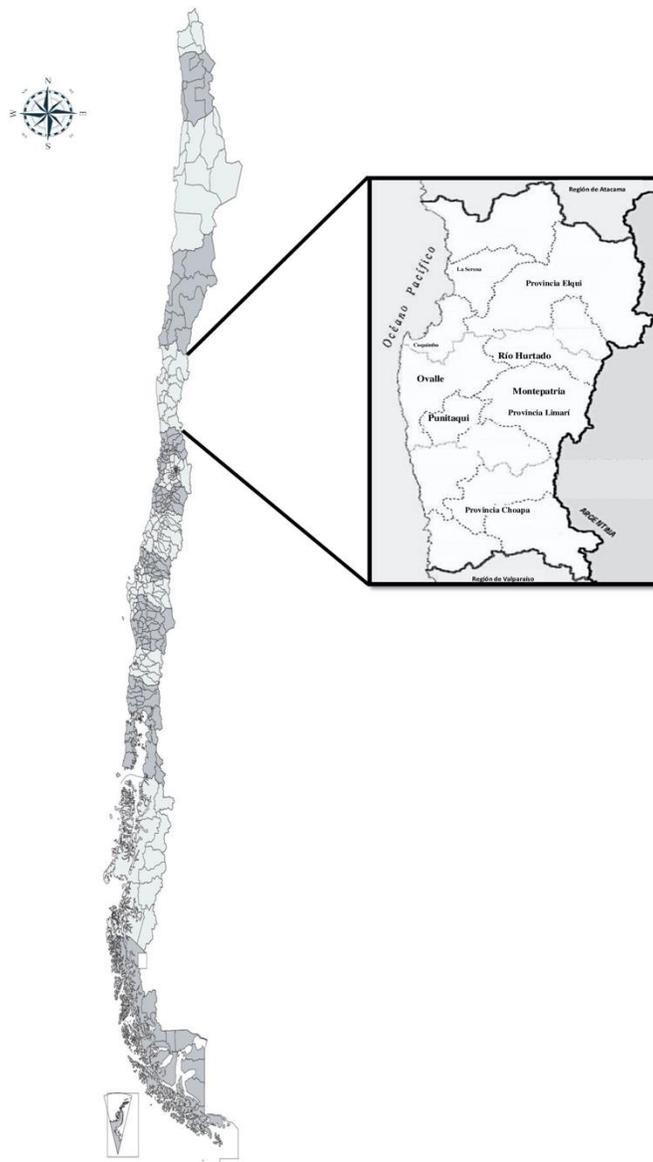


Figura 7. Comunas estudiadas en la provincial de Limarí, región de Coquimbo, Chile: Ovalle, Río Hurtado, Monte Patria y Punitaqui.

3. Cuestionario

El cuestionario para determinar posibles factores de riesgo que influyan en la transmisión de la equinocosis quística en humanos fue estandarizado en una población similar a la cual sería aplicado, utilizando un total de. Se estimó el Índice Alfa de Cronbach, para evaluar la consistencia interna de las preguntas del cuestionario (anexo 6).

Este cuestionario fue aplicado por un entrevistador capacitado, de forma verbal, a los 908 participantes mayores de 18 años del estudio, para reducir los problemas por la incapacidad de leer o de comprensión de las preguntas.

Con el primer ítem del cuestionario se obtuvieron datos sociodemográficos de los participantes, edad, sexo, trabajo, nivel de escolaridad, lugar de residencia. En el ítem 2 se realizaron preguntas relacionadas a factores de riesgo como, fuente de agua de bebida y uso habitual, sistema de evacuación de excretas, lavado de manos. En el ítem 3 se preguntó por parasitosis en la familia y antecedentes de CE y conocimiento sobre la equinococosis y el ítem 4 se preguntó sobre factores de riesgo relacionados con la crianza de ganado, la tenencia y cantidad de perros, desparasitación, alimentación, consumo de vísceras crudas, entre otros. El cuestionario contenía preguntas complejas de formato abierto para reducir los sesgos. Todos los cuestionarios fueron aplicados antes de la toma de la muestra de sangre, por lo tanto no se conocía el estado de salud de la persona, limitando el sesgo. El cuestionario tardó entre 20 y 30 minutos en completarse. A cada persona se le entregó un díptico informativo sobre equinococosis (anexo 5).

4. Consideraciones éticas

Cada participante mayor de 18 años dio su consentimiento informado antes de ser encuestado y uno de los padres o tutor legal dio el consentimiento informado del menor de 18 años. Para mantener la confidencialidad de los participantes, a cada uno de ellos se les asignó un número de identificación único. Cada persona participó de forma voluntaria, pudiendo retirarse en cualquiera de las etapas del estudio. Este estudio fue aprobado por el Comité de ética de la Facultad de Medicina, Universidad Católica del Norte y el Servicio de Salud - Coquimbo.

5. Análisis de Datos

Todos los resultados de los análisis de ELISA- Equinococosis y los resultados de las encuestas se ingresaron en una planilla de cálculo Excel (Microsoft Corp., Redmond, WA). Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS 17.0. Se calculó estadística descriptiva para cada variable demográfica y factores de riesgo. Las variables se estratificaron según positividad o negatividad de CE y se realizaron pruebas bivariadas de chi-cuadrado y test exacto de Fisher`s, según fuese apropiado. Las respuestas de “no contesta, incompleta o incorrecta”, se incluyeron como categorías separadas. Con las variables con $p < 0,25$ se modeló un análisis multivariado (Hosmer y Lemeshow, 2000). Este modelo de regresión logística multivariada se desarrolló con el método de pasos hacia atrás, evaluando la significancia de cada variable mediante pruebas de razón de verosimilitud ($p < 0.05$). El modelo se probó realizando combinaciones entre los pares de variables que permanecieron en el modelo. El ajuste del modelo final se evaluó mediante la prueba de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow.

Resultados

Seropositividad

Un total de 1221 personas participaron voluntariamente en el estudio. Sus edades fluctuaron entre los 4 - 88 años. A todos los participantes del estudio se les realizó el examen de ELISA - IgG - *Echinococcus* con el Kit Celquest Hidatidosis ELISA, ATGEN DIAGNOSTICA. Con este kit comercial 229 muestras fueron positivas y 29 muestras indeterminadas luego de realizar los análisis por triplicado. Los resultados enviados por el Laboratorio Clínico del Hospital de La Serena confirmaron 158 muestras positivas y 5 muestras indeterminadas al utilizar el Kit ELISA-IgG Hidatidosis proporcionado por el Instituto de salud Pública de Chile (ISP). En el ISP analizaron las muestras utilizando la técnica de enziminmunoensayo ELISA y para confirmar los positivos Western Blot IgG, IgM e IgA. Luego de analizar estas muestras positivas e indeterminadas por parte del ISP el 61,4% de las muestras positivas fueron confirmadas como positivas (97/158) y 0% de las muestras indeterminadas fueron confirmadas como positivas, siendo estas negativas (tabla 3).

El 6,71% (21/313) de las personas seropositivas poseen menos de 18 años, con una frecuencia relativa mayor en hombres (tabla 3), mientras que el 8,40% de los adultos participantes presentaron serologías positivas para CE, no se observaron diferencias significativas para el estatus de positividad entre los grupos etarios ($p>0,05$) (tabla 4). Se observan diferencias significativas en las seroprevalencias por comuna, siendo Punitaqui la que presenta la mayor frecuencia relativa 13,33% (12/90), seguida por Ovalle 9,15% (29/317), Río Hurtado 8,33% (31/372) y Monte Patria 3,10% (4/129) (tabla 4).

Tabla 3. Seroprevalencia de Equinocosis quística en la provincia de Limarí, región de Coquimbo de acuerdo a edad y sexo en 1221 muestras.

Grupo etario	Hombre			Mujer			Total		
	Nº examen	Caso		Nº examen	Caso		Nº examen	Caso	
		n	%		n	%		n	%
0-9	36	1	2,8	43	2	4,7	79	3	3,8
10-19	128	12	9,4	106	6	5,7	234	18	7,7
20-29	71	3	4,2	100	9	9,0	171	12	7,0
30-39	51	8	15,7	112	10	8,9	163	18	11,0
40-49	75	4	5,3	114	8	7,0	189	12	6,3
50-59	86	8	9,3	133	10	7,5	219	18	8,2
>60	83	10	12,0	83	6	7,2	166	16	9,6
Total	530	46	8,7	691	51	7,4	1221	97	7,9

Tabla 4. Variables demográficas y factores de riesgo según el estado de la equinocosis quística (CE) para 908 adultos examinados con ELISA-IgG- Equinocosis, en la provincia de Limarí, Coquimbo.

Variable	CE estatus		p-Valor
	Positivo (n)(%)	Negativo (n)(%)	
Sexo			
Femenino	43 (4,74)	542 (59,9)	0,087
Masculino	33 (3,64)	290 (31,93)	
Grupo de edad			
18-29	13 (1,43)	158 (17,40)	0,599
30-39	18 (1,98)	145 (15,97)	
40-49	12 (1,32)	177 (19,49)	
50-59	18 (1,98)	201 (22,14)	
60-69	15 (1,65)	151 (16,63)	
Comuna			
Ovalle	29 (3,19)	288 (31,72)	0,050*
Río Hurtado	31 (3,41)	341 (37,56)	
Punitaqui	12 (1,32)	78 (8,60)	
Monte Patria	4 (0,44)	125 (13,77)	
Educación			
Ninguna	2 (0,22)	11 (1,21)	0,681
Básica incompleta	21 (2,31)	226 (24,86)	
Básica completa	16 (1,76)	136 (14,98)	
Educación Media	26 (2,86)	322 (35,46)	
Educación Universitaria o Técnica	11 (1,21)	137 (15,09)	
Ocupación			
Criancero	12 (1,32)	94 (10,35)	0,504
Actividad agrícola	8 (0,88)	95 (10,46)	
Otro	56 (6,17)	643 (70,81)	
Agua Potable			
Si	67 (7,38)	782 (86,12)	0,048 *
No	9 (0,99)	50 (5,51)	
Sistema eliminación desechos biológicos			
Alcantarillado	31 (3,42)	385 (42,40)	0,272
Letrina	6 (0,66)	31 (3,41)	
Pozo séptico	9 (0,99)	73 (8,04)	
Fosa séptica	29 (3,20)	339 (37,35)	
Nada	1 (0,11)	4 (0,44)	
Lavado de manos antes de preparar alimentos			
Si	73 (8,04)	782 (86,13)	0,711
No	1 (0,11)	11 (1,21)	
A veces	2 (0,22)	39 (4,29)	
Ha tenido parásitos en su vida, ¿cuáles?			

Ninguno	40 (4,41)	500 (55,07)	<0,000 *
Equinococosis quística	7 (0,77)	6 (0,66)	
Enteroparásitos	6 (0,66)	78 (8,6)	
Enfermedad de Chagas	1 (0,11)	1 (0,11)	
Enteroparásitos y Ectoparásitos	4 (0,44)	32 (3,52)	
Ectoparásitos	17 (1,87)	203 (22,36)	
No sabe	1 (0,11)	12 (1,32)	
Presencia de parásitos en la familia			
No presenta	52 (5,73)	560 (61,67)	0,769
Hijos	8 (0,88)	69 (7,6)	
Grupo familiar	14 (1,54)	164 (18,06)	
Otros	2 (0,22)	39 (4,3)	
Tipos de parásitos presentes en la familia			
Ninguno	53 (5,84)	560 (61,67)	0,798
Equinococosis	2 (0,22)	31 (3,41)	
Enteroparásitos	5 (0,55)	87 (9,58)	
Enfermedad de Chagas	1 (0,11)	4 (0,44)	
Enteroparásitos y Ectoparásitos	1 (0,11)	12 (1,32)	
Ectoparásitos	14(0,11)	138 (12,53)	
Dice saber que es la equinococosis quística (CE)			
Si	27 (2,97)	324 (35,68)	0,324
No	49 (5,41)	508 (55,94)	
Conocimiento de la definición de Equinococosis quística			
No contesta	54 (5,95)	552 (60,79)	0,503
Correcto	0 (0,0)	22 (2,42)	
Incompleta	15 (1,65)	173 (19,05)	
Incorrecto	7 (0,77)	85 (9,36)	
Ha tenido hidatidosis en algún período de su vida			
Hígado	4 (0,44)	3 (0,33)	0,002*
Pulmón	5 (0,55)	7 (0,77)	
Estómago y Vejiga	1 (0,11)	0 (0,0)	
Cerebro	1 (0,11)	0 (0,0)	
Pierna	1 (0,11)	0 (0,0)	
No	64 (7,05)	822 (90,53)	
Ha tenido perro desde niño			
Si	59 (6,50)	635 (69,93)	0,462
No	17 (1,87)	197 (21,70)	
Cantidad de perros que tiene			
0	17 (1,87)	197 (21,50)	0,808
1	21 (2,31)	261 (28,74)	
2	19 (2,09)	204 (22,47)	

Más de 2 perros	19 (2,09)	172 (18,94)	
Tipo de contacto con el perro			
No tiene perro	17 (1,87)	197 (21,70)	0,922
Estrecho	7 (0,77)	89 (9,80)	
Cercano	41 (4,51)	446 (49,12)	
Peridomicilio	9 (0,99)	90 (9,91)	
Cercano y Peridomicilio	1 (0,11)	7 (0,77)	
Estrecho y Cercano	1 (0,11)	3 (0,33)	
Desparasita los perros			
No tiene perros	17 (1,87)	197 (21,70)	0,180
Si	35 (3,85)	449 (49,45)	
No	24 (2,64)	186 (20,48)	
Frecuencia de desparasitación de los perros (meses)			
No desparasita	40 (4,41)	380 (41,85)	0,318
< 0,5 veces /año	2 (0,22)	8 (0,88)	
2 veces/año	23 (2,53)	292 (32,16)	
3 – 4 veces/año	11 (1,21)	152 (16,74)	
Tipo de alimentación de los perros			
No tiene perro	17 (1,87)	197 (21,70)	0,571
Pellet	15 (1,65)	216 (23,79)	
Pellet y otros	44 (4,85)	418 (46,04)	
Vísceras de animales	0 (0,0)	1 (0,11)	
Lavado de manos después de acariciar un perro			
Si	46 (5,07)	546 (60,13)	0,580
No	11 (1,21)	83 (9,14)	
A veces	3 (0,33)	43 (4,74)	
No contesta	16 (1,76)	160 (17,62)	
Trabaja con animales			
No	54 (5,95)	614 (67,62)	0,729
Caprinos y/o Ovinos	20 (2,20)	189 (20,82)	
Perros	0 (0,0)	9 (0,99)	
Otros	2 (0,22)	20 (2,20)	
Tenencia de ganado			
No tiene	52 (5,73)	591 (65,09)	0,860
Caprinos y/o Ovinos y otros	23 (2,53)	228 (25,11)	
Otros	1 (0,11)	13 (1,43)	
Uso de o los perros que posee			
No tiene perro	17 (1,87)	197 (21,70)	0,972
Mascota	49 (5,40)	519 (57,16)	
Mascota y Trabajo	4 (0,44)	51 (5,62)	
Trabajo	6 (0,66)	65 (7,16)	

*p<0,05

Cuestionario

Los participantes mayores de edad completaron el cuestionario, 908 personas. El 11,67% fueron crianceros de cabras y/o ovejas. Solo el 16,74% terminó su educación primaria, el 93,5% tiene acceso a agua potable, observando diferencias significativas en el estatus de seropositividad ($p < 0,05$) para este factor y el 99,5% de ellos posee alguna forma de eliminación de desechos biológicos (Tabla 4). El 1,43% informó haber tenido equinocosis quística (CE) en alguna etapa de su vida, con tratamiento quirúrgico, localizándose los quistes en hígado, pulmón, estómago, vejiga, cerebro y pierna ($p < 0,05$) y el 3,63% posee algún miembro de su familia diagnosticado con CE (tabla 4).

El 38,66% de los encuestados dijo saber qué es la equinocosis quística, mientras que solo el 2,42% sabe que es la CE, contestando correctamente la pregunta y reconociendo la etiología de esta zoonosis. El 29,68% no desparasita a sus perros y el 52,64% desparasita entre 1 a 4 veces por año los perros con un fármaco antiparasitario (tabla 4).

En el análisis multivariado final, el estado de CE fue significativo ($p < 0,05$) con la tenencia de agua potable en las casas y haber tenido CE en una etapa anterior de su vida. De este modo, las personas que poseen agua potable tienen una probabilidad significativamente mayor de infectarse con este céstodo y ser CE positivo, al igual que las personas que han presentado CE durante alguna etapa de su vida en comparación con personas que han presentado otras parasitosis (tabla 5).

En la tabla 6 se observa que existen diferencias significativas ($p < 0,05$) para 13 factores de riesgo analizados, entre ellos edad, comuna, ocupación, acceso a agua potable, haber estado parasitado en alguna etapa de su vida, tipo de contacto con los perros. El 66,7% (276/412) de las personas con nivel educacional menor a educación básica utilizan pozo o fosa séptica para eliminar los desechos biológicos. También, se observan diferencias significativas en el nivel de conocimiento sobre equinocosis para el estatus de nivel de educación, el 0,33% de las personas con educación básica y 2,09% de las personas con educación superior reconocieron

la etiología de esta parasitosis. El 19,71% de las personas con nivel educacional igual o menor a educación primaria posee ganado caprino y/o ovino y el 10,69% de ellos tiene a los perros para trabajar con su ganado.

Tabla 5. Regresión logística multivariada de factores asociados con CE positiva, en adultos diagnosticados con método de ELISA en la provincia de Limarí, Coquimbo, Chile 2017

Variable	Odds ratio*	95% CI	p-Valor
Sexo			
Femenino	0.702	0.422-1.168	0.174
Masculino	1.0 (Ref.)		
Localidad			
Ovalle	2.615	0.880-7.777	0.084
Río Hurtado	2.542	0.853-7.578	0.094
Punitaqui	5.489	1.661-18.145	0.005
Monte Patria	1.0 (Ref.)		
Agua Potable			
Si	0.435	0.192-0.982	0.045
No	1.0 (Ref.)		
Ha tenido parásitos en su vida, ¿cuáles?			
Ninguno	1.337	0.157-11.401	0.791
Equinococosis	23.601	2.062-270.182	0.011
Enteroparásitos	1.468	0.149-14.429	0.742
Enfermedad de Chagas	11.701	0.349-392.766	0.170
Enteroparásitos y Ectoparásitos	2.620	0.243-28.222	0.427
Ectoparásitos	1.679	0.190-14.862	0.641
No sabe	1.0 (Ref.)		
Conocimiento de la definición de Equinococosis			
No contesta	1.128	0.478-2.665	0.783
Correcto	0.00	0.000 -0.000	0.998
Incompleta	0.920	0.344-2.458	0.867
Incorrecto	1.0 (Ref.)		
Frecuencia de desparasitación de los perros (meses)			
No desparasita	0.372	0.074-1.869	0.230
< 0,5 veces /año	1.0 (Ref.)		
2 veces/año	0.230	0.044-1.204	0.082
3 – 4 veces/año	0.244	0.044-1.362	0.108

- N=908 observations, $X^2=43.843$, $p<0.05$; Hosmer -Lemeshow goodness of fit test $p=0.590$

Tabla 6. Factores de riesgo según nivel de escolaridad para 908 adultos encuestados, en la provincia de Limarí, Coquimbo

Variable	Nivel educacional		p-Valor
	≤ Básica(n)(%)	≤ Media (n)(%)	
Sexo			
Femenino	266 (29.30)	319 (35.13)	0.938
Masculino	146 (16.08)	177 (19.49)	
Grupo de edad			
18-29	23 (2.53)	148 (16.30)	<0.000*
30-39	53 (5.84)	110 (12.11)	
40-49	78 (8.60)	111 (12.22)	
50-59	139 (15.30)	80 (8.81)	
60-69	119 (13.10)	47 (5.18)	
Comuna			
Ovalle	132 (14.54)	185 (20.37)	0.014*
Río Hurtado	191 (21.04)	181 (19.94)	
Punitaqui	41 (4.52)	49 (5.40)	
Monte Patria	48 (5.28)	81 (8.92)	
Positividad ELISA			
Positivo	39 (4.30)	373 (41.08)	0.167
Negativo	37 (4.08)	459 (50.55)	
Ocupación			
Criancero	90 (9.91)	16 (1.76)	<0.000
Actividad agrícola	48 (5.30)	55 (6.06)	
Otro	274 (30.18)	425 (46.81)	
Agua Potable			
Si	367 (40.42)	482 (50.08)	<0.000
No	45 (4.96)	14 (1.54)	
Sistema eliminación desechos biológicos			
Alcantarillado	133 (14.65)	283 (31.17)	<0.000
Fosa-Pozo séptica	276 (30.40)	211 (23.24)	
Nada	3 (0.33)	2 (0,22)	
Ha tenido parásitos en su vida, ¿cuáles?			
Ninguno	261 (28.74)	279 (30.73)	0.036
Equinococosis	7 (0.77)	6 (0.66)	
Enteroparásitos	39 (4.30)	45 (4.96)	
Enfermedad de Chagas	2 (0.22)	0 (0.0)	
Enteroparásitos y Ectoparásitos	16 (1.76)	20 (2.20)	
Ectoparásitos	85 (9.36)	135 (14.87)	
No sabe	2 (0.22)	11 (1.21)	
Dice saber que es la equinococosis			
Si	134 (14.76)	217 (23.90)	0.001
No	278 (30.62)	279 (30.73)	
Conocimiento de la definición de Equinococosis			

No contesta	302 (27.42)	304 (33.48)	<0.000
Correcto	3 (0.33)	19 (2.09)	
Incompleta	65 (7.16)	123 (13.55)	
Incorrecto	42 (4.63)	50 (5.51)	
Ha tenido equinocosis quística en algún período de su vida			
Si	12 (1.32)	5 (0.55)	0.035
No	400 (44.05)	491 (54.07)	
Cantidad de perros que tiene			
0	85 (9.36)	127 (13.99)	<0.000
1	113 (12.44)	169 (18.61)	
2	93 (10.24)	130 (11.80)	
Más de 2 perros	121 (13.33)	70 (7.71)	
Tipo de contacto con el perro			
No tiene perro	87 (9.58)	127 (13.99)	0.016
Estrecho	35 (3.85)	62 (6.83)	
Cercano	230 (25.33)	256 (28.19)	
Peridomicilio	57 (6.28)	42 (4.63)	
Cercano y Peridomicilio	2 (0.22)	6 (0.66)	
Estrecho y Cercano	1 (0.11)	3 (0.33)	
Desparasita los perros			
No tiene perros	87 (9.58)	127 (13.99)	0.258
Si	224 (24.67)	260 (28.63)	
No	101 (11.12)	109 (12.00)	
Tipo de alimentación de los perros			
No tiene perro	87 (9.58)	127 (13.99)	0.016
Pellet	92 (10.13)	139 (15.31)	
Pellet y otros	232 (25.55)	230 (25.33)	
Vísceras de animales	1 (0.11)	0 (0.00)	
Lavado de manos después de acariciar un perro			
Si	296 (32.60)	296 (32.60)	<0.000
No	25 (2.75)	69 (7.60)	
A veces	19 (2.09)	27 (2.97)	
No contesta	72 (7.93)	104 (11.45)	
Tenencia de ganado			
No tiene	224 (24.67)	419 (46.15)	<0.000
Caprinos y/o Ovinos y otros	179 (19.71)	72 (7.93)	
Otros	9 (0.99)	5 (0.55)	
Uso de o los perros que posee			
No tiene perro	87 (9.58)	127 (13.99)	<0.000
Mascota	228 (25.11)	339 (37.33)	
Mascota y Trabajo	43 (4.74)	13 (1.43)	
Trabajo	54 (5.95)	17 (1.87)	

*p<0,05

Discusión

Chile al ser un país endémico para la Equinocosis Quística (CE), desde el año 2010 implementó una serie de programas de control y prevención de este problema de salud pública en las regiones rurales - ganaderas, en las cuales se presentan la mayor cantidad de casos (Pavletic et al., 2017). De este modo, en la región de Coquimbo se implementaron programas a pequeña escala en diversas localidades rurales, a cargo de la Secretaría Regional Ministerial de Salud (SEREMI) (MINSAL, 2012).

A pesar de estas iniciativas, en este estudio destacan los altos niveles de equinocosis quística (CE) en la población de la provincia de Limarí y de igual forma, altos niveles de desconocimiento sobre esta parasitosis. Encontrando una seroprevalencia de 6,7% en niños y 8,4% en adultos, lo cual es mayor a lo reportado para la región de Coquimbo (2,5%) y la provincia de Limarí (3,6%) (Lorca et al., 2006). Esto puede tener su origen en las características de esta zoonosis crónica, en donde la mayoría de los casos permanecen asintomáticos o paucisintomáticos durante años o décadas, dificultando su diagnóstico e incluso muchas veces son diagnosticados de forma accidental, si no se observa sintomatología alguna, siendo necesario utilizar técnicas imagenológicas como una ecografía o radiografía para poder realizar un correcto diagnóstico y complementar estos análisis o exámenes de sugerencia como es el examen de ELISA y Western Blot con exámenes patognónicos como lo es una imagen (Possenti et al., 2017, Tamarozzi et al., 2016, 2021).

Asimismo, la prevalencia detectada en este estudio (7,9%) se encuentra entre los rangos de 5-10% de prevalencia de CE reportada para Perú, Argentina, este de África, Asia Central y China (Craig et al., 2007, Galeh et al., 2018, Gavidia et al., 2008, Moro et al., 1997, Reyes et al., 2012). Por el contrario, estos resultados de prevalencia de CE en humanos son mayores a la reportada en otros estudios, en los cuales se utilizó ultrasonido para la pesquisa de quistes abdominales, como en el Cusco, Perú (3%) (Tamarozzi et al., 2017), en Irán 3,4% (Dabaghzadeh et al., 2018), 1,9% en Marruecos (Chebli et al., 2017).

Las técnicas serológicas para la detección de CE en estudios de prevalencia han sido ampliamente utilizada en el mundo (Acosta Jamett et al., 2016, Dorjsuren et al., 2020, Gutierrez et al., 2003) cuya confiabilidad de la serología se basa en la calidad de los antígenos de diagnóstico (Ito y Budke, 2015), por lo cual es importante complementar el diagnóstico de la CE con otras técnicas como la ecografía y/o radiografía e histología, contribuyendo este estudio a la vigilancia de la CE en áreas rurales en donde esta zoonosis es prevalente y los sistemas de salud son básicos o de difícil acceso.

Debido a que la sensibilidad de los análisis de ELISA existentes en el mercado es variable y para cumplir con el algoritmo de diagnóstico de la equinococosis quística (CE) exigido por el MINSAL en Chile y recomendado por el Consenso de Expertos OMS-IWGE (Brunetti et al., 2010), se enviaron las muestras positivas e indeterminadas para su confirmación al ISP, quienes analizan los sueros sanguíneos con otro kit de ELISA-IgG Hidatidosis y Western Blot IgG, IgM e IgA, utilizando una combinación de técnicas, como recomienda la OMS y recientemente recomendado en el trabajo de Tamarozzi y colaboradores (2021), para zonas de alta circulación de *Echinococcus granulosus* y en donde exista co-endemicidad con otros parásitos que puedan tener reacciones cruzadas, en las cuales se espera que existan frecuentemente resultados falsos positivos y de esta forma se puedan desestimar. De esta forma se utilizaron técnicas con diferentes sensibilidades frente a los anticuerpos circulantes, utilizando pruebas de ELISA y confirmando con Western Blot debido a que detecta tres clases de anticuerpos, como lo son la IgG, IgM e IgA; con la salvedad de que los la negatividad de una prueba serológica no descarta la presencia de un quiste hidatídico, en pacientes portadores y asintomáticos.

De todas formas, nuestros resultados serológicos pueden estar sobre o sub estimados, ya que la producción de IgG depende de una serie de factores y de este modo la sensibilidad de estas pruebas se ve afectada por esta serie de factores como el antígeno utilizado, la ubicación del quiste, la actividad del quiste, el número de quistes, el estadio del quiste, la infección con otros parásitos, el tratamiento recibido, dado que incluso permanecen

elevados los anticuerpos específicos (IgG) contra el líquido hidatídico durante un período largo después de la curación, (Gavidia et al., 2008, Hernández-González et al., 2008, Lissandrin et al., 2016, Picolli et al., 2014, Tamarozzi et al., 2021). Este último factor puede estar afectando el análisis realizado en este trabajo, ya que 2 de las muestras que resultaron positivas, eran de personas que ya habían sido sometidos a tratamiento quirúrgico para extraer quistes hidatídicos, ambas con un quiste hidatídico ubicado en pulmón, de este modo el resultado serológico positivo de estas personas no necesariamente nos indica una nueva infección activa, siendo necesario conocer el contexto de vida de las personas para poder realizar un diagnóstico correcto junto con análisis imagenológicos, ecografía o radiografía, los cuales nos permitirán observar el quiste y determinar la morfología y a través de ello inferir si están activos o no y/o viables, para poder comprender el comportamiento serológico y las variables influyentes en el diagnóstico de la equinocosis quística.

Otra razón por la cual las pruebas serológicas se puede ver limitadas es que la producción de IgG, la cual puede ser menor, cuando el quiste se encuentran calcificados, debido a tratamientos previos o edad del quiste, los quistes pulmonares y ubicados en otros sitios como: en ojos, cerebro y huesos presentan una respuesta inmune débil; también afectan características propias del quiste como el grosor de la pared de colágeno del quiste, que reduciría la exposición a antígenos, al igual que en quistes pequeños o mal formados (Gavidia et al., 2008, Lightowlers, 1990).

Con estos datos obtenidos con técnicas de inmunodiagnóstico y la utilización de diferentes pruebas de ELISA y su complemento con un análisis de Wester Blot permite el cribado de la población a gran escala, el cual se debe complementar con exámenes ecográficos para poder establecer una prevalencia basal y poder establecer programas de vigilancia epidemiológica, estudiando el ciclo natural de CE en zonas endémicas.

La población en estudio posee factores de riesgo similares a otros estudios y revisiones sistemáticas realizadas alrededor del mundo (Chebli et al., 2017, Himsawi et al., 2019, Larrieu

et al., 2002, Possenti et al., 2017, Tamarozzi et al., 2017), en los cuales una serie de factores están involucrados en la transmisión de la equinococosis. Entre los factores de riesgo encontramos que el poseer agua potable en la casa y el haber tenido hidatidosis u otra parasitosis mostraron diferencias significativas, mientras que en el análisis multivariado, los dos primeros factores mencionados mostraron asociación de riesgo para CE. Estos resultados son diferentes a trabajos realizados previamente en esta zona, en donde el sacrificio de ganado caprino y ovino en el hogar, la alimentación de los perros con quistes y alta tasa de equinococosis en perro, fueron identificados como factores de riesgo a nivel comunitario para la permanencia del parásito en el medio ambiente (Acosta-Jamett et al., 2014).

El tener agua potable y ser un predictor para CE, puede ser un factor confusor, ya que en otros estudios se ha descrito como factor protector (Larrieu et al., 2002, Moro et al., 2008). Possenti y colaboradores (2017) proponen que la transmisión de CE por alimentos y por agua no parece constituir un riesgo para la infección por CE, mientras que Torgerson et al., (2020) evidencia que el agua contaminada es un factor de riesgo para la infección con CE. Si el agua está contaminada con huevos de *E. granulosus*, se pueden estar contaminando los alimentos que se lavan con ella y que se consumen crudos, así como hortalizas que se rieguen con esta agua (Torgerson et al., 2020). Por lo tanto, es necesario planificar nuevos estudios para la pesquisa de huevos de *Echinococcus granulosus* en el agua de bebida, ya que el agua potable disponible en estas localidades rurales (APR) es almacenada en grandes estanques ubicados en los patios de las casas y probablemente estos estanques se están contaminando con heces de perros infectados.

De este modo, debe existir un porcentaje importante de perros parasitados por *E. granulosus*, que están contaminando el ambiente. A pesar de que el porcentaje de desparasitación de perros fue alta en este estudio, no se presentó de forma regular en el tiempo y tal vez no se esté administrando el antiparasitario correcto que permita eliminar a *E. granulosus*, como fue sugerido por Acosta-Jamett (2014), quien propone que posiblemente se está utilizando pirantel, antiparasitario que no elimina las tenias de *E. granulosus*.

Así también, el predictor de “haber tenido anteriormente CE”, nos indica que estas personas, su grupo familiar y la comunidad necesitan una intervención sanitaria, debiendo educarlas sobre esta parasitosis, para así identificar, minimizar y/o eliminar las conductas de riesgo, ya que posiblemente pueden estar expuestas a los mismos factores de riesgo que propiciaron su infección anterior, como lo son algunos factores de riesgo a nivel comunitario que permiten la persistencia del parásito en el ambiente, como fue descrito por Acosta-Jamett y colaboradores (2014) para esta misma región de Chile.

