INFECCIONES POR *ECHINOCOCCUS*: ASPECTOS INMUNOBIOLOGICOS Y DE VACUNACION

Por: Dr. Marshall W. Lightowlers

INFECCIONES POR *ECHINOCOCCUS*: ASPECTOS INMUNOBIOLOGICOS Y DE VACUNACION

Por: Dr. Marshall W. Lightowlers[1]

INTRODUCCION

Echinococcus granulosus infecta sus huéspedes en formas diversas y con algunas variaciones en su ciclo vital. El microorganismo infecta especies diferentes que utiliza como huéspedes definitivos e intermediarios. Innumerables especies pueden servir como huéspedes intermediarios, y la infección a menudo se localiza en órganos diversos como hígado, pulmones, cerebro, bazo, músculos, huesos y otros más. La variabilidad de los órganos afectados puede influir en los aspectos cualitativos y cuantitativos de la respuesta inmunitaria del huésped al parásito. Señalamos algunas de las formas parasitarias que pueden desencadenar las respuestas mencionadas:

1. **En el huésped definitivo**

   a. El protoescólex en fase de fijación
   b. El equinococo adulto
   c. Las oncosferas al liberar el embrión en el intestino del huésped

2. **En el huésped intermediario**

   a. La oncosfera invasora
   b. El metacestodo en fase de desarrollo
   c. El quiste hidatídico maduro
   d. Los protoescólices liberados después de la rotura delquiste hidatídico

Además de las innumerables investigaciones que se han realizado sobre los aspectos inmunobiológicos de las infecciones por *E. granulosus*, se cuenta con información de esta índole obtenida del estudio de otros cestodos tenídeos. Las muchas similitudes en la relación inmunitaria huésped/parásito entre especies de *Echinococcus* y de *Taenia* permiten extrapolar algunos de los datos del segundo grupo de tenídeos, al primero.

[1]Laboratorio de Parasitología Molecular. Universidad de Melbourne, Victoria, Australia

En esta reseña señalaremos primordialmente las respuestas inmunitarias a la infección por *E. granulosus* que pueden tener importancia en la elaboración de vacunas para evitar la transmisión del parásito. Si se desean más detalles de otros aspectos de dichas respuestas, convendría que el lector consultara los artículos de análisis publicados (Rickard y Williams, 1982; Heath, 1986; Lightowlers, 1990a,b; Lightowlers *et al.*, 1993). Como aspecto sobresaliente indicamos la elaboración reciente de una vacuna para evitar la hidatidosis en ovinos, en la que se utilizó un antígeno recombinante de oncosferas (Lightowlers y Heath, inédito).

Respuesta inmune en el huésped definitivo

Es relativamente poco lo que se sabe de la relación inmunitaria entre los parásitos cestodos y sus huéspedes definitivos. El contacto íntimo entre el escólex y los tejidos de la pared intestinal permite la interacción inmunitaria directa, y la presencia de anticuerpos contra los antígenos del escolex en huéspedes infectados señala que se produce tal interacción (Jenkins y Rickard, 1985). La aparición de anticuerpos específicos contra las oncosferas en la circulación de perros infectados por especies de *E. granulosus* o *Taenia* (Jenkins y Rickard, 1985; Gasser *et al.*, 1988), sugiere que los huevecillos de algunos tenídeos pueden liberar sus embriones en el intestino del huésped definitivo y penetrar en grado suficiente sus tejidos para inducir una respuesta inmunitaria contra las oncosferas.

Una característica notable de la relación huésped/parásito en los huéspedes intermediarios sería la inmunidad que éstos desarrollan para protegerse de la infección; sin embargo, no son tan definidas las pruebas de la existencia de respuestas inmunitarias protectoras contra los vermes adultos en los huéspedes definitivos. En los cestodos himenolepídeos se ha corroborado de modo indudable la aparición de inmunidad protectora (revisión de Hopkins, 1980 y de Ito y Smyth, 1987). Sin embargo, en los tenídeos los mecanismos de defensa han inducido sólo protección parcial, en el mejor de los casos. A pesar de ello, un número suficiente de experimentos ha señalado que puede surgir alguna protección al parecer mediada por mecanismos inmunitarios contra la implantación/ supervivencia/fecundidad de especies de *E. granulosus* en perros.

Gemmell *et al.* (1986) investigaron la resistencia a la reinfección por *E. granulosus* en perros, en una serie de experimentos. En uno de ellos, infectaron en ocho o nueve ocasiones a dieciséis animales, e interrumpieron cada infección, para después valorar la situación por medio de una purga con arecolina, 5 a 12 semanas después de la infección. Evaluaron el número de infecciones previas por el parásito, y el lapso que transcurrió entre la infección original y las subsecuentes, respecto a los efectos que habían tenido en el número de vermes presentes y también en la rapidez de su crecimiento, su ovogénesis o en ambos aspectos. Las infecciones repetidas no tuvieron efecto alguno en la proporción de vermes viables o activos, y hubo una gran variación en el número de parásitos entre los animales y en cada uno de ellos, en las diferentes infecciones de la serie. En vez de una disminución continua en la infecciosidad

de los perros, cada animal siguió siendo susceptible a un número variable de infecciones para después volverse menos susceptible. Cinco de los dieciséis perros no mostraron disminución de la infecciosidad, a todo lo largo del experimento. Sin embargo, en los otros perros surgió resistencia significativa a la infección, al grado que la mitad de ellos la mostraron después de la sexta infección. El número de vermes y la longevidad de la infección no influyeron en la susceptibilidad. Gemmell *et al.* por extrapolación de sus datos, sugirieron que cabría esperar que 99.9% de los perros se volvieran resistentes al producirse la duodécima infección, aunque se trata de una proposición totalmente especulativa.

