

ARTÍCULO ORIGINAL

Vigilancia de la equinocosis quística en perros y niños en la provincia de Río Negro, Argentina

Edmundo Larrieu^{a,b,*}, Marcos Seleiman^a, Eduardo Herrero^a, Guillermo Mujica^a, José Luis Labanchi^a, Daniel Araya^a, Claudia Grizmodo^a, Luis Sepúlveda^a, Arnoldo Calabro^a, Gabriel Talmón^a, Pablo Crowley^{a,b}, Silvina Albarracín^a, Marcos Arezo^c, Marcela Volpe^a, Agustín Ávila^a, Alicia Pérez^a, Leonardo Uchiumi^a, Juan Carlos Salvitti^a y Graciela Santillan^c

^a Ministerio de Salud, Provincia de Río Negro, Viedma, Argentina

^b Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Río Negro, Choele Choel, Argentina

^c Instituto Nacional de Microbiología, ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán", Buenos Aires, Argentina

Recibido el 25 de febrero de 2014; aceptado el 11 de abril de 2014

PALABRAS CLAVE

Equinocosis;
Coproantígenos;
Control;
Casos;
Vigilancia

Resumen

La equinocosis quística (EQ) es una enfermedad endémica en la provincia de Río Negro, Argentina. El programa de control de esta afección desarrolla sistemas de vigilancia epidemiológica basados en las técnicas de coproELISA/Western blot (WB) en muestras de heces de perros recolectadas del suelo, a fin de determinar establecimientos ganaderos (unidades epidemiológicas o UE) con transmisión presente. El objetivo de esta investigación fue evaluar la prevalencia de EQ en establecimientos ganaderos y su relación con la presencia de casos de EQ en niños de 0 a 14 años. Se seleccionaron aleatoriamente UE donde se obtuvieron muestras de materia fecal canina, las que fueron procesadas mediante coproELISA/WB. Asimismo, se identificaron casos nuevos ocurridos en niños del rango etario señalado. Se obtuvieron 571 muestras de 278 UE; 37 (6,5 %) fueron positivas a coproELISA/WB de 37 (13,3 %) UE con transmisión presente. Las diferencias con el relevamiento efectuado en el período 2003-2004 resultaron no significativas ($p = 0,9$), mientras que las diferencias con el relevamiento efectuado en UE de poblaciones originarias en 2009-2010 resultaron significativas ($p = 0,02$). Con relación a la densidad animal en el área de trabajo, las UE que dieron un resultado negativo tuvieron un promedio de 2 (DE: 2,1) perros por UE, en las UE con infección presente el promedio fue de 3 (DE 4,2), esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p = 0,02$). Se diagnosticaron 12 casos en niños menores de 15 años. Se estableció que los casos de hidatidosis, en promedio, se situaron a menor distancia de los campos positivos a coproELISA/WB que de los campos negativos ($p = 0,00307$). La prueba de coproELISA/WB permitió identificar la dispersión de EQ en establecimientos ganaderos y analizar su relación con la ocurrencia de casos en niños.

© 2014 Asociación Argentina de Microbiología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia

Correo electrónico: elarrieu@salud.rionegro.gov.ar (E. Larrieu).

KEYWORDS

Echinococcosis;
 Coproantigen;
 Control;
 Cases;
 Surveillance

Cystic echinococcosis in dogs and children in the province of Río Negro, Argentina**Abstract**

Cystic echinococcosis (CE) is an endemic disease in the province of Río Negro, Argentina. The control program against CE has developed monitoring surveillance systems. Currently, the coproELISA/Western blot (WB) test is used to determine transmission in livestock farms (epidemiological units or EU) from collected dry field-dispersed dog feces. The objective was to evaluate the prevalence of CE on livestock farms and its relationship with CE cases in children aged 0-14 years. Canine fecal samples were obtained from randomly selected livestock farms and processed by the coproELISA/WB test. Furthermore, new cases in children in the same age group mentioned above were identified. In 278 EU, 571 samples of canine feces were obtained. There were 37 positive samples for coproELISA/WB (6.5%) and the presence of transmission was demonstrated in 37 EU (13.3%). There were no significant differences ($p=0.9$) with the survey conducted in the period 2003-2004 while there were significant differences ($p=0.02$) with the EU survey of native populations conducted in 2009-2010. With respect to animal density in the work area, the EU yielding negative results had an average of 2 dogs (SD 2.1) per EU while in the EU having positive results the average was 3 dogs (SD 4.2), showing statistically significant differences ($p=0.02$). In children under 15 years of age, 12 cases were diagnosed. This study has identified, on average, that the cases of hydatid disease are closer in the positive fields than in the negative fields ($p=0.00307$). The coproELISA/WB test allowed to identify the dispersion of CE on livestock farms and its relationship with the occurrence of cases in children in 2009-2010.