De la misma forma que en otras parasitosis, las condiciones socioculturales son determinantes en la transmisión hacia los humanos (Possenti et al., 2017), encontrando que el nivel de escolaridad se asocia con diversos factores de riesgo que aumentan la probabilidad de infección (Possenti et al., 2017, Tamarozzi et al., 2017, Torgerson et al., 2020), como la localidad en la que se vive, la ocupación, el tener acceso a agua potable y un sistema adecuado de eliminación de desechos biológicos, el haber tenido parásitos en alguna etapa de su vida. También se observaron diferencias significativas en la población encuestada para el nivel de conocimiento sobre CE y el trabajo con ganado caprino y/o ovino en una zona principalmente rural ganadera y endémica para CE, pero no con la tenencia de perros durante etapas anteriores de su vida. Estos resultados son similares a los observados en el Cusco, Perú, por Tamarozzi et al., (2017) en donde el nivel de educación y la comunidad de residencia se asociaron significativamente con la infección por CE.

Al no observar diferencias significativas y no constituir un factor de riesgo determinante para la infección por *Echinococcus granulosus*, la tenencia de perros durante su niñez o su vida, la cantidad de perros que se tiene, la desparasitación de éstos y su frecuencia, pueden ser indicativos de una contaminación ambiental importante, como fue observado en Marruecos (Chebli et al., 2017) e identificado como el principal factor de riesgo para la transmisión de CE. Esta probable contaminación ambiental con huevos de *E. granulosus* puede estar dificultando la identificación del contacto con los perros y su deficiente desparasitación, como una vía de infección importante en esta área de estudio, siendo necesario el análisis de

nuevas vías de infección alternativas o secundarias, ya que una de las limitaciones de nuestro cuestionario fue la falta de reconocimiento de hábitos pasados y actuales de las personas que estén propiciando la infección, lo cual podría dificultar la identificación de la causalidad de esta parasitosis.

Los resultados de este estudio muestran una alta seropositividad en la provincia de Limarí, así como su endemidad y la persistente infección de CE desde edades tempranas. El análisis de los factores de riesgo que están propiciando la CE indican que el agua de bebida y el haber tenido anteriormente equinococosis poseen relevancia. Esta provincia y las zonas estudiadas son rurales y muchas de ellas de difícil acceso, poseen un clima templado, cada año presentan menos cantidad de agua caída, por lo cual es necesario que les abastezcan de agua potable segura para el consumo humano, la cual se puede estar contaminando con huevos de *E. granulosus* e indicando la existencia de contaminación ambiental. Esto puede estar relacionado con las altas tasas de prevalencia observadas en los distintos grupos etarios analizados. De esta forma, es necesario crear un programa de pesquisa activa en la región, que permita el hallazgo temprano de los casos positivos, mejorando la vigilancia epidemiológica, el seguimiento de ellos y la prevención de nuevos casos. Además de crear un grupo de trabajo interdisciplinario que trabajen de forma conjunta en el estudio de los hábitos de las personas y el entorno en donde viven, para la identificación correcta de las vías de infección existentes en la provincia de Limarí, la desparasitación regular de los perros con un tratamiento antihelmíntico, la implementación de campañas de educación y comunicación sostenidas en el tiempo, que permitan a las personas comprender las vías de infección y cómo pueden interrumpir la transmisión de la CE, debido a que los niveles de conocimiento sobre la etiología de la CE son casi inexistentes, de esta forma se creará conciencia sobre esta parasitosis y las formas de prevención.

8. CAPITULO 2

MICROVARIANTES DE
ECHINOCOCCUS
GRANULOSUS SENSU
STRICTO

Haplotipos de Echinococcus granulosus sensu stricto en Chile y su comparación a través de secuencias del gen mitocondrial cox 1 con haplotipos de Sud América y otros continentes.

Resumen

La equinococosis quística (CE) o hidatidosis es una de las zoonosis más importantes del mundo causada por el cestodo *Echinococcus granulosus sensu stricto (s.s)*. A lo largo de Chile *E. granulosus* es capaz de sobrevivir en variados y extremos climas, desde el clima árido en el norte hasta el oceánico subpolar en el extremo sur, siendo altamente endémica en regiones, en las cuales existe ganadería de caprinos, ovinos y bovinos. Nuevos estudios sobre la estructura genético poblacional y los patrones filogeográficos son indispensables para comprender la dinámica de transmisión de este parásito en ambientes tan diversos. En el presente estudio se evaluó la diversidad genética de *E. granulosus s.s.* de 46 quistes hidatídicos aislados desde ovinos, caprinos, bovinos y humanos, en tres regiones a lo largo de Chile, Coquimbo, La Araucanía y Magallanes, mediante el análisis de las secuencias de la sub unidad 1 del gen mitocondrial citocromo c oxidasa (cox1). También se analizaron secuencias reportadas para Sud América, Europa, Asia y Oceanía. Predominó la cepa EG01, detectando 4 haplotipos, EG01, EG1A, EG1D, EgCLOM16, con una baja diversidad de haplotipos entre las poblaciones analizadas ($Hd=0,461\pm0,00637$) y una baja diversidad de nucleótidos ($0,00181\pm0,00036$). La red de parsimonia de cox1 en la población chilena mostró forma de estrella, en donde el haplotipo EG01 se encontró en el centro. Los índices de neutralidad Tajima's D y F de Fu's fueron negativos para las poblaciones de Coquimbo ($D= -0,93302$; $Fs= -0,003$) y Magallanes ($D= -0,17406$; $Fs= -0,121$), lo que indica un exceso de sitios polimórficos raros, expansión poblacional y una desviación significativa de la neutralidad. Los índices D de Tajima y Fs de Fu fueron positivos para la población de La Araucanía ($D= 0,8695$; $Fs= 1,039$), mostrando niveles bajos o falta de alelos raros. El índice de fijación de Fisher por pares (Fst), muestran valores bajos de Fst para las poblaciones cuando se comparan por

pares, encontrando valores negativos en las poblaciones Coquimbo- La Araucanía (-0,08761). El valor de F_{st} más alto y significativo fue entre las poblaciones de La Araucanía- Magallanes (0,10703), indicando diferencias entre estas poblaciones. Las otras poblaciones analizadas alrededor del mundo, Europa, Medio Oriente, Asia, África y Australia también muestran redes de haplotipos con tipología estrellada y el genotipo EG01 en el centro, presentando índices de neutralidad F de F_u 's y Tajima's D negativos, indicando una significativa desviación de la neutralidad. Las poblaciones de Europa y Asia mostraron valores negativos y bajos para el índice de fijación de Fisher por pares F_{st} : -0,03449 y -0,05382 respectivamente, lo cual implica que no existen diferencias entre las distintas poblaciones analizadas. Nuestros resultados muestran que la estructura genética poblacional de *E. granulosus* s.s es compleja, debido a la presencia de diferentes haplotipos en las diferentes regiones a lo largo de Chile, la cual posiblemente se complejice aún más si se utilizan secuencias más largas, que permitan estudiar la microdiversidad de *E. granulosus* s.s. en los diferentes hospederos. De esta forma, se sugiere que para diseñar futuros programas de control de la equinocosis quística (CE), se deben tener en cuenta la variabilidad de la cepa en cada una de las regiones endémicas.

Abstract

Cystic echinococcosis (CE) or hydatidosis is one of the most important zoonoses in the world caused by the tapeworm *Echinococcus granulosus sensu stricto* (s.s). Throughout Chile, *E. granulosus* is capable of surviving in varied and extreme climates, from the arid climate in the north to the subpolar oceanic climate in the extreme south, being highly endemic in regions where there is cattle raising of goats, sheep and bovines. New studies on the population genetic structure and phylogeographic patterns are essential to understand the transmission dynamics of this parasite in such diverse environments. In the present study, the genetic diversity of *E. granulosus* s.s. of 46 hydatid cysts isolated from sheep, goats, cattle and humans, in three regions throughout Chile, Coquimbo, La Araucanía and Magallanes, by means of the analysis of the sequences of sub unit 1 of the mitochondrial cytochrome c oxidase gene (cox1). Sequences reported for South America, Europe, Asia and Oceania were also analyzed. The strain EG01 predominated, detecting 4 haplotypes, EG01, EG1A, EG1D, EgCLOM16, with a low diversity of haplotypes among the populations analyzed ($Hd = 0.461 \pm 0.00637$) and a low diversity of nucleotides (0.00181 ± 0.00036). The cox1 parsimony network in the Chilean population showed a star shape, where the EG01 haplotype was found in the center. The neutrality indices $Fu's F$ and Tajima's D were negative for the populations of Coquimbo ($D = -0.93302$; $F = -0.003$) and Magallanes ($D = -0.17406$; $F = -0.121$), indicating an excess of rare polymorphic sites, population expansion, and a significant deviation from neutrality. Neutrality indices obtained by Tajima's D and $Fu's F$ test were both positive for the population of La Araucanía ($D = 0.8695$; $F = 1.039$), showing low levels or lack of rare alleles. Fisher's pairwise fixation index (Fst) shows low Fst values for the populations when compared in pairs, finding negative values in the Coquimbo-La Araucanía populations (-0.08761). The highest and most significant Fst value was between the La Araucanía-Magallanes populations (0.10703), indicating differences between these populations. The other populations analyzed around the world, Europe, the Middle East, Asia, Africa and Australia also show networks of haplotypes with a star typology and the EG01 genotype in the center, presenting negative indices of neutrality $Fu's F$ and $Tajima's D$, indicating a significant departure from neutrality. The populations of Europe and Asia showed negative and low values for the Fisher

fixation index by pairs F_{st} : -0.03449 and -0.05382 respectively, which implies that there are no differences between the different populations analyzed. Our results show that the population genetic structure of *E. granulosus* s. s. is complex, due to the presence of different haplotypes in the different regions throughout Chile, which may become even more complex if longer sequences are used, which allow studying the microdiversity of *E. granulosus* s. s. in the different hosts. Thus, it is suggested that to design future cystic echinococcosis (CE) control programs, the variability of the strain in each of the endemic regions should be taken into account.

Introducción

El género *Echinococcus* es un grupo monofilético de pequeños céstodos con similitudes morfológicas, de desarrollo y genéticas, que presentan reproducción asexual y constituyen importantes patógenos zoonóticos (Lymbery, 2017, Nakao et al., 2013).

Los pequeños gusanos adultos se desarrollan y viven en sus hospederos definitivos carnívoros, cánidos y felinos, mientras que su estadio larval metacéstodo parasita a los hospederos intermediarios herbívoros u omnívoros. Los humanos son hospederos intermediarios accidentales desarrollando la infección llamada equinococosis o enfermedad hidatídica (Lymbery et al., 2017).

Durante mucho tiempo la clasificación y nomenclatura de las especies pertenecientes al género *Echinococcus* ha sido controvertida, de este modo los análisis filogenéticos se han utilizado para dilucidar este problema, describiendo complejos de especies y diversos genotipos (Lymbery et al., 2017, Nakao et al., 2013).

Echinococcus granulosus sensu lato (s.l.), está compuesto por un complejo de especies crípticas, las cuales se han estudiado durante varios años, describiendo 5 especies distintas: *E. granulosus sensu stricto* (G1-G3; cepa de oveja y cepa de búfalo), *E. equinus* (G4; cepa de caballo), *E. ortleppi* (G5; cepa bovina), *E. intermedius* (G6-G7), *E. canadensis* (G8 – G10) (Bowles et al., 1992, Knapp et al., 2011, Nakao et al., 2010; Nakao et al., 2013b, Yanahida et al., 2017, Thompson, 2020). El genotipo G1 es el más extendido y es responsable de la mayor parte de los casos de hidatidosis humana en el mundo (Álvarez Rojas et al., 2016, Lightowlers, 2012).

Echinococcus granulosus s.s. posee una serie de haplotipos descritos alrededor del mundo, o en zonas endémicas, como ocurre en varios países de América del Sur; Argentina, Perú, Uruguay, Brasil y Chile (Pavletic et al., 2017). A pesar de la existencia de estos datos, el flujo

genético entre las poblaciones o las diferenciaciones genéticas entre ellas debido a barreras geográficas o ecológicas son una arista poco explorada (Lymbery, 2017).

A lo largo de Chile *E. granulosus* es capaz de sobrevivir en variados y extremos climas, desde el clima árido en el norte hasta el oceánico subpolar en el extremo sur, siendo altamente endémica en cuatro regiones, Coquimbo, La Araucanía, Aysén y Magallanes, en las cuales existe ganadería de caprinos, ovinos y bovinos (Álvarez et al., 2017, Cortés y Valle, 2010). De este modo, se han descrito diversos haplotipos de la cepa G1 de *E. granulosus* s.s. en ganado caprino, ovino y bovino (Alvarez Rojas et al., 2017, Hidalgo et al., 2020). En la región de la Araucanía fue descrito *E. intermedius* G6 en un quiste proveniente de una persona, aunque no se sabe el lugar o localidad donde ocurrió la infección parasitaria de esta persona (Manterola et al., 2008). Espinoza et al., (2014), realizaron el primer registro de *E. granulosus* G3 en un quiste aislado desde ganado bovino. De igual forma, Corrêa et al., (2018) describieron *E. ortleppi* (G5) en quistes aislados desde bovinos de la zona central de Chile.

Junto con reportar la presencia de *E. granulosus* s.s. en diferentes animales de ganado a lo largo de Chile, también se han informado resultados positivos de coproantígeno para *E. granulosus* en fecas de zorro chilla (*Lycalopex griseus*) en la región de Coquimbo, lo que estaría indicando la transmisión de la equinococosis quística (CE) en fauna silvestre (Acosta - Jamett et al., 2015), pudiendo influir en la distribución geográfica de las cepas y haplotipos de *E. granulosus*.

Hasta el momento se han realizado muy pocos estudios sobre la estructura genética *Echinococcus granulosus* s.s., existiendo algunos análisis filogenéticos de secuencias de mtDNA (DNA mitocondrial) que han identificado clados geográficamente distintos en Europa, Asia y América del Norte. A pesar de ello, los datos disponibles indican que la mayor parte de variación genética se produce dentro de las poblaciones geográficamente delimitadas (Nakao et al., 2009, Lymbery, 2017).

En Australia, se han reportado bajas diferencias poblacionales, con una varianza genética de 2,4% entre poblaciones separadas por más de 3500 km o en diferentes conjuntos de hospedadores, observándose la mayor variabilidad genética dentro de las poblaciones (Lymbery et al., 1997, Lymbery et al., 2017). Casulli et al., (2012) al estudiar la diversidad genética de *E. granulosus* s.s. en cuatro países europeos observó una baja variabilidad genética entre la población de Bulgaria y Rumania, 4%; así como de un 19% entre las poblaciones de Hungría e Italia, una alta variabilidad intraespecífica detectando 24 haplotipos en la población de Europa del Este y 7 haplotipos en la población italiana. Wang et al., (2014), al analizar tres poblaciones en la región suroeste de China reportaron una variabilidad de 9,27% y valores de F_{st} bajos (0,037 a 0,143) indicando que las poblaciones geográficas no se diferencian genéticamente entre sí. De igual forma, Han et al., (2019) no observaron diferencias genéticas en las secuencias del gen mitocondrial *cox1* aisladas desde humanos, ovejas y yaks en la provincia china de Qinghai, con valores bajos de F_{st} (0,004 y 0,01) y la existencia de un haplotipo común y predominante entre ellas.

En Pakistán se han descritos las cepas G1, G2 y G3 en quistes hidatídicos de humanos de 2 localidades distintas, con índices de neutralidad (Tajima's D y F_s de F_u) negativos en ambas poblaciones (Tajima's $D = -1,23612$; F de $F_u = -5,291$), indicando un exceso de alelos raros entre las poblaciones estudiadas y expansión poblacional reciente, mientras que la diferenciación poblacional mostró una baja segregación filogenética ($F_{st} = -0.01058$), entre las poblaciones, posiblemente por inmigración de ganado hospedero de *E. granulosus* (Muqaddas et al., 2020).

En la región norte de Iraq (Kurdistan), se reportó que no existen diferencias genéticas entre las poblaciones de *E. granulosus* s.s. aisladas desde ovinos, caprinos y bovinos (ovino / caprino $F_{st} = 0,0355$, $p = 0,0187$; ovino / vacuno $F_{st} = 0,0005$, $p = 0,3717$; cabra / bovino $F_{st} = 0,0083$, $p = 0,24602$). También fueron descritos índices de neutralidad negativos (Tajima's $D = -2,2329$; F_u 's $F = -27,5031$), con la presencia de alelos raros, lo que indicaría una expansión poblacional (Hassan et al., 2017).

En Sud América, Kamenetzky y colaboradores (2002) describieron la presencia de 5 cepas de *E. granulosus* en Argentina, entre ellas G1 (cepa oveja) y G2 (cepa oveja de Tasmania), en ovejas, bovinos y porcinos. La cepa G1 presentó una amplia distribución en el país, la cual mostró 5 variantes al ser analizadas las secuencias del gen *cox1* G1A-B-C-D-E. Haag et al., (2004), también describieron la cepa G1 como la principal cepa en diferentes hospederos y regiones a lo largo de Argentina y los haplotipos descritos por Kamenetzky et al., (2002), determinando valores de F_{st} de 0,1474 para todas las muestras, el cual aumenta al analizar los aislados de *E. granulosus* solo en la población de ovejas de 0,4081; concluyendo que sus resultados sugieren que los patrones geográficos y la subestructuración poblacional no se deben a un flujo génico restringido entre las regiones, sino que son una consecuencia de la historia, el tiempo y origen de la introducción del ganado en Argentina.

En una escala menor y a nivel local en el sur de Brasil, Haag et al., (2011) reportaron una alta variabilidad genética de *E. granulosus* (61,9%) en perros dentro de las granjas que entre perros de diferentes granjas.

En Chile, Álvarez Rojas et al., (2017), describieron la presencia de *E. granulosus s.s* en diversas poblaciones de hospederos a lo largo del país, con índices de neutralidad negativos, Tajima's $D = -201,645$ y F de $F_u = -19,444$; los cuales sugieren formas de selección negativa o expansión poblacional, junto con un alto índice de diversidad de haplotipos ($0,875 \pm 0,032$). Hidalgo y colaboradores (2019), al estudiar la presencia y existencia de distintas cepas de *E. granulosus* en un mismo animal, reportaron la presencia de hasta 5 haplotipos diferentes de *E. granulosus s.s* en un mismo hospedero, encontrados en diferentes órganos, así como un único haplotipo en diferentes órganos de un mismo hospedero, lo que puede explicarse por infecciones sucesivas del hospedero intermediario o por una sola infección con múltiples haplotipos.

No obstante, nuevos estudios sobre la estructura genético poblacional y los patrones filogeográficos son indispensables para comprender la dinámica de transmisión de este parásito. El objetivo del presente estudio fue investigar la estructura genético poblacional de *Echinococcus granulosus* s.s. en Chile. Los resultados también fueron comparados con reportes para países de Latinoamérica, Europa, Asia, Australia y África, para describir la variabilidad genética de este parásito.

Materiales y Métodos

1. Origen de los quistes hidatídicos

Las membranas germinativas de *Echinococcus granulosus* fueron extraídas desde quistes hidatídicos individuales, de animales de ganado: 1 caprino, 21 bovinos y 24 ovinos; faenados el matadero Danke de la ciudad de Coquimbo, el matadero Nueva Imperial de Temuco, el Frigorífico Patagonia de la región de Magallanes y en faenas caseras de Coquimbo (tabla 7, figura 7). Los quistes fueron extraídos desde distintos órganos 27 de pulmón, 15 hígado y 3 de otros tejidos (mesenterio, riñón y corazón). Los quistes se congelaron para posteriormente extraer la membrana germinativa, las cuales fueron almacenados y congelados a -80°C en etanol 70% para su posterior uso. Además se utilizó una muestra humana de quiste hidatídico aislado desde un paciente chileno con equinococosis quística del Hospital San Pablo de Coquimbo (tabla 7, figura 8).

Tabla 7. Origen y número de muestras analizadas en este estudio.

Región	Ciudad/Localidad	Número de aislados	Especie de hospederos (número de aislados)
Coquimbo	Ovalle, Peña Blanca, Monte Patria, Illapel	6	caprino (1), ovino (1), bovino (3), humano (1)
La Araucanía	Santa Cruz, Nueva Imperial, San José, Cunco, Los Maitenes, Puyehue, El Carmen, Carahue	18	Bovino (18)
Magallanes	Magallanes	22	Ovino (22)
Total		46	caprino (1), ovino (23), bovino (21), humano (1)

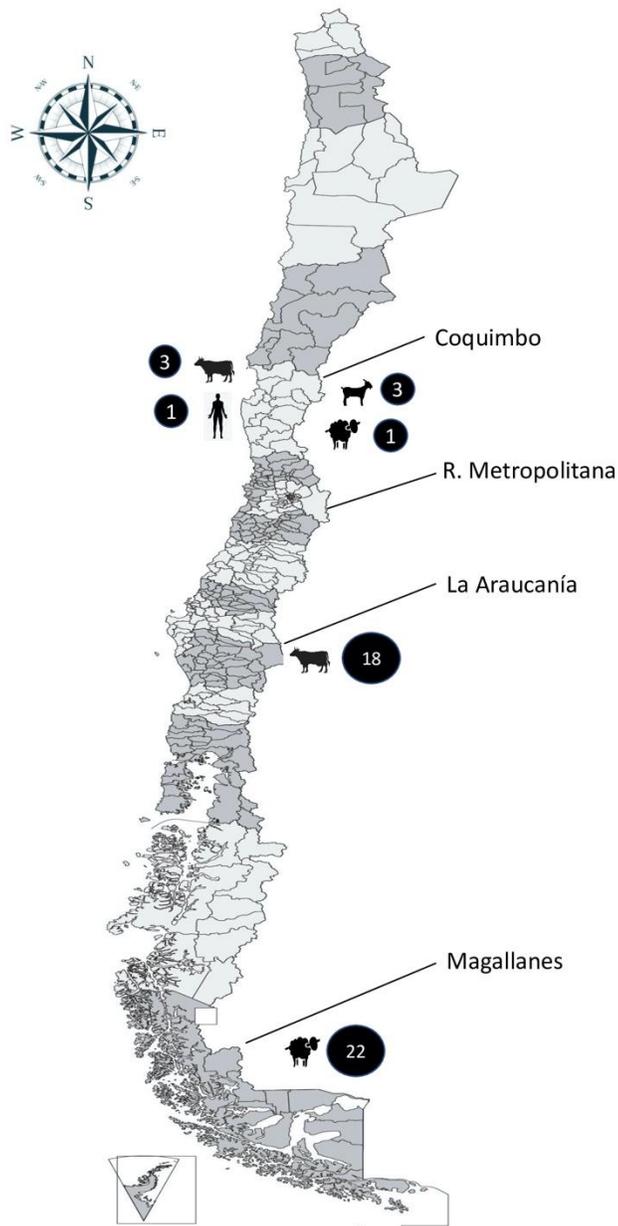


Figura 8. Origen geográfico y número de hospederos de *Echinococcus granulosus sensu stricto* utilizados en este estudio.

2. Extracción de DNA y amplificación gen *cox1*

La extracción de DNA se realizó desde las membranas germinativas de los quistes hidatídicos de los distintos hospederos. Primero el quiste hidatídico fue puncionado con una jeringa de 10ml, extraído el líquido hidatídico, para luego extraer la membrana germinativa y almacenarla en un tubo falcon de 15 ml en solución PBS pH7.0 a -80°C.

El DNA genómico total fue extraído utilizando el Mini Kit QUIAmp DNA (QUIAGEN), de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

La amplificación del gen mitocondrial *cox1* se realizó utilizando los partidores descritos por Bowles y colaboradores (1992); JB3F5'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3'; JB3R5'-TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG-3'. La mezcla de PCR fue preparada con un volumen final de 50 µl conteniendo, 2 µl de templado de DNA, concentración 50ng/ µl, 1 µl de cada dNTP (10mM), 1 µl de cada partidador (10 µM), 1 µl de enzima PFU polimerasa (Agilent technologies) y 5 µl de Buffer 10x. Las reacciones térmicas se realizaron durante 35 ciclos de 94°C durante 35 s, 50°C durante 35 s y 72°C durante 35 s, protocolo modificado de Nakao y colaboradores (2010). Los productos de PCR se sometieron a electroforesis en geles de agarosa 0,8% (p/v), teñidos con bromuro de etidio en tampón Tris-Borato-EDTA 1X a 110 V y se visualizaron utilizando iluminación UV (figura 9). Los productos amplificados fueron enviados para su secuenciación en ambas direcciones a la empresa MacroGen Korea, Seoul, Republica de Korea.

3. Análisis de secuencias y construcción de árboles filogenéticos

Se secuenciaron un total de 45 productos de PCR (producto = 450pb) de los diferentes hospederos utilizando los cebadores forward y reverse por empresa Macrogen Korea, Seoul, Republica de Korea. Las secuencias se identificaron y compararon con la base de datos GenBank mediante el análisis de Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Luego las secuencias fueron editadas y alineadas utilizando el programa Bioedit y Clustal W (<https://bioedit.software.informer.com>) (<https://www.ebi.ac.uk>), estos alineamientos múltiples se realizaron con secuencias de referencia de *E. granulosus* (G1, G2, G3, G4, G5, G6 y G7) y variantes del genotipo G1 (G1A, G1B, G1C, G1D, G1E) depositados en el GenBank como referencias M84661/62/63/64/65/66/67 (Bowles et al., 1992); AF458871/72/73/74/75 (Kamenetzky et al., 2002) y EF393619, EF595654, EU178103, EU178104 (Vural et al., 2008); JQ250806 (Yanagida et al., 2012), *Taenia hydatigena* y *Taenia crassiceps*.

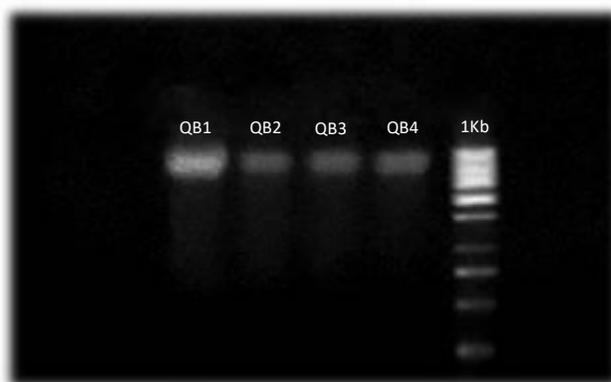


Figura 9. Electroforesis en gel de agarosa (0,8%). Visualización de DNA genómico en muestras de bovinos.

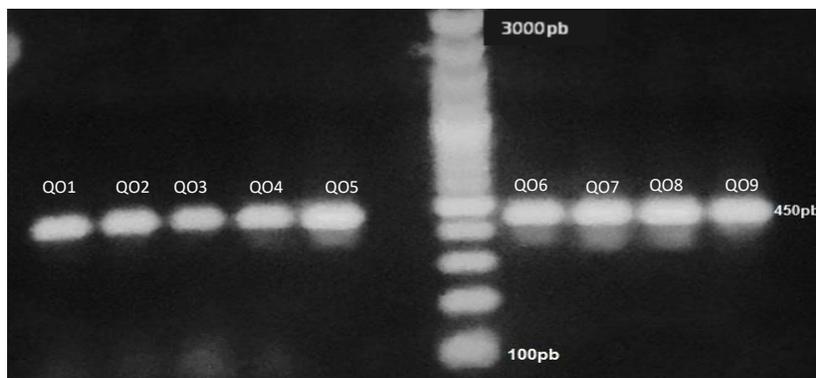


Figura 10. Producto de PCR, gen *cox1* (450 pb), quistes hidatídicos de ovinos.

4. Comparación de las secuencias obtenidas en este trabajo con secuencias *cox1* depositadas en GenBank

El término “genotipo” fue utilizado para describir las variantes genéticas descritas dentro del complejo *E. granulosus s.l.* (G1-G10) (Bowles et al., 1992, Nakao et al., 2007, Yanagida et al., 2012) y el término “haplotipo”, se utilizó para describir las microvariantes genéticas observadas en *E. granulosus s.s.* (Bowles et al., 1992, Kamenetzky et al., 2002, Vural et al., 2008).

Las secuencias obtenidas en este estudio se alinearon para obtener una comparación con las secuencias de *cox1* de *E. granulosus* de 450pb, que son referencia para los genotipos G1, G2 y G3 descritas originalmente por Bowles y colaboradores (1992) y Yanagida y colaboradores (2012). Con el mismo propósito las secuencias de este estudio fueron alineadas con 105 secuencias descritas para Chile (39), Perú (27), Bolivia (9) y Argentina (26) (Alvarez Rojas et al., 2017, Boufana et al., 2015, Hidalgo et al., 2020, Manterola et al., 2008, Moro et al., 2009, Sánchez et al., 2010, Yanagida et al., 2012) en América Latina. También se utilizaron 17 secuencias descritas para Palestina (5), Irán (11) y Arabia Saudita (1) en Medio Oriente (Adwan et al., 2013, Al- Mutairi et al., 2020, Barazersh et al., 2020, Parsa et al., 2012, Prezhshki et al., 2013, Sharifi et al., 2021, Yanagida et al., 2012); 61 secuencias de *cox1* descritas en Austria (10), Bulgaria (9), Hungría (6), Italia (10), Portugal (10), Rumania (13),

Grecia (1) e Inglaterra (2) (Bart et al., 2006, Beato et al., 2013, Boufana et al., 2015, Casulli et al., 2012, Obwaller et al., 2004, Šnábél et al., 2009, Varcasia et al., 2006, 2007) en Europa. De igual forma, se utilizaron 95 secuencias descritas del gen *cox1* en Asia, correspondientes a Turquía (21), China (50), Irán-Kurdistán (21) y Kirgistán (3) en Asia (Alvarez Rojas et al., 2020, Arikoglu y Arslan, 2008, Bart et al., 2006a, Beyhan et al., 2020, Casulli et al., 2012, Han et al., 2009, Hassan et al., 2017, Nakao et al., 2010, Oguz et al., 2020, Simsek y Kaplan, 2011, Simsek et al., 2020, Šnábél et al., 2009, Yanagida et al., 2012); 19 secuencias de *cox1* de *E. granulosus* descritas en Australia en Oceanía (Boufana et al., 2015, Obwaller et al., 2004) y 4 secuencias descritas en Libia, 34 secuencias en Túnez y 1 secuencia de Kenia en África (Abushhewa et al., 2010, Boufana et al., 2015), las cuales se encuentran depositadas en GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) (tabla 8).

5. Diversidad y estructuración genética de la población

Se calculó la diversidad nucleotídica y haplotípica para el total y para cada población: Coquimbo, La Araucanía y Magallanes (figura 8), en el programa Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010). La historia demográfica para el total de las secuencias y por población se estimó mediante las pruebas de neutralidad de Fu y Li (1993) y de Tajima (1989) utilizando el programa DnaSP 5.10 (Rozas et al., 2009). Para estimar la diferenciación genética entre pares de poblaciones se utilizó el Φ_{ST} (un análogo del F_{ST} que tiene en cuenta la frecuencia y la divergencia haplotípica) con 10000 permutaciones en el programa Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010); y el S_{nn} (Hudson, 2000), que es una medida de qué tan frecuente se encuentran los vecinos más cercanos de las secuencias en la misma localidad en el programa DnaSP 5.10 (Rozas et al., 2009). Si las poblaciones se encuentran fuertemente estructuradas, se espera encontrar el vecino más cercano de una secuencia en la misma localidad. Por lo tanto, se espera que S_{nn} esté cerca de 1,0 cuando dos poblaciones están altamente diferenciadas y cerca de la mitad cuando dos poblaciones sean parte de una población panmíctica (Hudson, 2000). El análisis de Varianza molecular (AMOVA) se realizó para testear la hipótesis de que la diversidad genética dentro de las poblaciones muestreadas no es significativamente diferente de aquella que podría resultar de la unión de las poblaciones. El

análisis se realizó en el programa Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010). Se utilizó el software PopART, manteniendo la parsimonia estadística, para dibujar a red de haplotipos.

Las relaciones filogenéticas entre los haplotipos del presente estudio y las secuencias de referencia (Bowles et al., 1992) y otras secuencias descritas en diversas localidades se evaluaron mediante un árbol de máxima verosimilitud basado en el modelo de Kimura 2 Parámetros (K2P), utilizando el software MEGA X.