Vacunación contra la infección en el huésped definitivo

Se ha logrado resistencia parcial contra la infección por *E. granulosus* en perros, por la ingestión de protoescólices radiados antes de las infecciones repetitivas (Movsesijan *et al.*, 1968; Movsesijan y Mladenovic, 1970; Aminzhanov, 1980). No se ha generado inmunidad contra las reinfecciones por especies de *Taenia* en perros y gatos o si ha surgido, ha sido pequeña (Miller, 1932; Clapham, 1940; Vukovic, 1949; Rickard *et al.*, 1977 Williams y Shearer, 1981).

Las pruebas con vacunas hechas de extractos muertos de parásitos, para inmunizar perros contra infecciones repetidas por especies de *E. granulosus* o *Taenia* han generado niveles diversos de inmunidad. Turner *et al.* (1933, 1936) obtuvo niveles importantes de protección contra *E. granulosus* después de múltiples inmunizaciones con antígenos extraídos de los protoescólices o de las membranas del quiste. Otros investigadores también consiguieron producir alguna protección contra *E. granulosus* después de la inmunización parenteral con antígenos (Forsek y Rukavina, 1959; Gemmell, 1962; Gill, 1969; Herd *et al.*, 1975; Aminzhanov, 1980). La inmunización de perros con antígenos obtenidos de especies heterólogas de tenídeos no ha inducido adecuadamente la inmunidad contra *E. granulosus* (Smyth *et al.*, 1970; Rickard *et al.*, 1975), aunque Gemmell *et al.* (1986) lograron una respuesta inmunitaria breve con la inyección parenteral de oncosferas activadas de *E. granulosus, T. hydatigena, T. ovis, T. multiceps, T. pisiformis* o *T. serialis*. La respuesta inmunitaria se manifestó en el número de parásitos *E. granulosus* que sobrevivieron las infecciones subsecuentes; su proliferación, ovogénesis o los tres parámetros.

Los reportes que describen algunos logros en la vacunación contra *E. granulosus* en perros, indican la necesidad de realizar más investigaciones para mejorar los resultados logrados hasta la fecha. Los métodos inmunoquímicos para caracterizar los componentes de *E. granulosus* que son antigénicos en perros (Gasser *et al.*, 1989, 1991) y la inmunización con antígenos recombinantes definidos (Gottstein *et al.*, 1990) son técnicas relativamente nuevas que comienzan a aplicarse en este terreno.

Respuestas inmunitarias a la infección hidatídica en el huésped intermediario

Se han emprendido pocos estudios para identificar los factores que regulan la susceptibilidad innata a la infección por huevecillos de *E. granulosus* o *E. multilocularis*. Los estudios de otras especies de tenídeos han indicado que aspectos como la edad del huésped, su género, su especie y su estado fisiológico influyen notablemente en la aparición de susceptibilidad/resistencia innatas a la infección (punto revisado por Rickard y Williams (1982). Es posible que actúen factores semejantes en la infección por huevecillos de *Echinococcus*. La inoculación intraperitoneal o subcutánea con protoescólices de *E. granulosus* o parte de una masa quística de *E. multilocularis* puede ocasionar hidatidosis secundaria que es posible "pasar" o transmitir a animales de laboratorio. Dichas infecciones han permitido contar con modelos de laboratorio para estudio de la hidatidosis, y gracias a ellos se ha sabido que la edad del huésped, su sexo y su especie influyen en la susceptibilidad/resistencia a la infección hidatídica (punto revisado por Heath, 1986).

Los huéspedes intermediarios de *E. granulosus* y *E. multilocularis* inician respuestas de tipo humoral y celular contra los parásitos (aspecto revisado por Heath, 1986), con lo cual obtienen resistencia importante contra la reinfección (Sweatman *et al.*, 1963; Yarulin, 1968; De Rycke y Pennoit de Cooman, 1973; Rau y Tanner, 1973; Aminzhanov, 1976). Quizá sea menor la contribución de estas respuestas inmunitarias a la destrucción del parásito después de su penetración inicial. Una fracción de los quistes hidatídicos en el hombre (Rausch *et al.*, 1987) y animales (Gemmell *et al.*, 1986) muere en algún momento después de la penetración original del parásito, de tal manera que se observan a simple vista las lesiones calcificadas que subsisten. No se sabe si la respuesta inmunitaria del huésped es la que mata a dichos parásitos. En el mismo huésped se observan las formas muerta y viable de los quistes fecundos, y en los ovinos la muerte de los quistes acaece predominantemente en los primeros dos años de ocurrida la infección (Gemmell *et al.*, 1986). En especies y subespecies de huéspedes refractarios a la infección por *E. multilocularis*, hay pruebas de que la respuesta inflamatoria del receptor se acompaña de limitación del crecimiento y de la producción de metástasis de la masa quística (Ali-Khan y Siboo, 1980). La timectomía y la administración de suero antitimocito también influyen en la proliferación y la diseminación de *E. multilocularis* en ratones (Baron y Tanner, 1976). A pesar de la aparición de respuestas inmunitarias específicas que pueden demostrarse fácilmente con técnicas *in vitro*, los quistes hidatídicos viables suelen persistir por periodos largos (Gemmell *et al.*, 1986; Rausch *et al.*, 1987). Además, los protoescólices de *E. granulosus* liberados por rotura accidental del quiste o durante una operación quirúrgica son capaces de generar quistes secundarios. Ello denota que en algunas circunstancias las respuestas inmunitarias a la infección primaria no protegen contra nuevas infecciones.

