

LA VACUNA EG95 PARA PREVENIR HIDATIDOSIS

Jensen Oscar¹, Sánchez Thevenet Paula², Fernandez Eduardo¹,
Fernandez Ricardo¹, Martinez Gustavo¹, Lopardo Jorge¹, Mosello Mafalda¹,
Lightowers Marshall³, Heath David⁴

¹ Departamento Zoonosis, Secretaría de Salud, Provincia del Chubut, Argentina.

² Universidad Nacional de la Patagonia, Chubut, Argentina. ³ Universidad de Melbourne, Australia.

⁴ Centro de Investigación Animal, Nueva Zelanda.

Chacra N°18, CP 9020 Sarmiento, Chubut, Argetnina hidatidosis@coopsar.com.ar

INTRODUCCIÓN

La hidatidosis es una zoonosis erradicable. El ciclo del parásito se conoce desde 1853, se realizan campañas de educación sanitaria y control de faena desde 1864, se iniciaron las desparasitaciones caninas programadas con un tenífugo en 1890 y se incorporó un tenicida en 1975.

La educación sanitaria, el control de faena y la desparasitación canina, teniendo al perro como actor principal, fueron herramientas suficientes para la erradicación de la hidatidosis en ámbitos insulares, como Islandia, Tasmania y Nueva Zelanda. Estos logros no se pudieron repetir en ámbitos continentales.

La hidatidosis constituye en Argentina, Uruguay, Chile, Perú y Bolivia un serio problema socioeconómico, que afecta la salud de sus habitantes y deteriora la producción ganadera. Los programas de control desestabilizan el ciclo de la enfermedad, mediante la desparasitación periódica de perros, la educación sanitaria de la población expuesta y el control de faena.

La incorporación de acciones en la línea ovina, que prevengan la infección y disminuyan la oferta de quistes hidatídicos QH, abre nuevas perspectivas a los programas de control, al posibilitar atacar al ciclo de la enfermedad hidatídica en un nuevo frente y así disminuir el tiempo en lograr el control de la enfermedad.

Una efectiva vacuna para proteger a los ovinos, y también a otros hospedadores intermediarios como los caprinos, bovinos, porcinos y camélidos sudamericanos, contra la infección por *Echinococcus granulosus*, será un arma de gran utilidad. (1)

El Laboratorio de Parasitología Molecular de la Universidad de Melbourne en Australia, el Centro de Investigación Animal de Nueva Zelanda y el Departamento Zoonosis de la Secretaría de Salud de Chubut en Argentina, desarrollan y evalúan la vacuna experimental denominada EG95. (2)

INMUNIDAD EN EL HOSPEDADOR INTERMEDIARIO

E. granulosus infecta sus hospederos en formas diversas y con algunas variaciones en su ciclo vital. La variabilidad de hospederos intermediarios y de órganos afectados puede influir en la respuesta inmunitaria del hospedador al parásito. Las formas parasitarias que pueden desencadenar esta respuesta inmunitaria en el huésped intermediario son la oncosfera

invasora, el quiste hidatídico maduro y los protoescólices liberados después de la rotura del quiste hidatídico. (3).

Algunos aspectos generales de las características inmunobiológicas de la infección por cestodos taenidos en el huésped intermediario son comunes del grupo e incluyen los aspectos siguientes:

- a- La inmunidad interviene de modo fundamental en la regulación natural de la transmisión. Los sujetos infectados muestran inmunidad intensa contra la reinfección.
- b- Los anticuerpos en el calostro transfieren la protección de las hembras infectadas a sus crías. También puede transferirse la inmunidad a receptores no infectados por medio de sueros o anticuerpos purificados obtenidos de animales infectados.
- c- La vacunación con extractos parasitarios sin refinar genera niveles altísimos de protección contra las reinfecciones.
- d- El calostro, el suero de la madre o la transferencia de anticuerpos de los animales vacunados protege a los receptores contra nuevas infecciones. (3).