Tabla 8. Secuencias del gen mitocondrial citocromo oxidase sub unidad 1 (cox1) de *Echinococcus granulosus s.s.* y *E. granulosus s.l.*, utilizadas en este estudio

Localidad/País	Perro (HF)	Ovino (HF)	Caprino (HF)	Bovino (HF)	Humano (HF)	Cita
América del Sur						
La Araucanía (IX), Maule (VII), Coquimbo (IV), Chile	KX227122 (EgCLP20)	KX227116 (EgCLO11)	KX227118 (EgCLC14)	JQ250806.1 (EgCLB28)	U50464 (EgCLH01)	Manterola et al., 2008, Alvarez Rojas et al., 2017, Hidalgo et al., 2020, Kemenetzky et al., 2012
	KX227123 (EgCLP21)	KX227120 (EgCLO17)	EgCLCCo03*	KT968704.1 (EgCLB05)	M84666 (EgCLH02)	
		KX227126 (EgCLO22)		KT968703 (EgCLB06)	AB522646 (EgCLH03)	
		MN399400 (EgCLO27)		AB777904 (EgCLB08)	JQ250806.1 (EgCLH04)	
		EgCLOM01-6,8-23*		KX227116 (EgCLB10)	AB777904 (EgCLH07)	
		EgCLOCo07*		KX227117 (EgCLB13)	KX227116 ((EgCLH09)	
		KX227131(EgCL36)		KX227118 (EgCLB15)	KX227117 (EgCLH12)	
		KX227125 (EgCL37)		KX227120 (EgCLB18)	KX227118 (EgCLH16)	
		KX227121 (EgCL38)		KX227130 (EgCLB24)	KX227127 (EgCLH23)	
		KX227124 (EgCL39)		EgCLBA01-16,19,20*	KX227128 (EgCLH25)	
		KX227119 (EgCL40)		EgCLBCo17,18,21*	KX227129 (EgCLH26)	
				AF458872 (EgCLB30)	EgCLHCo01*	
					AF458874 (EgCLH19)	
					AF458875 (EgCLH29)	
				KX227136 (EgCL31)		
				KX227135 (EgCL32)		
				KX227134 (EgCL33)		
				KX227133 (EgCL34)		
				KX227132 (EgCL35)		
Perú	KT001408 (EgPeP09)	AB458672 (EgPeO01)		MN732663 (EgPeLL23)	GU233952 (EgPeH05)	Moro et al., 2009, Sánchez et al., 2010, Yanagida et al., 2012, Boufana et al., 2015, Sánchez et al., 2021
	KT001398 (EgPeP10)	AB470527 (EgPeO02)		AB458674 (EgPeB24)	AB458675 (EgPeH07)	
	KT001407 (EgPeP11)	AB688621 (EgPeO03)		AB458673 (EgPeB23)	GU233951 (EgPeH08)	
	KT001406 (EgPeP12)	GU233854 (EgPeO04)		AB688620 (EgPeB24)		
	KT001405 (EgPeP13)	GU23395 (EgPeO06)		AB688621 (EgPeO25)		
	KT001404 (EgPeP14)					
	KT001403 (EgPeP15)					
	KT001402 (EgPeP16)					
	KT001401 (EgPeP17)					
	KT001400 (EgPeP18)					
	KT001399 (EgPeP19)					
	KT001397 (EgPeP20)					
	KT001396 (EgPeP21)					
KT001395 (EgPeP22)						

Localidad/País	Perro (HF)	Ovino (HF)	Caprino (HF)	Bovino (HF)	Humano (HF)	Cita
Bolivia				JQ250806 (EgBolB01) KX227118 (EgBolB02) MT072973 (EgBolB03) MT072974 (EgBolB04) MT072975 (EgBolB05) MT072976 (EgBolB06) MT072977 (EgBolB07) MT072978 (EgBolB08) MT072979 (EgBolB09)		Martínez et al., 2020
Argentina		AF458875 (EgArgO03) MT796074 (EgArgO7) KC579445 (EgArgO09) KC579450 (EgArgO10) KC579447 (EgArgO13) FN564569 (EgArgO16) GU980907 (EgArgO27) GU980906 (EgArgO28) KC954601 (EgArgO30)	MT796487 (EgArgC24)	AF458873 (EgArgB05) KC579445 (EgArgB08) KC579449 (EgArgB11) KC579448 (EgArgB12) KC579446 (EgArgB14) KC579447 (EgArgB18) KC954602 (EgArgB29)	M84661 (EgArgH01) AF458875 (EgArgH02) AF458873 (EgArgH04) AF458872 (EgArgH06) KT719395 (EgArgH15) MT800802 (EgArgH17) MT800801 (EgArgH19) MT800800 (EgArgH20) MT800797 (EgArgH21) MT800796 (EgArgH22) MT800795 (EgArgH23) MT796079 (EgArgH26)	Andresiuk et al., 2013, Debiaggi et al., 2020, Kemenetzky et al., 2012, Pierangelli et al., 2013, Soriano et al., 2015
Medio Oriente						
Palestina		KC109640 (EgPaO01), KC109657 (EgPaO02), KC109651 (EgPaO03)				Adwan et al., 2013
Irán	JN604097 (EgIP08), JN604099 (EgIP09), JN604102 (EgIP10)	JQ250806 (EgIO05), JQ250808 (EgIO06), JQ250811 (EgIO07)			JQ250810 (EgIH01), JQ250812 (EgIH02), JQ250815 (EgIH03), AB677811 (EgIH04) MT073987 (EgIH11), MN807921 (EgITH12)	Parsa et al., 2012, Yanagida et al., 2012, Prezeshki et al., 2013, Sharifi et al., 2021, Barazesh et al., 2020
Arabia Saudita		MN720282 (EgASO01)				Al-Mutairi et al., 2020

Localidad/País	Perro (HF)	Ovino (HF)	Caprino (HF)	Bovino (HF)	Humano (HF)	Cita
Europa						
Austria		JF513058 (EgAO01) JF513060 (EgAO03) JF513061 (EgAO05)			JF513058 (EgAH02) JF513060 (EgAH04) JF513061 (EgAH06) AJ508018 (EgAH07) AJ508019 (EgAH08) AJ508021 (EgAH09) AJ508028 (EgAH10)	Casulli et al., 2012, Obwaller et al., 2004
Bulgaria		JF513058 (EgBO01) JF513063 (EgBO02) JF513065 (EgBO03) JF513058 (EgBH07) JF513063 (EgBH08) JF513065 (EgBH09)				Casulli et al., 2012
Hungría		JF513058 (EgHO01) JF513061 (EgHO02) JF513063 (EgHO03) JF513064 (EgHO04) JF513065 (EgHO05) JF513067 (EgHO06)				Casulli et al., 2012
Italia		JF513058 (EgIO01) F513059 (EgIO02) JF513060 (EgIO03) JF513062 (EgIO04) DQ062857 (EgIO06)		DQ062857 (EgIB05)	JF513058 (EgIH08) JF513060 (EgIH09) JF513062 (EgIH10)	Varcasia et al., 2006, Casulli et al., 2012
Portugal		JF513058 (EgPO01) JF513060 (EgPO02) JF513079 (EgPO03) HF947595 (EgPO04) HF947592 (EgPO05) HF947558 (EgPO06) HF947585 (EgPO07) HF947574 (EgPO08)				Casulli et al., 2012, Beato et al., 2013

Localidad/País	Perro (HF)	Ovino (HF)	Caprino (HF)	Bovino (HF)	Humano (HF)	Cita
Portugal		HF947579 (EgPO09) HF947557 (EgPO10) HF947566 (EgPO11)				
Rumania		JF513058 (EgRO01) JF513061 (EgRO02) JF513063 (EgRO03) JF513072 (EgRO04) JF513079 (EgRO05)			JF513058 (EgRH06) JF513061 (EgRH07) JF513063 (EgRH08) JF513079 (EgRH09) JF520817 (EgRH010) JF520818 (EgRH011) AY686564 (EgRH012) AY686565 (EgRH013)	Bart et al., 2006, Šnábel et al., 2009, Casulli et al., 2012
Grecia		DQ856467 (EgGO01)				Varcasia et al., 2007
UK	KT001398 (EgUKP01) KT001397 (EgUKP02)					Boufana et al., 2015
Asia						
Turquía		JF513058 (EgTO01) JF513060 (EgTO02) JF513062 (EgTO03) JF513067 (EgTO04) JF513071 (EgTO05) JF513079 (EgTO06) JF775380 (EgTO07) EU929083 (EgTO08)			JF513058 (EgTH09) JF513060 (EgTH10) JF513062 (EgTH11) JF513067 (EgTH12) JF513079 (EgTH13) JF775379 (EgTH14) GU951512 (EgTH15) GU951513 (EgTH16) MT537165 (EgTH17) MN990735 (EgTH18) KX874714 (EgTH19) KX874725 (EgTH20) KX874719 (EgTH21)	Arikoglu y Arslan, 2008, Šnábel et al., 2009, Simsek y Kaplan, 2011, Casulli et al., 2012, Simsek et al., 2020 (no publicado), Oguz et al., 2020 (no publicado), Beyhan et al., 2020 (no publicado)

Localidad/País	Perro (HF)	Ovino (HF)	Caprino (HF)	Bovino (HF)	Humano (HF)	Cita
China	DQ356881 (EgCHP01)	AB491414 (EgCHO03)		MG674403 (EgCHY32)	AB688602 (EgCHH13)	Bart et al., 2006a, Han et al., 2019, Nakao et al., 2010, Yanagida et al., 2012
	DQ356882 (EgCHP02)	AB491418 (EgCHO04)		MG674404 (EgCHY35)	AB688611 (EgCHH14)	
		AB491421 (EgCHO05)		MG674406 (EgCHY41)	AB688613 (EgCHH15)	
		AB491424 (EgCHO06)		MG674412 (EgCHY44)	AB688619 (EgCHH16)	
		AB491425 (EgCHO07)		MG674416 (EgCHY47)	AB491419 (EgCHH17)	
		AB491432 (EgCHO08)		MG674418 (EgCHY50)	AB491420 (EgCHH18)	
		AB491438 (EgCHO09)			AB491422 (EgCHH19)	
		AB491449 (EgCHO10)			AB491423 (EgCHH20)	
		AB491454 (EgCHO11)			AB491428 (EgCHH21)	
		AB688612 (EgCHO12)			AB491431 (EgCHH22)	
		MG674403 (EgCHO31)			AB491434 (EgCHH23)	
		MG674404 (EgCHO34)			AB491437 (EgCHH24)	
		MG674406 (EgCHO40)			AB491439 (EgCHH25)	
		MG674412 (EgCHO43)			AB491447 (EgCHH26)	
		MG674416 (EgCHO46)			AB491451 (EgCHH27)	
		MG674418 (EgCHO49)			AB491453 (EgCHH28)	
					AB491455 (EgCHH29)	
					MG674403 (EgCHH30)	
					MG674404 (EgCHH33)	
					MG674406 (EgCHH39)	
				MG674412 (EgCHH42)		
				MG674416 (EgCHH45)		
				MG674418 (EgCHH48)		
Iraq, Kurdistan		MF004305 (EgKO01)	MF004305 (EgKC02)	MF004305 (EgKB03)		Hassan et al., 2017
		MF004277 (EgKO04)	MF004277 (EgKC05)	MF004277 (EgKB06)		
		MF004283 (EgKO07)	MF004283 (EgKC08)	MF004283 (EgKB09)		
		MF004285 (EgKO10)	MF004285 (EgKC11)	MF004285 (EgKC12)		
		MF004279 (EgKO13)	MF004278 (EgKO16)	MF004280 (EgKB20)		
		MF004273 (EgKO14)	MF004287 (EgKO17)	MF004291 (EgKB21)		
		MF004288 (EgKO15)	MF004293 (EgKO18)			
			MF004306 (EgKO19)			

Localidad/País	Perro (HF)	Ovino (HF)	Caprino (HF)	Bovino (HF)	Humano (HF)	Cita
Kirguistán					MN787554 (EgKirH01) MN787559 (EgKirH02) MN787560 (EgKirH03)	Alvarez Rojas et al., 2020
Oceanía						
Australia	KT001398 (EgAusP05) KT001395 (EgAusP05) KT968706 (EgAusD07) KT968707 (EgAusM08) KU697314 (EgAusD14) JQ250806 (EgAusM16) JQ250809 (EgAusM17)	AJ508005 (EgAusO01) AJ508006 (EgAusO02) AJ508009 (EgAusO03) AJ508010 (EgAusO04) KT968705 (EgAusO09) KT968704 (EgAusO10) KT968703 (EgAusO11) KT968708 (EgAusO12) KT968702 (EgAusO13) AB522646 (EgAusO15) AB688591 (EgAusO18)				Alvarez Rojas et al., 2016, Boufana et al., 2015, Obwaller et al., 2004
África						
Libia	KT001407 (EgLP01) KT001405 (EgLP02) KT001398 (EgLP03)				HM636641 (EgLH04)	Abushhewa et al., 2010, Boufana et al., 2015
Túnez	KM014635 (EgTuP03) KM014636 (EgTuP04) KM014638 (EgTuP06) KM014640 (EgTuP08) KM001399 (EgTuP13) KT001401 (EgTuP14) KT001402 (EgTuP15) KT001403 (EgTuP16) KT001399 (EgTuP17) KT0014610 (EgTuP32)	KM014641 (EgTuO09) KM014644 (EgTuO12) KT0014628 (EgTuO20) KT0014627 (EgTuO21) KT0014614 (EgTuO28) KT0014613 (EgTuO29)	KT0014624 (EgTuC22) KT0014616 (EgTuC26)	KM014634 (EgTuB01) KM014633 (EgTuCam02) KM014639 (EgTuB07) KM014642 (EgTuB10) KT0014620 (EgTuB24) KT0014617 (EgTuB25) KT0014615 (EgTuB27) KT0014612 (EgTuB30) KT0014611 (EgTuCe31) KT0014606 (EgTuCe33) KT0014607 (EgTuCe34)	KM014637 (EgTuH05) KM014643 (EgTuH11) KT0014631 (EgTuH18) KT0014629 (EgTuH19) KT0014621 (EgTuH23)	Boufana et al., 2014, Boufana et al., 2015
Kenya	KM01398 (EgKP01)					Boufana et al., 2015

Nomenclatura secuencia= Número GenBank (Sigla estudio actual: E: *Echinococcus*, g: *granulosus*, X: país, X: animal, X: número), ej: KX227122 (EgCLP20)= KX227122: Número GenBank (Eg: *Echinococcus granulosus*, CL: Chile, P: perro, 20: N°20)

Resultados

Se amplificó con éxito el gen mitocondrial *cox1* en 46 de los quistes aislados (figura 10), amplificando positivamente en el 100% de ellos, obteniendo secuencias de 450 pb. En 21 quistes hidatídicos de bovinos, 23 de ovinos, 1 de caprinos y 1 de humano, fueron identificados *Echinococcus granulosus s.s.* (tabla 7, 8). La mayoría de las muestras (n=34; 73,91%) pertenecen al genotipo EG01 con número de acceso JQ250806 (tabla 9).

Se observó la presencia del haplotipo EG1A (AF458871) en 6 aislados (13,04%); 1 aislado caprino de la región de Coquimbo (EgCLCo03) y 5 aislados bovinos de La Araucanía (EgCLBA03-04-07-10-12), quienes presentaron una transición de T→C en el residuo 96, mientras que en 6 (13,04%) aislado de oveja de la región de Magallanes se observó la presencia del haplotipo EG1D (AF458874) (EgCLOM01-03-05-08-10-21), quienes presentaron una transición de C→T en el residuo 197 (tabla 9). También se puede observar que el aislado de oveja EgCLOM16 presentó una transición de A→G en el sitio 253, con respecto al haplotipo EG01 (JQ250806) (tabla 9). El árbol filogenético separó claramente los haplotipos mostrando los clados distintos con los haplotipos EG1A, EG1D (figura 11).

La red de parsimonia de *E. granulosus s.s.* muestra una topología en forma de estrella con los haplotipos EG1A (AF548871), EG1D (AF458875), EG01(JQ250806, AB491414, JF513058), y el haplotipo EgCLOM16 (figura 12A). El análisis poblacional solo muestra 4 haplotipos con una baja diversidad de haplotipos (H) entre las tres poblaciones analizadas ($Hd=0,461\pm 0,00637$), también se observa una baja presencia de sitios polimórficos (K), solamente 4; y una baja diversidad de nucleótidos la cual fluctuó entre 0,00084-0,00128 (tabla 10).

Los índices de neutralidad de las poblaciones de *E. granulosus s.s.* de las especies hospedadoras analizadas, calculadas con las pruebas de *D* de Tajima y *F_s* de Fu (tabla 10) muestran valores negativos para las poblaciones de Coquimbo ($D= -0,93302$; $F_s= -0,003$) y Magallanes ($D= -0,17406$; $F_s= -0,121$), lo que indica un exceso de sitios polimórficos raros, expansión poblacional y una desviación significativa de la neutralidad. Los índices *D* de Tajima y *F_s* de Fu

fueron positivos para la población de La Araucanía ($D= 0,8695$; $F_s= 1,039$), mostrando niveles bajos de alelos raros o falta de alelos raros.

En la tabla 11 se observa el índice de fijación de Fisher por pares (F_{st}), para las secuencias de *cox1* de *E. granulosus s.s.*, los cuales muestran valores bajos de F_{st} para las poblaciones cuando se comparan por pares, siendo valores negativos las poblaciones Coquimbo- La Araucanía ($-0,08761$). El valor de F_{st} más alto y significativo fue entre las poblaciones de La Araucanía- Magallanes ($0,10703$), indicando diferencias entre estas poblaciones.

El análisis de AMOVA muestra que el 79,66% de la variabilidad genética se encuentra dentro de la población y que el 20,34% de esta variabilidad es entre las tres poblaciones de *E. granulosus s.s* analizadas (tabla 12).

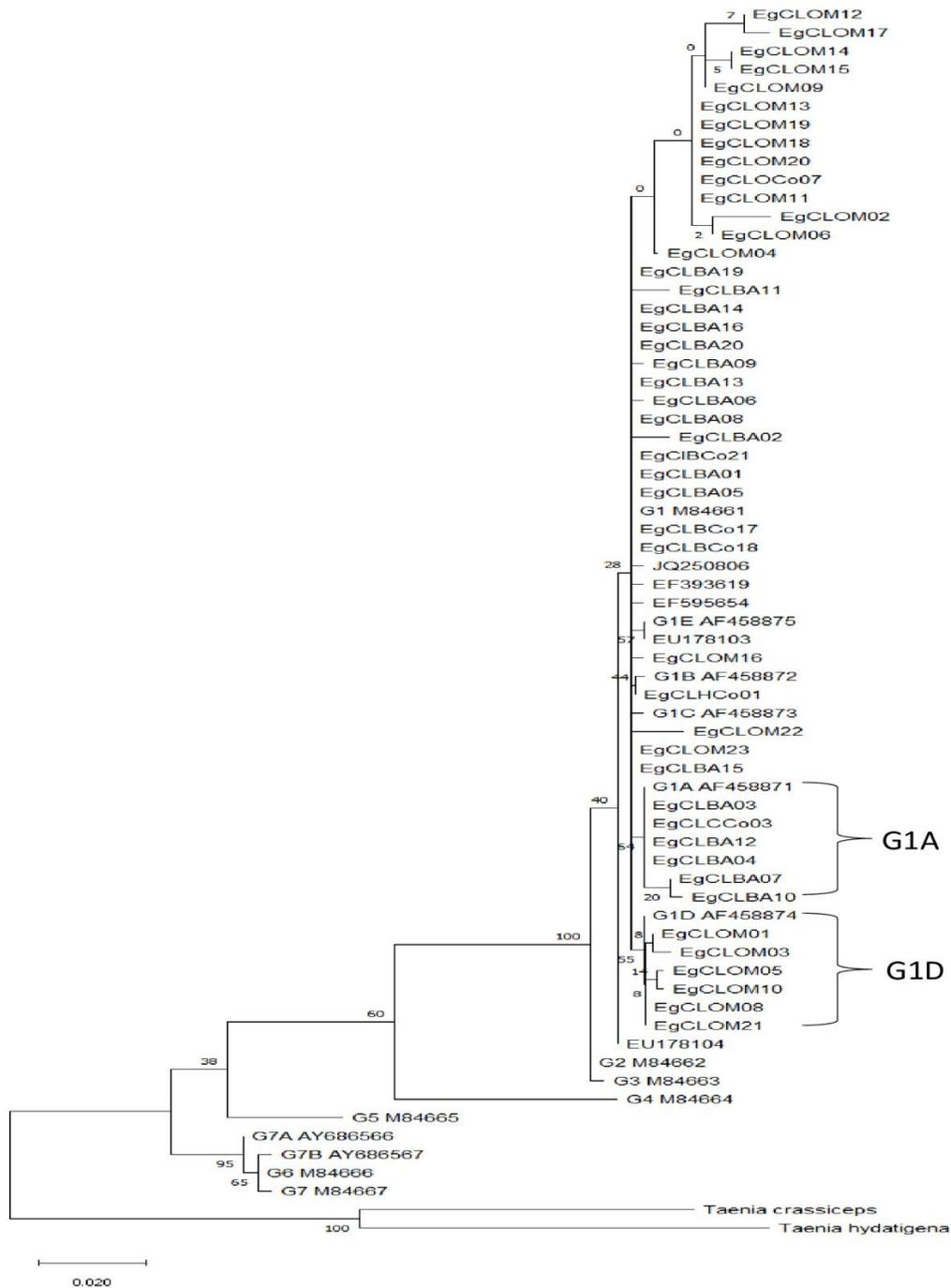
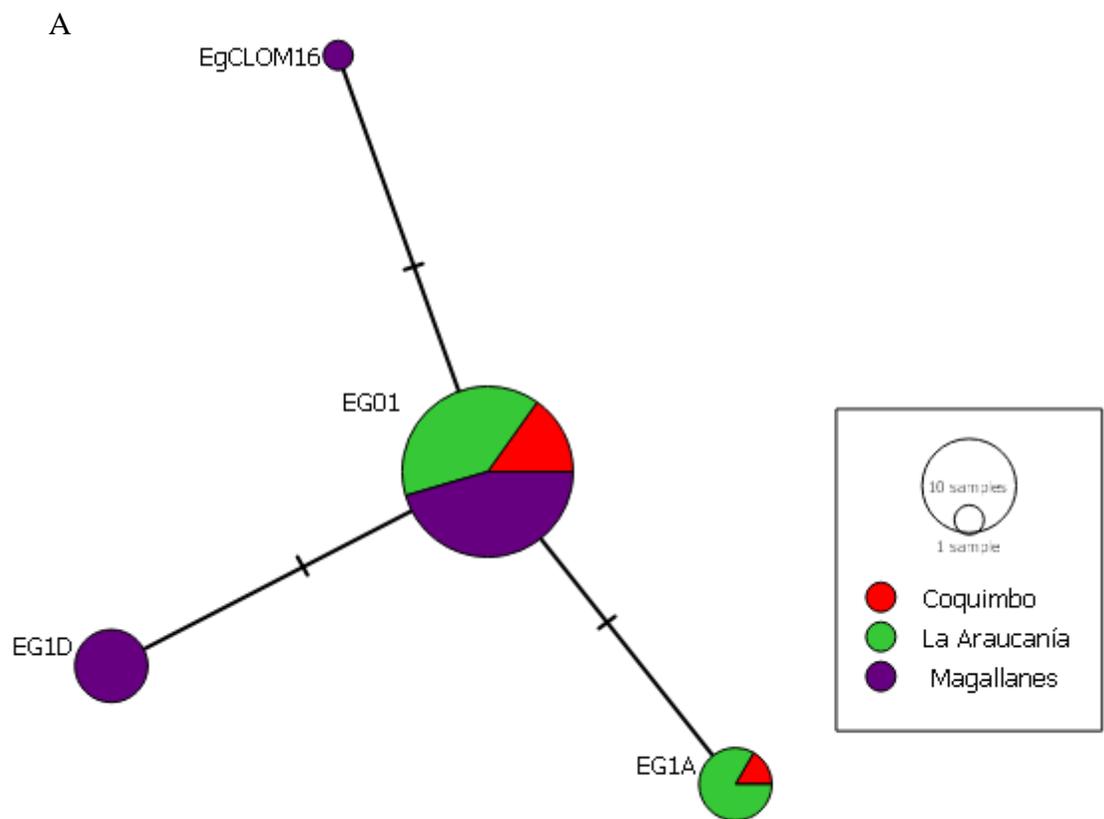


Figura 11. Árbol filogenético de *Echinococcus granulosus* s.l., utilizando secuencias de 450pb del gen *cox1*, aisladas desde 46 quistes hidatídicos de distintos hospederos de tres regiones ganaderas de Chile. El árbol fue construido con el método de máxima verosimilitud (ML) utilizando el método evolutivo Kimura 2 Parámetros (K2P). *Taenia crassiceps* y *Taenia hydatigena* se utilizaron como outgroup.

Tabla 9. Sitios de segregación entre las secuencias del gen *cox1* de los haplotipos de *E. granulosus* s.s. identificados en este estudio (Haplotipos EgCLOM01-06, 8-23, EgCLOCo07; EgCLCCo03, EgCLBA01-16, 19, 20; EgCLBCo17, 18,21; EgCLHCo01), en comparación con la secuencia de haplotipos de *E. granulosus* s.s. descritos por Yanagida y colaboradores (2012), Bowles y colaboradores, (1992) y Kamenetzky y colaboradores, (2002). Las posiciones de los nucleótidos se numeran a partir del primer nucleótido del gen.

Haplotipos	1	96	101	134	137	182	197	218	251	253	348	359	368	371	383	400
EG01-JQ250806	C	T	G	C	G	G	C	G	A	A	A	T	G	A	G	T
EG1A-AF458871	-	C
EG1B-AF458872	-	G
EG1C-AF458873	-	G	.	.
EG1D-AF458874	-	T
EG1E-AF458875	-	.	.	T
EgCLCCo03	.	C	-
EgCLBCo17	-
EgCLBCo18	-
EgCLBCo21	-
EgCLHCo01	-	-	-	-	-	-	-
EgCLBA01	-
EgCLBA02	-
EgCLBA03	.	C	-
EgCLBA04	.	C	-
EgCLBA05	-
EgCLBA06	-
EgCLBA07	.	C	-
EgCLBA08	-
EgCLBA09	-
EgCLBA10	.	C	-
EgCLBA11	-
EgCLBA12	.	C	-
EgCLBA13	-	-
EgCLBA14	-	-
EgCLBA15	-	-
EgCLBA16	-	-
EgCLBA19	-	-
EgCLBA20	-	-
EgCLOM01	T	-
EgCLOM02	-
EgCLOM03	T	-
EgCLOM04	-
EgCLOM05	T	-
EgCLOM06	-
EgCLOCo07	-
EgCLOM08	T	-
EgCLOM09	-
EgCLOM10	T	-
EgCLOM11	-
EgCLOM12	-
EgCLOM13	-
EgCLOM14	-
EgCLOM15	-
EgCLOM16	G	-
EgCLOM17	-
EgCLOM18	-
EgCLOM19	-	-
EgCLOM20	-
EgCLOM21	T	-
EgCLOM22	-
EgCLOM23	-



B

n	Diversidad			Neutralidad	
	K	Hd	Π	Tajimas's D	Fst
46	4	0,461 ± 0,00637	0,00181	-0,54123	0,19742

Figura 12. A) Red de Haplotipos construida con las secuencias del gen *cox1* de las 45 muestras de *E. granulosus* s.s. analizadas en este estudio. B) Haplotipos, índices de diversidad haplotípica e índices de neutralidad para 46 muestras de *E. granulosus* s.s. analizadas. n: número de muestras, K: número de haplotipos, Hd: diversidad haplotípica, π : diversidad nucleotídica.

Tabla 10. Estadísticos genéticos para las poblaciones analizadas de *Echinococcus granulosus*.

Región	N	S	K	H	Π	Tajima's D^*	Fu's F^*
Coquimbo	6	1	2	0,333 ± 0,04630	0,00084	-0,93302	-0,003
La Araucanía	17	1	2	0,425 ± 0,425	0,00107	0,8695	1,039
Magallanes	22	2	3	0,481 ± 0,00875	0,00128	-0,17406	-0,121
Total	45	3	4	0,461 ± 0,00637	0,00141	-0,52134	-0,856

N= Número de individuos analizados, S= Número de sitios polimórficos detectados,

K= Número de haplotipos, H= diversidad de haplotipos, π = Diversidad nucleotídica

(*) no significativo, $p > 0,05$

Tabla 11. Índices de fijación de Fisher (triángulo inferior) y Snn (triángulo superior) de *Echinococcus granulosus s.s.*, en las tres regiones analizadas.

	Coquimbo	La Araucanía	Magallanes
Coquimbo	-----	0,59809	0,6823
La Araucanía	-0,08761	-----	0,62728
Magallanes	0,03341	0,10703	-----

Tabla 12. Análisis de AMOVA de las secuencias del gen COX1 de las tres poblaciones de *Echinococcus granulosus s.s.* analizadas.

Fuente de Variación	D.f.	Suma de los cuadrados	Componentes de la Varianza	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	2	3,285	0,062	20,340
Dentro de las poblaciones	43	10,226	0,243	79,659
Total	45	13,511	0,306	

Al comparar las secuencias de este estudio con secuencias descritas en otras poblaciones afectadas por *Echinococcus granulosus*, se observó que en Latinoamérica el haplotipo EG1A (G1A=AF458871) (Kamenetzky et al., 2002) (figura 12A, 13A), corresponde a cepas descritas en ganado caprino EgCLC14 y bovino EgCLB15 en la región de La Araucanía, así como en humanos EgCLH16 (KX227118) en la Región Metropolitana- Santiago, por Álvarez y colaboradores (2017) en Chile (tabla 8, 13). De igual forma, el haplotipo EG1D (G1D=AF458874) (Kamenetzky et al., 2002) (tabla 13), ha sido descrito en ovejas EgCLO17 (KX227120) en la región de El Maule y en bovinos EgCLB18 – EgCLB05 (KX227120) en la región de Los Lagos (Álvarez et al., 2017) (figura 13A; tabla 8, 13). El análisis de la estructura genético poblacional determinada mediante la comparación pareada entre poblaciones indicó una pequeña diferenciación poblacional $F_{st}=0,00743$ y un índice D de Tajima negativo (figura 13B).

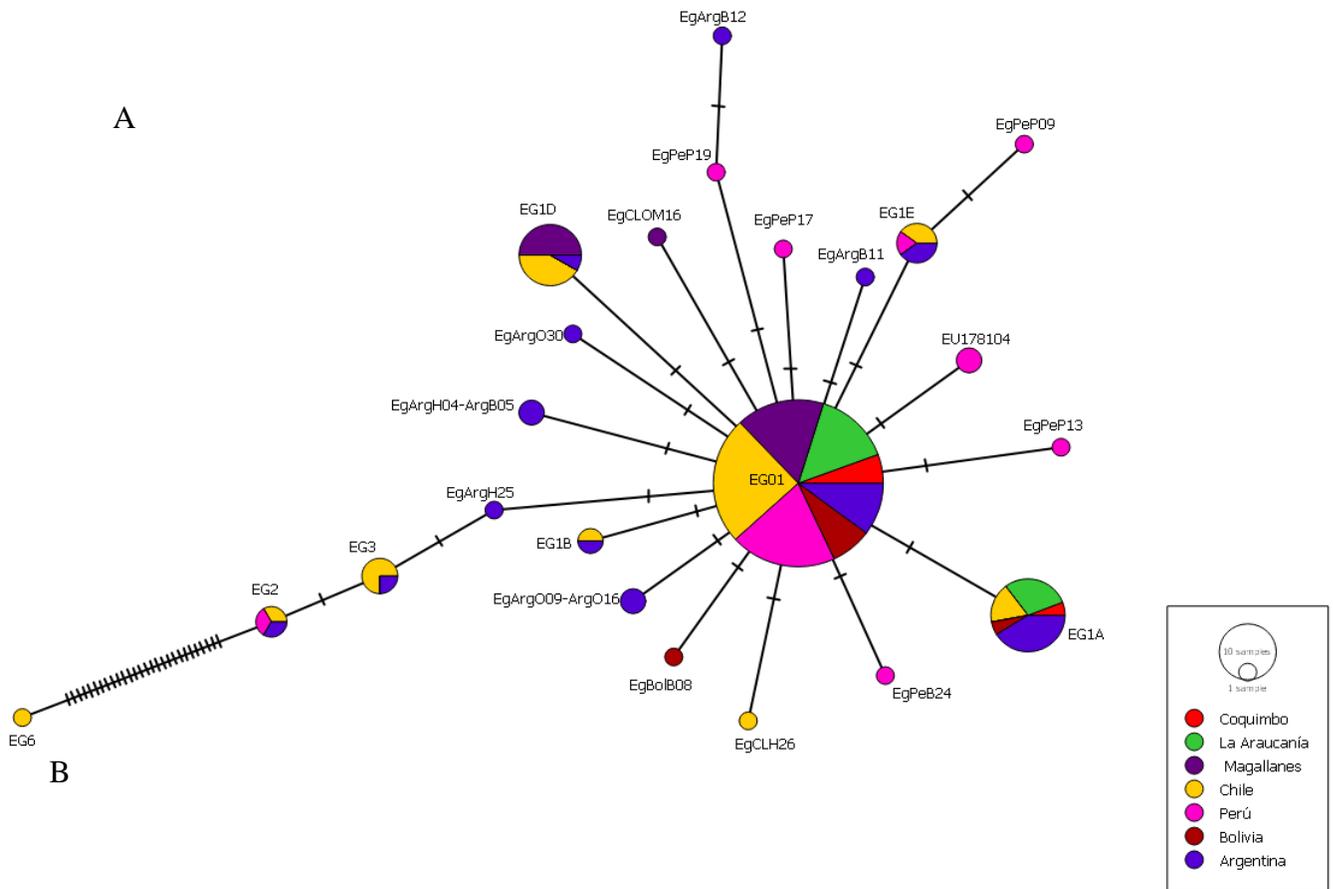
La red de haplotipos (figura 13A) construida con las secuencias del presente estudio y con otras secuencias de Chile, Perú, Bolivia y Argentina, muestra una forma de estrella con el haplotipo EG01 (JQ250806) en el centro, presente en 52 secuencias de este estudio, 20 de otros estudios en Chile, 16 de Perú, 7 de Bolivia y 9 de Argentina. Seis (6) de los haplotipos descritos para Chile difieren en un solo nucleótido con respecto a la secuencia EG01 (JQ250806) (figura 13A, tabla 13).