© 2014 Asociación Argentina de Microbiología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La equinococosis quística (EQ) o hidatidosis es una zoonosis parasitaria producida por un cestodo de la familia Taeniidae, especie *Echinococcus granulosus*. Requiere de dos hospederos mamíferos para completar su ciclo de vida. En América del Sur, el hospedador definitivo de mayor importancia epidemiológica es el perro (donde se desarrolla la fase adulta o estrobilar), mientras que el hospedador intermediario de mayor importancia es el ovino (en donde se desarrolla la fase larvaria o metacestode). Asimismo, cabras, cerdos y bovinos pueden estar involucrados en el ciclo del parásito. La EQ produce importantes pérdidas económicas^{2,12,14}.

En la provincia de Río Negro, Argentina, la EQ es endémica y es la zoonosis de mayor importancia sanitaria. Las condiciones epidemiológicas favorecen el sostenimiento de la cadena de transmisión, porque los perros pastores de los establecimientos ganaderos y de pequeños propietarios de ovejas a menudo tienen acceso a las vísceras de animales adultos que son faenados en el domicilio para el consumo familiar. Es común que estos animales se encuentren fuertemente infectados, y existe el hábito social de proporcionar las vísceras de estos animales a los perros.

Por su dispersión o por la limitada accesibilidad geográfica que existe en el área, la desparasitación sistemática de los perros es una tarea dificultosa. De este modo existe una oferta constante de huevos de *Echinococcus granulosus* (EG) hacia el huésped intermediario (ovinos, principalmente), y los perros se convierten así en los responsables primarios de la perpetuación del ciclo de infección.

Desde 1980 se desarrolla un programa de control basado en desparasitaciones caninas con praziquantel en forma sistemática, con el objetivo de destruir en cada ocasión las nuevas tenias antes que los perros comiencen a eliminar huevos con la materia fecal.

Las desparasitaciones son efectuadas por agentes sanitarios en 4 rondas anuales de visitas a cada productor ovino. Salvo excepciones, los comprimidos son entregados al propietario, y es responsabilidad de aquel la desparasitación posterior.

El programa logró fuertes disminuciones en la prevalencia de la infección en perros y humanos, aunque se mantiene un nivel endémico en el ovino y en el perro. Esto asegura el mantenimiento del ciclo de la enfermedad, con la consiguiente aparición de casos nuevos en niños^{11,12,17}.

Para la vigilancia epidemiológica de la infección en perros el programa inicialmente estableció una línea base de prevalencia mediante la utilización del test de arecolina. Luego de la aplicación por vía oral del tenífugo bromhidrato de arecolina, que produce la eliminación de las tenias, los parásitos adultos se pueden observar en bandejas de fondo oscuro, luego de la dilución de la muestra en agua. El test se aplicó en perros cuyos dueños tuvieron concurrencia voluntaria a playas de dosificación/desparasitación. Por ende, se trató de un sistema no aleatorizado.

La unidad de observación fue "perro" y los resultados se expresaron como proporción de perros parasitados/ proporción de perros en los que el tenífugo tuvo efecto. La prevalencia inicial alcanzó al 41,5%^{11,17}.

En 2003, el programa estableció la prevalencia final de la equinococosis canina sobre la base del test de arecolina

(5,2 %; IC95 %: 3,2-8,1) y procedió a su reemplazo por el uso de enzimoimmunoanálisis (ELISA) como prueba tamiz y Western blot (WB) como prueba de confirmación^{5,8,17}, sobre muestras de materia fecal canina recogidas del suelo.

Las muestras se tomaron de establecimientos ganaderos ubicados en cercanías de las viviendas, las que se denominaron unidades epidemiológica (UE). Estas fueron seleccionadas en muestreos simples, aleatorizados y estadísticamente representativos, lo que permitió establecer así una nueva línea base para el sistema de vigilancia.