No se han identificado los mecanismos por los que los quistes hidatídicos establecidos sobreviven en huéspedes resistentes a la reinfección, que poseen anticuerpos y células capaces de destruir al parásito *in vitro* (Baron y Tanner, 1977). Existen pruebas de la contribución de

diversos mecanismos a la evasión lograda de los efectos protectores de las respuestas inmunitarias del receptor, contra las etapas larvarias de especies de tenias; incluyen el "ocultamiento" o "disimulación" de los antígenos superficiales por parte de antígenos derivados del huésped o similares a los que le son propios, inmunosupresión, secuestro antigénico e interferencia directa con los mecanismos efectores de defensa (punto revisado por Rickard y Williams, 1982). En la hidatidosis los estudios se han orientado a analizar la influencia del parásito en las respuestas inmunitarias específicas e inespecíficas del huésped. En animales de experimentación la infección por *E. granulosus* y *E. multilocularis* induce alteraciones patológicas en la arquitectura de órganos linfoides (Ali-Khan, 1978a; Riley *et al.*, 1985), alteraciones macroscópicas que se acompañan de otras similares en algunas respuestas inmunológicas. Durante la fase proliferativa de la masa de quistes larvarios de *E. multilocularis*, en ratones "permisivos" (en los que puede desarrollarse la infección), quedan suprimidas las respuestas protectoras mediadas por células contra los antígenos del parásito (Ali-Khan, 1978b) y se inhibe la quimiotaxia leucocítica (Alkarmi y Behbehani, 1989). Las alteraciones mencionadas reflejan cambios complejos en las respuestas del huésped y no inmunosupresión generalizada, porque no quedan suprimidas las respuestas inmunitarias de tipo celular contra antígenos inespecíficos (Ali-Khan, 1978b). La hidatidosis alveolar en el ser humano se acompaña de deficiencia en la función de los linfocitos B en los estudios *in vitro*, disminución en el número y porcentaje de los linfocitos B circulantes y una reducción en el número de los linfocitos en sangre periférica (Vuitton *et al.*, 1984). En ratones infectados por *E. granulosus* se observa menor reactividad a los mitógenos linfocíticos *in vitro* (Riley *et al.*, 1986), y supresión de la generación de anticuerpos contra antígenos de eritrocitos ovinos (Allan *et al.*, 1981). Los mismos investigadores demostraron que la supresión de la reactividad contra los antígenos eritrocíticos ovinos dependía de una población de células T supresoras que suprimían intensamente las respuestas contra los antígenos de ese tipo en ratones singénicos receptores normales en experimentos de transferencia adoptiva.

Otra manifestación inmunopatológica correlacionada de la infección hidatídica es la detección de autoanticuerpos contra muy diversos antígenos en enfermos infectados por *E. granulosus* o *E. multilocularis* (Pini *et al.*, 1983; Ben Izhak y Tatarsky, 1985; Ameglio *et al.*, 1987; Mori *et al.*, 1986). Un hecho particularmente interesante es la identificación de autoanticuerpos contra antígenos del complejo de histocompatibilidad mayor (Ameglio *et al.*, 1987) por la trascendencia que pueden tener estas moléculas en la presentación antigénica a linfocitos T en el desencadenamiento de respuestas inmunitarias. Pudiera importar que se ha propuesto la participación de los linfocitos T autoinmunitarios a los reactivos, en la supervivencia de quistes de *E. granulosus* (Allan *et al.*, 1981). Los protoescólices de *E. granulosus* expresan una proteína con una gran homología en la secuencia de aminoácidos, con la ciclofilina, una proteína humana (Lightowlers *et al.*, 1989). En el ser humano, la unión de la ciclosporina A a ciclofilina ejerce efectos supresores profundos en la función de los linfocitos T lo cual se debe en parte a la supresión de los pasos tempranos en la activación de dichas células. El grado de conservación de la secuencia de aminoácidos en esta proteína, entre el parásito cestodo y el hombre, sugiere que la molécula mencionada posee importancia biológica. Quizá sean simples coincidencias la relación entre la molécula de los mamíferos y la

inmunosupresión y la existencia de otra molécula muy semejante producida por un parásito que vive por largo tiempo en los tejidos. Sin embargo, si el parásito también produjera un ligando para la molécula similar a la de ciclofilina que poseyera algunas de las propiedades supresoras de la ciclosporina A, dicho ligando podría intervenir en la supervivencia a largo plazo de los quistes hidatídicos en huéspedes infectados. Herd *et al.*, (1993) han demostrado que la administración de ciclosporina A a ratones antes de ser infectados por protoescólices de *E. granulosus* ocasiona una disminución notable en el número de dichas estructuras, que se establecen como quistes secundarios. La administración de la ciclosporina A a ratones infectados indujo anormalidades en la ultraestructura de los quistes hidatídicos secundarios.