De igual forma, el haplotipo EG01 (JQ250806) se encuentra descrito en diversos continentes y países: Australia, Libia, Túnez, Austria, Italia, Portugal, Rumania, Inglaterra, Palestina, Irak, Arabia Saudita (tabla 8, 14, 15,16 y 17), lo cual se puede observar en las redes de haplotipo con secuencias de *E. granulosus s.s.* de Latinoamérica, Europa, Medio Oriente, Asia, África y Australia con topología estrellada (figura 13A-14A-15A, 16A, 17A, 18A).

Al observar las secuencias y haplotipos descritos en este estudio y alrededor del mundo, Chile presenta una estructura similar a la existente en otros países y en otros continentes, compartiendo en el centro de las redes de haplotipos la secuencia EG01 (JQ250806) (figuras 13A, 14A, 15A, 16A, 17A, 18A). El haplotipo G1A se ha reportado principalmente en Latinoamérica: Chile, Bolivia y Argentina (figura 13A, tabla 13). El haplotipo EG1D (AF458874), también se ha descrito en otros países de Latinoamérica, Argentina y Bolivia (figura 13, tabla 13), así como en Europa, Austria, Bulgaria, Italia, Portugal (figura 14; tabla 14).

Los otros haplotipos que componen el complejo *Echinococcus granulosus* s.s., también se encuentran descritos para Chile y otros países. Los haplotipos G1B y G1E se han descritos para Chile, Argentina y Perú. De igual forma, los haplotipos G2 y G3, que también componen el complejo *Echinococcus granulosus* s.s., se encuentran descritos en otros estudios para Chile, Perú y Argentina en Latinoamérica (tabla 8, tabla 13 y figura 13) (Alvarez Rojas et al., 2017, Andresiuk et al., 2013, Boufana et al., 2015, Debiaggi et al., 2020, Hidalgo et al., 2020, Kemenetzky et al., 2012, Moro et al., 2009, Pierangelli et al., 2013, Sánchez et al., 2010, 2021, Soriano et al., 2015, Yanagida et al., 2012), así como para Austria, Bulgaria e Italia en Europa (tabla 14; figura 14), Túnez, Kurdistán, Irán y Australia (tabla 8, 15, 16, 17; figura 15, 16, 17, 18).

Los índices de neutralidad de las diferentes poblaciones de *E. granulosus* s.s. estimados con Tajima's D test y el índice Fst se muestran en las tablas 13B-14B-15B. El índice de Tajima's D para la población de Latinoamérica mostró valores negativos (-2,39076), indicando un exceso de sitios polimórficos raros y una significativa desviación de la neutralidad. Las poblaciones de Europa y Asia mostraron valores negativos y bajos para el índice de fijación de Fisher por pares Fst: -0,03449 y -0,05382 respectivamente, lo cual implica que no existen diferencias entre las distintas poblaciones analizadas. De igual forma en la tabla 18 se pueden observar los índices de Tajima's D y F de Fu's, los cuales presentaron valores negativos para Latinoamérica, Europa, Asia, Medio Oriente, África y Australia.



n	Diversidad			Neutralidad	
	K	S	Π	Tajimas' s D	Fst
151	19	34	0,00409	-2.39076**	0,00743

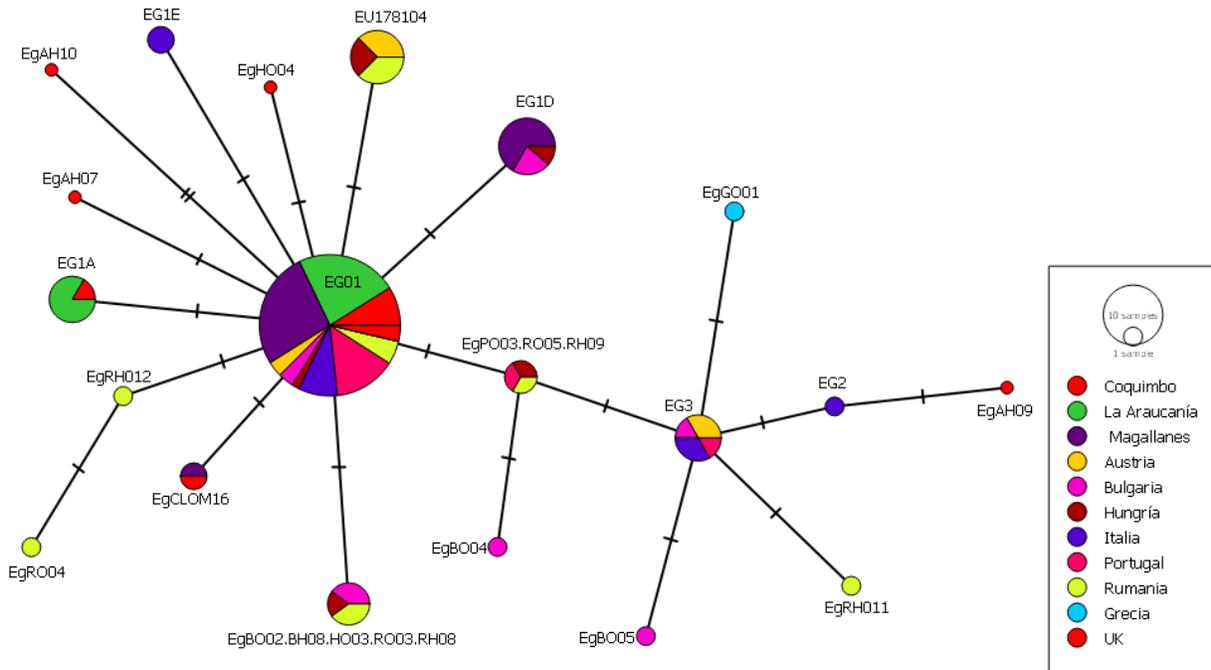
n: número de muestras, K: número de haplotipos, S: número de sitios segregantes, Π : diversidad nucleotídica, Fst: índice de fijación poblacional, **Significancia estadística $p < 0,01$

Figura 13. (A) Red de Haplotipos construida con las secuencias del gen *cox1* de las 46 muestras de *E. granulosus* s.s. analizadas en este estudio, 39 secuencias descritas para Chile, 27 secuencias descritas en Perú, 9 para Bolivia y 30 en Argentina. (B) Haplotipos, índices de diversidad haplotípica e índices de neutralidad para 105 secuencias descritos en Latinoamérica.

Tabla 14. Sitios de segregación de 61 secuencias del gen *cox1* de *E. granulosus* s.s. descritos para Austria, Hungría, Bulgaria, Italia, Rumania, Portugal, Grecia e Inglaterra en Europa. Las posiciones de los nucleótidos se numeran a partir del primer nucleótido del gen.

Haplotipo	1	26	29	63	66	74	79	80	89	96	109	130	134	146	182	197	206	214	224	227	230	280	329	338	371	377	378	379	383	385	386	388	391	398	400			
EG01-JQ250806	C	T	A	A	G	T	C	G	C	T	T	G	C	T	G	C	T	T	T	T	T	T	G	A	A	T	A	T	G	A	T	A	C	T	T			
EG1A-AF458871
EG1C-AF458873	C	
EG1D-AF458874	T	G	
EG2-M84662	T	.	T	C	
EG3-M84663	T	C	
EU178103	T	
EU178104	T	
EgAO01	
EgAH02
EgAO03	T	C
EgAH04	T	C
EgAO05	T
EgAH06	T
EgAH07	.	C	A
EgAH08	T
EgAH09	.	.	G	.	.	.	T	T	.	C	C
EgAH10	C	.	.	.	C
EgBO01
EgBH07
EgBO02	C
EgBH08	C
EgBO03	T
EgBH09	T
EgBO04	T	A
EgBO05	T	C	C
EgBO06	T	T	C
EgHO01	.	C
EgHO02	T
EgHO03	C
EgHO04	C
EgHO05	T
EgHO06	.	C	T
EgIH01
EgIH08
EgIH02	T	T	C
EgIH03	T	C
EgIH09	T	C
EgIH04	T
EgIH10	T
EgIB05
EgIO06
EgIP07
EgPO01
EgPO02	T	C
EgPO03	T
EgPO04
EgPO06
EgPO07	A	.	.	A	T	T	A	G	A	A	.	.	
EgPO08
EgPO09
EgPO10
EgPO11
EgRO01
EgRH06
EgRO02	T
EgRH07	T
EgRO03	C
EgRH08	C
EgRO04	C	.	.	.	C
EgRO05	T
EgRH09	T
EgRH010
EgRH011	.	.	G	T	C
EgRH012	C
EgRH013	T
EgGO01	T	C	.	G
EgUKP01
EgUKP02

A

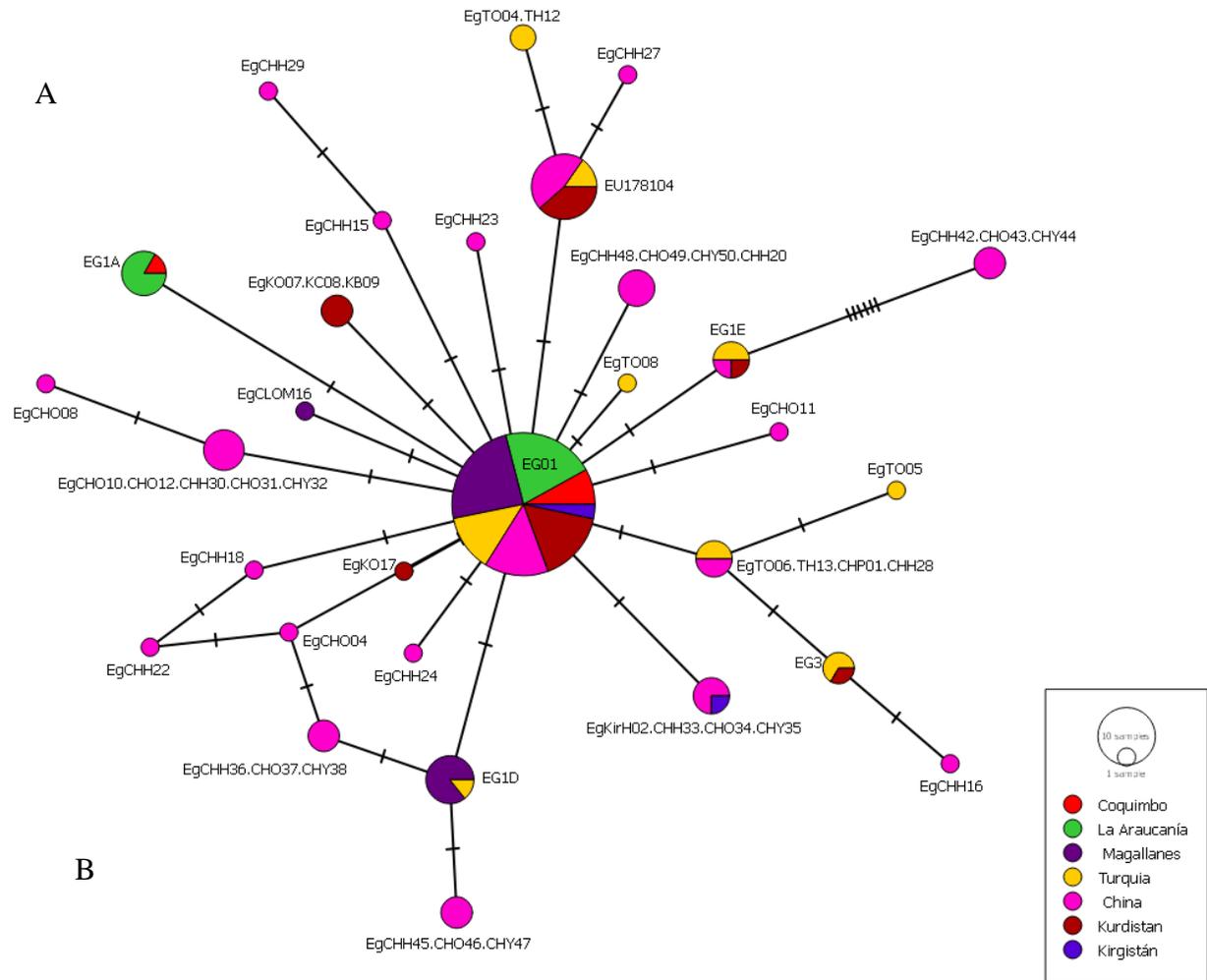


B

n	Diversidad			Neutralidad	
	K	S	Π	Tajima's D	Fst
131	34	43	70049,5	0,000000928	-0,03449

n: número de muestras, K: número de haplotipos, S: número de sitios segregantes, Π : diversidad nucleotídica, Fst: índice de fijación poblacional

Figura 14. (A) Red de Haplotipos construida con las secuencias del gen *cox1* de las 45 muestras de *E. granulosus* s.s. analizadas en este estudio, 27 secuencias descritas para Chile y 59 secuencias descritas en la Europa. (B) Haplotipos, índices de diversidad haplotípica e índices de neutralidad para 131 haplotipos descritos en Europa y Chile.

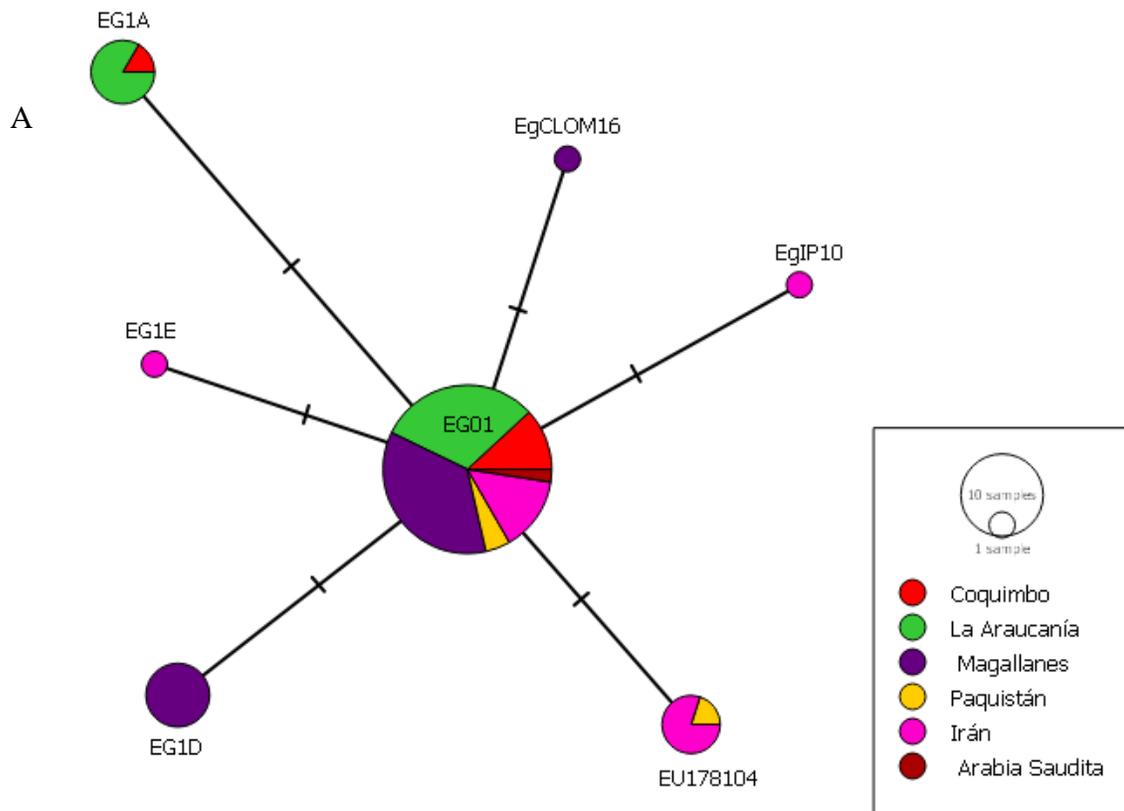


n: número de muestras, K: número de haplotipos, S: número de sitios segregantes, Π : diversidad nucleotídica, Fst: índice de fijación poblacional

Figura 15. (A) Red de Haplotipos construida con las secuencias del gen *cox1* de las 46 muestras de *E. granulosus* s.s. analizadas en este estudio y 95 secuencias descritas en Asia. (B) Haplotipos, índices de diversidad haplotípica e índices de neutralidad para 141 haplotipos descritos en Asia y Chile.

Tabla 16. Sitios de segregación de secuencias del gen *cox1* de *E. granulosus* s.s. descritos en países como: Paquistán, Irán y Arabia Saudita, en Medio Oriente. Las posiciones de los nucleótidos se numeran a partir del primer nucleótido del gen.

Haplotipos	1	79	80	89	96	101	128	131	134	137	197	218	239	306	310	311	320	383	400
EG01-JQ250806	C	C	G	C	T	G	G	T	C	G	C	G	G	G	C	T	G	G	T
EG1A-AF458871	-	.	.	.	C
EG1E-AF458875	-	T
EU178104	.	T
EgPa002	-	T
EgPa001	-
EgPa003	-
EgIH01	.	T
EgIH02	.	T
EgIH03
EgIH04	-	T	-
EgIO05
EgIO06
EgIO07	.	T
EgIP08	-	-
EgIP09	-	T	-
EgIP10	-	G	.	.	.	-
EgIH11
EgITH12	-
EgASO01	-

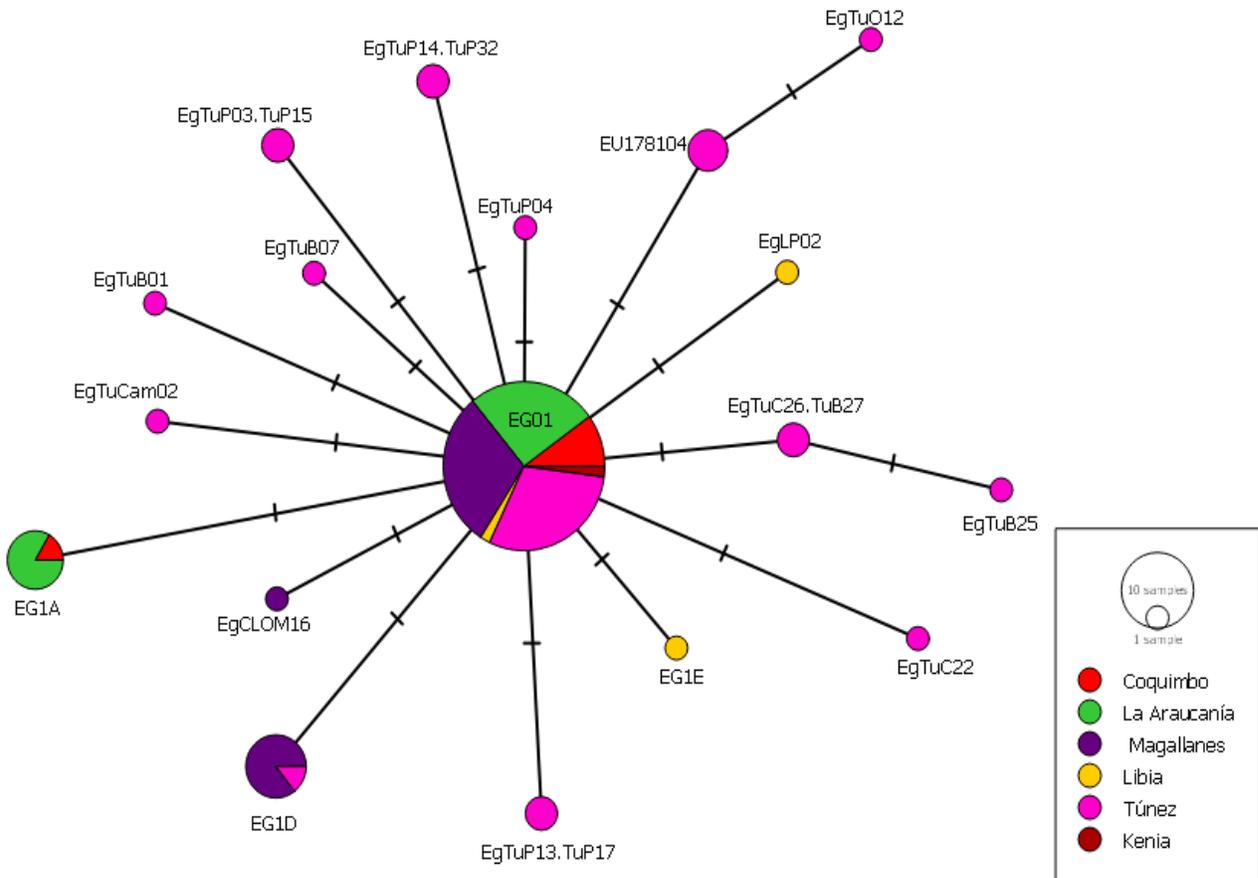


B

n	Diversidad			Neutralidad	
	K	S	Π	Tajima's D	Fst
62	7	6	0,00215	-1,28943	0,20126

n: número de muestras, K: número de haplotipos, S: número de sitios segregantes, Π : diversidad nucleotídica, Fst: índice de fijación poblacional

Figura 16. (A) Red de Haplotipos construida con las secuencias del gen *cox1* de las 45 muestras de *E. granulosus* s.s. analizadas en este estudio, 46 secuencias descritas para Chile y 16 secuencias descritas en Medio Oriente. (B) Haplotipos, índices de diversidad haplotípica e índices de neutralidad para 62 haplotipos descritos en Asia y Chile.



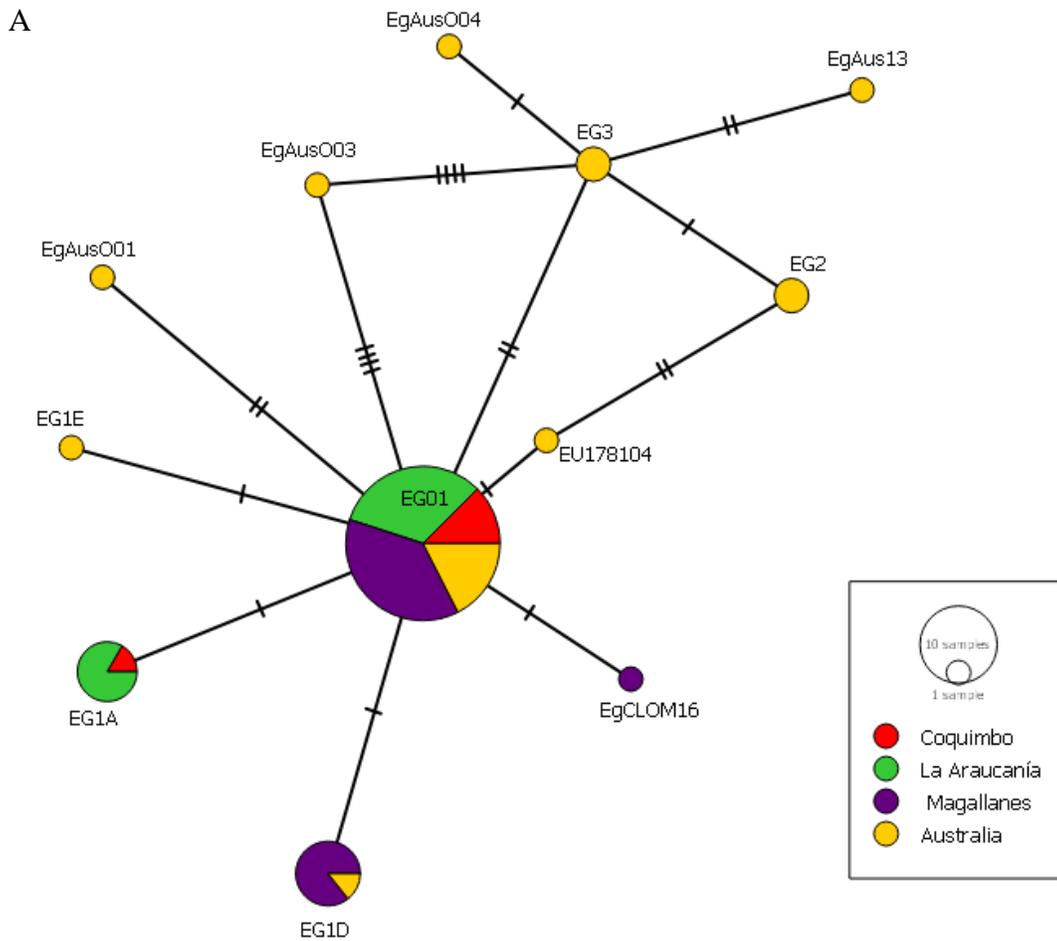
B

n	Diversidad			Neutralidad	
	K	S	Π	Tajima's D	Fst
84	14	13	0,00237	-2,05644	0,04079

n: número de muestras, K: número de haplotipos, S: número de sitios segregantes,

Π : diversidad nucleotídica, Fst: índice de fijación poblacional

Figura 17. (A) Red de Haplotipos construida con las secuencias del gen *cox1* de las 46 muestras de *E. granulosus* s.s. analizadas en este estudio y 38 secuencias descritas en África. (B) Haplotipos, índices de diversidad haplotípica e índices de neutralidad para 84 haplotipos descritos en África y Chile.



B

n	Diversidad			Neutralidad	
	K	S	Π	Tajima's D	Fst
65	11	14	0,00390	-1,82755	0,12742

n: número de muestras, K: número de haplotipos, S: número de sitios segregantes,
 Π : diversidad nucleotídica, Fst: índice de fijación poblacional

Figura 18. (A) Red de Haplotipos construida con las secuencias del gen *cox1* de las 46 muestras de *E. granulosus* s.s. analizadas en este estudio y 19 secuencias descritas en Australia. (B) Haplotipos, índices de diversidad haplotípica e índices de neutralidad para 84 haplotipos descritos en Australia y Chile.

Tabla 18. Índices de diversidad y neutralidad para las diferentes poblaciones analizadas.

Población	Número de secuencias analizadas	Índice de diversidad			Índice de Neutralidad	
		Hn (numero de haplotipos)	hd±SD (diversidad de haplotipos)	nd±SD (diversidad de nucleótidos)	Tajima's D	Fu's Fs
Chile (este estudio)	46	4	0,461±0,00637	0,00181±0,00036	-0,54123~	-0,856
Chile	85	9	0,542±0,059	0,00461±0,00203	-2,36563**	-2,083
Argentina	30	13	0,869±0,042	0,00458±0,00063	-1,71486	-8,639
Perú	27	9	0,561±0,114	0,00251±0,00073	-1,99558*	-6,421
Bolivia	9	3	0,417±0,191	0,00121±0,00060	-1,36240	-1,081
Austria	10	6	0,889±0,075	0,00766±0,00161	-0,70843	-1,102
Bulgaria	9	6	0,917±0,073	0,00607±0,00104	0,62496	-2,034
Hungría	8	6	0,893±0,111	0,00411±0,00095	-1,17532	-3,589
Italia	10	4	0,733±0,120	0,00428±0,00102	0,20350	-0,045
Portugal	11	3	0,345±0,172	0,00146±0,00078	-0,77815	-0,659
Rumania	13	7	0,897±0,054	0,00525±0,00100	-0,77485	-2,640
UK	2	1	0,00000	0,00000	-----	-----
Palestina	3	1	0,00000	0,00000	-----	-----
Iran	12	4	0,682±0,102	0,00224±0,00050	-0,57864	-1,048
Kirgistan	3	2	0,667±0,314	0,00182±0,00086	-----	-----
Turquía	21	5	0,424±0,131	0,00221±0,00077	-1,65358	-3,127
China	50	21	0,935±0,017	0,00729±0,00106	-1,63535	-12,892
Kurdistán	21	6	0,724±0,078	0,00304±0,00065	-1,38535	-1,852
Australia	19	10	0,825±0,084	0,00623±0,00112	-1,42204	-4,186
Libia	3	3	1,00±0,272	0,00364±0,00121	-----	-----
Túnez	14	5	0,800±0,068	0,00326±0,00049	-2,01165***	-12,237
Latinoamérica	151	19	0,578±0,00206	0,000409±0,00371	-2,39076**	-13,852
Europa	61	19	0,832±0,041	0,00493±0,00357	-1,52138*	-13,824
Medio Oriente	16	4	0,617±0,00927	0,00204±0,00168	-0,62771*	-1,019
Asia	95	28	0,880±0,00065	0,00581±0,00477	-1,95889***	-23,448
Africa	38	17	0,819±0,00382	0,00307±0,00358	-2,19849**	-17,437
total	380	26	0,36539±0,031	0,00321±0,00054	-2,42296	-35,985

Significancia *>0,10; **<0,01; ***<0,05

Discusión

En este trabajo se estudió la diversidad genética y la estructura poblacional de *Echinococcus granulosus s.s* en Chile, analizando secuencias del gen *cox1* de diferentes hospederos intermediarios de este cestodo, debido a que ha demostrado poseer variabilidad intraespecífica y ha siendo utilizado para estudiar las estructuras poblacionales en distintas partes del mundo (Álvarez et al., 2017, Boufana et al., 2015, Bowles et al., 1992, Casulli et al., 2012, Hassan et al., 2017, Hidalgo et al., 2020, Nakao et al., 2010, Yanagida et al., 2012). Las secuencias parciales de mtDNA de *cox1* (366pb), el gen *nad1* (471pb) han sido útiles y muy valiosas al proporcionar la base en la diferenciación de las cepas de *E. granulosus s.l.*, así como para la diferenciación de los genotipos G1 y G3, ya que según las secuencias originales difieren en dos o tres posiciones en las regiones de los genes *cox1* y *nad1* respectivamente (Bowles et al., 1992, Casulli et al., 2012, Kinkar et al., 2018). Igualmente se han propuesto una serie de marcadores como el gen mitocondrial rRNA 12S, rRNA 16S, el gen *atp6* y el gen *nad5* (Busi et al., 2007, Boubaker et al., 2016, Kinkar et al., 2018, Nikmanesh et al., 2017, Yang et al., 2005). Estos marcadores poseen pocos datos disponibles, por lo que dificulta su uso como marcadores confiables para la diferenciación de los genotipos G1 y G3 (Kinkar et al., 2018).

A pesar de estos antecedentes en este trabajo se utilizó la secuencia parcial de 450 pb del gen *cox1*, lo cual permite distinguir los genotipos de *E. granulosus* y en especial los genotipos G1 - G3 descritos por Bowles y colaboradores (1992), así como los haplotipos descritos por Kamenetzky y colaboradores (2002). De este modo, se confirmó la presencia de *E. granulosus s.s.* en cabras, ovejas y bovinos en tres regiones ganaderas de Chile, confirmando a *E. granulosus s.s.* como causante de la equinocosis quística en animales. El 100% de las muestras, fue confirmado como cepa G1, cepa oveja, la cual es la más prevalente en el mundo (88,44%) con una alta infectividad para las poblaciones humanas (Álvarez Rojas et al., 2014). Esta cepa es la más común y dominante en la mayoría de las regiones del mundo (Álvarez Rojas et al., 2016, Álvarez Rojas et al., 2017, Casulli et al., 2012, Han et al., 2019, Läurimae et

al., 2016, Yanagida et al., 2012). De igual forma, esto fue observado en este estudio, en donde la cepa más común y prevalente corresponde a *E. granulosus* s.s. G1.

El haplotipo más común en este estudio fue EG01 (JQ250806) (33 de 46 muestras), el cual se ha reportado como un haplotipo frecuente y predominante en diversas regiones del mundo como Jordania, China y Perú (AB491414) (Yanagida et al., 2012), Casulli y colaboradores (2012) lo reportaron en Europa (JF513058), Australia (Alvarez Rojas et al., 2016), Rusia (Konyaev et al., 2013) y Chile (Alvarez Rojas et al., 2017, Hidalgo et al., 2019). Esto, al igual que en la investigación de Yanagida y colaboradores (2012) confirma que este haplotipo es común en regiones muy distantes, el cual se mantiene en animales domésticos y en ganado.