La nueva unidad de observación pasó a ser la "UE". Se consideraron positivas aquellas UE con al menos una muestra positiva a coproELISA/WB, y los resultados se expresaron como UE con al menos una muestra positiva/total de UE estudiadas.

Por sus diferencias epidemiológicas, las UE fueron divididas para los muestreos en dos categorías: establecimientos ganaderos, en la que quedaron comprendidos los productores con una superficie predial definida y un número variable de animales, y comunidades de población originaria, definidas como una vivienda de un productor con un número de animales en un territorio predial compartido por varias familias pertenecientes a una comunidad.

La línea base establecida en el período 2003-2004 en la provincia de Río Negro para coproELISA/WB indicó, de 662 muestras de materia fecal canina, 37 positivas (5,4 %; IC95 % 3,0-6,7) extraídas de 236 UE, 32 (13,67 % IC95 % 8,0-17,6) con transmisión presente¹⁷.

Posteriormente, el sistema de vigilancia mostró en comunidades de pueblos originarios, para el período 2009-2010, de 193 muestras de materia fecal canina, 22 (11,2 % IC95 % 6,6-16,1) positivas a coproELISA/WB extraídas de 89 UE, de las cuales 22 (24,7 % IC95 % 15,1-34,2) tenían transmisión presente¹⁷.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la prevalencia actual de la EQ en establecimientos ganaderos (UE) de la provincia de Río Negro y su relación espacial con la ocurrencia de casos en niños, en el período 2009-2010.

Materiales y métodos

Área de trabajo

Desde el punto de vista fitogeográfico, la provincia de Río Negro comprende dos regiones diferenciadas: la estepa patagónica, con su sucesión de mesetas escalonadas, escasas precipitaciones (menos de 300 mm anuales) y temperaturas extremas, y la región de los bosques andino-patagónicos, en la región cordillerana, al oeste de la provincia, caracterizada por altas precipitaciones (más de 2500 mm anuales) y bajas temperaturas invernales.

El área endémica en donde se desarrolla el programa de control abarca 120 013 km² e incluye a los departamentos de Bariloche, Pilcaniyeu, Ñorquinco, 25 de Mayo, 9 de Julio, Valcheta y El Cuy, en donde la producción ovina es la más importante actividad ganadera.

Diagnóstico mediante coproantígenos en UE

La selección de los productores ovinos que serían evaluados se efectuó mediante un muestreo simple y aleatorizado

(utilizando la función "selección muestral" de Epidat 3.1). El tamaño de la muestra se estimó con la función "cálculo del tamaño de una muestra", intervalo de confianza para proporción de Epidat 3.1 con un 95 % de confianza, un error absoluto de 4 % y una prevalencia esperada de productores ovinos con infección presente del 15 % para un n final = 289 UE. Su ubicación geográfica se determinó en un sistema de información geográfico, incluyendo mapas georreferenciados de la estructura de UE de todo el territorio provincial.

En cada UE se procedió a la toma de muestras de una porción de heces de canes que estuvieran dispersas en el suelo, en cercanías de la vivienda de la UE, estas fueron recogidas evitando lo más posible la contaminación con tierra, pastos u otros elementos presentes en el suelo. El número de muestras requerido se fijó en una muestra cada dos perros existentes en el establecimiento. Las muestras se tomaron en el período 2009-2010. Se recogieron individualmente en envases plásticos secos y limpios con tapa a rosca, sin conservante, y se enviaron inmediatamente al laboratorio de Salud Ambiental de San Carlos de Bariloche

En el laboratorio fueron procesadas mediante coproELISA; las muestras positivas fueron luego remitidas al Instituto Nacional de Microbiología ANLIS "Dr. Carlos G. Malbrán" para su confirmación mediante WB, según técnicas descritas^{5,8,17}.

La presencia de una muestra positiva clasificó a la UE como "UE con transmisión presente".

Diagnóstico de la EQ en niños

Se registraron todos los casos ocurridos en niños de 0 a 14 años en el período 1996-2010 (para los análisis espaciales se discriminó a los ocurridos en el período 2009-2010), tanto los diagnosticados en encuestas ultrasonográficas en población aparentemente sana como los diagnosticados por aparición de síntomas que requirieron la internación. Todos los casos fueron estudiados epidemiológicamente; sus sitios probables de exposición fueron georreferenciados.