Vacunación contra infección por cestodos de tenias en sus huéspedes intermediarios

Algunos aspectos generales de las características inmunobiológicas de la infección por cestodos tenídeos en el huésped intermediario son comunes del grupo y han sentado las bases por las que cabe esperar que las investigaciones produzcan resultados satisfactorios y se tenga optimismo en este sentido. Incluyen los aspectos siguientes:

1. La inmunidad interviene de modo fundamental en la regulación natural de la transmisión. Los sujetos infectados muestran inmunidad muy intensa contra la reinfección (inmunidad concomitante).

2. Los anticuerpos en el calostro transfieren la protección de las hembras infectadas, a sus crías. También puede transferirse la inmunidad a receptores no infectados ("indemnes") por medio de sueros o anticuerpos purificados obtenidos de animales infectados.

3. La vacunación con extractos parasitarios sin refinar genera niveles altísimos de protección contra las reinfecciones.

4. El calostro, el suero de la madre o la transferencia de anticuerpos de los animales vacunados protege a los receptores contra nuevas infecciones.

Gran parte de la información inicial sobre la vacunación contra infecciones por cestodos y sus huéspedes intermediarios ha sido producto de estudios detallados en que se utilizó *T. taeniaeformis*, y esta especie ha seguido usándose como un modelo útil para investigaciones sobre vacunación contra este grupo de parásitos. Rickard y sus colaboradores también han obtenido y publicado abundante información práctica y útil respecto al empleo de vacunas para evitar la infección por *T. ovis* en ovinos, y *T. saginata* en bovinos (Rickard y Williams, 1982). En este sentido, los investigadores mencionados observaron que:

a) Una sola vacunación protege contra la infección durante todo un año (Rickard *et al.*, 1977);

b) Los anticuerpos en el calostro de hembras gestantes vacunadas protegen a sus crías contra la infección después de nacidas (Rickard *et al.*, 1977; Rickard *et al.*, 1977);

c) Es posible vacunar fructíferamente a las crías, incluso si han recibido anticuerpos protectores por medio del calostro (Rickard *et al.*, 1977);

d) Los estudios "de campo" o prácticos de las vacunas han detectado niveles notables de protección contra la infección natural (Rickard y White, 1976; Rickard *et al.*, 1982).

La limitación principal de la aplicación práctica de las vacunas para controlar estas parasitosis, reside en el abasto y disponibilidad del antígeno y tal situación también ocurre particularmente con *E. granulosus*. La fuente más potente del antígeno para las vacunas es la oncosfera. Es impráctico considerar, salvo en estudios experimentales, que se cuenta con suficiente antígeno preparado de las oncosferas. Se han señalado resultados limitados en la obtención de líneas celulares derivadas de parásitos tenídeos (Fiori *et al.*, 1988; Howell y Matthaei, 1988), pero extos experimentos no han generado datos prometedores para la producción de antígenos para vacunación. La única proposición práctica sería producir las moléculas del parásito *in vitro* valiéndose de técnicas de ADN recombinante. En 1989 se produjo una vacuna a base de antígenos recombinantes por el empleo de las técnicas mencionadas, contra la infección por *Taenia ovis* en ovinos, y fue la primera vacuna muy satisfactoria obtenida con esa técnica contra cualquier parasitosis (Johnson *et al.*, 1989). Los estudios prácticos o sobre el terreno han confirmado la eficacia de dicha vacuna que se ha registrado para distribución comercial.

Han sido relativamente pocos los estudios que se han ocupado de la vacunación contra la infección por huevecillos de *E. granulosus*. Entre los principales obstáculos con que se han topado los investigadores en este terreno están el peligro de la infección humana que surge al criar perros con vermes viables y activos y purificar los huevecillos para reinfecciones, así como el largo tiempo necesario después de las infecciones repetitivas para poder valorar la presencia de la infección (más de seis meses). Entre las ovejas infectadas y sus corderos no se ha observado transferencia pasiva de protección por medio del calostro (Heath & Yong, observaciones inéditas, citadas por Heath, 1986) en la medida en que se ha observado con otras especies de tenídeos, y ello quizá refleja el bajo título de anticuerpos séricos producidos contra el parásito hidatídico en ovejas (Lightowlers *et al.*, 1984).