La red de haplotipos construida con los datos de este estudio (figura 12), muestra una expansión en forma estrellada, con el haplotipo EG01 en el centro, mientras que los otros haplotipos se diferencian en su mayoría por solo un nucleótido. Los índices de neutralidad D y F fueron negativos, sugiriendo selección negativa o expansión poblacional. Al ser analizados nuestros datos junto a haplotipos reportados en otros estudios realizados en Chile, Perú, Bolivia y Argentina mostraron un índice de Tajima's D negativo, lo cual puede estar contando parte de la historia de *E. granulosus* s.s en América. De este modo, estos patrones filogeográficos y la sub-estructuración poblacional no se deben a la falta de flujo génico, como fue sugerido por Haag y colaboradores (2004), aunque es necesario tener más datos de los otros países, para evaluar la dispersión de las diferentes cepas y haplotipos de *E. granulosus* s.s.

De igual forma, los índices de neutralidad Tajima's D y F de Fu's mostraron valores negativos para las muestras agrupadas en Latinoamérica, Europa, Medio Oriente, Asia, África y Australia, sugiriendo una reciente expansión de la población y que la incidencia de haplotipos raros fue menor a lo esperado bajo neutralidad, lo cual puede deberse a un cuello de botella y/o eventos de selección que pudieron ocurrir en el pasado (Nakao et al., 2010, Boufana et al., 2014)

El haplotipo EG01 (JQ250806), ha sido descrito por Yanagida y colaboradores (2012) como un haplotipo ancestral que pudo surgir desde regiones del Medio Oriente, el cual está distribuido por todo el mundo junto al ganado doméstico, como se puede observar en las redes de haplotipos de nuestras muestras y haplotipos reportados para Europa, Asia, África, Australia y Latinoamérica. Este haplotipo pudo ser introducido en América del Sur con la colonización Española hace más de 500 años (Alvarez et al., 2017, Ali et al., 2020).

El índice de Fijación F_{st} para las muestras de este estudio (0,19742) mostró que existen diferencias entre las poblaciones analizadas a lo largo de Chile. Esto puede observarse en la red de haplotipos y su distribución. En la población de Coquimbo se encontraron 2 de los 4 haplotipos descritos, EG01 y EG1A en bovinos y caprinos respectivamente. En La Araucanía también se observaron los mismos haplotipos en bovinos, mientras que en la región de Magallanes se observaron 3 haplotipos EG01, EG1D y EgCLOM16 en ganado ovino. Esta baja variabilidad de haplotipos se puede deber al tamaño de la secuencia analizada, ya que algunos investigadores postulan que secuencias más largas permitirían una mejor resolución de la estructura genética de la población de parásitos (Alvarez Rojas et al., 2017, Romig et al., 2015, Yanagida et al., 2012). Así también, la baja variabilidad en las regiones estudiadas puede deberse a la toma de muestras en áreas geográficas restringidas.

El haplotipo EG1A también fue descrito por Alvarez Rojas y colaboradores (2017) en La Araucanía y La región Metropolitana en cabras, bovinos y humanos (KX227118), mientras que el haplotipo EG1D fue descrito en bovinos y ovejas (KX227120, Kr968703) en la región del Maule y la región de Los Lagos. Estos resultados amplían la distribución de las cepas a lo largo de Chile, siendo necesarios más análisis y secuencias para determinar la estructura poblacional y la filogeografía de *E. granulosus* s.s en Chile.

Estos haplotipos también han sido descritos para otras localidades de Sud América, de esta forma el haplotipo EG1A ha sido descrito en Bolivia (KX227118) y en ovejas de Tucumán, Argentina (AF458871) (Kamenetzky et al., 2002, Martínez et al., 2020). El haplotipo EG1D fue

descrito por Kamentzky y colaboradores (2002) en hospederos humanos, en ovejas y humanos en Bulgaria y Hungría (JF513065) (Casulli et al., 2012), en humanos en Turkia (KX874720) (Beyhan et al., 2016), en perros de Irán (JN604099) (Parsa et al., 2012).

Nuestros resultados muestran que la estructura genética poblacional de *E. granulosus s.s* es compleja, debido a la presencia de diferentes haplotipos en las diferentes regiones a lo largo de Chile, la cual posiblemente se complejice aún más si se utilizan secuencias más largas, que permitan estudiar la microdiversidad de *E. granulosus s.s.* en los diferentes hospederos.

De esta forma, se sugiere que para diseñar futuros programas de control de la equinocosis quística (CE), se deben tener en cuenta la variabilidad de la cepa en cada una de las regiones endémicas. Estudiar si estos diferentes haplotipos realmente poseen diferencias biológicas o si poseen características antigénicas diferentes, si las diferentes cepas poseen alguna preferencia de infección de órganos (tropismo), estudiar si poseen diferentes tasas de supervivencia en los tejidos, sus tasas de infección, si existen diferencias en las respuestas inmunológicas de los hospederos y si existe alguna concordancia entre las pruebas de inmunodiagnóstico y el haplotipo o cepa que está parasitando al hospedero.

9. CONCLUSIONES, APORTACIONES Y SUGERENCIAS PARA FUTUROS TRABAJOS

CONCLUSIONES,
APORTACIONES Y
SUGERENCIAS

*En este capítulo realizaremos una recapitulación de las conclusiones de los capítulos de este trabajo de tesis doctoral. Primero se expondrán las conclusiones de obtenidas en este trabajo, de forma resumida. Luego las aportaciones realizadas en el campo de la Epidemiología y Genotipificación de *Echinococcus granulosus*, siendo esto el objetivo de la tesis. Finalmente se formularán algunas sugerencias para futuros estudios de investigación dentro del campo de la parasitología y en especial la Equinococosis Quística.*

Conclusiones

En la presente investigación se proporcionan antecedentes epidemiológicos, de seroprevalencia, y el nivel de conocimiento sobre la equinococosis quística (CE) en la provincia de Limarí de la región de Coquimbo, siendo esta una provincia eminentemente rural en la cual se practica la ganadería caprina y la agricultura como actividad comercial y antecedentes sobre la caracterización genética de *Echinococcus granulosus* s.s., en tres regiones ganaderas y endémicas para este parásito, desde el norte a sur de Chile, como lo son: Coquimbo, La Araucanía y Magallanes.

Los resultados de este estudio muestran una alta seropositividad en la provincia de Limarí (7,5%), demostrando su endemidad y la persistente infección por equinococosis quística (CE) desde edades tempranas en esta población rural. Estos resultados concuerdan con niveles reportados para otros países y regiones endémicas de Latinoamérica. El análisis de los factores de riesgo que están propiciando la CE indican que el agua de bebida y el haber tenido anteriormente equinococosis quística poseen relevancia y pueden propiciar nuevas infecciones dentro de la población humana.

El uso de agua potable almacenada en estanques, siendo esta una solución generalizada en zonas rurales de la región de Coquimbo, por falta de agua en los cursos naturales de los ríos,

la sequía y consiguiente pérdida de los pozos de agua dulce por disminución de las aguas presentes en las napas subterráneas, y la posibilidad de que esta agua potable se encuentre susceptible a la contaminación con diversos elementos, que ingresen de alguna forma al estanque de acopio, entre ellos las heces fecales de perros parasitados con *E. granulosus* entre otros parásitos, puede estar relacionado con las altas tasas de prevalencia observadas en los distintos grupos etarios analizados, constituyendo una fuente de infección dentro del ciclo de *E. granulosus*, junto a las fuentes de infección ya descritas para este cestodo, en donde se contaminan las aguas de bebida y alimentos con huevos de *E. granulosus* y son ingeridos por los hospederos, en este caso las personas que actuarían como un hospedero accidental en este ciclo biológico.

Los resultados obtenidos con técnicas de inmunodiagnóstico y la utilización de diferentes pruebas de ELISA, una prueba comercial y una prueba que produce el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP); y su complemento con un análisis de Western Blot permite el cribado de la población a gran escala, siempre teniendo en cuenta que estas técnicas de estudios serológicos de IgG, IgM e IgA, pueden confirmar la presencia de estos anticuerpos circulantes, constituyendo un examen diagnóstico sugerente y no de certeza de una parasitosis, ya que la negatividad de estas pruebas no descarta la presencia de quistes hidatídicos, tanto en portadores asintomáticos como pacientes sintomáticos. De este modo, estos análisis y este cribado poblacional a gran escala debe ser complementado con exámenes ecográficos y/o radiológicos, para poder establecer una prevalencia basal y poder crear programas de vigilancia epidemiológica, estudiando el ciclo natural de CE en zonas endémicas.

De esta forma, es necesario crear un programa de pesquisa activa en la región de Coquimbo, que permita realizar el hallazgo temprano de los casos positivos, con las técnicas de imagen adecuadas, que permitan observar si existen lesiones en hígado, pulmón u otro órgano, mejorando la vigilancia epidemiológica, el seguimiento de ellos y la prevención de nuevos casos.

Al estudiar la estructura genético poblacional de *Echinococcus granulosus* en tres regiones ganaderas de Chile, desde norte a sur, como lo son Coquimbo, La Araucanía y Magallanes, se observa que es compleja debido a los diferentes haplotipos presentes a lo largo del territorio chileno. El haplotipo predominante es EG01, descrito como un haplotipo ancestral. El haplotipo EG1A se encuentra entre la región de Coquimbo y La Araucanía en diferentes hospederos, caprinos, bovinos y humanos. El haplotipo EG1D también se encuentra en una diversidad de hospederos entre las regiones de El Maule a Magallanes. Debido a esto, se sugiere realizar estudios que permitan determinar la variabilidad intraespecífica para *E. granulosus* s.s. a lo largo de Chile e identificar si esta variabilidad modifica las características biológicas del parásito, para diseñar futuros programas de control de la equinococosis quística en los diferentes hospederos.

Aportaciones

En este estudio estamos aportando con nuevos datos sobre la prevalencia de equinococosis quística en la provincia de Limarí, de la región de Coquimbo, la cual es eminentemente rural, cuya actividad económica es la crianza de cabras y la actividad agrícola.

Hace más de 10 años que no se realizaba un estudio de cribado a gran escala en la región en Coquimbo, en los cuales se reportaron prevalencias de 2,5%, siendo estos valores similares a los reportados actualmente por el Ministerio de Salud en Chile, los cuales solo contemplan los casos informados por los Servicios de Salud regionales a lo largo de Chile, pero no corresponden a estadísticas de pesquisa activa de casos nuevos. Mientras que los valores de prevalencia encontrados en este estudio (7,9%) son similares a los reportados en estudios de pesquisa activa en otros países de Latinoamérica.

De igual forma, se han realizado estudios para conocer y determinar posibles factores de riesgo en áreas rurales de la región de Coquimbo, determinando que el contacto entre las

personas y los perros domésticos y sus heces pueden estar influyendo y favoreciendo la infección equinocócica en humanos, así como el alimentar a los perros con vísceras de animales y la desparasitación de los perros. Mientras que en nuestro estudio se observó que el poseer agua potable almacenada en estanques, realidad que se vive actualmente en la región de Coquimbo, debido a la falta de agua en estas zonas rurales, podría estar favoreciendo las infecciones por este cestodo. Lo cual complementa los resultados expuestos en otros estudios, ya que la contaminación del agua de bebida y los alimentos con heces fecales de perros infectados, constituyen la fuente infectante de esta parasitosis.

También, en este trabajo se describe la estructura genético poblacional de *Echinococcus granulosus* en Chile, encontrando que la principal cepa presente a lo largo del territorio en los distintos animales de ganado existentes en estas zonas; como lo son las ovejas, las cabras y los bovinos, quienes participan como hospederos intermediarios de este helminto cestodo es EG01, genotipo oveja, el cual es el principal genotipo que afecta a los humanos alrededor del mundo. Asimismo se determinó que los haplotipos EG1A se encuentran principalmente entre las regiones de Coquimbo y La Araucanía y el haplotipo EG1D en la región de Magallanes, con baja diversidad de haplotipos y baja diversidad de nucleótidos a lo largo de Chile, describiendo una alta variabilidad dentro de las poblaciones, no así entre las poblaciones, lo que nos proporciona datos sobre el ciclo biológico del parásito, los cuales estarían influyendo en la epidemiología de esta cestodiasis en los humanos.

Por otra parte, estos datos de la estructura genético poblacional de *Echinococcus granulosus* s.s. en Chile y los distintos haplotipos descritos, los cuales igualmente se encuentran otros países de América del Sur, como Perú, Bolivia y Argentina, nos puede estar contando la historia genética de esta especie, permitiendo la comprensión de la dispersión de este cestodo en el territorio Chileno, ya que esta especie parásita de helminto cestodo habría sido introducido a las Américas luego de la llegada de los colonos españoles junto a los animales de ganado, entre ellos ovejas, cabras, bovinos, cerdos y los perros.

De esta forma, este estudio entrega y proporciona datos epidemiológicos sobre la epidemiología en población humana en la provincia de Limarí en la región de Coquimbo, así como los factores de riesgo de esta infección equinocócica, como la estructura genético poblacional en tres regiones ganaderas desde el norte al sur de Chile.

Sugerencias para futuros trabajos

Al ser la equinocosis quística una zoonosis epidemiológicamente compleja, que causa una importante morbilidad en la población rural - ganadera afectada por ella y pérdidas en la producción ganadera, es necesario el desarrollo de diversos estudios que permitan establecer datos epidemiológicos sólidos, con pesquisas a gran escala utilizando una combinación técnicas de cribado de diagnóstico sugerente como lo son los exámenes de ELISA y Western Blot, que pesquisan diferentes anticuerpos como IgG, IgM e IgA, en conjunto con exámenes imagenológicos patognomónicos, como las ecografías y/o radiografías, que permiten establecer el tipo de lesión quística que está presente en la población afectada.

De igual forma, es necesario estudiar las poblaciones afectadas para determinar con mayor precisión los factores de riesgo que poseen, determinando los niveles de contaminación de los suelos, aguas y alimentos con éste y otros parásitos, para intervenir las poblaciones y crear planes de control y prevención que concuerden con las realidades locales de cada zona.

También es necesario realizar estudios genéticos ampliando el tamaño de la secuencia estudiada, que nos permitan un mejor análisis de la microdiversidad que presenta esta especie, para determinar la microdiversidad de los distintos haplotipos *Echinococcus granulosus* y establecer si existen diferencias biológicas entre ellas y de esta forma establecer si existen diferencias entre los haplotipos y su epidemiología.

10. ANEXOS

ANEXOS

Anexo 1. Aprobación Comité de Ética, proyecto “Hidatidosis en la IV Región, Chile: Epidemiología en población humana y genotipificación de Quistes Hidatídicos”



AJA

RESOLUCION COMITE ETICO CIENTIFICO

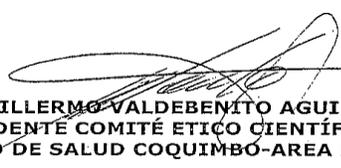
Msc. NICOLE URRIOLA
INVESTIGADORA PRINCIPAL

El Comité Etico Científico IV Región con relación a Protocolo: **“Hidatidosis en la IV Región, Chile: Epidemiología en población humana y genotipificación de Quistes Hidatídicos”** revisó y analizó los siguientes documentos:

1. Proyecto de Tesis Doctoral
2. Encuesta Proyecto Hidatidosis en la IV Región
3. Consentimiento Informado Adulto. Genotipificación Quiste Hidatídico
4. Consentimiento Informado Adulto
5. Consentimiento Informado Menor de Edad
6. Carta de fecha 21 de Octubre de 2013 que incorpora carta de Jefe Servicio de Cirugía

El Comité Etico aprueba los documentos, se ajustan a directrices del ICH, a normas de buenas prácticas clínicas y a principios emanados de la declaración de Helsinki y considera que su investigación pueda generar conocimiento importante en relación a esta patología.

Saluda atentamente a Ud.


Dr. GUILLERMO VALDEBENITO AGUILAR
PRESIDENTE COMITÉ ETICO CIENTIFICO
SERVICIO DE SALUD COQUIMBO-AREA NORTE



La Serena 06 de Diciembre de 2013

Anexo 2: Consentimiento informado para adultos
PROYECTO “HIDATIDOSIS EN LA IV REGION”



CONSENTIMIENTO INFORMADO ADULTO

Proyecto: “Hidatidosis en la IV Región, Chile: Epidemiología en población humana y genotipificación de quistes hidatídicos”.

Financia: Departamento de Enfermedades Tropicales. Universidade Estadual Paulista. Botucatu – SP., Brasil.

Institución ejecutora: 1. Laboratorio de Parasitología, Departamento Ciencias Biomédicas. Universidad Católica del Norte. Coquimbo, Chile.

2. Departamento de Enfermedades Tropicales. Universidade Estadual Paulista. Botucatu – SP., Brasil.

Contacto:

Msc. Nicole Urriola
Larrondo 1281. Coquimbo
Teléfono: 51-209864
Email: nurriola@ucn.cl

Naturaleza y Objetivo del Estudio

El objetivo del proyecto es establecer la prevalencia de hidatidosis en las Provincias de Elqui y Limarí y tipificar la cepa del parásito *Echinococcus* spp presente en la región. El éxito del proyecto permitirá en el futuro, establecer evidencias para mejoras en políticas de salud en la región.

¿En qué consiste mi participación en el estudio?

Este documento es una invitación a participar en el estudio, totalmente voluntario. Usted debe participar en este estudio solo si desea hacerlo.

Duración del estudio

El estudio dura 2 años, si Usted acepta participar en este estudio, será contactado a lo menos 2 veces por los investigadores para responder preguntas de una encuesta y someterse al siguiente procedimiento:

- Responder preguntas de una encuesta.
- Extracción de una muestra de sangre venosa.

Su participación consiste en la toma de muestra de 4ml de sangre venosa (técnica convencional) y utilización de su suero para el Examen Serológico de Equinococosis (Test de ELISA), para cubrir los objetivos del trabajo (ver anexo toma de muestra).

Durante este período y dependiendo de los requerimientos del proyecto, Usted puede ser contactado para repetir la toma de muestra o la encuesta, con el objetivo de mejorar la resolución de los datos.

¿Cuánto demora la realización del examen?

La toma de muestra de sangre y el responder la encuesta no demora más de 30 minutos.

¿Qué beneficios tengo al participar en este estudio?

- Usted tendrá derecho a conocer los resultados del examen.
- Usted obtendrá el resultado del análisis serológico de suero, en un sobre cerrado y confidencial con el resultado del examen, positivo o negativo.

Costos: ¿Debo pagar el examen?

El examen es totalmente gratuito y está disponible para Usted por su participación.

¿Me pagarán por participar en este proyecto?

Su participación en el proyecto no tiene compensación económica, ni actual ni futura.

¿En caso de que fuera necesario me darán tratamiento médico en el proyecto?

En caso que sea pertinente, Usted puede usar los resultados del examen como antecedente para buscar un diagnóstico y tratamiento por vías públicas o privadas. El proyecto no se hace responsable de eventuales tratamientos médicos para las personas que así lo requieran.

Confidencialidad de de su información y resultados del examen

Los resultados del examen serán absolutamente confidenciales y serán manejados exclusivamente por los especialistas del Proyecto. Los resultados de su examen (y de todos los otros participantes asociados al proyecto) podrán ser publicados en un formato general como parte de un informe de tesis ó una publicación científica en revistas de divulgación, manteniendo el anonimato de cada persona particular.

¿Puedo contactar al comité de bioética?

Si usted tiene dudas sobre los riesgos, derechos o beneficios que se obtienen en este proyecto, puede contactar directamente a la Unidad de Bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica del Norte, quienes han aprobado la realización de este proyecto y cuyos datos de Contacto son:

Dr. Guillermo Valdebenito

Presidente Comité Ético Científico
Servicios de Salud, Coquimbo
Av. Francisco de Aguirre N°795, La Serena
Fono: 51-2335765
E-mail: gvaldebenitoa@gmail.com

Comité de ética em investigación de La Facultad de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, telefono: (14) 3880-1608/ 3880-1609.

¿Tengo derecho a retirarme del estudio?

Quien suscribe, entiende respecto de su derecho a retirarse del estudio lo siguiente:
“Dado que mi participación es voluntaria, soy libre de retirarme de este estudio en cualquier momento, sin que nadie me pida alguna explicación”.

¿Qué se hará con la muestra de sangre una vez realizado el examen?

La muestra de sangre se guardará en dependencias de la UCN. Si la muestra de sangre debe ser utilizado para otros análisis más allá de lo previsto en este protocolo, una nueva solicitud será presentada ante el Comité de Ética y un nuevo consentimiento informado será solicitado al participante de este proyecto.

AUTORIZACION

He leído (o se me ha leído) la información del documento del consentimiento y el procedimiento descrito en el Anexo N°2. El (la) investigador(a) me ha explicado el estudio y ha contestado mis preguntas. Voluntariamente doy mi consentimiento para participar en el estudio “Hidatidosis en la IV Región, Chile: Epidemiología en población humana y genotipificación de quistes hidatídicos”. He recibido copia de este procedimiento.

Nombre Adulto	Nombre Investigador Responsable
RUT:	
Firma	Firma
Fecha	Fecha

Anexo 3: Consentimiento informado del menor de edad



CONSENTIMIENTO INFORMADO MENOR DE EDAD

Proyecto: “Hidatidosis en la IV Región, Chile: Epidemiología en población humana y genotipificación de quistes hidatídicos”.

Financia: Departamento de Enfermedades Tropicales. Universidade Estadual Paulista. Botucatu – SP., Brasil.

Institución ejecutora: 1. Laboratorio de Parasitología, Departamento Ciencias Biomédicas. Universidad Católica del Norte. Coquimbo, Chile.

2. Departamento de Enfermedades Tropicales. Universidade Estadual Paulista. Botucatu – SP., Brasil.

Contacto:

Msc. Nicole Urriola
Larrondo 1281. Coquimbo
Teléfono: 51-209864
Email: nurriola@ucn.cl

Naturaleza y Objetivo del Estudio

El objetivo del proyecto es establecer la prevalencia de hidatidosis en las Provincias de Elqui y Limarí y tipificar la cepa del parásito *Echinococcus* spp presente en la región. El éxito del proyecto permitirá en el futuro, establecer evidencias para mejoras en políticas de salud en la región.

¿En qué consiste mi participación en el estudio?

Este documento es una invitación a participar en el estudio, totalmente voluntario. Usted debe participar en este estudio solo si desea hacerlo.

Duración del estudio

El estudio dura 2 años, si Usted acepta participar en este estudio, será contactado a lo menos 2 veces por los investigadores para responder preguntas de una encuesta y someterse al siguiente procedimiento:

- Responder preguntas de una encuesta.
- Extracción de una muestra de sangre venosa.

Su participación consiste en la toma de muestra de 4ml de sangre venosa (técnica convencional) y utilización de su suero para el Examen Serológico de Equinococosis (Test de ELISA), para cubrir los objetivos del trabajo (ver anexo toma de muestra).

Durante este período y dependiendo de los requerimientos del proyecto, Usted puede ser contactado para repetir la toma de muestra o la encuesta, con el objetivo de mejorar la resolución de los datos.

¿Cuánto demora la realización del examen?

La toma de muestra de sangre y el responder la encuesta no demora más de 30 minutos.

¿Qué beneficios tengo al participar en este estudio?

- Usted tendrá derecho a conocer los resultados del examen.
- Usted obtendrá el resultado del análisis serológico de suero, en un sobre cerrado y confidencial con el resultado del examen, positivo o negativo.

Costos: ¿Debo pagar el examen?

El examen es totalmente gratuito y está disponible para Usted por su participación.

¿Me pagarán por participar en este proyecto?

Su participación en el proyecto no tiene compensación económica, ni actual ni futura.

¿En caso de que fuera necesario me darán tratamiento médico en el proyecto?

En caso que sea pertinente, Usted puede usar los resultados del examen como antecedente para buscar un diagnóstico y tratamiento por vías públicas o privadas. El proyecto no se hace responsable de eventuales tratamientos médicos para las personas que así lo requieran.

Confidencialidad de de su información y resultados del examen

Los resultados del examen serán absolutamente confidenciales y serán manejados exclusivamente por los especialistas del Proyecto. Los resultados de su examen (y de todos los otros participantes asociados al proyecto) podrán ser publicados en un formato general como parte de un informe de tesis ó una publicación científica en revistas de divulgación, manteniendo el anonimato de cada persona particular.

¿Puedo contactar al comité de bioética?

Si usted tiene dudas sobre los riesgos, derechos o beneficios que se obtienen en este proyecto, puede contactar directamente a la Unidad de Bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad Católica del Norte, quienes han aprobado la realización de este proyecto y cuyos datos de Contacto son:

Dr. Guillermo Valdebenito

Presidente Comité Ético Científico
Servicios de Salud, Coquimbo
Av. Francisco de Aguirre N°795, La Serena
Fono: 51-2335765
E-mail: gvaldebenitoa@gmail.com

Comité de ética em investigación de La Facultad de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, telefono: (14) 3880-1608/ 3880-1609.

¿Tengo derecho a retirarme del estudio?

Quien suscribe, entiende respecto de su derecho a retirarse del estudio lo siguiente:

“Dado que mi participación es voluntaria, soy libre de retirarme de este estudio en cualquier momento, sin que nadie me pida alguna explicación”.

¿Qué se hará con la muestra de sangre una vez realizado el examen?

La muestra de sangre se guardará en dependencias de la UCN. Si la muestra de sangre debe ser utilizado para otros análisis más allá de lo previsto en este protocolo, una nueva solicitud será presentada ante el Comité de Ética y un nuevo consentimiento informado será solicitado al participante de este proyecto.

Consentimiento de menores de edad

Si el participante es menor de edad, uno de sus padres o su tutor legal deberá autorizar su participación en el proyecto. Si el menor de edad tiene entre 12 y 17 años deberá asentir su participación en el estudio junto a uno de sus padres y/o tutor legal.

AUTORIZACION

He leído (o se me ha leído) la información del documento del consentimiento y el procedimiento descrito en el Anexo N°2. El (la) investigador(a) me ha explicado el estudio y ha contestado mis preguntas. Voluntariamente confirmo mi participación en el proyecto, siendo menor de edad y mayor de 12 años.

Voluntariamente doy mi consentimiento para que mi hijo(a) participe en el estudio “Hidatidosis en la IV Región, Chile: Epidemiología en población humana y genotipificación de quistes hidatídicos”. He recibido copia de este procedimiento.

Nombre Menor de Edad (mayor 12 años)	Nombre Adulto	Nombre Investigador Responsable
RUT:	RUT:	
Fecha de nacimiento:		
Edad:		
Firma	Firma	Firma
Fecha	Fecha	Fecha

Anexo 4: Encuesta Hidatidosis

PROYECTO "HIDATIDOSIS EN LA IV REGION"

Encuesta Proyecto: "Hidatidosis en la IV Región".



I. Datos Demográficos

Nombres: _____

Apellidos: _____

Fecha de nacimiento: _____

Edad: _____

Lugar de Nacimiento: _____

Sexo: F _____ / M _____ Ocupación: _____

Dirección: _____

RUT: _____

Teléfono: _____

1. Escolaridad

Básica Incompleta		Básica Completa		Ed. Media Incompleta	
Ed. Media Completa		Universitaria Incompleta		Universitaria Completa	
Instituto		Otro:			

2. ¿Usted tiene agua potable? Si _____ No _____

3. ¿Usted posee red de alcantarillado? Si _____ No _____

Si la respuesta es NO siga con la pregunta 4

4. Tiene: Poso séptico _____ Letrina _____ Otro: _____

5. Ud. Se lava las manos antes de manipular alimentos

Si _____ No _____ A veces _____

II. Antecedentes de Parasitosis

6. ¿Ha tenido parásitos? Si _____ No _____ ¿Cuál? _____

7. ¿Alguien de su familia ha tenido parásitos? Si _____ No _____

¿Quién?: _____

8. ¿Usted sabe qué es la hidatidosis, o bolsas de agua? ("Sondear")

Si _____ No _____, ¿Qué sabe? _____

9. ¿Usted ha sido operado? Si _____ No _____

Patología _____

Hidatidosis: Si _____ No _____

Si la persona presenta antecedentes quirúrgicos por hidatidosis seguir con la pregunta 10, sino con la 11

10. ¿Tiene antecedentes por quistes hidatídicos, HIDATIDOSIS?

Quiste hidatídico hepático: Si _____ No _____

Quiste hidatídico pulmonar: Si _____ No _____

Otra Localización: _____

III. Relación con Huésped Definitivo

11. Tenencia de Perros:

Si _____ No _____ ¿Cuántos? _____

12. Tipo de Contacto:

Estrecho _____ Cercano _____ Peridomiciliario _____

Estrecho: convive dentro de la casa con el perro, duerme con el perro

Cercano: perro en el jardín o patio de la casa

Peridomiciliario: el perro utiliza la casa como dormitorio y lugar de alimentación

13. Desparasitación de Perros:

Si _____ No _____ ¿Cada cuanto tiempo? (meses) _____

14. Tipo de Alimentación:

Pellet _____ Elaboración Casera _____ Restos de Comida _____

Otro _____

15. Lavado de manos :

1. Después de Acariciar al perro : Si _____ No _____

IV. Relación Huésped Intermediario.

16. ¿Usted trabaja con animales?

Si _____ No _____

¿Cuál?: _____

17. Tenencia de Ganado. Si _____ No _____

18. Tipo de Ganado.

Ovino _____ Bovino _____ Caprino _____ Porcino _____

19. El o los perros que Ud tiene son:

Mascota, animal de compañía _____ o para trabajo _____

Anexo 5. Díptico educativo sobre Hidatidosis

 <p>Proyecto Hidatidosis en la IV Región, Chile</p> <p>Laboratorio Microbiología y Parasitología Facultad de Medicina, Universidad Católica del Norte</p> <p>Si te quieres hacer el examen para saber si tienes o no hidatidosis comunícate con:</p> <p>Msc. Nicole Urriola T. M. Dagianna González Dra. Cecilia Bórquez</p> <p>Correo: nurriola@ucn.cl dgonzalezc@ucn.cl Fono: 51-209863 - 209827</p> <p>Febrero 2013</p>	 <p>Los perros ingieren el parásito cuando comen vísceras crudas de ganado infectado, principalmente cabras</p> <h1>HIDATIDOSIS</h1> <p>Enfermedad parasitaria producida por un helminto (<i>Echinococcus granulosus</i>), que está en el intestino de los perros y puede afectar a las personas</p>
---	--

Anexo 6. Validación Encuesta Hidatidosis Región de Coquimbo

Validación de Encuesta Rural – Urbano Hidatidosis

I. Resultados validación encuesta de Hidatidosis en población Rural.

1. Características de la población encuestada

Se tomaron 73 encuestas en una población rural de la región de Coquimbo, Chile. La población fluctuó entre los 1,0 y 76 años de edad, con una mediana de 25,50 años, percentil 25: 20 años y percentil 75: 58,50 años. Presentando variados niveles de escolaridad, desde educación básica incompleta a universitaria incompleta y técnico profesional.

2. Coeficiente alfa de Cronbach

Se estimó el índice alfa de Cronbach para los ítems de preguntas que permiten obtener respuestas acerca de la parasitosis, con el paquete estadístico SPSS 18.0

Al realizar un primer análisis con todas las preguntas el coeficiente alfa de Cronbach es de: 0,650 (tabla 1).

Reliability Statistics

Cronbach's Alpha	Cronbach's Alpha Based on Standardized Items	N of Items
,650	,5	30

Tabla1: Coeficiente alfa de Cronbach, utilizando la totalidad de las preguntas, población rural.

Item-Total Statistics

	Scale Mean if Item Deleted	Scale Variance if Item Deleted	Corrected Item-Total Correlation	Squared Multiple Correlation	Cronbach's Alpha if Item Deleted
sexorural	80,81	598,296	,125 .		,161
edad	40,32	130,302	,107 .		,365
ocupacion	77,56	521,555	,323 .		,067
escolarida d	78,59	574,912	,281 .		,130
p2	81,26	601,779	-,030 .		,165
p3	81,15	598,380	,193 .		,161
p4	82,14	597,898	,213 .		,160
p5	81,40	593,854	,265 .		,154
p6.1	80,60	601,743	-,015 .		,166
p6.2	81,18	600,843	-,028 .		,170
p7.1	80,59	598,801	,114 .		,161
p7.2	81,23	623,737	-,230 .		,206
p8.1	80,49	598,337	,153 .		,161
p8.2	81,86	608,342	-,187 .		,176
p9.1	80,85	612,852	-,443 .		,182
p10	82,00	590,306	,322 .		,149
p11.1	80,89	606,349	-,196 .		,172
p11.2	81,21	578,166	,337 .		,133
p12	80,74	594,890	,093 .		,158
p13.1	81,36	594,260	,189 .		,155
p13.2	77,89	534,904	,094 .		,133
p14	81,48	581,614	,471 .		,137
p15.1	81,29	594,430	,191 .		,156
p15.2	81,40	597,409	,108 .		,160
p16.1	80,45	601,668	-,010 .		,166
p16.2	82,04	592,096	,275 .		,152
p17	80,45	602,890	-,075 .		,167
p18	81,14	608,064	-,106 .		,181
p19	81,78	603,979	-,074 .		,170
p20	81,81	608,324	-,180 .		,176

Tabla 2. Estadísticos totales de cada uno de los ítemes o preguntas (p) analizadas, población rural.