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados se efectuó con el programa Epidat 3.1. Se estimaron proporciones y sus intervalos de confianza del 95 %. Se utilizó Chi cuadrado de asociación con un nivel de significación de $p = 0,05$ para comparar prevalencias en distintos períodos y entre distintos tipos de unidades.

Para el análisis espacial se utilizó el software Qgis 2.01. Se relacionaron los puntos georreferenciados de casos de hidatidosis identificados en el período 2009-2010 con los polígonos georreferenciados de campos positivos y negativos a coproELISA/WB y se estimó el promedio de casos 1996-2010 por radios censales, para determinar las áreas geográficas de mayor densidad histórica de casos y su relación espacial con los casos diagnosticados en el período 2009-2010.

Resultados

Se obtuvieron 571 muestras de materia fecal canina de 278 UE. Treinta y siete muestras (6,5 %; IC95 %: 4,4-8,7) resultaron positivas a coproELISA/WB. Ello hizo un total de

Tabla 1 Diagnóstico de situación de la EQ en perros mediante detección de coproantígenos y presencia de casos en niños. Provincia de Río Negro, 2009-2010

Área del programa ^a	ELISA/WB ^b		Establecimientos ^c			Casos (0-14 años)	
	n.º	%	n.º	%			
Bariloche	8	0	0,0	5	0	0,0	2
El Bolsón	68	8	11,8	39	8	20,5	1
El Cuy	81	5	6,1	40	5	12,5	1
Ñorquinco	47	3	6,4	20	3	15,0	0
Pilcaniyeu	19	1	5,3	9	1	11,1	2
Comallo	12	1	8,3	9	1	11,1	3
Ingeniero Jacobacci	108	8	7,4	43	8	18,6	2
Maquinchao	16	2	12,5	9	2	22,2	0
Los Menucos	37	2	5,4	17	2	11,8	0
Sierra Colorada	42	1	2,4	22	1	4,5	0
Ramos Mexia	9	0	0,0	4	0	0,0	0
Valcheta	106	5	4,7	52	5	9,6	0
San Antonio	4	0	0,0	2	0	0,0	0
Sierra Grande	14	1	7,2	7	1	14,3	1
TOTAL	571	37	6,5	278	37	13,3	12

^a De oeste a este.

^b Muestras de materia fecal canina obtenidas.

^c Establecimientos ganaderos (UE) evaluados.

241 UE negativas y 37 (13,3 %; IC95 %: 8,8-17,1) UE con transmisión presente (tabla 1, fig. 1). Las mayores prevalencias de UE infectadas se ubicaron desde la región cordillerana hasta la meseta central de la provincia, en el área Ingeniero Jacobacci-Maquinchao.

Las diferencias con el relevamiento efectuado en el período 2003-2004 resultaron no significativas ($p = 0,9$), mientras que las diferencias con el relevamiento efectuado en UE de poblaciones originarias en 2009-2010 resultaron significativas ($p = 0,02$).

En relación con la densidad de perros en el área de trabajo, las UE negativas tuvieron un promedio de 2 (DE: 2,1) perros por UE, y las UE con infección presente, un promedio de 3 (DE: 4,2), esta diferencia resultó estadísticamente significativa ($p = 0,02$).

En el período 2009-2010 se diagnosticaron 12 casos en niños menores de 15 años, la mayor proporción de casos correspondió a las áreas del programa de Bariloche, Comallo, Pilcaniyeu e Ingeniero Jacobacci, ubicadas en la zona central y oeste de la provincia. Dos casos se correspondieron con la misma localización georreferenciada.

La ubicación espacial de los casos registrados en el período 2009-2010 es coincidente con las áreas de mayor densidad histórica de casos en las zonas de la meseta central; sin embargo, también se presentaron casos en la zona cordillerana, de menor densidad histórica (fig. 2).

Se encontró asociación de significancia estadística entre la ocurrencia de casos en niños y la prevalencia de EQ en UE en las distintas áreas del programa ($p = 0,0003$).

En relación con el análisis espacial, se identificó que, en promedio, los casos de hidatidosis están a menor distancia

de los campos positivos a coproELISA/WB que de los campos negativos ($p = 0,00307$).

Discusión

En la presente investigación, un muestreo de materia fecal canina analizada mediante coproELISA/WB permitió identificar la dispersión de EQ en establecimientos ganaderos y analizar su relación con la ocurrencia de casos en niños en el período 2009-2010.