Con la vacunación a base de oncosferas (Heath *et al.*, 1981) o sus productos en cultivos *in vitro* (Osborn y Heath, 1982) se ha logrado obtener niveles altísimos de protección en ovejas contra las infecciones repetitivas con huevecillos. Con los antígenos derivados del líquido de los quistes o de protoescólices no se han obtenido resultados tan satisfactorios (Dada y Belino, 1981; Turner *et al.*, 1937). Heat et al. (1981) observaron que dos aplicaciones subcutáneas o más de oncosferas activadas vivas de *E. granulosus* estimularon la aparición de protección casi completa contra infecciones repetitivas. Las inmunizaciones culminaron en la aparición de masas de quistes en el sitio de la inyección inicial, pero no se observaron tales

estructuras en el sitio en el cual se hicieron las nuevas aplicaciones de oncosferas. Algunas pruebas han hecho que Heath et al. (1981) concluyan que la oncosfera activada o alguna fase en el desarrollo del parásito antes de los 14 días de vida estimulan la resistencia. Osborne y Heath (1982) en un experimento de vigilancia seriada, señalaron que no se necesitaba utilizar parásitos vivos para lograr la inmunización y se obtenían niveles altos de protección por empleo de productos de cultivo *in vitro*, obtenidos de oncosferas activadas de *E. granulosus*.

Elaboración satisfactoria de una vacuna contra la hidatidosis por empleo de antígeno recombinante

La investigación por colaboración entre el Laboratorio de Parasitología Molecular de la Universidad de Melbourne, y AgResearch de Nueva Zelanda ha permitido la elaboración de una vacuna definida que protege a los ovinos contra infecciones repetitivas por *Echinococcus granulosus* (Lightowlers y Heath, datos inéditos). Es posible utilizar la vacuna como un medio para controlar la transmisión de los parásitos hidatídicos, en sus huéspedes intermediarios naturales, como parte de las campañas de lucha contra la hidatidosis. En el cuadro siguiente presentamos los resultados de dos investigaciones independientes, que usaron el antígeno recombinante de oncosferas para vacunar a los ovinos contra infecciones subsecuentes por huevecillos de *E. granulosus*:

Optimización de la vacuna

Es necesario investigar algunos aspectos del empleo de la vacuna que incluyen:

- Número de vacunaciones necesarias
- Duración de la inmunidad
- Transferencia pasiva de la inmunidad a neonatos
- Edad mínima en la que pueden vacunarse los animales
- Efecto de la infección previa en la reacción a la vacuna
- Eficacia de la vacuna contra cepas "diferentes" de *E. granulosus*
- Eficacia de la vacuna contra la infección en diferentes especies de huéspedes intermediarios como bovinos, cabras, yaks, caballos, asnos y camellos
- Efecto de la vacuna en los quistes hidatídicos establecidos

	No. de Ovinos	No. de Quistes		Protección
		Media	Límites	
Investigación 1				
Animales vacunados	10	5.4	0-16	96%
Testigos	8	156.6	70-270	
Investigación 2				
Animales Vacunados	5	8.4	0-22	97%
Testigos	5	256	32-445	

Aspectos epidemiológicos y simulación por computadora

En circunstancias ideales, la composición y características de la vacuna deberían ser tales que permitan inmunizar a animales de corta edad mientras aún están protegidos por los anticuerpos que recibieron de su madre, y que una sola vacunación generaría inmunidad permanente; sin embargo, es poco probable que se cuente con dicha vacuna "ideal". A pesar de ello, es posible precisar las normas de eficacia que deben exigirse para que la vacuna sea eficaz y práctica. Dichas normas se establecerán en colaboración con expertos en epidemiología de hidatidosis, por medio de simulación con computadora y lucha contra dichas enfermedades.

Posibilidades de refinamiento de la vacuna

Vacunación en el hombre Es posible que la vacuna sea eficaz para evitar la infección por *E. granulosus* si se aplica directamente al hombre; tal situación sería particularmente válida en áreas fuertemente endémicas y en las que la transmisión selvática constituye un mecanismo importante de aparición de la infección.

Vectores víricos vivos o bacterianos de la vacuna La tecnología de administración de la vacuna cuenta ya con medios para introducir el antígeno por medio de vectores recombinantes vivos; dichos vectores tienen la capacidad de simplificar enormemente el método de vacunación, y tal meta se puede lograr por el empleo de alimentos o "cebos" impregnados. El empleo de vectores vivos hace que sea factible también la inmunización de huéspedes selváticos.

Comercialización e investigaciones por colaboración

La Universidad de Melbourne y el organismo AgResearch investigan la participación de las compañías comerciales en el refinamiento de la vacuna. Además, será de máxima importancia la colaboración de otros grupos de investigadores que tengan interés en la epidemiología y la lucha contra la enfermedad hidatídica, en la valoración de la vacuna en forma directa "sobre el terreno", y seguramente será bien recibida.