Gran parte de la información inicial sobre la vacunación contra infecciones por cestodos y sus hospederos intermediarios ha sido producto de estudios detallados en que se utilizó *Taenia taeniaeformis*, y esta especie ha seguido usándose como un modelo útil para investigaciones sobre vacunación contra este grupo de parásitos. (4).

La limitante principal de la aplicación práctica de las vacunas para controlar estas parasitosis, reside en el abastecimiento y disponibilidad de antígeno; y tal situación también ocurre con *E. granulosus*. La fuente más potente del antígeno para las vacunas es la oncosfera. (3)

En 1989, en Nueva Zelandia, se produjo una vacuna a base de antígenos recombinantes, contra la infección por *Taenia ovis* en ovinos, y fue la primera vacuna muy satisfactoria obtenida con esta técnica contra una parasitosis. (5).

LA VACUNA EXPERIMENTAL EG 95

La vacuna desarrollada por M.W. Lightowlers, D.D.Heath y colaboradores, denominada EG95, es una proteína recombinante clonada a partir de RNAm obtenido de la oncosfera del parásito que, expresada como una proteína de fusión y aplicada junto con el adyuvante Quil A, protege frente a la infección por *E. granulosus* al inducir anticuerpos específicos contra la oncosfera del parásito. El parásito es eliminado cuando ocurre la infección, antes de poder establecerse en los tejidos del huésped. Es una preparación proteica purificada, no infecciosa, no tóxica, no contaminante, producida mediante ingeniería genética, expresada en *Escherichia coli*. (6)

Los ensayos establecieron que la cantidad de antígeno necesaria era de 50 µg de proteína EG95 para ovinos y caprinos y mostraron que Quil A fue el adyuvante disponible que promovió el nivel más alto y la persistencia más larga en la protección, con una mínima reacción en el sitio de la inyección a una dosis de 1 mg. (6)

Utilizando el doble de la dosis recomendada superó las pruebas sobre posibles reacción locales y sistémicas. No se detectaron problemas al vacunar corderos entre 4 semanas y 8 semanas de edad y hembras en etapa de gestación. En las provincias de Inghai y Xinjianga de China se realizaron pruebas de gran escala vacunando 50.000 y 100.000 corderos y no fueron reportados problemas. (6)

La vacuna se presenta liofilizada y es reconstituida antes de su aplicación, con la finalidad de prolongar su tiempo de almacenaje. Esta vacuna podrá incorporarse a otras vacunas clostridiales, bacterianas o antiparsitario, pero se perderá la capacidad de ser liofilizada.

ENSAYOS DE LA VACUNA EG95 EN ARGENTINA

Los animales de los ensayos fueron “rumiantes menores” de menos de 25 semanas, no expuestos a la infección por *E. granulosus* y siguieron el calendario sanitario del establecimiento donde se realizó el ensayo. La vacuna liofilizada fue reconstituída una hora antes con agua destilada y aplicada en forma subcutánea en la tabla del cuello o la axila, a la dosis de 50 ug de la proteína EG95 y 1 mg de adyuvante Quil A, en un volumen de 2 ml. (2)

Los corderos y/o chivos vacunados y testigos fueron desafiados por vía oral con aproximadamente 2.000 huevos de *E. granulosus*, obtenidos de perros naturalmente infectados, según el protocolo de cada ensayo

Entre los 8 y 14 meses de producida la infección, los ovinos fueron sacrificados, bajo condiciones que permitieron el examen detallado de la res y de las vísceras, especialmente el hígado, los pulmones, los riñones, el bazo y el cerebro, que se cortaron en trozos de 1 a 2 mm, en búsqueda de QH. (2)

a.- Con Ovinos

El ensayo Chubut N° 1, se inicia en mayo de 1995, con 20 corderos Merino. Diez fueron protegidos con dos dosis de vacuna EG95 con 4 semanas entre ambas dosis. Todos fueron desafiados, 4 semanas después. Transcurridos 14 meses de efectuada la infección, todos los ovinos que finalizaron la prueba, (7 del grupo vacunado y 10 testigos), fueron sacrificados en búsqueda de QH. En el 100% de los animales testigos (10/10), se encontraron QH. Fueron detectados en total 232 quistes hidatídicos. En el grupo vacunado, un ovino (1/7), presentó un (1) quiste hidatídico viable, de 2 mm. La protección resultante fue del 99.4 %. (2)