No se presentaron diferencias en términos de prevalencia de EQ en establecimientos ganaderos con el relevamiento efectuado en el período 2003-2004, lo cual indica que el programa de control mantiene, con relación a la infección inicial, niveles bajos y estables de parasitismo en perros; esto posibilita cierta ocurrencia de casos nuevos en niños.

Las limitaciones geográficas, climáticas y de infraestructura afectan la posibilidad de efectuar visitas domiciliarias para la desparasitación canina en gran parte del año, lo que afecta las coberturas y hace que se cumplan menos actividades que las programadas. Así, existe un mantenimiento basal de la infección en los perros que posibilita la ocurrencia de casos nuevos.

Sin embargo, el programa mantuvo actividad constante desde su inicio, sin interrupciones. Como efecto de esta situación, la prevalencia inicial de la infección en niños de 6 a 14 años, que era de 5,6 % en 1986 (determinada mediante encuestas ultrasonográficas), disminuyó persistentemente hasta alcanzar el 0,3 % en 2008^{14,17}.



Figura 1 Distribución espacial de establecimientos ganaderos (UE) evaluados mediante detección de coproantígenos en materia fecal canina. Provincia de Río Negro, 2009-2010.

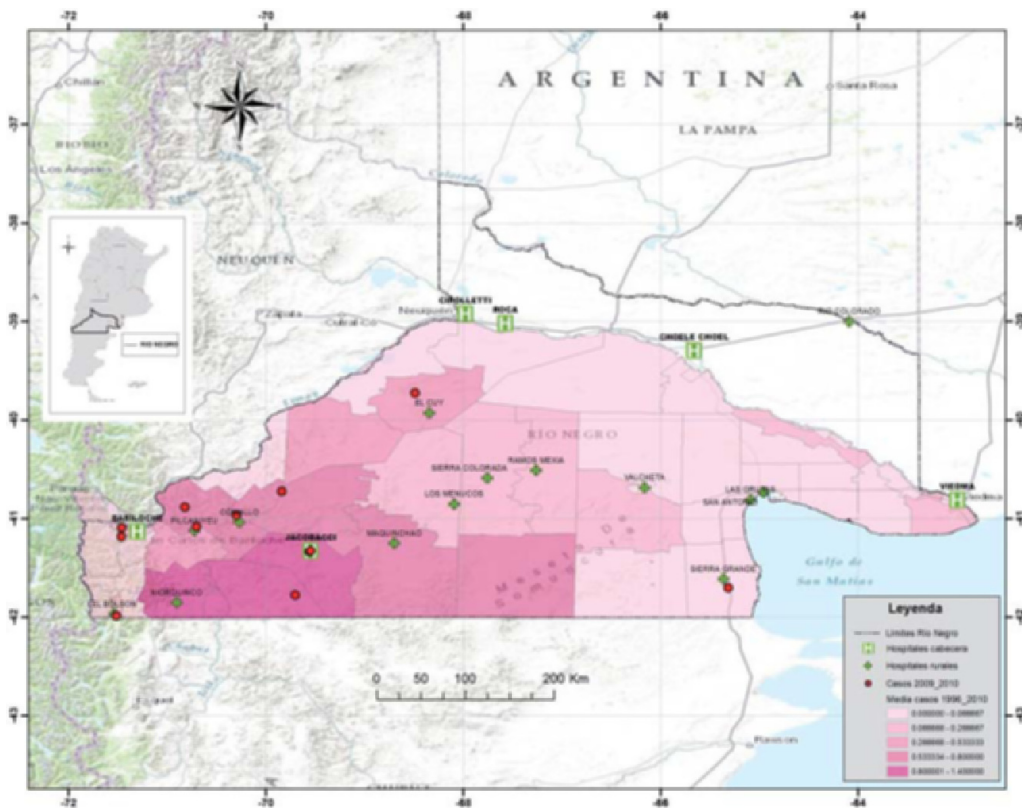


Figura 2 Distribución espacial de los casos de EQ en niños identificados en el período 2009-2010 y su relación con la densidad histórica de casos en el período 1996-2010, según radios censales. Provincia de Río Negro.

Las áreas geográficas de mayor riesgo continúan siendo las ubicadas al oeste y centro de la provincia, incluyendo Comallo, Pilcaniyeu, Ñorquinco e Ingeniero Jacobacci y sus áreas rurales, en la región de la meseta patagónica. Las localidades de El Bolsón y Bariloche, en la región cordillera, presentaron una ocurrencia mayor que su media histórica de casos.