Conclusiones

La obtención y el perfeccionamiento recientes de una vacuna recombinante contra la infección por *E. granulosus* en ovinos ha despertado enorme esperanza para el empleo práctico de la vacunación como medio para controlar la transmisión de la enfermedad hidatídica quística. Sin embargo, sería atractivo vacunar a los huéspedes definitivos de *E. granulosus* y no a los intermediarios y los niveles pequeños, irregulares (o con ambas características) de la inmunidad, que se han demostrado contra el parásito adulto en perros, sugieren que tal procedimiento probablemente no produzca buenos resultados. La vacuna que se ha preparado y que es eficaz contra la hidatidosis en ovinos no sustituirá a otras medidas de lucha contra la enfermedad. Más bien será útil como una medida adicional de las campañas contra los cánidos y la enseñanza del público. La ventaja principal de utilizar la vacuna sería disminuir la duración de las campañas de lucha. En la actualidad se necesitan periodos largos de control para lograr índices muy pequeños de transmisión y erradicación. El empleo de la vacuna en combinación con otras medidas de control disminuirá en grado importante la duración de los esfuerzos y otros procedimientos para alcanzar estas metas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Ali-Khan, Z. (1978a) Cellular changes in the lymphoreticular tissues of C57L/J mice infected with *Echinococcus multilocularis* cysts. *Immunology* 34: 831-839.

Ali-Khan, Z. (1978b) *Echinococcus multilocularis*: cell-mediated immune response in early and chronic alveolar murine hydatidosis. *Experimental Parasitology* **46**: 157-165.

Ali-Khan, Z. y Siboo, R. (1980) Pathogenesis and host response in subcutaneous alveolar hydatidosis. I. Histogenesis of alveolar cyst and a qualitative analysis of the inflammatory infiltrates. *Zeitschrift für Parasitenkund* **62**: 241-254.

Alkarmi, T. y Behbehani, K. (1989) *Echinococcus multilocularis*: inhibition of murine neutrophil and macrophage chemotaxis. *Experimental Parasitology* **69**: 16-22.

Allan, D., Jenkins, P., Connor, R.J. y Dixon, J.B. (1981) A study of immunoregulation of BALB/c mice by *Echinococcus granulosus equinus* during prolonged infection. *Parasite Immunology* **3**: 137-142.

Ameglio, F., Saba, F., Bitti, A., Aceti, A., Tanigaki, N., Sorrentino, R., Dolei, A. y Tosi, R. (1987) Antibody reactivity to HLA classes I and II in sera from patients with hydatidosis. *Journal of Infectious Diseases* **156**: 673-676.

Aminzhanov, M. (1976) [Biology of *Echinococcus granulosus* in the body of sheep]. *Veterinariya, Moscow* **7**: 68-70.

Aminzhanov, M. (1980) [Immunoprophylaxis of hydatidosis in aminals.] En ruso. *Trudy Uzbekskogo Nauchno-Issledovatel'skogo Instituta Veterinarii* **30**: 15-18.

Baron, R.W. y Tanner, C.E. (1976) The effect of immunosuppression on secondary *Echinococcus multilocularis* infections in mice. *International Journal for Parasitology* **6**: 37-42.

Baron, R.W. y Tanner, C.E. (1977) *Echinococcus multilocularis* in the mouse: the in vitro protoscolicidal activity of peritoneal macrophages. *International Journal for Parasitology* **7**: 489-495.

Ben Izhak, O. y Tatarsky, I. (1985) Positive direct antiglobulin test associated with echinococcosis: a case report. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **88**: 389-390.

Clapham, P.A. (1940) Studies on *Coenurus glomeratus*. *Journal of Helminthology* **18**: 45-52.

Dada, B.J. y Belino, E.D. (1981) Immunization of sheep against cystic hydatidosis with homologous and heterologous metacestode antigens. *International Journal of Zoonoses* **8**: 20-25.

De Rycke, P.H. y Pennoit de Cooman, E. (1973) Experimental secondary echinococcosis of *Echinococcus granulosus*. IV. Vaccination of host mice. *Zeitschrift für Parasitenkund* **42**: 49-59.

Fiori, P.L., Monaco, G., Scappaticci, S., Pugliese, A., Canu, N. y Cappuccinelli, P. (1988) Establishment of cell cultures from hydatid cysts of *Echinococcus granulosus*. *International Journal for Parasitology* **18**: 297-305.

Forsek, Z. y Rukavina, J. (1959) [Experimental immunization of dogs against *Echinococcus granulosus*. 1. Preliminary findings.] En yugoslavo. *Veterinaria Yugoslavia* **8**: 479-482.

Gasser, R.B., Lightowlers, M.W., Obendorf, D.L., Jenkins, D.J. y Rickard, M.D. (1988) Evaluation of a serological test system for the diagnosis of natural *Echinococcus granulosus* infection in dogs using *E. granulosus* protoscolex and oncosphere antigens. *Australian Veterinary Journal* **65**: 369-373.

Gasser, R.B., Lightowlers, M.W. y Rickard, M.D. (1989) Identification of protein components of *Echinococcus granulosus* protoscolex antigens for specific serodiagnosis of *E. granulosus* infection in dogs. *Parasite Immunology* **11**: 279-291.

Gasser, R.B., Lightowlers, M.W. y Rickard, M.D. (1991) *Echinococcus granulosus*: antigenic proteins in oncospheres and on the surface of protoscoleces identified by serum antibodies from infected dogs. *Research in Veterinary Science* **50**: 340-345.

Gemmell, M.A. (1962) Natural y acquired immunity factors interfering with development during the rapid growth phase of *Echinococcus granulosus* in dogs. *Immunology* **5**: 495-503.