El ensayo Chubut N° 2, se inicia en mayo de 1996, con 20 corderos Merinos, de 6 meses de edad, en un campo de 2.500 hectáreas. Diez fueron protegidos con tres dosis de vacuna EG95. Todos fueron desafiados. En el grupo testigo se encontró una media de 92 QH. En el grupo vacunado no se encontraron quistes. La protección resultante fue del 100%. (2)

El ensayo Chubut N° 3, se inicia en abril de 1997, con 90 corderos, raza Merino de 6 meses de edad. El objetivo fue evaluar el número de dosis y tiempo de protección. Sesenta corderos fueron protegidos con una dosis de vacuna EG95 y treinta de ellos recibieron una segunda dosis a los 45 días. Treinta quedaron como testigos. Se realizaron desafíos en distintos grupos y tiempos. En los testigos examinados se encontraron una media de 219 quistes. Con una sola dosis de la vacuna se logró una protección del 85 % para la infección con *E. granulosus* a los 3 meses de la última dosis y del 82% a los 12 meses. Con dos dosis de vacuna resultó una protección del 99% para 4 meses y del 98% para 11 meses post vacuna. (2)

El ensayo Chubut N° 4, se inició en mayo del 97, en un lote de 10 ovejas Texel, servidas en el otoño. El objetivo fue evaluar la transferencia calostrual de inmunidad. Las madres fueron protegidas con dos dosis de vacuna EG95 y fueron desafiados sus corderos con 2.000 huevos

de *E. granulosus*. La protección resultante fue del 98% hasta los 40 días de vida de los corderos.

El ensayo Chubut N° 5, se inicia en la primavera de 1.999 con ovejas Texel previamente vacunadas. El objetivo fue evaluar la interferencia de la inmunidad calostrual. Se estudiaron los calostros, los sueros de sus corderos y los sueros de corderos hijos de madres no vacunadas. Todos los corderos fueron vacunados con una dosis de EG95, a los tres meses. Por un ensayo k-Elisa se evaluaron los sueros para determinar los niveles de actividad anticuerpo y por un ensayo inmunoblot los sueros y el calostro para revelar actividad anti-EG95. La inmunidad calostrual no interfirió con la respuesta de anticuerpos en los corderos vacunados.

b.- Con Caprinos

El ensayo Neuquén N° 6, se inició en mayo de 2001, con 40 chivos, raza Angora de 6 meses de edad, divididos en cuatro grupos, en el marco del convenio de cooperación científica entre el Ministerio de Desarrollo Social de la Provincia de Neuquén y el Ministerio de Salud de la Provincia de Chubut. El objetivo fue evaluar en caprinos, la vacuna recombinante EG95, bajo condiciones controladas. Los grupos a, b, y c fueron protegidos con una y dos dosis de vacuna Eg95 producida en 2001, 1999 y 1997 respectivamente y conservadas en forma liofilizada a 4 C°.-

A la necropsia no se encontraron QH en los caprinos vacunados con dos dosis y se encontraron QH en el 15% de los caprinos con una dosis. Los niveles de protección fueron similares a los detectados en ovinos y no se encontraron diferencias significativas en el nivel de protección entre la vacuna producida en 1997, 1999 y 2001.-

DURACION DE LA INMUNIDAD

Ensayos realizados en China y en Argentina con animales que recibieron dos dosis con 1 mes de intervalo y fueron desafiados entre los 6 meses y 12 meses posteriores fueron protegidos entre el 82 y 97%. En un ensayo realizado en Argentina con 3 dosis se logró una protección del 100%.