Estas regiones presentan condiciones ecológicas que favorecen la sobrevivencia de los huevos de *E. granulosus*. Las condiciones sociales, culturales y económicas, asimismo, generan un ambiente epidemiológico que favorece el sostenimiento del ciclo de transmisión^{10,11,13}.

La asociación directa entre prevalencia de la infección por EQ y número de perros hallada en este relevamiento confirma lo hallado en estudios previos efectuados en la misma región¹³ y resalta la necesidad de avanzar en estrategias de disminución de las poblaciones caninas.

La identificación de diferencias significativas en el porcentaje de UE con transmisión presente entre los establecimientos ganaderos y las comunidades de población originaria resulta de interés, en tanto estas últimas surgen como áreas de mayor riesgo, en las que sus habitantes presentan mayor exposición a EQ. Teniendo en cuenta la mayor vulnerabilidad de este grupo, asociada a condiciones sociales, culturales y económicas marginales, se requiere la adopción de estrategias de control específicas para dicha realidad, como la vacunación con EG95 contra la hidatidosis ovina¹⁵.

Los sistemas de vigilancia de la EQ relacionados con el perro han resultado parte fundamental del programa de control.

Las ventajas y limitaciones del test de arecolina, originalmente utilizado por el programa, son reconocidas. Sus principales problemas son la interpretación de resultados frente a prevalencias bajas, por su bajo valor predictivo, y las dificultades operativas para el manejo de la bioseguridad y el bienestar animal^{7,9,17,19}.

Como alternativa se han desarrollado técnicas inmunodiagnósticas basadas en la identificación de antígenos parasitarios en materia fecal recién emitida o extraída directamente de la ampolla rectal del perro. Así, la técnica de coproELISA ha sido utilizada por los programas de control de Chipre, España y Argentina^{4,5,6,16,17,18}. Los datos en los sistemas de vigilancia se expresan como porcentaje de perros infectados o como porcentaje de UE con al menos una muestra positiva.

La técnica de coproELISA/WB, en el marco de la presente investigación, resultó una herramienta diagnóstica sencilla y económica; su principal limitación es que no arroja los resultados *in situ*, como el test de arecolina. En áreas de difícil acceso geográfico esto representa una limitación importante en la relación con los productores, quienes requieren conocer rápidamente los resultados de los análisis de sus perros.

En la actualidad, para la vigilancia epidemiológica de la EQ se dispone de nuevas estrategias basadas en tecnologías de mayor sensibilidad y especificidad, como la de PCR^{1,3,9}, las que deberían ser incorporadas en un futuro cercano al programa de control (E. Guarnera, comunicación personal, 2013), en una estrategia de control de focos.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Financiación

Las actividades de campo son financiadas por el Ministerio de Salud de Rio Negro.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Boufana BS, Campos-Ponce M, Naidich A, Buishi I, Lahmar S, Zeyhle E, Jenkins DJ, Combes B, Wen H, Xiao N, Nakao M, Ito A, Qiu J, Craig PS. Evaluation of three PCR assays for the identification of the sheep strain (genotype 1) of *Echinococcus granulosus* in canid feces and parasite tissues. *Am J Trop Med Hyg.* 2008;78:777-83.
2. Budke CM, Deplazes P, Torgerson PR. Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:296-303.
3. Cabrera M, Canova S, Rosenzvit M, Guarnera E. Identification of *Echinococcus granulosus* eggs. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2002;44:29-34.
4. Casas N, Costas S, Céspedes G, Sosa S, Santillan G. Detección de coproantígenos para el diagnóstico de echinococcosis canina e la zona fronteriza de La Quiaca-Villazón. *Rev Argent Microbiol.* 2013;45:154-9.
5. Cavagion L, Perez A, Santillan G, Zanini F, Jensen O, Saldia L, Diaz M, Cantoni G, Herrero E, Costa MT, Volpe M, Araya D, Alvarez Rubianes N, Aguado C, Meglia G, Guarnera E, Larrieu E. Diagnosis of cystic echinococcosis on sheep farms in the south of Argentina: areas with a control program. *Vet Parasitol.* 2005;128:73-81.
6. Christofi G, Desplazes P, Christofi N, Tanner I, Economides P, Eckert J. Screening of dogs for echinococcus granulosus coproantigen in a low endemic situation in Cyprus. *Vet Parasitol.* 2002;104:299-306.
7. Craig PS, Gasser RB, Parada L, Cabrera P, Parietti S, Borgues C, Acuttis A, Aguila J, Snowden K, Paollilo E. Diagnosis of canine echinococcosis: comparison of coproantigen and serum antibody test with arecoline purgation in Uruguay. *Vet Parasitol.* 1995;56:293-301.
8. Guarnera E, Santillan G, Botinelli R, Franco A. Canine echinococcosis: an alternative for surveillance epidemiology. *Vet Parasitol.* 2000;88:131-4.
9. Lahmar S, Boufana B, Bradshaw H, Craig PS. Screening for *Echinococcus granulosus* between arecoline purgation,