Gemmell, M.A., Lawson, J.R. and Roberts, M.G. (1986) Population dynamics in echinococcosis and cysticercosis: biological parameters of *Echinococcus granulosus* in dogs and sheep. *Parasitology* **92**: 599-620.

Gill, H.S. (1969) Vaccination trials against *Echinococcus granulosus* infection in dogs. *J.Commun.Dis.* **1**: 258-262.

Gottstein, B., Müller, N., Cryz, S.J.J., Vogel, M., Tanner, I. y Seebeck, T. (1990) Humoral and cellular immune response in mice and dogs induced by a recombinant *Echinococcus multilocularis* antigen produced by a *Salmonella typhimurium* vaccine strain. *Parasite Immunology* **12**: 163-174.

Heath, D.D. (1986) Immunobiology of Echinococcus infections. En: Thompson, R.C.A. (ed) The biology of *Echinococcus* and hydatid disease. George Allen and Unwin, Londres, pp.164-188.

Heath, D.D., Parmeter, S.N., Osborn, P.J. y Lawrence, S.B. (1981) Resistance to *Echinococcus granulosus* infection in lambs. *Journal of Parasitology* **67**: 797-799.

Herd, R.P., Chappel, R.J. y Biddell, D. (1975) Immunization of dogs against *Echinococcus granulosus* using worm secretory antigens. *International Journal for Parasitology* **5**: 395-399.

Hopkins, C.A. (1980) Immunity and *Hymenolepis diminuta*. In: Arai, H. (ed) Biology of the tapeworm *Hymenolepis diminuta*. Academic Press, Londres, pp.551-614.

Howell, M.J. y Matthaei, K. (1988) Points in question. In vitro culture of host or parasite cells? *International Journal for Parasitology* **18**: 883-884.

Hurd, H., Mackenzie, K.S. y Chappell, L.H. (1993) Anthelmintic effects of cyclosporin A on protoscoleces and secondary hydatid cysts of *Echinococcus granulosus* in the mouse. *International Journal for Parasitology* **23**: 315-320.

Ito, A. y Smyth, J.D. (1987) Adult cestodes - immunology of the lumen-dwelling cestode infections. En: Soulsby, E.J.L. (ed) Immune responses in parasitic infections: immunology, immunopathology and immunoprophylaxis. Vol 2: trematodes and cestodes. CRC Press, Boca Ratón, pp.115-163.

Jenkins, D.J. y Rickard, M.D. (1985) Specific antibody responses to *Taenia hydatigena*, *Taenia pisiformis* and *Echinococcus granulosus* infection in dogs. *Australian Veterinary Journal* **62**: 72-78.

Johnson, K.S., Harrison, G.B., Lightowlers, M.W., O'Hoy, K.L., Cougle, W.G., Dempster, R.P., Lawrence, S.B., Vinton, J.G., Heath, D.D. y Rickard, M.D. (1989) Vaccination against ovine cysticercosis using a defined recombinant antigen. *Nature* **338**: 585-587.

Lightowlers, M.W. (1990a) Immunology and molecular biology of *Echinococcus* infections. *International Journal for Parasitology* **20**: 471-478.

Lightowlers, M.W. (1990b) Cestode infections in animals: immunological diagnosis and vaccination. *Review Scientifique et Technique de l'Office International des Epizootes* **9**: 463-487.

Lightowlers, M.W., Haralambous, A. y Rickard, M.D. (1989) Amino acid sequence homology between cyclophilin and a cDNA-cloned antigen of *Echinococcus granulosus*. *Molecular and Biochemical Parasitology* **36**: 287-289.

Lightowlers, M.W., Mitchell, G.F. y Rickard, M.D. (1993) Cestodes. En: Warren, K.S. y Agabian, N. (eds), Immunology and molecular biology of parasitic infections. Blackwell Scientific, Cambridge, pp.438-472.

Lightowlers, M.W., Rickard, M.D., Honey, R.D., Obendorf, D.L. y Mitchell, G.F. (1984) Serological diagnosis of *Echinococcus granulosus* infection in sheep using cyst fluid antigen processed by antibody affinity chromatography. *Australian Veterinary Journal* **61**: 101-108.
Miller, H.M. (1932) Superinfection of cats with *Taenia taeniaeformis*. *Journal of Preventive Medicine* **6**: 17-29.

Mori, H., Wernli, B., Weiss, N. y Franklin, R.M. (1986) Autoantibodies in humans with cystic or alveolar echinococcosis. *Transactions of the Royal Society for Tropical Medicine and Hygiene* **80**: 978-980.

Movsesijan, M. y Mladenovic, Z. (1970) [Active immunization of dogs against *Echinococcus granulosus*.] En croata. *Veterinarski Glasnik* **24**: 189-193.

Movsesijan, M., Sokolic, A. y Mladenovic, Z. (1968) Studies on the immunological potentiality of irradiated *Echinococcus granulosus* forms: immunization experiments in dogs. *British Veterinary Journal* **124**: 425-432.

Osborn, P.J. y Heath, D.D. (1982) Immunisation of lambs against *Echinococcus granulosus* using antigens obtained by incubation of oncospheres in vitro. *Research in Veterinary Science* **33**: 132-133.