La tercera dosis logra un nivel más alto de anticuerpos y una mayor protección. Esta inmunidad podría mantenerse por un período prolongado. (2,6)

NUMEROS DE DOSIS

En ensayos realizados en Argentina con una sola dosis y el desafío realizado a los 5 y 12 meses se logró una protección del 82 y 85 %. En ensayos realizados en Australia, Argentina, China y Nueva Zelandia con dos dosis se lograron protecciones entre el 83% y 99%. Los ovinos que recibieron una tercera dosis un año después y fueron desafiados al mes fueron protegidos en un 100%. (2,6)

LA VACUNA EN LOS HOSPEDADORES INTERMEDIARIOS

La vacuna, debería permitir inmunizar a hospedadores intermediarios de corta edad mientras aún están protegidos por los anticuerpos que recibieron de sus madres, y mantener los niveles

protectivos con un refuerzo anual, que será administrado, a las madres en los trabajos previos a la parición y al resto de los animales en su primera entrada a los corrales, luego del invierno. Los ensayos realizados indican que el procedimiento de elección, son dos dosis de vacuna con un mes de separación y luego un refuerzo anual. (6,7)

Es necesario un nivel alto de anticuerpos para matar cualquier nueva oncosfera que invada el organismo. Si una nueva oncosfera invade el organismo y necesita estimular las células de memoria para producir anticuerpos, cuando estos estén disponibles, la oncosfera se transformará en QH y no será afectado. Los hospedadores intermediarios deben tener anticuerpos circulantes suficientes para matar la oncosfera cuando los animales pastan en los alrededores de los cascros de estancias, secciones y puestos; potreros, corrales y galpones; lugar donde se estima la mayor contaminación por materia fecal canina y huevos de *E. granulosus*.

Esquema de vacunación para “rumiantes menores” en Argentina

Para determinar los esquemas de vacunación debemos tener en cuenta las áreas con bajo y alto riesgo de contraer hidatidosis, que están establecidas por los programas de control y el tipo de manejo que realiza cada establecimiento. Los establecimientos con pastoreo extensivo y traslado de las majadas a los potreros y corrales de los cascros, secciones y puestos solo para los trabajos de desoje, señalada, esquila y tratamiento sanitarios, deben tener un esquema diferente a los pequeños establecimientos, granjas y chacras donde se realiza encierre nocturno y/o donde los animales pastan en las cercanías de las casas, con un probable mayor riesgo de infección. (8,9)

Para todos los rumiantes menores de Argentina en el inicio del esquema de vacunación se debe aplicar dos dosis a todos los animales. La primera en los trabajos previos a la parición y la segunda en la esquila.

En zonas de alto riesgo es necesario un refuerzo anual a todos los rumiantes en los trabajos previos a la parición. Los corderos y chivitos recibirán la primera dosis en la señalada. Durante los trabajos de esquila de los adultos, se aplica la segunda dosis a los corderos y chivitos y se completa el esquema en el resto de los rumiantes menores.

En zonas de bajo riesgo un refuerzo anual a las madres en los trabajos previos a la parición y en coincidencia con la segunda dosis a los corderos y chivitos en la esquila, es conveniente. Esto lograría proteger a los rumiantes menores que pastan en los potreros cercanos a los cascros y/o puestos, que generalmente son los animales de mayor valor tales como los planteles, reproductores y animales de consumo.

En las chacras, granjas y pequeños establecimientos, donde se practica el encierre nocturno y/o que los rumiantes menores pastan cerca de la casa, los animales deberían entrar a la primavera con alto nivel de anticuerpos y los corderos y chivitos deberían recibir la primera dosis a las 4 semanas.

En los sistemas de veranada-invernada todos los rumiantes menores deberán iniciar los arrees con un nivel alto de anticuerpos; con la segunda dosis y/o el refuerzo anual aplicado.

La disponibilidad de una vacuna contra hidatidosis en rumiantes menores:

Permitirá a los Programas de hidatidosis disminuir el tiempo en controlar la enfermedad en su territorio, al poder atacar el ciclo de la enfermedad en un nuevo frente. (8,9)

La vacuna les **permitirá** acentuar la reducción de la oferta de QH disponibles para los hospederos definitivos, lo que implica reducir la biomasa parasitaria disponible para los hospederos intermediarios, ayudando así a disminuir el riesgo de enfermar de las personas.