En esta tabla se puede observar la correlación elemento-total corregida, es el coeficiente de homogeneidad corregido, si este es 0 o negativo nos indica que el ítem puede ser eliminado. Por ejemplo, si se elimina el ítem de edad, el coeficiente alfa de Cronbach cambiaría de 0,165 a 0,365 (tabla 2).

El análisis fue realizado nuevamente sacando aquellos ítemes que presentaron valores de correlación elemento-total corregida con valores negativos y se obtuvo un valor total de 0,738, el cual está dentro del rango aceptable (tabla 3 y 4)

Reliability Statistics		
Cronbach's Alpha	Cronbach's Alpha Based on Standardized Items	N of Items
,738	,773	4

Tabla 3: Coeficiente alfa de Cronbach luego de eliminar aquellos ítemes con valores de correlación elemento-total corregida negativos, población rural.

Item-Total Statistics					
	Scale Mean if Item Deleted	Scale Variance if Item Deleted	Corrected Item-Total Correlation	Squared Multiple Correlation	Cronbach's Alpha if Item Deleted
p11.2	3,44	4,916	,472	,261	,751
p12	2,97	4,666	,676	,530	,584
p13.1	3,59	6,745	,574	,463	,679
p15.1	3,52	6,920	,549	,313	,692

Tabla 4. Estadísticos totales de cada uno de los ítemes o preguntas (p) analizadas, población rural.

En la tabla 4 se observan aquellas preguntas que nos proporcionan información acerca de conductas de riesgo, que pueden llevar a una persona a contraer hidatidosis. La pregunta 11.2, nos proporciona la información de cuántos perros posee la persona, la cual se complementa con la pregunta 12, en donde se establece el tipo de contacto que existe entre la persona y el perro (estrecho, cercano o peridomiciliario). Esta información es complementa con la pregunta 13.1, la cual nos da la información de si los perros son desparasitados o no y la pregunta 15.1, nos dice si la persona lava o sus manos luego de acariciar el perro. Estas

dos últimas preguntas nos estarían proporcionando información acerca de las medidas de profilaxis que posee el encuestado, para no contraer la parasitosis.

Las preguntas 2 y 3, a pesar de no ser informativas en el análisis, serán conservadas en el cuestionario, estas preguntan la tenencia de agua potable y red de alcantarillado, las cuales concuerdan con la pregunta 4, sobre la tenencia de letrina (12% de la población encuestada). Estas preguntas nos proporcionan información sobre la posibilidad de contraer alguna parasitosis por deficiencia en la eliminación de desechos.

De las preguntas que presentaron una correlación elemento-total corregida con valor negativo, la pregunta 5 en el cual se pregunta si la persona se lava o no las manos antes de manipular los alimentos, tiene como respuestas dos alternativas si y no, a las cuales se puede agregar la alternativa "a veces". Esta pregunta no es conclusiva en relación a hidatidosis, pero si es un indicador de los niveles de higiene de una persona, elemento importante en la adquisición de una parasitosis, por lo que se conservará en el cuestionario.

El el Item II sobre antecedentes de parasitosis, las preguntas 6 y 7 serán conservadas, como información general e introductorias a la pregunta 8, con la cual se quiere saber si las personas saben qué es la hidatidosis, en esta oportunidad 57 personas no dieron respuesta o no saben, 14 personas dieron una respuesta medianamente correcta y solo 2 sabían que es la hidatidosis.

Las preguntas 9 y 10 serán conservadas debido a que con ellas, se quiere saber si esta persona alguna vez ha sido sometida a una cirugía de extracción de quistes hidatídicos.

La pregunta 14 también será conservada, debido a que nos entregará indicios si los perros son alimentados o no con vísceras de otros animales, especialmente de ganado caprino u ovino.

La pregunta 15.2 será eliminada del cuestionario, ya que no aporta información relevante y tampoco aumenta la consistencia interna del cuestionario.

A pesar de que en el análisis las preguntas 16, 17 y 18, no aportan a la consistencia del instrumento a utilizar, serán conservadas ya que, si se tiene ganado caprino u ovino y perro, puede aumentar la probabilidad para el humano de contraer la parasitosis.

Se sugiere la eliminación de las preguntas 19 y 20, ya que no aportan información relevante, el tipo de relación que tenga el perro con el ganado no influye en la posibilidad de alimentar a los perros con vísceras que contengan quistes hidatídicos o no.

Al igual que con las encuestas realizadas en población urbana, se sugiere incorporar otra pregunta, en la cual se indique si el perro es una mascota o es utilizado como elemento de trabajo, lo cual posiblemente puede modificar el tipo de alimentación y la relación que tenga con el dueño.

II. Resultados validación encuesta de Hidatidosis en población Urbana.

1. Características de la población encuestada

Se tomaron 73 encuestas en una población urbana de la región de Coquimbo, Chile. La población fluctuó entre los 16 y 72 años de edad, con una mediana de 21 años, percentil 25: 20 años, percentil 75: 23 años. Presentando variados niveles de escolaridad, desde educación media incompleta a universitaria completa.

2. Coeficiente alfa de Cronbach

Se estimó el índice alfa de Cronbach para los ítemes de preguntas que permiten obtener respuestas acerca de la parasitosis, con el paquete estadístico SPSS 18.0

Las preguntas, 2, 18 y 20 no presentan variación por lo tanto no fueron incluidas en el análisis, ya que el coeficiente alfa de Cronbach trabaja con las varianzas.

Al realizar un primer análisis con todas las preguntas el coeficiente alfa de Cronbach es de: 0,229, el que es bajo (tabla 1).

Reliability Statistics

Cronbach's Alpha	Cronbach's Alpha Based on Standardized Items	N of Items
,229	,380	27

Tabla 5: Coeficiente alfa de Cronbach, utilizando la totalidad de las preguntas, población urbana.

Item-Total Statistics

	Scale Mean if Item Deleted	Scale Variance if Item Deleted	Corrected Item-Total Correlation	Squared Multiple Correlation	Cronbach's Alpha if Item Deleted
sexurban o edad	54,09	242,083	-,071	.	,246
ocupacion escolarida d	31,39	101,848	,132	.	,257
p3	54,30	214,784	,462	.	,144
p4	53,67	236,154	,322	.	,213
p5	54,80	241,365	-,021	.	,230
p6.1	55,80	241,365	-,021	.	,230
p6.2	54,80	241,211	-,002	.	,230
p7.1	54,05	242,200	-,080	.	,233
p7.2	55,06	239,304	-,010	.	,234
p8.1	54,00	241,427	-,022	.	,231
p8.2	55,44	235,899	,089	.	,219
p9.1	54,12	241,467	-,025	.	,231
p9.2	55,19	242,270	-,063	.	,237
p10	54,24	243,706	-,170	.	,238
p11.1	55,69	238,437	,188	.	,221
p11.2	54,53	247,859	-,465	.	,252
p12	54,86	235,939	,183	.	,214
p13.1	54,48	231,832	,302	.	,200
p13.2	54,92	236,770	,209	.	,216
p14	51,14	158,554	,118	.	,198
p15.1	55,02	235,335	,296	.	,211
p15.2	54,90	234,424	,324	.	,208
p16.1	54,87	233,052	,369	.	,203
p16.2	53,98	241,615	-,035	.	,232
p17	55,78	240,897	,090	.	,228
p19	54,01	239,790	,061	.	,226
	55,79	241,453	-,031	.	,230

Tabla 6. Estadísticos totales de cada uno de los ítems o preguntas (p) analizadas, población urbana.

En esta tabla se puede observar la correlación elemento-total corregida, es el coeficiente de homogeneidad corregido, si este es 0 o negativo nos indica que el ítem puede ser eliminado. Por ejemplo, si se elimina el ítem de edad, el coeficiente alfa de Cronbach cambiaría de 0,132 a 0,257 (tabla 6).

El análisis fue realizado nuevamente sacando aquellos ítemes que presentaron valores de correlación elemento-total corregida con valores negativos y se obtuvo un valor total de 0,738, el cual está dentro del rango aceptable (tabla 7 y 8)

Reliability Statistics

Cronbach's Alpha	Cronbach's Alpha Based on Standardized Items	N of Items
,880	,887	5

Tabla 7: Coeficiente alfa de Cronbach luego de eliminar aquellos ítemes con valores de correlación elemento-total corregida negativos, población urbana.

Item-Total Statistics

	Scale Mean if Item Deleted	Scale Variance if Item Deleted	Corrected Item-Total Correlation	Squared Multiple Correlation	Cronbach's Alpha if Item Deleted
p11.2	4,05	6,270	,667	,479	,867
p12	3,67	5,524	,761	,605	,848
p13.1	4,11	6,883	,730	,553	,853
p15.1	4,09	6,936	,698	,648	,859
p15.2	4,06	6,542	,773	,702	,842

Tabla 8. Estadísticos totales de cada uno de los ítemes o preguntas (p) analizadas, población urbana.

Estos datos obtenidos de una población urbana, arrojaron resultados muy similares a los obtenidos por las encuestas en la población rural. Las preguntas informativas son las mismas, p11.2, p12, p13.1 y p15.1, las cuales nos indican si las personas toman medidas de profilaxis al momento de interactuar con los perros, ya sean mascotas o perros de trabajo.

La diferencia es la pregunta 15.2, que en este caso si es eliminada nos permitiría obtener un índice de Cronbach de 1.0, con los cual no nos estaría entregando información de relevancia, pregunta si la persona se lava o no las manos después de alimentar al perro, por lo cual será eliminada del cuestionario.

Al igual que en el análisis de cuestionarios rurales, se recomienda conservar preguntas excepto aquellas que no entregan información relevante como lo son p19, p20, debido a que el tipo de relación que tenga el perro con el ganado no influye en la posibilidad de alimentar a los perros con vísceras que contengan quistes hidatídicos o no.

Conclusión

Se realizarán cambios en la encuesta, los que serán:

Pregunta 5:

¿Usted se lava las manos antes de manipular alimentos? Si _____ No _____
Se agregará la alternativa “a veces”, ya que nos entrega información sobre medidas de higiene y profilaxis que posee una persona

Pregunta 15.2, será eliminada, ya que no aporta a la consistencia del instrumento utilizado

15. Lavado de manos:

2. Después de Acariciar al perro : SI _____ No _____
3. Después de Alimentar al perro: SI _____ No _____

Pregunta 19 y 20 serán eliminadas:

19. Tipo de Contacto Persona – Ganado
Estrecho _____ Solo trabajo _____

20. Tipo de Contacto Perro- Ganado
Estrecho _____ Cercano _____

Se sugiere incorporar otra pregunta, en la cual se indique si el perro es una mascota o es utilizado como elemento de trabajo, lo cual posiblemente puede modificar el tipo de alimentación y la relación que tenga con el dueño.

El perro es mascota Si _____ No _____ (Si la respuesta es “NO” siga con la pregunta N°)

Es animal de trabajo Si _____ No _____

11. BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. Abushhewa, M. H., Abushhiwa, M. H., Nolan, M. J., Jex, A. R., Campbell, B. E., Jabbar, A., & Gasser, R. B. (2010). Genetic classification of *Echinococcus granulosus* cysts from humans, cattle and camels in Libya using mutation scanning-based analysis of mitochondrial loci. *Molecular and cellular probes*, 24(6), 346–351. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2010.07.005>
2. Acha, P. y Szyfres, B. 2003. Helminthiasis. En: Acha, P. y Szyfres, B. (eds). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Volumen III: Parasitosis*. 3ª ed. Editorial OPS. Washington D. C., E.E. U.U. Pp 195-198
3. Acosta-Jamett, G., Cleaveland, S., Cunningham, A. A., Bronsvoort, B. M., & Craig, P. S. (2010). *Echinococcus granulosus* infection in humans and livestock in the Coquimbo region, north-central Chile. *Veterinary parasitology*, 169(1-2), 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.12.009>
4. Acosta-Jamett, G., Cleaveland, S., Bronsvoort, B. M., Cunningham, A. A., Bradshaw, H., & Craig, P. S. (2010). *Echinococcus granulosus* infection in domestic dogs in urban and rural areas of the Coquimbo region, north-central Chile. *Veterinary parasitology*, 169(1-2), 117–122. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.12.005>
5. Acosta-Jamett, G., Cleaveland, S., Bronsvoort, B.M. de C., Cunningham, A.A., Bradshaw, H., & Craig, P.S. (2015). *Echinococcus granulosus* infection in foxes in Coquimbo District, Chile. *Arch Med Vet* 47, 409-413. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2015000300021>.
6. Acosta-Jamett, G., Vargas, R., & Ernst, S. (2016). Caracterización epidemiológica de hidatidosis humana y animal en la Región de Los Ríos, 1999-2009 [Epidemiological description of human and animal hydatidosis in Los Ríos region, 1999- 2009]. *Revista chilena de infectología : organo oficial de la Sociedad*

- Chilena de Infectologia, 33(4), 419–427. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182016000400006>
7. Acosta-Jamett, G., Weitzel, T., Boufana, B., Adones, C., Bahamonde, A., Abarca, K., Craig, P. S., & Reiter-Owona, I. (2014). Prevalence and risk factors for echinococcal infection in a rural area of northern Chile: a household-based cross-sectional study. *PLoS neglected tropical diseases*, 8(8), e3090. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003090>
 8. Adwan, G., Adwan, K., Bdir, S., & Abuseir, S. (2013). Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* isolated from sheep in Palestine. *Experimental parasitology*, 134(2), 195–199. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.03.024>
 9. Ahmed, M. E., Eltom, K. H., Musa, N. O., Ali, I. A., Elamin, F. M., Grobusch, M. P., & Aradaib, I. E. (2013). First report on circulation of *Echinococcus ortleppi* in the one humped camel (*Camelus dromedaries*), Sudan. *BMC veterinary research*, 9, 127. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-127>
 10. Ali, V., Martinez, E., Duran, P., Seláez, M. A., Barragan, M., Nogales, P., Peña Y Lillo, A., Castañares, M., Claros, Y., Deplazes, P., & Alvarez Rojas, C. A. (2020). *Echinococcus granulosus sensu stricto*, *Echinococcus ortleppi*; and *E. intermedius* (G7) are present in Bolivia. *Parasitology*, 147(9), 949–956. <https://doi.org/10.1017/S0031182020000529>
 11. Álvarez, P., Castiglione, N., Moreno, S., & Bolpe, J. (2018). Hidatidosis en niños de la Provincia de Buenos Aires [Hydatid disease in children of Buenos Aires Province]. *Archivos argentinos de pediatría*, 116(3), e476–e481. <https://doi.org/10.5546/aap.2018.e476>
 12. Alvarez Rojas, C. A., Ebi, D., Gauci, C. G., Scheerlinck, J. P., Wassermann, M., Jenkins, D. J., Lightowers, M. W., & Romig, T. (2016). Microdiversity of *Echinococcus granulosus sensu stricto* in Australia. *Parasitology*, 143(8), 1026–1033.

13. Alvarez Rojas, C. A. (2016). Epidemiología molecular de *Echinococcus granulosus* en las Américas: implicaciones para el control y diagnóstico. *Revista Parasitología Latinoamericana*. 65(3), 5-19
14. Alvarez Rojas, C. A., Romig, T., & Lightowlers, M. W. (2014). *Echinococcus granulosus sensu lato* genotypes infecting humans--review of current knowledge. *International journal for parasitology*, 44(1), 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.08.008>
15. Alvarez Rojas, C. A., Ebi, D., Paredes, R., Acosta-Jamett, G., Urriola, N., Roa, J. C., Manterola, C., Cortes, S., Romig, T., Scheerlinck, J. P., & Lightowlers, M. W. (2017). High intraspecific variability of *Echinococcus granulosus sensu stricto* in Chile. *Parasitology international*, 66(2), 112–115. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2016.12.001>
16. Amaya, J. C., Moreno, N., Salmaso, N., Bazan, E., Ricoy, G., Córdoba, P., & Santillan, G. I. (2016). Estudio de infestación de caninos con *Echinococcus granulosus* en la provincia de La Rioja, Argentina [Study of infestation of dogs with *Echinococcus granulosus* in the province of La Rioja, Argentina]. *Revista Argentina de microbiología*, 48(1), 38–42. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.11.003>
17. Andresiuk, M. V., Gordo, F. P., Saarma, M., Elissondo, M. C., Taraborelli, A., Casalongue, C., Denegri, G., & Saarma, U. (2013). *Echinococcus granulosus* genotype G1 dominated in cattle and sheep during 2003-2006 in Buenos Aires province, an endemic area for cystic echinococcosis in Argentina. *Acta tropica*, 127(2), 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.04.008>
18. Andresiuk, M. V., Gordo, F. P., Saarma, M., Elissondo, M. C., Taraborelli, A., Casalongue, C., Denegri, G., & Saarma, U. (2013). *Echinococcus granulosus* genotype G1 dominated in cattle and sheep during 2003-2006 in Buenos Aires province, an endemic area for cystic echinococcosis in Argentina. *Acta tropica*, 127(2), 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.04.008>

19. Arrabal, J. P., Avila, H. G., Rivero, M. R., Camicia, F., Salas, M. M., Costa, S. A., Nocera, C. G., Rosenzvit, M. C., & Kamenetzky, L. (2017). *Echinococcus oligarthrus* in the subtropical region of Argentina: First integration of morphological and molecular analyses determines two distinct populations. *Veterinary parasitology*, 240, 60–67. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.03.019>
20. Ashford, R. y Crewe, W. 1998. *The Parasites of Homo sapiens*. Liverpool School of tropical medicine, Liverpool. 128p.
21. Balbinotti, H., Santos, G. B., Badaraco, J., Arend, A. C., Graichen, D. Â., Haag, K. L., & Zaha, A. (2012). *Echinococcus ortleppi* (G5) and *Echinococcus granulosus sensu stricto* (G1) loads in cattle from Southern Brazil. *Veterinary parasitology*, 188(3-4), 255–260. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.04.007>
22. Barazesh, A., Sarkari, B., Shahabi, S., Halidi, A. G., Ekici, A., Aydemir, S., & Mahami-Oskouei, M. (2020). Genetic Diversity of *Echinococcus granulosus* Isolated from Humans: A Comparative Study in Two Cystic Echinococcosis Endemic Areas, Turkey and Iran. *BioMed research international*, 2020, 3054195.
23. Bart, J. M., Abdukader, M., Zhang, Y. L., Lin, R. Y., Wang, Y. H., Nakao, M., Ito, A., Craig, P. S., Piarroux, R., Vuitton, D. A., & Wen, H. (2006a). Genotyping of human cystic echinococcosis in Xinjiang, PR China. *Parasitology*, 133(Pt 5), 571–579. <https://doi.org/10.1017/S0031182006>
24. Bart, J. M., Morariu, S., Knapp, J., Ilie, M. S., Pitulescu, M., Anghel, A., Cosoroaba, I., & Piarroux, R. (2006b). Genetic typing of *Echinococcus granulosus* in Romania. *Parasitology research*, 98(2), 130–137. <https://doi.org/10.1007/s00436-005-0015-9>
25. Beato, S., Parreira, R., Calado, M., & Grácio, M. A. (2010). Apparent dominance of the G1-G3 genetic cluster of *Echinococcus granulosus* strains in the central

- inland region of Portugal. *Parasitology international*, 59(4), 638–642.
<https://doi.org/10.1016/j.parint.2010.08.004>
26. Beato, S., Parreira, R., Roque, C., Gonçalves, M., Silva, L., Maurelli, M. P., Cringoli, G., & Grácio, M. A. (2013). *Echinococcus granulosus* in Portugal: the first report of the G7 genotype in cattle. *Veterinary parasitology*, 198(1-2), 235–239.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.08.021>
 27. Bingham, G. M., Budke, C. M., Larrieu, E., Del Carpio, M., Mujica, G., Slater, M. R., & Mognillansky, S. (2014). A community-based study to examine the epidemiology of human cystic echinococcosis in Rio Negro Province, Argentina. *Acta tropica*, 136, 81–88. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.04.005>
 28. Blaise, J., & Raccurt, C. P. (2007). Distomatose hépatobiliaire et échinococcose-hydatidose des animaux domestiques en Haïti [Hepatobiliary fascioliasis and echinococcosis/hydatidosis in domestic animals in Haiti]. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 26(3), 741–746.i
 29. Boufana, B., Lahmar, S., Rebaï, W., Ben Safta, Z., Jebabli, L., Ammar, A., Kachti, M., Aouadi, S., & Craig, P. S. (2014). Genetic variability and haplotypes of *Echinococcus* isolates from Tunisia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 108(11), 706–714.
<https://doi.org/10.1093/trstmh/tru138>
 30. Boufana, B., Lett, W. S., Lahmar, S., Buishi, I., Bodell, A. J., Varcasia, A., Casulli, A., Beeching, N. J., Campbell, F., Terlizzo, M., McManus, D. P., & Craig, P. S. (2015). *Echinococcus equinus* and *Echinococcus granulosus sensu stricto* from the United Kingdom: genetic diversity and haplotypic variation. *International journal for parasitology*, 45(2-3), 161–166.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.10.005>
 31. Boufana, B., Qiu, J., Chen, X., Budke, C. M., Campos-Ponce, M., & Craig, P. S. (2013). First report of *Echinococcus shiquicus* in dogs from eastern Qinghai-Tibet

- plateau region, China. *Acta tropica*, 127(1), 21–24.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.02.019>
32. Boufana, B., Lett, W., Lahmar, S., Griffiths, A., Jenkins, D. J., Buishi, I., Engliez, S. A., Alrefadi, M. A., Eljaki, A. A., Elmestiri, F. M., Reyes, M. M., Pointing, S., Al-Hindi, A., Torgerson, P. R., Okamoto, M., & Craig, P. S. (2015). Canine echinococcosis: genetic diversity of *Echinococcus granulosus sensu stricto* (s.s.) from definitive hosts. *Journal of helminthology*, 89(6), 689–698.
<https://doi.org/10.1017/S0022149X15000395>
 33. Bowles, J., Blair, D., & McManus, D. P. (1992). Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Molecular and biochemical parasitology*, 54(2), 165–173. [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(92\)90109-w](https://doi.org/10.1016/0166-6851(92)90109-w)
 34. Bowles, J., & McManus, D. P. (1993). Rapid discrimination of *Echinococcus* species and strains using a polymerase chain reaction-based RFLP method. *Molecular and biochemical parasitology*, 57(2), 231–239.
[https://doi.org/10.1016/0166-6851\(93\)90199-8](https://doi.org/10.1016/0166-6851(93)90199-8)
 35. Brenes Madrigal, R. R., Sousa, O. E., Bonilla, M. A., & Achit, S. M. (1977). Primer caso de hidatidosis hepática humana en Costa Rica [1st case of human hepatic hydatidosis in Costa Rica]. *Revista cubana de medicina tropical*, 29(1), 5–8.
 36. Brunetti, E., Kern, P., Vuitton, D. A., & Writing Panel for the WHO-IWGE (2010). Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta tropica*, 114(1), 1–16.
<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2009.11.001>
 37. Budke, C. M., Deplazes, P., & Torgerson, P. R. (2006). Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. *Emerging infectious diseases*, 12(2), 296–303.
<https://doi.org/10.3201/eid1202.050499>
 38. Busi, M., Snábel, V., Varcasia, A., Garippa, G., Perrone, V., De Liberato, C., & D'Amelio, S. (2007). Genetic variation within and between G1 and G3 genotypes

- of *Echinococcus granulosus* in Italy revealed by multilocus DNA sequencing. *Veterinary parasitology*, 150(1-2), 75–83. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.09.003>
39. Cabrera, M., Canova, S., Rosenzvit, M., & Guarnera, E. (2002). Identification of *Echinococcus granulosus* eggs. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 44(1), 29–34. [https://doi.org/10.1016/s0732-8893\(02\)00414-5](https://doi.org/10.1016/s0732-8893(02)00414-5)
 40. Carmena, D., Sánchez-Serrano, L. P., & Barbero-Martínez, I. (2008). *Echinococcus granulosus* infection in Spain. *Zoonoses and public health*, 55(3), 156–165. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2007.01100.x>
 41. Carmena, D., & Cardona, G. A. (2013). Canine echinococcosis: global epidemiology and genotypic diversity. *Acta tropica*, 128(3), 441–460. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.08.002>
 42. Capuano, F., Rinaldi, L., Maurelli, M. P., Perugini, A. G., Veneziano, V., Garippa, G., Genchi, C., Musella, V., & Cringoli, G. (2006). Cystic echinococcosis in water buffaloes: epidemiological survey and molecular evidence of ovine (G1) and buffalo (G3) strains. *Veterinary parasitology*, 137(3-4), 262–268. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.01.016>
 43. Cardona, G. A., & Carmena, D. (2013). A review of the global prevalence, molecular epidemiology and economics of cystic echinococcosis in production animals. *Veterinary parasitology*, 192(1-3), 10–32. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.027>
 44. Casulli A. (2020). Recognising the substantial burden of neglected pandemics cystic and alveolar echinococcosis. *The Lancet. Global health*, 8(4), e470–e471. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30066-8](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30066-8)
 45. Casulli, A., Interisano, M., Sreter, T., Chitimia, L., Kirkova, Z., La Rosa, G., & Pozio, E. (2012). Genetic variability of *Echinococcus granulosus sensu stricto* in Europe inferred by mitochondrial DNA sequences. *Infection, genetics and evolution* :

- journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases, 12(2), 377–383. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.12.014>
46. Chebli, H., Laamrani El Idrissi, A., Benazzouz, M., Lmimouni, B. E., Nhammi, H., Elabandouni, M., Youbi, M., Afifi, R., Tahiri, S., Essayd El Feydi, A., Settaf, A., Tinelli, C., De Silvestri, A., Bouhout, S., Abela-Ridder, B., Magnino, S., Brunetti, E., Filice, C., & Tamarozzi, F. (2017). Human cystic echinococcosis in Morocco: Ultrasound screening in the Mid Atlas through an Italian-Moroccan partnership. *PLoS neglected tropical diseases*, 11(3), e0005384. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005384>
 47. Colli, C., & Williams, J. (1972). Influence of Temperature on the Infectivity of Eggs of *Echinococcus granulosus* in Laboratory Rodents. *The Journal of Parasitology*, 58(3), 422-426. doi:10.2307/3278181
 48. Constantine, C. C., Bennet-Jenkins, E. M., Lymbery, A. J., Jenkins, D. J., Behm, C. A., & Thompson, R. C. (1998). Factors influencing the development and carbohydrate metabolism of *Echinococcus granulosus* in dogs. *The Journal of parasitology*, 84(5), 873–881.
 49. Cordero del Campiño, M. 2007. Notas históricas de la equinococosis/hidatidosis Parte I. Jornada científica de la Asociación Española de Hidatidología. León, 19-X-2007, Universidad de León.
 50. Corrêa, F., Stoore, C., Horlacher, P., Jiménez, M., Hidalgo, C., Alvarez Rojas, C. A., Figueiredo Barros, G., Bunselmeyer Ferreira, H., Hernández, M., Cabrera, G., & Paredes, R. (2018). First description of *Echinococcus ortleppi* and cystic echinococcosis infection status in Chile. *PloS one*, 13(5), e0197620. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197620>
 51. Cortés, S., & Valle, C. (2010). Hidatidosis humana: generalidades y situación epidemiológica en Chile según egresos hospitalarios y notificación obligatoria entre los años 2001 y 2005 [Human hydatidosis: general aspects and epidemiological situation in Chile according to hospital discharge and

- mandatory reporting from 2001 to 2005]. *Revista chilena de infectologia : organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectologia*, 27(4), 329–335. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182010000500008>
52. Cox F. E. (2002). History of human parasitology. *Clinical microbiology reviews*, 15(4), 595–612. <https://doi.org/10.1128/cmr.15.4.595-612.2002>
 53. Craig, P. S., Hegglin, D., Lightowlers, M. W., Torgerson, P. R., & Wang, Q. (2017). Echinococcosis: Control and Prevention. *Advances in parasitology*, 96, 55–158. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.09.002>
 54. Craig, P. S., McManus, D. P., Lightowlers, M. W., Chabalgoity, J. A., Garcia, H. H., Gavidia, C. M., Gilman, R. H., Gonzalez, A. E., Lorca, M., Naquira, C., Nieto, A., & Schantz, P. M. (2007). Prevention and control of cystic echinococcosis. *The Lancet. Infectious diseases*, 7(6), 385–394. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70134-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70134-2)
 55. Craig, P. S., Macpherson, C. N., Watson-Jones, D. L., & Nelson, G. S. (1988). Immunodetection of Echinococcus eggs from naturally infected dogs and from environmental contamination sites in settlements in Turkana, Kenya. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 82(2), 268–274. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(88\)90445-2](https://doi.org/10.1016/0035-9203(88)90445-2)
 56. Craig, P. S., & Larrieu, E. (2006). Control of cystic echinococcosis/hydatidosis: 1863-2002. *Advances in parasitology*, 61, 443–508. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(05\)61011-1](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(05)61011-1)
 57. Craig, P. S., Zeyhle, E., & Romig, T. (1986). Hydatid disease: research and control in Turkana. II. The role of immunological techniques for the diagnosis of hydatid disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 80(2), 183–192. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(86\)90003-9](https://doi.org/10.1016/0035-9203(86)90003-9)
 58. Craig, P. S., Woods, M. L., Boufana, B., O'Loughlin, B., Gimpel, J., San Lett, W., & McManus, D. P. (2012). Cystic echinococcosis in a fox-hound hunt worker, UK.