Pini, C., Pastore, R. y Valesini, G. (1983) Circulating immune complexes in sera of patients infected with *Echinococcus granulosus*. *Clinical and Experimental Immunology* **51**: 572-578.

Rau, M.E. y Tanner, C.E. (1973) *Echinococcus multilocularis* in the cotton rat. The effect of preexisting subcutaneous cysts on the development of a subsequent intraperitoneal inoculum of protoscolices. *Canadian Journal of Zoology* **51**: 55-59.

Rausch, R.L., Wilson, J.F., Schantz, P.M. y McMahon, B.J. (1987) Spontaneous death of *Echinococcus multilocularis*: cases diagnosed serologically (by Em2 ELISA) and clinical significance. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **36**: 576-585.

Rickard, M.D., Adolph, A.J. y Arundel, J.H. (1977) Vaccination of calves against *Taenia saginata* infection using antigens collected during *in vitro* cultivation of larvae: passive protection via colostrum from vaccinated cows and vaccination of calves protected by maternal antibody. *Research in Veterinary Science* **23**: 365-367.

Rickard, M.D., Boddington, E.B. y McQuade, N. (1977) Vaccination of lambs against *Taenia ovis* infection using antigens collected during *in vitro* cultivation of larvae: passive protection via colostrum from vaccinated ewes and the duration of immunity from a single vaccination. *Research in Veterinary Science* **23**: 368-371.

Rickard, M.D., Brumley, J.L. y Anderson, G.A. (1982) Field trial to evaluate the use of antigens from *Taenia hydatigena* oncospheres to prevent infection with *Taenia saginata* in cattle grazing on sewage-irrigated pasture. *Research in Veterinary Science* **32**: 189-193.

Rickard, M.D., Coman, B.J. y Cannon, R.M. (1977) Age resistance and acquired immunity to *Taenia pisiformis* infection in dogs. *Veterinary Parasitology* **3**: 1-9.

Rickard, M.D., Parmeter, S.N. y Gemmell, M.A. (1975) The effect of development of *Taenia hydatigena* larvae in the peritoneal cavity of dogs on resistance to a challenge infection with *Echinococcus granulosus*. *International Journal for Parasitology* **5**: 281-283.

Rickard, M.D. y White, J.B. (1976) Vaccination of lambs against infection with *Taenia ovis*. *Australian Veterinary Journal* **52**: 209-214.

Rickard, M.D. y Williams, J.F. (1982) Hydatidosis/cysticercosis: immune mechanisms and immunization against infection. *Advances in Parasitology* **21**: 229-296.

Riley, E.M., Dixon, J.B., Jenkins, P. y Ross, G. (1986) *Echinococcus granulosus* infection in mice: host responses during primary and secondary infection. *Parasitology* **92**: 391-403.

Riley, E.M., Dixon, J.B., Kelly, D.F. y Cox, D.A. (1985) The immune response to *Echinococcus granulosus*: sequential histological observations of lymphoreticular and connective tissues during early murine infection. *Journal of Comparative Pathology* **95**: 93-104.

Smyth, J.D., Gemmell, M.A. y Smyth, M.M. (1970) Establishment of *Echinococcus granulosus* in the intestine of normal and vaccinated dogs. En: Sign, K.S. y Tandan, B.K. (eds), H.D.Srivastava commemorative volume. Indian Veterinary Research Institute, Uttar Pradesh, pp.167-178.

Sweatman, G.K., Williams, R.J., Moriarty, K.M. y Henshall, T.C. (1963) On acquired immunity to *Echinococcus granulosus* in sheep. *Research in Veterinary Science* **4**: 187-198.

Turner, E.L., Berberian, D.A. y Dennis, E.W. (1933) Successful artificial immunization of dogs against *Taenia echinococcus*. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* **30**: 618-619.

Turner, E.L., Berberian, D.A. y Dennis, E.W. (1936) The production of artificial immunity in dogs against *Echinococcus granulosus*. *Journal of Parasitology* **32**: 14-28.

Turner, E.L., Dennis, E.W. y Berberian, D.A. (1937) The production of artificial immunity against hydatid disease in sheep. *Journal of Parasitology* **23**: 43-61.

Vuitton, D.A., Lasségue, A., Miguet, J.P., Hervé, P., Barale, T., Seilles, E. y Capron, A. (1984) Humoral and cellular immunity in patients with hepatic alveolar echinococcosis. A 2 year follow-up with and without flubendazole treatment. *Parasite Immunology* **6**: 329-340.

Vukovic, V. (1949) [Infection and superinfection of the dog with *Taenia hydatigena*.] En serbio. *Archives des Sciences Biologiques Belgrade* **1**: 258-261.

Williams, J.F. y Shearer, A.M. (1981) Longevity and productivity of *Taenia taeniaeformis* in cats. *American Journal of Veterinary Research* **42**: 2182-2183.

Yarulin, G.R. (1968) [Study of the development of hydatid cysts during experimental infection of lambs.]. *Izvestiia Akademii Nauk SSSR.Seriia Biologicheskaia,Moscow* pp.378-382.