Ofrecerá al productor ganadero una nueva alternativa, que deberá sumar a las hoy disponibles: como la desparasitación periódica de sus perros, la educación sanitaria de su personal y el control de su faena, para erradicar la hidatidosis de su establecimiento.

Será una herramienta adicional para que los países insulares y continentales afectados por las hidatidosis, inicien el camino hacia el control definitivo de la enfermedad.

COMENTARIOS

El 16 de Junio de 1.995 se vacunó al primer cordero en Chubut, Argentina, a fines del año 1.997 ya se tenía resultados alentadores, que se confirmaron al finalizar las distintas experiencias realizadas, a fines del año 1.999.

El 01 de Mayo de 2.002 se iniciaron ensayos en la Provincia de Neuquén, con caprinos que finalizaron en el 2003.

En los inicios del año 2.006, los programas de control AUN NO DISPONEN de esta vacuna exitosa en la faz experimental, para su aplicación en forma masiva. Ningún laboratorio privado u oficial, produce la “Vacuna EG95”.

Lamentablemente se siguen enfermando ovinos, caprinos y otros rumiantes, afectando la economía ganadera y manteniendo la oferta de QH para perpetuar el ciclo de la Hidatidosis.

Lamentablemente se siguen enfermando CHICOS, en nuestra Patagonia, en nuestra Argentina y en otras regiones del mundo; nacidos luego de que finalizaran los ensayos experimentales de la “Vacuna EG95”.

AGRADECIMIENTOS

Al Técnico Mario Días del departamento Zoonosis de la Secretaría de Salud de Neuquén, a los doctores Juan Ancina, Hugo Berardo y Fernanda Hadad del Hospital de Junín de los Andes, provincia de Neuquén, a la Bioquímica Ivana Mellado de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, al Médico Jorge Lago, a la Licenciada Eva Evans, al Veterinarios Jorge Iriarte y al Técnico Carlos Terán, de la Dirección de Epidemiología de la Secretaría de Salud de la provincia del Chubut.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Jensen O, Fernández R, Gonzalo R, Fernández E, Iriarte J, Lago J. Perspectivas de los Programas de Hidatidosis a través del Control de la enfermedad en el Ovino. *Boletín de Hidatidosis de la Provincia del Chubut*. 1995; 3: 17-18.
- 2.- Lightowlers MW, Jensen O, Fernández E, Iriarte JA, Woollard DJ, Gauci CG, Jenkins DJ, Heath DD. Vaccination trials in Australia and Argentina confirm the effectiveness of the EG95 hydatid vaccine in sheep. *Internacional Journal for Parasitology*. 1999; 29: 531-534
- 3.- Lightowlers MW. Infecciones por *Echinococcus*: Aspectos inmunobiológicos y de vacunación. Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud. 1994; 1-21.
- 4.- Richad MD y Williams JF. Hidatidosis/cisticercosis: immune mechanisms and immunization against infection. *Advances in Parasitology*. 1982; 21: 229-296
- 5.- Johonson KS, *et al.* Vaccination against ovine cysticercosis using a defined recombinant antigen. *Nature*. 1989; 338: 585-587
- 6.- Heath DD, Jensen O, Lightowlers MV. Progress in control of hydatidosis using – a review of formulation and delivery of the vaccine and recommendations for practical use in control programmemes. *Acta Tropica*. 2003; 85 133-143
- 7.- Lightowlers MW, Flisser A, Gauci CG, Heath DD, Jensen O, Rolfe R. Vaccination Against Cisticercosis and Hydatid Disease. *Parasitology Today*. 2000; 179: 191-196
- 8.- Jensen O, Fernández E. Inmunización en el hospedador intermediario. Desarrollo de la vacuna recombinante EG95 En: Situación de la Hidatidosis-Echinococcosis en la República Argentina, Denegri GM, Elissondo MC, Dopchiz MC (Ed) Editorial Martín, Mar del Plata 2002; 51-55
- 9.- Jensen O, Fernandez R, Sánchez Thevenet P. Hidatidosis en la Patagonia Argentina En: La cría ovina en la Patagonia, Bulman M, Lamberti J (Ed.) Rivolin Hnos. Buenos Aires 2004; 75-84