- Pathogens and global health, 106(6), 373–375.
<https://doi.org/10.1179/2047773212Y.0000000053>
59. Cucher, M. A., Macchiaroli, N., Baldi, G., Camicia, F., Prada, L., Maldonado, L., Avila, H. G., Fox, A., Gutiérrez, A., Negro, P., López, R., Jensen, O., Rosenzvit, M., & Kamenetzky, L. (2016). Cystic echinococcosis in South America: systematic review of species and genotypes of *Echinococcus granulosus sensu lato* in humans and natural domestic hosts. *Tropical medicine & international health : TM & IH*, 21(2), 166–175. <https://doi.org/10.1111/tmi.12647>
 60. D'Alessandro, A., & Rausch, R. L. (2008). New aspects of neotropical polycystic (*Echinococcus vogeli*) and unicystic (*Echinococcus oligarthrus*) echinococcosis. *Clinical microbiology reviews*, 21(2), 380–401. <https://doi.org/10.1128/CMR.00050-07>
 61. Dabaghzadeh, H., Bairami, A., Kia, E. B., Aryaeipour, M., & Rokni, M. B. (2018). Seroprevalence of Human Cystic Echinococcosis in Alborz Province, Central Iran in 2015. *Iranian journal of public health*, 47(4), 561–566.
 62. Debiaggi, M. F., Soriano, S. V., Pierangeli, N. B., Lazzarini, L. E., Pianciola, L. A., Mazzeo, M. L., Moguillansky, S., & Farjat, J. (2017). Genetic characterization of human hydatid cysts shows coinfection by *Echinococcus canadensis* G7 and *Echinococcus granulosus sensu stricto* G1 in Argentina. *Parasitology research*, 116(9), 2599–2604. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5555-2>
 63. Deplazes, P., Rinaldi, L., Alvarez Rojas, C. A., Torgerson, P. R., Harandi, M. F., Romig, T., Antolova, D., Schurer, J. M., Lahmar, S., Cringoli, G., Magambo, J., Thompson, R. C., & Jenkins, E. J. (2017). Global Distribution of Alveolar and Cystic Echinococcosis. *Advances in parasitology*, 95, 315–493. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.11.001>
 64. das Neves, L. B., Teixeira, P. E., Silva, S., de Oliveira, F. B., Garcia, D. D., de Almeida, F. B., Rodrigues-Silva, R., & Machado-Silva, J. R. (2017). First molecular identification of *Echinococcus vogeli* and *Echinococcus granulosus* (sensu

- stricto) G1 revealed in feces of domestic dogs (*Canis familiaris*) from Acre, Brazil. *Parasites & vectors*, 10(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1952-0>
65. de la Rue M. L. (2008). Cystic echinococcosis in southern Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 50(1), 53–56. <https://doi.org/10.1590/s0036-46652008000100012>
66. de la Rue, M. L., Dinkel, A., Mackenstedt, U., & Romig, T. (2006). New data on *Echinococcus* spp. in Southern Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 48(2), 103–104. <https://doi.org/10.1590/s0036-46652006000200009>
67. de la Rue, M. L., Takano, K., Brochado, J. F., Costa, C. V., Soares, A. G., Yamano, K., Yagi, K., Katoh, Y., & Takahashi, K. (2011). Infection of humans and animals with *Echinococcus granulosus* (G1 and G3 strains) and *E. ortleppi* in Southern Brazil. *Veterinary parasitology*, 177(1-2), 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.11.018>
68. Dévé, E. (1926): Evolution vésiculaire du scolex échinococcique obtenue in vitro. La culture artificielle du kyste hydatique. *C. R. Soc. Biol Paris* 94: 440-44
69. Dew, H. R. 1928. *Hydatid disease: its pathology, diagnosis and treatment*. Sydney, Australia.
70. Dinkel, A., Njoroge, E. M., Zimmermann, A., Wälz, M., Zeyhle, E., Elmahdi, I. E., Mackenstedt, U., & Romig, T. (2004). A PCR system for detection of species and genotypes of the *Echinococcus granulosus*-complex, with reference to the epidemiological situation in eastern Africa. *International journal for parasitology*, 34(5), 645–653. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2003.12.013>
71. Dorjsuren T, Ganzorig S, Dagvasumberel M, Tsend-Ayush A, Ganbold C, et al. (2020) Prevalence and risk factors associated with human cystic echinococcosis in rural areas, Mongolia. *PLOS ONE* 15(7): e0235399. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235399>

72. Ebrahimipour, M., Budke, C. M., & Harandi, M. F. (2020). Control of Cystic Echinococcosis in Iran: Where Do We Stand?. *Trends in parasitology*, 36(7), 578–581. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2020.04.007>
73. Eckert, J., Conraths, F. J., & Tackmann, K. (2000). Echinococcosis: an emerging or re-emerging zoonosis?. *International journal for parasitology*, 30(12-13), 1283–1294. [https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(00\)00130-2](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(00)00130-2)
74. Eckert, J. Gemmell, M. A., Mislin, F. & Pawlowski Z. S. (2001). WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: a Public Health Problem of Global Concern. <http://www.oie.int>. ISBN 92-9044-522-X. 286 pp. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42427>
75. Eckert, J., & Thompson, R. C. (2017). Historical Aspects of Echinococcosis. *Advances in parasitology*, 95, 1–64. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.07.003>
76. Escalante, G.E., Espinosa Gómez, I., & González, R. Y. (2012). Hidatidosis pulmonar en niño. Presentación de un caso. *MediSur*. 10: 310-313.
77. Espinoza, S., Salas, A. M., Vargas, A., Freire, V., Diaz, E., Sánchez, G., & Venegas, J. (2014). Detection of the G3 genotype of *Echinococcus granulosus* from hydatid cysts of Chilean cattle using COX1 and ND1 mitochondrial markers. *Parasitology research*, 113(1), 139–147. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3636-4>
78. Farias, L. N., Malgor, R., Cassaravilla, C., Bragança, C., & de la Rue, M. L. (2004). Echinococcosis in southern Brazil: efforts toward implementation of a control program in Santana do Livramento, Rio Grande do Sul. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 46(3), 153–156. <https://doi.org/10.1590/s0036-46652004000300006>
79. Federer, K., Armua-Fernandez, M. T., Gori, F., Hoby, S., Wenker, C., & Deplazes, P. (2016). Detection of taeniid (*Taenia* spp., *Echinococcus* spp.) eggs contaminating vegetables and fruits sold in European markets and the risk for metacestode infections in captive primates. *International journal for*

- parasitology. *Parasites and wildlife*, 5(3), 249–253.
<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2016.07.002>
80. Flisser, A., Maravilla, P., Mata-Miranda, P. & Martinez-Hernandez, F. (2015). Current Topics in Echinococcosis, Chapter 2: Echinococcosis in Mexico — A Story Worth Sharing. <http://dx.doi.org/10.5772/60868>
 81. Foreyt, W. J., Drew, M. L., Atkinson, M., & McCauley, D. (2009). Echinococcus granulosus in gray wolves and ungulates in Idaho and Montana, USA. *Journal of wildlife diseases*, 45(4), 1208–1212. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-45.4.1208>
 82. Gajardo, J. I., & Castillo, M. J. (2017). Factores de riesgo para hidatidosis en estudiantes de enseñanza media de la comuna de Punitaqui, Chile [Risk factors for hydatid disease in high school students in the district of Punitaqui, Chile]. *Revista chilena de infectologia : organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectologia*, 34(3), 227–234. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182017000300004>
 83. Galeh, T. M., Spotin, A., Mahami-Oskouei, M., Carmena, D., Rahimi, M. T., Barac, A., Ghoyounchi, R., Berahmat, R., & Ahmadpour, E. (2018). The seroprevalence rate and population genetic structure of human cystic echinococcosis in the Middle East: A systematic review and meta-analysis. *International journal of surgery (London, England)*, 51, 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.ijisu.2018.01.025>
 84. Gavidia, C. M., Gonzalez, A. E., Zhang, W., McManus, D. P., Lopera, L., Ninaquispe, B., Garcia, H. H., Rodríguez, S., Verastegui, M., Calderon, C., Pan, W. K., & Gilman, R. H. (2008). Diagnosis of cystic echinococcosis, central Peruvian Highlands. *Emerging infectious diseases*, 14(2), 260–266. <https://doi.org/10.3201/eid1402.061101>
 85. Gemmell M. A. (1990). Australasian contributions to an understanding of the epidemiology and control of hydatid disease caused by Echinococcus granulosus--past, present and future. *International journal for parasitology*, 20(4), 431–456. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(90\)90192-p](https://doi.org/10.1016/0020-7519(90)90192-p)

86. Gemmell, M. A., Lawson, J. R., & Roberts, M. G. (1986). Population dynamics in echinococcosis and cysticercosis: biological parameters of *Echinococcus granulosus* in dogs and sheep. *Parasitology*, 92 (Pt 3), 599–620. <https://doi.org/10.1017/s0031182000065483>
87. Gemmell, M. A., Lawson, J. R., & Roberts, M. G. (1987). Population dynamics in echinococcosis and cysticercosis: evaluation of the biological parameters of *Taenia hydatigena* and *T. ovis* and comparison with those of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology*, 94 (Pt 1), 161–180. <https://doi.org/10.1017/s0031182000053543>
88. González, L. M., Daniel-Mwambete, K., Montero, E., Rosenzvit, M. C., McManus, D. P., Gárate, T., & Cuesta-Bandera, C. (2002). Further molecular discrimination of Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. *Experimental parasitology*, 102(1), 46–56. [https://doi.org/10.1016/s0014-4894\(02\)00146-7](https://doi.org/10.1016/s0014-4894(02)00146-7)
89. Gottstein B. (1992). Molecular and immunological diagnosis of echinococcosis. *Clinical microbiology reviews*, 5(3), 248–261. <https://doi.org/10.1128/cmr.5.3.248>
90. Grenouillet, F., Umhang, G., Arbez-Gindre, F., Manton, G., Delabrousse, E., Millon, L., & Boué, F. (2014). *Echinococcus ortleppi* infections in humans and cattle, France. *Emerging infectious diseases*, 20(12), 2100–2102. <https://doi.org/10.3201/eid2012.140641>
91. Grocholski, S., Agabawi, S., Kadkhoda, K., & Hammond, G. (2019). *Echinococcus granulosus* hydatid cyst in rural Manitoba, Canada: Case report and review of the literature. *IDCases*, 18, e00632. <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2019.e00632>
92. Grove, D. I., 1990. *A History of Human Helminthology*. CAB International, Wallingford, Oxford.
93. Guerra, D., Armua-Fernandez, M. T., Silva, M., Bravo, I., Santos, N., Deplazes, P., & Carvalho, L. M. (2012). Taeniid species of the Iberian wolf (*Canis lupus signatus*) in Portugal with special focus on *Echinococcus* spp. *International*

- journal for parasitology. *Parasites and wildlife*, 2, 50–53.
<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2012.11.007>
94. Gutiérrez, M.J. & Herbosa, R. (2008). Hidatidosis. Una zoonosis de distribución mundial. *Offarm*, 27(9), 88-94
 95. Gutiérrez, M. P., Ramírez, I., Zarzosa, M., Fernández, J. M., Dueñas, A. I., Mantecón, M. A., Almaraz, A., Rodríguez-Recio, M. J., Marcos, H., Alonso, P., Bratos, M. A., Orduña, A., Rodríguez-Torres, A., & Grupo de Epidemiólogos del Servicio de Epidemiología de la Junta de Castilla y León (2003). Seroprevalencia de infección por *Echinococcus granulosus* en la población de Castilla y León [Seroprevalence of infection due to *Echinococcus granulosus* in the population of Castilla and León (Spain)]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 21(10), 563–567. [https://doi.org/10.1016/s0213-005x\(03\)73010-9](https://doi.org/10.1016/s0213-005x(03)73010-9)
 96. Haag, K. L., Ayala, F. J., Kamenetzky, L., Gutierrez, A. M., & Rosenzvit, M. (2004). Livestock trade history, geography, and parasite strains: the mitochondrial genetic structure of *Echinococcus granulosus* in Argentina. *The Journal of parasitology*, 90(2), 234–239. <https://doi.org/10.1645/GE-173R>
 97. Haag, K. L., Marin, P. B., Graichen, D. A., & De La Rue, M. L. (2011). Reappraising the theme of breeding systems in *Echinococcus*: is outcrossing a rare phenomenon?. *Parasitology*, 138(3), 298–302. <https://doi.org/10.1017/S0031182010001307>
 98. Han, X., Jian, Y., Zhang, X., Ma, L., Zhu, W., Cai, Q., Wu, S., Wang, X., & Shi, B. (2019). Genetic characterization of *Echinococcus* isolates from various intermediate hosts in the Qinghai-Tibetan Plateau Area, China. *Parasitology*, 146(10), 1305–1312. <https://doi.org/10.1017/S0031182019000544>
 99. Halsby, K. D., Walsh, A. L., Smith, R., Said, B., Kirkbride, H., Smyth, B., Browning, L., Larkin, L., & Morgan, D. (2014). The health burden of orphan zoonotic disease in the United Kingdom, 2005-2009. *Zoonoses and public health*, 61(1), 39–47. <https://doi.org/10.1111/zph.12040>

100. Hassan, Z. I., Meerkhan, A. A., Boufana, B., Hama, A. A., Ahmed, B. D., Mero, W., Orsten, S., Interisano, M., Pozio, E., & Casulli, A. (2017). Two haplotype clusters of *Echinococcus granulosus sensu stricto* in northern Iraq (Kurdistan region) support the hypothesis of a parasite cradle in the Middle East. *Acta tropica*, 172, 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.04.028>
101. Heath D. D. (1971). The migration of oncospheres of *Taenia pisiformis*, *T. serialis* and *Echinococcus granulosus* within the intermediate host. *International journal for parasitology*, 1(2), 145–152. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(71\)90008-7](https://doi.org/10.1016/0020-7519(71)90008-7)
102. Hernández-González, A., Muro, A., Barrera, I., Ramos, G., Orduña, A., & Siles-Lucas, M. (2008). Usefulness of four different *Echinococcus granulosus* recombinant antigens for serodiagnosis of unilocular hydatid disease (UHD) and postsurgical follow-up of patients treated for UHD. *Clinical and vaccine immunology : CVI*, 15(1), 147–153. <https://doi.org/10.1128/CVI.00363-07>
103. Herrador, Z., Siles-Lucas, M., Aparicio, Lopez-Velez, R., Gherasim, A., Garate y T., Benito, A. (2016). Cystic Echinococcosis Epidemiology in Spain Based on Hospitalization Records, 1997 - 2012. *PLoS Negl Trop Dis*. 22;10(8)e0004942. doi: 10.1371/journal.pntd.0004942.eCollection 2016 Aug.
104. Hewitson, J. P., Grainger, J. R., & Maizels, R. M. (2009). Helminth immunoregulation: the role of parasite secreted proteins in modulating host immunity. *Molecular and biochemical parasitology*, 167(1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2009.04.008>
105. Hidalgo, C., García, M. P., Stoore, C., Ramírez, J. P., Monteiro, K. M., Hellman, U., Zaha, A., Ferreira, H. B., Galanti, N., Landerer, E., & Paredes, R. (2016). Proteomics analysis of *Echinococcus granulosus* protoscolex stage. *Veterinary parasitology*, 218, 43–45. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.12.026>
106. Hidalgo, C., Stoore, C., Pereira, I., Paredes, R., & Alvarez Rojas, C. A. (2020). Multiple haplotypes of *Echinococcus granulosus sensu stricto* in single naturally

- infected intermediate hosts. *Parasitology research*, 119(2), 763–770.
<https://doi.org/10.1007/s00436-019-06578-2>
107. Himsawi, N., Hijjawi, N., Al-Radaideh, A., & Al-Tamimi, M. (2019). Seroprevalence of cystic echinococcosis in a high-risk area (Al-Mafraq Governorate) in Jordan, using indirect hemagglutination test. *Parasite epidemiology and control*, 5, e00104.
<https://doi.org/10.1016/j.parepi.2019.e00104>
108. Himsworth, C. G., Jenkins, E., Hill, J. E., Nsungu, M., Ndao, M., Andrew Thompson, R. C., Covacin, C., Ash, A., Wagner, B. A., McConnell, A., Leighton, F. A., & Skinner, S. (2010a). Emergence of sylvatic *Echinococcus granulosus* as a parasitic zoonosis of public health concern in an indigenous community in Canada. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 82(4), 643–645.
<https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.09-0686>
109. Himsworth, C. G., Skinner, S., Chaban, B., Jenkins, E., Wagner, B. A., Harms, N. J., Leighton, F. A., Thompson, R. C., & Hill, J. E. (2010b). Multiple zoonotic pathogens identified in canine feces collected from a remote Canadian indigenous community. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 83(2), 338–341. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2010.10-0137>
110. Holcman, B., & Heath, D. D. (1997). The early stages of *Echinococcus granulosus* development. *Acta tropica*, 64(1-2), 5–17. [https://doi.org/10.1016/s0001-706x\(96\)00636-5](https://doi.org/10.1016/s0001-706x(96)00636-5)
111. Horton R. J. (1997). Albendazole in treatment of human cystic echinococcosis: 12 years of experience. *Acta tropica*, 64(1-2), 79–93.
[https://doi.org/10.1016/s0001-706x\(96\)00640-7](https://doi.org/10.1016/s0001-706x(96)00640-7)
112. Horton J. (2003). Albendazole for the treatment of echinococcosis. *Fundamental & clinical pharmacology*, 17(2), 205–212.
<https://doi.org/10.1046/j.1472-8206.2003.00171.x>

113. Hosmer, D.W., Lemeshow, S. (2000). Applied Logistic Regression, second ed. John Wiley & Sons, New York, NY.
114. Hussain, A., Maqbool, A., Tanveer, A., & Anees, A. (2005). Studies on morphology of *Echinococcus granulosus* from different animal – dog origin. Punjab Univ. J. Zool., 20 (2), 151-157.
115. Instituto Nacional de estadísticas (INE), Chile (2007). Productos Estadísticos. <https://www.ine.cl/estadisticas/economia/agricultura-agroindustria-y-pesca/censos-agropecuarios> (acceso marzo 2020)
116. Instituto Nacional de Estadísticas (INE), Chile. (2019). Análisis del Censo de Población y Vivienda 2017. <https://regiones.ine.cl/documentos/default-source/region-iv/estadisticas-r4/análisis-demográficos/analisis-censo-2017---región-de-coquimbo.pdf> (acceso junio 2020)
117. Irabedra, P., & Salvatella, R. (2010). El Proyecto Subregional Cono Sur de Control y Vigilancia de la Hidatidosis [The Southern Cone Sub-Regional Project on Cystic Echinococcosis Control and Surveillance]. Revista peruana de medicina experimental y salud pública, 27(4), 598–603. <https://doi.org/10.1590/s1726-46342010000400017>
118. Ito, A., & Budke, C. M. (2015). The present situation of echinococcoses in Mongolia. Journal of helminthology, 89(6), 680–688. <https://doi.org/10.1017/S0022149X15000620>
119. Jabbar, A., Swiderski, Z., Mlocicki, D., Beveridge, I., & Lightowers, M. W. (2010). The ultrastructure of taeniid cestode oncospheres and localization of host-protective antigens. Parasitology, 137(3), 521–535. <https://doi.org/10.1017/S0031182009991260>
120. Jarovsky, D., Brito, C., Monteiro, D. U., Azevedo, M. I., Botton, S. A., Mimica, M. J., Arnoni, M. V., Sáfyadi, M., Berezin, E. N., Salgado Filho, H., Almeida, F. J., & Rue, M. L. (2020). Imported hepatopulmonary echinococcosis: first report of *Echinococcus granulosus sensu stricto* (G1) in Bolivia. Revista da Sociedade

- Brasileira de Medicina Tropical, 53, e20180046. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0046-2018>
121. Jenkins D. J. (2006). Echinococcus granulosus in Australia, widespread and doing well!. Parasitology international, 55 Suppl, S203–S206. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2005.11.031>
 122. Jenkins, D. J., Allen, L., & Goullet, M. (2008). Encroachment of Echinococcus granulosus into urban areas in eastern Queensland, Australia. Australian veterinary journal, 86(8), 294–300. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2008.00327.x>
 123. Jenkins, D. J., & Macpherson, C. N. (2003). Transmission ecology of Echinococcus in wild-life in Australia and Africa. Parasitology, 127 Suppl, S63–S72. <https://doi.org/10.1017/s0031182003003871>
 124. Jenkins, D. J., & Morris, B. (2003). Echinococcus granulosus in wildlife in and around the Kosciuszko National Park, south-eastern Australia. Australian veterinary journal, 81(1-2), 81–85. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2003.tb11440.x>
 125. Jenkins, D. J., Williams, T., Raidal, S., Gauci, C., & Lightowers, M. W. (2019). The first report of hydatid disease (Echinococcus granulosus) in an Australian water buffalo (Bubalus bubalis). International journal for parasitology. Parasites and wildlife, 8, 256–259. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2019.03.011>
 126. Jercic, M. I., Santillan, G., Elola, S., Quispe Paredes, W., Conza Blanco, L. B., Morel, N., Villegas, R., Molina Flores, B., Gavidia, C. M., Cabrera, M., Dos Santos, A. G., Sanchez-Vazquez, M. J., Maxwell, M. J., Vigilato, M. A., Larrieu, E., & Del Rio Vilas, V. J. (2019). First inter-laboratory comparison of Echinococcus granulosus sensu lato diagnosis in Latin America. Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health, 43, e89. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2019.89>

127. Kamenetzky, L., Canova, S. G., Guarnera, E. A., & Rosenzvit, M. C. (2000). Echinococcus granulosus: DNA extraction from germinal layers allows strain determination in fertile and nonfertile hydatid cysts. *Experimental parasitology*, 95(2), 122–127. <https://doi.org/10.1006/expr.2000.4518>
128. Kamenetzky, L., Gutierrez, A. M., Canova, S. G., Haag, K. L., Guarnera, E. A., Parra, A., García, G. E., & Rosenzvit, M. C. (2002). Several strains of Echinococcus granulosus infect livestock and humans in Argentina. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 2(2), 129–136. [https://doi.org/10.1016/s1567-1348\(02\)00131-4](https://doi.org/10.1016/s1567-1348(02)00131-4)
129. Kinkar, L., Laurimäe, T., Simsek, S., Balkaya, I., Casulli, A., Manfredi, M. T., Ponce-Gordo, F., Varcasia, A., Lavikainen, A., González, L. M., Rehbein, S., VAN DER Giessen, J., Sprong, H., & Saarma, U. (2016). High-resolution phylogeography of zoonotic tapeworm Echinococcus granulosus sensu stricto genotype G1 with an emphasis on its distribution in Turkey, Italy and Spain. *Parasitology*, 143(13), 1790–1801. <https://doi.org/10.1017/S0031182016001530>
130. Kinkar, L., Laurimäe, T., Sharbatkhori, M., Mirhendi, H., Kia, E. B., Ponce-Gordo, F., Andresiuk, V., Simsek, S., Lavikainen, A., Irshadullah, M., Umhang, G., Oudni-M'rad, M., Acosta-Jamett, G., Rehbein, S., & Saarma, U. (2017). New mitogenome and nuclear evidence on the phylogeny and taxonomy of the highly zoonotic tapeworm Echinococcus granulosus sensu stricto. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 52, 52–58. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.04.023>
131. Kinkar, L., Laurimäe, T., Acosta-Jamett, G., Andresiuk, V., Balkaya, I., Casulli, A., Gasser, R. B., González, L. M., Haag, K. L., Zait, H., Irshadullah, M., Jabbar, A., Jenkins, D. J., Manfredi, M. T., Mirhendi, H., M'rad, S., Rostami-Nejad, M., Oudni-M'rad, M., Pierangeli, N. B., Ponce-Gordo, F., & Saarma, U. (2018c). Distinguishing Echinococcus granulosus sensu stricto genotypes G1 and G3 with

- confidence: A practical guide. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 64, 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.06.026>
132. Kinkar, L., Laurimäe, T., Balkaya, I., Casulli, A., Zait, H., Irshadullah, M., Sharbatkhori, M., Mirhendi, H., Rostami-Nejad, M., Ponce-Gordo, F., Rehbein, S., Kia, E. B., Simsek, S., Šnábel, V., Umhang, G., Varcasia, A., & Saarma, U. (2018b). Genetic diversity and phylogeography of the elusive, but epidemiologically important *Echinococcus granulosus sensu stricto* genotype G3. *Parasitology*, 145(12), 1613–1622. <https://doi.org/10.1017/S0031182018000549>
133. Kinkar, L., Laurimäe, T., Acosta-Jamett, G., Andresiuk, V., Balkaya, I., Casulli, A., Gasser, R. B., van der Giessen, J., González, L. M., Haag, K. L., Zait, H., Irshadullah, M., Jabbar, A., Jenkins, D. J., Kia, E. B., Manfredi, M. T., Mirhendi, H., M'rad, S., Rostami-Nejad, M., Oudni-M'rad, M., ... Saarma, U. (2018a). Global phylogeography and genetic diversity of the zoonotic tapeworm *Echinococcus granulosus sensu stricto* genotype G1. *International journal for parasitology*, 48(9-10), 729–742. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2018.03.006>
134. Kinkar, L., Korhonen, P. K., Cai, H., Gauci, C. G., Lightowers, M. W., Saarma, U., Jenkins, D. J., Li, J., Li, J., Young, N. D., & Gasser, R. B. (2019). Long-read sequencing reveals a 4.4 kb tandem repeat region in the mitogenome of *Echinococcus granulosus (sensu stricto)* genotype G1. *Parasites & vectors*, 12(1), 238. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3492-x>
135. Knapp, J., Nakao, M., Yanagida, T., Okamoto, M., Saarma, U., Lavikainen, A., & Ito, A. (2011). Phylogenetic relationships within *Echinococcus* and *Taenia* tapeworms (Cestoda: Taeniidae): an inference from nuclear protein-coding genes. *Molecular phylogenetics and evolution*, 61(3), 628–638. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.07.022>

136. Konyaev, S. V., Yanagida, T., Nakao, M., Ingovatova, G. M., Shoykhet, Y. N., Bondarev, A. Y., Odnokurtsev, V. A., Loskutova, K. S., Lukmanova, G. I., Dokuchaev, N. E., Spiridonov, S., Alshinecky, M. V., Sivkova, T. N., Andreyanov, O. N., Abramov, S. A., Krivopalov, A. V., Karpenko, S. V., Lopatina, N. V., Dupal, T. A., Sako, Y., ... Ito, A. (2013). Genetic diversity of *Echinococcus* spp. in Russia. *Parasitology*, 140(13), 1637–1647. <https://doi.org/10.1017/S0031182013001340>
137. Kumaratilake, L. M., & Thompson, R. C. (1981). Maintenance of the life cycle of *Echinococcus granulosus* in the laboratory following in vivo and in vitro development. *Zeitschrift fur Parasitenkunde (Berlin, Germany)*, 65(1), 103–106. <https://doi.org/10.1007/BF00926559>
138. Kumaratilake, L.M., Thompson, R.C.A. (1982). A review of the taxonomy and speciation of the genus *Echinococcus* Rudolphi 1801. *Z. Parasitenkd.* 68, 121–146 . <https://doi.org/10.1007/BF00935054>
139. Larrieu, E., Belloto, A., Arambulo, P., & Tamayo, H. (2004). Echinococcosis quística: epidemiología y control de América del Sur. *Parasitología latinoamérica* 59(1-2), 82-89. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-77122004000100018>
140. Larrieu, E. J., Costa, M. T., del Carpio, M., Moguillansky, S., Bianchi, G., & Yadon, Z. E. (2002). A case-control study of the risk factors for cystic echinococcosis among the children of Rio Negro province, Argentina. *Annals of tropical medicine and parasitology*, 96(1), 43–52. <https://doi.org/10.1179/000349802125000501>
141. Larrieu, E., Gavidia, C. M., & Lightowlers, M. W. (2019). Control of cystic echinococcosis: Background and prospects. *Zoonoses and public health*, 66(8), 889–899. <https://doi.org/10.1111/zph.12649>
142. Larrieu, E., & Zanini, F. (2012). Critical analysis of cystic echinococcosis control programs and praziquantel use in South America, 1974-2010. *Revista*

- panamericana de salud publica = Pan American journal of public health, 31(1), 81–87. <https://doi.org/10.1590/s1020-49892012000100012>
143. Laurimäe, T., Kinkar, L., Andresiuk, V., Haag, K. L., Ponce-Gordo, F., Acosta-Jamett, G., Garate, T., González, L. M., & Saarma, U. (2016). Genetic diversity and phylogeography of highly zoonotic *Echinococcus granulosus* genotype G1 in the Americas (Argentina, Brazil, Chile and Mexico) based on 8279bp of mtDNA. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 45, 290–296. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.09.015>
144. Laurimäe, T., Kinkar, L., Moks, E., Romig, T., Omer, R. A., Casulli, A., Umhang, G., Bagrade, G., Irshadullah, M., Sharbatkhori, M., Mirhendi, H., Ponce-Gordo, F., Soriano, S. V., Varcasia, A., Rostami-Nejad, M., Andresiuk, V., & Saarma, U. (2018). Molecular phylogeny based on six nuclear genes suggests that *Echinococcus granulosus* sensu lato genotypes G6/G7 and G8/G10 can be regarded as two distinct species. *Parasitology*, 145(14), 1929–1937. <https://doi.org/10.1017/S0031182018000719>
145. Lavikainen, A., Lehtinen, M. J., Meri, T., Hirvelä-Koski, V., & Meri, S. (2003). Molecular genetic characterization of the Fennoscandian cervid strain, a new genotypic group (G10) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology*, 127(Pt 3), 207–215. <https://doi.org/10.1017/s0031182003003780>
146. Lightowlers M. W. (1990). Immunology and molecular biology of *Echinococcus* infections. *International journal for parasitology*, 20(4), 471–478. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(90\)90194-r](https://doi.org/10.1016/0020-7519(90)90194-r)
147. Lightowlers M.W. (2012) Cysticercosis and Echinococcosis. In: Mackenzie J., Jeggo M., Daszak P., Richt J. (eds) One Health: The Human-Animal-Environment Interfaces in Emerging Infectious Diseases. Current Topics in Microbiology and Immunology, vol 365. Springer, Berlin, Heidelberg

148. Lissandrin, R., Tamarozzi, F., Piccoli, L., Tinelli, C., De Silvestri, A., Mariconti, M., Meroni, V., Genco, F., & Brunetti, E. (2016). Factors Influencing the Serological Response in Hepatic *Echinococcus granulosus* Infection. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 94(1), 166–171. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0219>
149. Lorca, M., Garrido, M., Contreras, M., Salinas, P., Alvarez, C., Ruiz, M., & Soto, P. (2006). Seroprevalencia de hidatidosis humana en la Región de Coquimbo. Chile. *Parasitología latinoamericana*, 61(3-4), 111-116. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-77122006000200002>
150. Lymbery A. J. (2017). Phylogenetic Pattern, Evolutionary Processes and Species Delimitation in the Genus *Echinococcus*. *Advances in parasitology*, 95, 111–145. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.07.002>
151. Lymbery, A. J., Constantine, C. C., & Thompson, R. (1997). SELF-FERTILIZATION WITHOUT GENOMIC OR POPULATION STRUCTURING IN A PARASITIC TAPEWORM. *Evolution; international journal of organic evolution*, 51(1), 289–294. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1997.tb02411.x>
152. Lymbery, A. J., Jenkins, E. J., Schurer, J. M., & Thompson, R. C. (2015). *Echinococcus canadensis*, *E. borealis*, and *E. intermedius*. What's in a name?. *Trends in parasitology*, 31(1), 23–29. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2014.11.003>
153. Manterola, C., Benavente, F., Melo, A., Vial, M., & Roa, J. C. (2008). Description of *Echinococcus granulosus* genotypes in human hydatidosis in a region of southern Chile. *Parasitology international*, 57(3), 342–346. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2008.02.005>
154. Manterola, C. & Otzen, T. (2016). Molecular epidemiology of cystic echinococcosis: Genotypic characterization in humans and different livestock. *Int. J. Morphol.*, 34(4) :1472-1481. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022016000400048>

155. Manterola, C., Melo, A., Vial, M., Roa, J. C., & Mora, J. (2006). Descripción de genotipos de *Echinococcus granulosus* obtenidos de especímenes de hidatidosis humana. *Revista chilena de cirugía*, 58(6), 441-446. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-40262006000600008>
156. Manciuilli, T., Serraino, R., D'Alessandro, G. L., Cattaneo, L., Mariconti, M., Vola, A., Taccari, F., Narra, R., De Vito, G., Trecarichi, E. M., Mazzitelli, M., Matera, G., Casulli, A., Marascio, N., Brunetti, E., Tamarozzi, F., & Torti, C. (2020). Evidence of Low Prevalence of Cystic Echinococcosis in the Catanzaro Province, Calabria Region, Italy. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 10.4269/ajtmh.20-0119. Advance online publication. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-0119>
157. McManus, D. P., Zhang, W., Li, J., & Bartley, P. B. (2003). Echinococcosis. *Lancet* (London, England), 362(9392), 1295–1304. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)14573-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14573-4)
158. Macpherson, C. N., & Smyth, J. D. (1985). In vitro culture of the strobilar stage of *Echinococcus granulosus* from protoscoleces of human, camel, cattle, sheep and goat origin from Kenya and buffalo origin from India. *International journal for parasitology*, 15(2), 137–140. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(85\)90078-5](https://doi.org/10.1016/0020-7519(85)90078-5)
159. Maldonado, L. L., Arrabal, J. P., Rosenzvit, M. C., Oliveira, G. C., & Kamenetzky, L. (2019). Revisiting the Phylogenetic History of Helminths Through Genomics, the Case of the New *Echinococcus oligarthrus* Genome. *Frontiers in genetics*, 10, 708. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00708>
160. Manterola, C. D., Moraga, J. C., Urrutia, S. B. (2011). Aspectos clínico-quirúrgicos de la hidatidosis hepática, una zoonosis de creciente preocupación. *Rev. Chilena de Cirugía*. 63(6):641-649. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-40262011000600017>

161. Manterola, C., Otzen, T., Muñoz, G., Alanis, M., Kruuse, E., Figueroa, G. (2017). Cirugía de la hidatidosis hepática. Factores de riesgo y variables asociadas al desarrollo de morbilidad postoperatoria. Revisión global de la evidencia existente. *Cirugía Española*. 95(10):566-576. DOI: 10.1016/j.ciresp.2017.08.009
162. Maravilla, P., Andrew Thompson, R. C., Palacios-Ruiz, J. A., Estcourt, A., Ramirez-Solis, E., Mondragon-de-la-Peña, C., Moreno-Moller, M., Cardenas-Mejia, A., Mata-Miranda, P., Aguirre-Alcantara, M. T., Bonilla-Rodriguez, C., & Flisser, A. (2004). *Echinococcus granulosus* cattle strain identification in an autochthonous case of cystic echinococcosis in central Mexico. *Acta tropica*, 92(3), 231–236. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2004.07.001>
163. Martínez P. (2015). Hidatidosis humana en menores de edad: manifestación de fracaso en las medidas de control y prevención. Chile, 2001-2011 [Human hydatidosis in children: manifestation of failure in the control and prevention measures. Chile, 2001-2011]. *Revista chilena de infectología : organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectología*, 32(2), 158–166. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182015000300004>
164. Ministerio de Salud de Chile. Minsal. (2015). Manual para el diagnóstico, tratamiento, prevención y control de la hidatidosis en Chile. <http://www.repositoriodigital.minsal.cl/handle/2015/836> (acceso marzo, 2020)
165. Monge-Maillo, B., Olmedo Samperio, M., Pérez-Molina, J. A., Norman, F., Mejía, C. R., Tojeiro, S. C., & López-Vélez, R. (2019). Osseous cystic echinococcosis: A case series study at a referral unit in Spain. *PLoS neglected tropical diseases*, 13(2), e0007006. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007006>
166. Monteiro, K. M., de Carvalho, M. O., Zaha, A., & Ferreira, H. B. (2010). Proteomic analysis of the *Echinococcus granulosus* metacestode during infection of its intermediate host. *Proteomics*, 10(10), 1985–1999. <https://doi.org/10.1002/pmic.200900506>