- coproELISA and coproPCR with necropsy in pre-patent infections. *Vet Parasitol.* 2007;144:287-92.
10. Larrieu E, Lester R, Rodriguez Jauregui J, Odriozzola M, Medina M, Agüero A. Epidemiology of human hydatidosis in the Province of Río Negro, Argentina. *Acta Gastroenterol Latinoam.* 1986;16:93-108.
 11. Larrieu E, Costa M, Cantoni G, Labanchi J, Bigatti R, Perez A, Araya D, Mancini S, Herrero E, Talmon G, Romeo S, Thakur A. Control program of hydatid disease in the Province of Río Negro, Argentina, 1980-1997. *Bol Chilén Parasitol.* 2000;55:49-53.
 12. Larrieu E, Costa MT, Cantoni G, Alvarez R, Cavagion L, Labanchi JL, Bigatti R, Araya D, Herrero E, Mancini S, Cabrera P. Ovine *Echinococcus granulosus* transmission dynamics in the province of Río Negro, Argentina, 1980-1999. *Vet Parasitol.* 2001;98:263-72.
 13. Larrieu E, Costa MT, del Carpio M, Moguillansky S, Bianchi G, Yadon ZE. A case-control study of the risk factors for cystic echinococcosis among the children of Río Negro province, Argentina. *Ann Trop Med Parasitol.* 2001;96:43-52.
 14. Larrieu E, Zanini F. Critical analysis of the strategies to control cystic echinococcosis and the use of praziquantel in South America: 1980-2009. *Rev Panam Salud Pública.* 2012;31:81-7.
 15. Larrieu E, Herrero E, Mujica G, Labanchi JL, Araya D, Grismado C, Calabro A, Talmon G, Ruesta G, Perez A, Gatti A, Santillán G, Cabrera M, Arezzo M, Seleiman M, Cavagión L, García Cachau M, Alvarez Rojas C, Gino L, Gauci CD, Heath DD, Lamberti R, Lightowlers MD. Pilot field trial of the EG95 vaccine against ovine cystic echinococcosis in Río Negro, Argentina: Early impact and preliminary data. *Acta Trop.* 2013;127:143-51.
 16. Morel N, Lassabe G, Elola S, Bondad M, Herrera S, Mari C, Last JA, Jensen O, Gonzalez-Sapienza G. A monoclonal antibody-based copro-ELISA kit for canine echinococcosis to support the PAHO effort for hydatid disease control in South America. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7:e1967.
 17. Perez A, Costa MT, Cantoni G, Mancini S, Mercapide C, Herrero E, Volpe M, Araya D, Talmon G, Chiosso C, Vazquez G, Del Carpio M, Santillan G, Larrieu E. Vigilancia epidemiológica de la equinococosis quística en perros, establecimientos ganaderos y poblaciones humanas en la Provincia de Río Negro. *Medicina (Bs As).* 2006;66:193-200.
 18. Pierangeli ND, Soriano SV, Roccia I, Bergagna HF, Lazzarini LE, Celescinco A, Kossman AV, Saiz MS, Basualdo JA. Usefulness and validation of a coproantigen test for dog echinococcosis screening in the consolidation phase of hydatid control in Neuquén, Argentina. *Parasitol In.* 2010;59:394-9.
 19. Varcasia A, Tanda B, Giobbe M, Solinas C, Pipia AP, Malgor R, Carmona C, Garippa G, Scala A. Cystic echinococcosis in Sardinia: farmers' knowledge and dog infection in sheep farms. *Vet Parasitol.* 2011;181:335-40.