167. Moro, P. L., Caverro, C. A., Tambini, M., Briceño, Y., Jiménez, R., & Cabrera, L. (2008). Identification of risk factors for cystic echinococcosis in a perurbian population of Peru. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(1), 75–78. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2007.09.010>
168. Moro, P. L., McDonald, J., Gilman, R. H., Silva, B., Verastegui, M., Malqui, V., Lescano, G., Falcon, N., Montes, G., & Bazalar, H. (1997). Epidemiology of *Echinococcus granulosus* infection in the central Peruvian Andes. *Bulletin of the World Health Organization*, 75(6), 553–561.
169. Moro, P. L., Nakao, M., Ito, A., Schantz, P. M., Caverro, C., & Cabrera, L. (2009). Molecular identification of *Echinococcus* isolates from Peru. *Parasitology international*, 58(2), 184–186. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2009.01.005>
170. Moro, P. L., & Schantz, P. M. (2006). Echinococcosis: historical landmarks and progress in research and control. *Annals of tropical medicine and parasitology*, 100(8), 703–714. <https://doi.org/10.1179/136485906X112257>
171. Moro, P., & Schantz, P. M. (2009). Echinococcosis: a review. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases*, 13(2), 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2008.03.037>
172. Morseth d. J. (1965). Ultrastructure of developing taeniid embryophores and associated structures. *Experimental parasitology*, 16, 207–216. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(65\)90045-7](https://doi.org/10.1016/0014-4894(65)90045-7)
173. Ministerio de salud de la República Argentina, Msal. 2012. Guía para el equipo de salud Nro 11. ISSN 1852-1819 / ISSN 1852-219X (en línea). https://bancos.salud.gob.ar/sites/default/files/2018-10/0000000797cnt-2012-03-29_hidatidosis-guia-medica.pdf
174. Mwambete, D. K., Ponce-Gordo, F., & Cuesta-Bandera, C. (2004). Genetic identification and host range of the Spanish strains of *Echinococcus granulosus*. *Acta tropica*, 91(2), 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2004.04.001>

175. Nakao, M., Lavikainen, A., & Hoberg, E. (2015). Is *Echinococcus intermedius* a valid species?. *Trends in parasitology*, 31(8), 342–343. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2015.04.012>
176. Nakao, M., Lavikainen, A., Yanagida, T., & Ito, A. (2013a). Phylogenetic systematics of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae). *International journal for parasitology*, 43(12-13), 1017–1029. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.06.002>
177. Nakao, M., Li, T., Han, X., Ma, X., Xiao, N., Qiu, J., Wang, H., Yanagida, T., Mamuti, W., Wen, H., Moro, P. L., Giraudoux, P., Craig, P. S., & Ito, A. (2010b). Genetic polymorphisms of *Echinococcus* tapeworms in China as determined by mitochondrial and nuclear DNA sequences. *International journal for parasitology*, 40(3), 379–385. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.09.006>
178. Nakao, M., Yanagida, T., Konyaev, S., Lavikainen, A., Odnokurtsev, V. A., Zaikov, V. A., & Ito, A. (2013b). Mitochondrial phylogeny of the genus *Echinococcus* (Cestoda: Taeniidae) with emphasis on relationships among *Echinococcus canadensis* genotypes. *Parasitology*, 140(13), 1625–1636. <https://doi.org/10.1017/S0031182013000565>
179. Nakao, M., Yanagida, T., Okamoto, M., Knapp, J., Nkouawa, A., Sako, Y., & Ito, A. (2010a). State-of-the-art *Echinococcus* and *Taenia*: phylogenetic taxonomy of human-pathogenic tapeworms and its application to molecular diagnosis. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, 10(4), 444–452. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2010.01.011>
180. Nakao, M., Xiao, N., Okamoto, M., Yanagida, T., Sako, Y., & Ito, A. (2009). Geographic pattern of genetic variation in the fox tapeworm *Echinococcus multilocularis*. *Parasitology international*, 58(4), 384–389. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2009.07.010>

181. Obwaller, A., Schneider, R., Walochnik, J., Gollackner, B., Deutz, A., Janitschke, K., Aspöck, H., & Auer, H. (2004). *Echinococcus granulosus* strain differentiation based on sequence heterogeneity in mitochondrial genes of cytochrome c oxidase-1 and NADH dehydrogenase-1. *Parasitology*, 128(Pt 5), 569–575. <https://doi.org/10.1017/s0031182004004871>
182. Oksanen, A., & Lavikainen, A. (2015). *Echinococcus canadensis* transmission in the North. *Veterinary parasitology*, 213(3-4), 182–186. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.07.033>
183. Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2006). Tercera Reunión del Proyecto Subregional Cono Sur de Control y Vigilancia de la Hidatidosis: Argentina, Brasil, Chile e Uruguay; 2006. Mayo 23-26; Porto Alegre, RS, Brasil / Organización Panamericana de la Salud. - Río de Janeiro: OPS. <https://www.paho.org/Spanish/AD/DPC/VP/hidatidosis-mtg3-inf.pdf>
184. Otero-Abad, B., & Torgerson, P. R. (2013). A systematic review of the epidemiology of echinococcosis in domestic and wild animals. *PLoS neglected tropical diseases*, 7(6), e2249. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002249>
185. Pavletic, C. F., Larrieu, E., Guarnera, E. A., Casas, N., Irabedra, P., Ferreira, C., Sayes, J., Gavidia, C. M., Caldas, E., Lise, M., Maxwell, M., Arezo, M., Navarro, A. M., Vigilato, M., Cosivi, O., Espinal, M., & Vilas, V. (2017). Cystic echinococcosis in South America: a call for action. *Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health*, 41, e42. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2017.42>
186. Parsa, F., Fasihi Harandi, M., Rostami, S., & Sharbatkhori, M. (2012). Genotyping *Echinococcus granulosus* from dogs from Western Iran. *Experimental parasitology*, 132(2), 308–312. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2012.07.010>
187. Piccoli, L., Tamarozzi, F., Cattaneo, F., Mariconti, M., Filice, C., Bruno, A., & Brunetti, E. (2014). Long-term sonographic and serological follow-up of inactive echinococcal cysts of the liver: hints for a "watch-and-wait" approach. *PLoS*

- neglected tropical diseases, 8(8), e3057.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003057>
188. Pinto, P. (2017). Diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la hidatidosis. *Revista Chilena de Cirugía.* 69(1):94-98.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.rchic.2016.10.001>
189. Possenti, A., Manzano-Román, R., Sánchez-Ovejero, C., Boufana, B., La Torre, G., Siles-Lucas, M., & Casulli, A. (2016). Potential Risk Factors Associated with Human Cystic Echinococcosis: Systematic Review and Meta-analysis. *PLoS neglected tropical diseases*, 10(11), e0005114.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005114>
190. Pezeshki, A., Akhlaghi, L., Sharbatkhori, M., Razmjou, E., Oormazdi, H., Mohebbali, M., & Meamar, A. R. (2013). Genotyping of *Echinococcus granulosus* from domestic animals and humans from Ardabil Province, northwest Iran. *Journal of helminthology*, 87(4), 387–391.
<https://doi.org/10.1017/S0022149X1200051X>
191. Rahman W. A., Elmajdoub, L. E., Noor, SAM. y Wajidi, M. F. (2015). Present Status on the Taxonomy and Morphology of *Echinococcus Granulosus*: A Review. *Austin J Vet Sci & Anim Husb.* 2(2):1013
192. Rausch R. L. (1967). On the ecology and distribution of *Echinococcus* spp. (Cestoda: Taeniidae), and characteristics of their development in the intermediate host. *Annales de parasitologie humaine et comparee*, 42(1), 19–63. <https://doi.org/10.1051/parasite/1967421019>
193. Rausch R. L. (2003). Cystic echinococcosis in the Arctic and Sub-Arctic. *Parasitology*, 127 Suppl, S73–S85.
<https://doi.org/10.1017/s0031182003003664>
194. Reyes MM, Taramona CP, Saire-Mendoza M, Gavidia CM, Barron E, et al. (2012) Human and Canine Echinococcosis Infection in Informal, Unlicensed Abattoirs in

- Lima, Peru. PLOS Neglected Tropical Diseases 6(4): e1462.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001462>
195. Rodriguez-Prado, U., Jimenez-Gonzalez, D. E., Avila, G., Gonzalez, A. E., Martinez-Flores, W. A., Mondragon de la Peña, C., Hernandez-Castro, R., Romero-Valdovinos, M., Flisser, A., Martinez-Hernandez, F., Maravilla, P., & Martinez-Maya, J. J. (2014). Short report: Genetic variation of *Echinococcus canadensis* (G7) in Mexico. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 91(6), 1149–1153. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.14-0317>
 196. Romig, T., Ebi, D., Wassermann. (2015). Taxonomy and molecular epidemiology of *Echinococcus granulosus sensu lato*. *Veterinary Parasitology*. 213(3-4):76-84. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.07.035>
 197. Romig, T., Deplazes, P., Jenkins, D., Giraudoux, P., Massolo, A., Craig, P. S., Wassermann, M., Takahashi, K., & de la Rue, M. (2017). Ecology and Life Cycle Patterns of *Echinococcus* Species. *Advances in parasitology*, 95, 213–314. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.11.002>
 198. Rossi, P., Tamarozzi, F., Galati, F., Pozio, E., Akhan, O., Cretu, C. M., Vutova, K., Siles-Lucas, M., Brunetti, E., Casulli, A., & HERACLES extended network (2016). The first meeting of the European Register of Cystic Echinococcosis (ERCE). *Parasites & vectors*, 9, 243. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1532-3>
 199. Rostami, S., Talebi, S., Babaei, Z., Sharbatkhori, M., Ziaali, N., Rostami, H., & Harandi, M. F. (2013). High resolution melting technique for molecular epidemiological studies of cystic echinococcosis: differentiating G1, G3, and G6 genotypes of *Echinococcus granulosus sensu lato*. *Parasitology research*, 112(10), 3441–3447. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3523-z>
 200. Saarma, U., Jõgisalu, I., Moks, E., Varcasia, A., Lavikainen, A., Oksanen, A., Simsek, S., Andresiuk, V., Denegri, G., González, L. M., Ferrer, E., Gárate, T., Rinaldi, L., & Maravilla, P. (2009). A novel phylogeny for the genus *Echinococcus*, based on nuclear data, challenges relationships based on mitochondrial

- evidence. *Parasitology*, 136(3), 317–328.
<https://doi.org/10.1017/S0031182008005453>
201. Sánchez, G. A., De Bernard, C., & Sousa, O. E. (1992). Hidatidosis poliquística hepática. Informe clínico e histopatológico del segundo caso de equinococosis autoctono en la República de Panamá [Hepatic polycystic hydatidosis. Clinical and histopathologic report of the second native case of echinococcosis in the Republic of Panama]. *Revista medica de Panama*, 17(1), 3–11.
202. Sánchez, E., Cáceres, O., Náquira, C., Miranda, E., Samudio, F., & Fernandes, O. (2012). *Echinococcus granulosus* genotypes circulating in alpacas (*Lama pacos*) and pigs (*Sus scrofa*) from an endemic region in Peru. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 107(2), 275–278. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762012000200019>
203. Sánchez, E., Cáceres, O., Náquira, C., Garcia, D., Patiño, G., Silvia, H., Volotão, A. C., & Fernandes, O. (2010). Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* from Peru by sequencing of the mitochondrial cytochrome C oxidase subunit 1 gene. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 105(6), 806–810. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762010000600013>
204. Sánchez Thevenet, P., Jensen, O., Drut, R., Cerrone, G. E., Grenóvero, M. S., Alvarez, H. M., Targovnik, H. M., & Basualdo, J. A. (2005). Viability and infectiousness of eggs of *Echinococcus granulosus* aged under natural conditions of inferior arid climate. *Veterinary parasitology*, 133(1), 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.05.048>
205. Santa, M. A., Pastran, S. A., Klein, C., Duignan, P., Ruckstuhl, K., Romig, T., & Massolo, A. (2018). Detecting co-infections of *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus canadensis* in coyotes and red foxes in Alberta, Canada using real-time PCR. *International journal for parasitology. Parasites and wildlife*, 7(2), 111–115. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2018.03.001>

206. Santivañez, S. J., Gutierrez, A. M., Rosenzvit, M. C., Muzulin, P. M., Rodriguez, M. L., Vasquez, J. C., Rodriguez, S., Gonzalez, A. E., Gilman, R. H., Garcia, H. H., & Cysticercosis Working Group in Peru (2008). Human hydatid disease in Peru is basically restricted to *Echinococcus granulosus* genotype G1. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 79(1), 89–92.
207. Sapunar J.(1999). Hidatidosis. En: Atías A, editor. *Parasitología Médica*. 1a ed. Santiago de Chile: Mediterráneo; 1999. p. 338-54
208. Sarkar, S., Roy, H., Saha, P., Sengupta, M., Sarder, K., & Sengupta, M. (2017). Cystic echinococcosis: A neglected disease at usual and unusual locations. *Tropical parasitology*, 7(1), 51–55. https://doi.org/10.4103/tp.TP_55_16
209. Šarkūnas, M., Vienažindienė, Ž., Rojas, C., Radziulis, K., & Deplazes, P. (2019). Praziquantel treatment of dogs for four consecutive years decreased the transmission of *Echinococcus intermedius* G7 to pigs in villages in Lithuania. *Food and waterborne parasitology*, 15, e00043. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2019.e00043>
210. Schantz P. M. (1972). Localización de la hidatidosis en el sistema nervioso central [Localization of hydatidosis in the central nervous system]. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*. Pan American Sanitary Bureau, 73(3), 198–202.
211. Schurer, J. M., Bouchard, E., Bryant, A., Revell, S., Chavis, G., Lichtenwalner, A., & Jenkins, E. J. (2018). *Echinococcus* in wild canids in Québec (Canada) and Maine (USA). *PLoS neglected tropical diseases*, 12(8), e0006712. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006712>
212. Schurer, J. M., Hill, J. E., Fernando, C., & Jenkins, E. J. (2012). Sentinel surveillance for zoonotic parasites in companion animals in indigenous communities of Saskatchewan. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 87(3), 495–498. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.12-0273>
213. Schurer, J. M., Ndao, M., Quewezance, H., Elmore, S. A., & Jenkins, E. J. (2014). People, pets, and parasites: one health surveillance in southeastern

- Saskatchewan. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 90(6), 1184–1190. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0749>
214. Scott, J. C., Stefaniak, J., Pawlowski, Z. S., & McManus, D. P. (1997). Molecular genetic analysis of human cystic hydatid cases from Poland: identification of a new genotypic group (G9) of *Echinococcus granulosus*. *Parasitology*, 114 (Pt 1), 37–43. <https://doi.org/10.1017/s0031182096008062>
215. SAG. (2018). Servicio Agrícola y Ganadero. Informe beneficio y hallazgos patológicos en mataderos nacionales 2017. DIVISIÓN DE PROTECCIÓN PECUARIA DEPARTAMENTO DE SANIDAD ANIMAL SUBDEPARTAMENTO DE VIGILANCIA Y CONTROL DE ENFERMEDADES. http://www.sag.cl/sites/default/files/informe_decomisos_mataderos_2017.pdf (acceso marzo, 2020)
216. Sharafi, S. M., Rostami-Nejad, M., Moazeni, M., Yousefi, M., Saneie, B., Hosseini-Safa, A., & Yousofi-Darani, H. (2014). *Echinococcus granulosus* genotypes in Iran. *Gastroenterology and hepatology from bed to bench*, 7(2), 82–88.
217. Sharma, M., Sehgal, R., Fomda, B. A., Malhotra, A., & Malla, N. (2013). Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* cysts in north Indian patients: identification of G1, G3, G5 and G6 genotypes. *PLoS neglected tropical diseases*, 7(6), e2262. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002262>
218. Sigurdarson S. (2010). Dogs and echinococcosis in Iceland. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52(Suppl 1), S6. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-52-S1-S6>
219. Siles-Lucas, M., Benito, M. C., & Cuesta-Bandera, C. (1996). *Echinococcus granulosus*: genomic and isoenzymatic study of Spanish strains isolated from different intermediate hosts. *Veterinary parasitology*, 63(3-4), 273–282. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(95\)00903-5](https://doi.org/10.1016/0304-4017(95)00903-5)
220. Silva-Álvarez, V., Folle, A. M., Ramos, A. L., Zamarreño, F., Costabel, M. D., García-Zepeda, E., Salinas, G., Córscico, B., & Ferreira, A. M. (2015). *Echinococcus*

- granulosus antigen B: a Hydrophobic Ligand Binding Protein at the host-parasite interface. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids*, 93, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2014.09.008>
221. Simsek, S., Kaplan, M., & Ozercan, I. H. (2011). A comprehensive molecular survey of *Echinococcus granulosus* in formalin-fixed paraffin-embedded tissues in human isolates in Turkey. *Parasitology research*, 109(2), 411–416. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2269-8>
222. Siracusano, A., Delunardo, F., Teggi, A., & Ortona, E. (2012). Host-parasite relationship in cystic echinococcosis: an evolving story. *Clinical & developmental immunology*, 2012, 639362. <https://doi.org/10.1155/2012/639362>
223. Sobrino, R., Gonzalez, L. M., Vicente, J., Fernández de Luco, D., Garate, T., & Gortázar, C. (2006). *Echinococcus granulosus* (Cestoda, Taeniidae) in the Iberian wolf. *Parasitology research*, 99(6), 753–756. <https://doi.org/10.1007/s00436-006-0229-5>
224. Soriano, S. V., Pierangeli, N. B., Pianciola, L., Mazzeo, M., Lazzarini, L. E., Saiz, M. S., Kossman, A. V., Bergagna, H. F., Chartier, K., & Basualdo, J. A. (2010). Molecular characterization of *Echinococcus* isolates indicates goats as reservoir for *Echinococcus canadensis* G6 genotype in Neuquén, Patagonia Argentina. *Parasitology international*, 59(4), 626–628. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2010.07.003>
225. Sousa, O. E. & Lombardo Ayala J. D. (1965). Informe de un caso de hidatidosis de sujeto nativo Panameño. Primer caso autóctono. *Archivos Médicos Panameños*. 14: 79-86.
226. Smyth, J. D., & Davies, Z. (1974). Occurrence of physiological strains of *Echinococcus granulosus* demonstrated by in vitro culture of protoscoleces from sheep and horse hydatid cysts. *International journal for parasitology*, 4(4), 443–445. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(74\)90057-5](https://doi.org/10.1016/0020-7519(74)90057-5)

227. Smyth, J. D., & Smyth, M. M. (1969). Self insemination in *Echinococcus granulosus* in vivo. *Journal of helminthology*, 43(3), 383–387. <https://doi.org/10.1017/s0022149x00004946>
228. Šnábel, V., Altintas, N., D'Amelio, S., Nakao, M., Romig, T., Yolasigmaz, A., Gunes, K., Turk, M., Busi, M., Hüttner, M., Sevcová, D., Ito, A., Altintas, N., & Dubinský, P. (2009). Cystic echinococcosis in Turkey: genetic variability and first record of the pig strain (G7) in the country. *Parasitology research*, 105(1), 145–154. <https://doi.org/10.1007/s00436-009-1376-2>
229. Snábel, V., D'Amelio, S., Mathiopoulos, K., Turceková, L., & Dubinský, P. (2000). Molecular evidence for the presence of a G7 genotype of *Echinococcus granulosus* in Slovakia. *Journal of helminthology*, 74(2), 177–181.
230. Soriano, S. V., Pierangeli, N. B., Pianciola, L., Mazzeo, M., Lazzarini, L. E., Saiz, M. S., Kossman, A. V., Bergagna, H. F., Chartier, K., & Basualdo, J. A. (2010). Molecular characterization of *Echinococcus* isolates indicates goats as reservoir for *Echinococcus canadensis* G6 genotype in Neuquén, Patagonia Argentina. *Parasitology international*, 59(4), 626–628. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2010.07.003>
231. Souto, M. G., Sanchez Thevenet, P., & Basualdo Farjat, J. (2016). 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*, 6, 42–46. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2016.09.005>
232. Steta, J., & Torre, A. (2009). Mexican-native human echinococcosis: case report of an underestimated disease. *Annals of hepatology*, 8(3), 251–254. PMID: 19841507
233. Swiderski Z. (1983). *Echinococcus granulosus*: hook-muscle systems and cellular organisation of infective oncospheres. *International journal for parasitology*, 13(3), 289–299. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(83\)90040-1](https://doi.org/10.1016/0020-7519(83)90040-1)

234. Świdorski, Z., Miquel, J., Azzouz-Maache, S., & Pétavy, A. F. (2017). Origin, differentiation and functional ultrastructure of egg envelopes in the cestode *Echinococcus multilocularis* Leuckart, 1863 (Cyclophyllidea: Taeniidae). *Parasitology research*, 116(7), 1963–1971. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5479-x>
235. Tamarozzi F, Covini I, Mariconti M, Narra R, Tinelli C, et al. (2016) Comparison of the Diagnostic Accuracy of Three Rapid Tests for the Serodiagnosis of Hepatic Cystic Echinococcosis in Humans. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 10(2): e0004444. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004444>
236. Tamarozzi, F., Hou, A., Morales, M. L., Giordani, M. T., Vilca, F., Mozo, K., Bascope, R., White, A. C., Brunetti, E., Chen, L., & Cabada, M. M. (2017). Prevalence and Risk Factors for Human Cystic Echinococcosis in the Cusco Region of the Peruvian Highlands Diagnosed Using Focused Abdominal Ultrasound. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 96(6), 1472–1477. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0882>
237. Tamarozzi, F., Longoni, S. S., Vola, A., Degani, M., Tais, S., Rizzi, E., Prato, M., Scarso, S., Silva, R., Brunetti, E., Bisoffi, Z., & Perandin, F. (2021). Evaluation of Nine Commercial Serological Tests for the Diagnosis of Human Hepatic Cyst Echinococcosis and the Differential Diagnosis with Other Focal Liver Lesions: A Diagnostic Accuracy Study. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 11(2), 167. <https://doi.org/10.3390/diagnostics11020167>
238. Thompson R. C. (2008). The taxonomy, phylogeny and transmission of *Echinococcus*. *Experimental parasitology*, 119(4), 439–446. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2008.04.016>
239. Thompson R. C. (2013). Parasite zoonoses and wildlife: One Health, spillover and human activity. *International journal for parasitology*, 43(12-13), 1079–1088. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.06.007>

240. Thompson R. C. (2017). Biology and Systematics of Echinococcus. *Advances in parasitology*, 95, 65–109. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.07.001>
241. Thompson R. (2020). The Molecular Epidemiology of Echinococcus Infections. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(6), 453. <https://doi.org/10.3390/pathogens9060453>
242. Thompson, R. C., Dunsmore, J. D., & Hayton, A. R. (1979). Echinococcus granulosus: secretory activity of the rostellum of the adult cestode in situ in the dog. *Experimental parasitology*, 48(1), 144–163. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(79\)90064-x](https://doi.org/10.1016/0014-4894(79)90064-x)
243. Thompson, R. C., Houghton, A., & Zaman, V. (1982). A study of the microtriches of adult Echinococcus granulosus by scanning electron microscopy. *International journal for parasitology*, 12(6), 579–583. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(82\)90055-8](https://doi.org/10.1016/0020-7519(82)90055-8)
244. Thompson, R. C., & Jenkins, D. J. (2014). Echinococcus as a model system: biology and epidemiology. *International journal for parasitology*, 44(12), 865–877. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.07.005>
245. Thompson, R. C., & Kumaratilake, L. M. (1982.2). Intraspecific variation in Echinococcus granulosus: the Australian situation and perspectives for the future. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 76(1), 13–16. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(82\)90005-0](https://doi.org/10.1016/0035-9203(82)90005-0)
246. Thompson, R. C., Kumaratilake, L. M., & Eckert, J. (1984). Observations on Echinococcus granulosus of cattle origin in Switzerland. *International journal for parasitology*, 14(3), 283–291. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(84\)90079-1](https://doi.org/10.1016/0020-7519(84)90079-1)
247. Thompson, R. C. & Lymbery, A. J. (1988). The Nature, Extent and Significance of Variation within the Genus Echinococcus. *Advances in Parasitology*. 27: 209-258. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60356-5](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60356-5)

248. Thompson, R. C., & Lymbery, A. J. (1990). Echinococcus: biology and strain variation. *International journal for parasitology*, 20(4), 457–470. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(90\)90193-q](https://doi.org/10.1016/0020-7519(90)90193-q)
249. Thompson, R. C., & Lymbery, A. J. (1996). Genetic variability in parasites and host-parasite interactions. *Parasitology*, 112 Suppl, S7–S22.
250. Thompson, R. C., Lymbery, A. J., & Constantine, C. C. (1995). Variation in Echinococcus: Towards a Taxonomic Revision of the Genus. *Advances in Parasitology*. 35: 145-175. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(08\)60071-8](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)60071-8)
251. Thompson, R. C., & McManus, D. P. (2002). Towards a taxonomic revision of the genus Echinococcus. *Trends in parasitology*, 18(10), 452–457. [https://doi.org/10.1016/s1471-4922\(02\)02358-9](https://doi.org/10.1016/s1471-4922(02)02358-9)
252. Todorov, T., Vutova, K., Mechkov, G., Georgiev, P., Petkov, D., Tonchev, Z., & Nedelkov, G. (1992). Chemotherapy of human cystic echinococcosis: comparative efficacy of mebendazole and albendazole. *Annals of tropical medicine and parasitology*, 86(1), 59–66. <https://doi.org/10.1080/00034983.1992.11812631>
253. Torgerson, P. R., Robertson, L. J., Enemark, H. L., Foehr, J., van der Giessen, J., Kapel, C., Klun, I., & Trevisan, C. (2020). Source attribution of human echinococcosis: A systematic review and meta-analysis. *PLoS neglected tropical diseases*, 14(6), e0008382. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008382>
254. Totomoch-Serra, A., & Manterola, C. (2020). Importance of Genotyping Cystic Echinococcosis in Humans From Mexico. *Archives of medical research*, 51(1), 63–64. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2019.12.009>
255. Umhang, G., Richomme, C., Boucher, J. M., Hormaz, V., & Boué, F. (2013). Prevalence survey and first molecular characterization of Echinococcus granulosus in France. *Parasitology research*, 112(4), 1809–1812. <https://doi.org/10.1007/s00436-012-3245-7>

256. Umhang, G., Richomme, C., Hormaz, V., Boucher, J. M., & Boué, F. (2014). Pigs and wild boar in Corsica harbor *Echinococcus canadensis* G6/7 at levels of concern for public health and local economy. *Acta tropica*, 133, 64–68. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.02.005>
257. Urach Monteiro, D., de Azevedo, M. I., Weiblen, C., Correia Ribeiro, T., Emmanouilidis, J., Tonin, A. A., de Avila Botton, S., & de la Rue, M. L. (2016). *Echinococcus granulosus sensu stricto*, *Echinococcus canadensis* (G7), and *Echinococcus ortleppi* in fertile hydatid cysts isolated from cattle in Southern Brazil. *Acta tropica*, 164, 41–44. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.08.017>
258. Vaněk M. (1980). A morphological study on hydatids of *Echinococcus granulosus* (Batsch, 1786) from pigs. *Folia parasitologica*, 27(1), 39–46.
259. Varcasia, A., Canu, S., Kogkos, A., Pipia, A. P., Scala, A., Garippa, G., & Seimenis, A. (2007). Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in sheep and goats of Peloponnesus, Greece. *Parasitology research*, 101(4), 1135–1139. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0568-x>
260. Varcasia, A., Canu, S., Lightowers, M. W., Scala, A., & Garippa, G. (2006). Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* strains in Sardinia. *Parasitology research*, 98(3), 273–277. <https://doi.org/10.1007/s00436-005-0059-x>
261. Varcasia, A., Garippa, G., Pipia, A. P., Scala, A., Brianti, E., Giannetto, S., Battelli, G., Poglayen, G., & Micagni, G. (2008). Cystic echinococcosis in equids in Italy. *Parasitology research*, 102(4), 815–818. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0862-7>
262. Venegas, J., Espinoza, S., & Sánchez, G. (2014). Estimación del impacto económico de la equinococosis quística en Chile y análisis de las posibles causas que han dificultado su erradicación [Estimation of costs caused by cystic

- echinococcosis]. *Revista medica de Chile*, 142(8), 1023–1033.
<https://doi.org/10.4067/S0034-98872014000800010>
263. Velasco-Tirado, V., Romero-Alegría, Á., Belhassen-García, M., Alonso-Sardón, M., Esteban-Velasco, C., López-Bernús, A., Carpio-Perez, A., Jimenez López, M. F., Muñoz Bellido, J. L., Muro, A., Cordero-Sanchez, M., Pardo-Lledias, J., & Muñoz-Bellvis, L. (2017). Recurrence of cystic echinococcosis in an endemic area: a retrospective study. *BMC infectious diseases*, 17(1), 455.
<https://doi.org/10.1186/s12879-017-2556-9>
264. Vicedomini, S., Cancrini, G., Gabrielli, S., Naspetti, R., & Bartoloni, A. (2007). Muscular cystic hydatidosis: case report. *BMC infectious diseases*, 7, 23.
<https://doi.org/10.1186/1471-2334-7-23>
265. Villalobos, N., González, L. M., Morales, J., de Aluja, A. S., Jiménez, M. I., Blanco, M. A., Harrison, L. J., Parkhouse, R. M., & Gárate, T. (2007). Molecular identification of *Echinococcus granulosus* genotypes (G1 and G7) isolated from pigs in Mexico. *Veterinary parasitology*, 147(1-2), 185–189.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.03.021>
266. Vural, G., Baca, A. U., Gauci, C. G., Bagci, O., Gicik, Y., & Lightowers, M. W. (2008). Variability in the *Echinococcus granulosus* cytochrome C oxidase 1 mitochondrial gene sequence from livestock in Turkey and a re-appraisal of the G1-3 genotype cluster. *Veterinary parasitology*, 154(3-4), 347–350.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.03.020>
267. Wang, X., Liu, J., Zuo, Q., Mu, Z., Weng, X., Sun, X., Wang, J., Boufana, B., Craig, P. S., Giraudoux, P., Raoul, F., & Wang, Z. (2018). *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus shiquicus* in a small mammal community on the eastern Tibetan Plateau: host species composition, molecular prevalence, and epidemiological implications. *Parasites & vectors*, 11(1), 302. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2873-x>

268. Wang, J., Wang, N., Hu, D., Zhong, X., Wang, S., Gu, X., Peng, X., & Yang, G. (2014). Genetic diversity of *Echinococcus granulosus* in southwest China determined by the mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 2 gene. *TheScientificWorldJournal*, 2014, 867839.
269. Wassermann, M., Aschenborn, O., Aschenborn, J., Mackenstedt, U., & Romig, T. (2014). A sylvatic lifecycle of *Echinococcus equinus* in the Etosha National Park, Namibia. *International journal for parasitology. Parasites and wildlife*, 4(1), 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.12.002>
270. WHO. Neglected tropical diseases. https://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/ (acceso marzo, 2020).
271. WHO. Equinococosis. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis>. (acceso marzo, 2020)
272. Yan, B., Liu, X., Wu, J., Zhao, S., Yuan, W., Wang, B., Wureli, H., Tu, C., Chen, C., & Wang, Y. (2018). Genetic Diversity of *Echinococcus granulosus* Genotype G1 in Xinjiang, Northwest of China. *The Korean journal of parasitology*, 56(4), 391–396. <https://doi.org/10.3347/kjp.2018.56.4.391>
273. Yanagida, T., Lavikainen, A., Hoberg, E. P., Konyaev, S., Ito, A., Sato, M. O., Zaikov, V. A., Beckmen, K., & Nakao, M. (2017). Specific status of *Echinococcus canadensis* (Cestoda: Taeniidae) inferred from nuclear and mitochondrial gene sequences. *International journal for parasitology*, 47(14), 971–979. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2017.07.001>
274. Yanagida, T., Mohammadzadeh, T., Kamhawi, S., Nakao, M., Sadjjadi, S. M., Hijjawi, N., Abdel-Hafez, S. K., Sako, Y., Okamoto, M., & Ito, A. (2012). Genetic polymorphisms of *Echinococcus granulosus sensu stricto* in the Middle East. *Parasitology international*, 61(4), 599–603. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2012.05.014>
275. Youssefi, M. R., Tabaripour, R., Omrani, V. F., Spotin, A., & Esfandiari, B. (2013). Genotypic characterization of *Echinococcus granulosus* in Iranian goats. *Asian*

Pacific Journal of Tropical Disease, 3(5), 362–366.
[https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(13\)60085-7](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60085-7)