

## Estudio del ciclo de vida de *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856) fase exógena, en condiciones controladas.

J. RODRÍGUEZ DIEGO Y M. BREZA

*Lab. de Parasitología Animal RAP, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, La Habana, Cuba.*

*Recibido: 5 Marzo de 1974*

**ABSTRACT.** The *S. Papillosus* evolutive cycle at different temperatures for determining the influence of this factor over the development of the parasite heterogonic and homogonic cycle is studied. Data about the male-female relationship and the temperature influence over the activity of the infestive larvae are offered.

**RESUMEN.** Se estudia el ciclo evolutivo de *S. papillosus* a diferentes temperaturas para determinar la influencia de este factor sobre el desarrollo del ciclo heterogónico y homogónico del parásito. Se ofrecen datos de la relación macho-hembra y de la influencia de la temperatura sobre la actividad de las larvas infestivas.

### INTRODUCCION

*Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856) es uno de los nemátodos que juega papel importante en las verminosis entéricas en terneros y ovejas. Diversos autores plantean la existencia de la hembra parásita como único estadio causante del parasitismo, aunque Kreis, (1932) (*cit. por Faust, 1936*) planteó la existencia del macho parásito rhabditoide de *S. stercoralis* y Sotolongo y cols., (1971) reportan la presencia del macho *strongyloides* en la misma especie. En *S. papillosus*, no se ha hecho ningún hallazgo en ese sentido.

El ciclo de vida exógeno de algunas especies del género *Strongyloides* a partir de los huevos ovopositados por las hembras parásitas (según muchos autores partenogenéticas) es descrito entre otros por Kourí y cols., (1944), Nemeth y Varju, (1963), Soulsby, (1965) y Levine, (1968) siguiendo siempre el patrón planteado por Basir (1950) (*cit. por Levine, 1968*) para *S. papillosus* con presencia del ciclo homogónico y heterogónico, pudiendo ocurrir ambos conjuntamente.

Los estudios en *S. papillosus*, desde su reporte en Cuba por Prokopic, (1966) (publicado en 1969) en ovinos, han sido realizados en lo referente a extensión de invasión de bovinos por Breza y cols., (1967) en Isla de Pinos y a la patología del parásito por Roque, (1973).

El objetivo de este trabajo consiste en el estudio del comportamiento de la especie cubana por cepas obtenidas de los mismos animales para sentar las bases a posteriores investigaciones en condiciones ambientales.

## MATERIALES Y METODOS

*Materiales.* Se utilizaron heces fecales obtenidas directamente del recto de un ternero F1 (Holstein-Cebú) de 3 a 4 meses de edad y una oveja que presentó el nemátodo parásito por el fácil manejo del ejemplar y la obtención fácil de muestras fecales periódicas.

*Métodos.* Para detectar la presencia de huevos de *S. papillosus* se usó el método cualitativo de flotación con la solución de CINa saturada (p.e. 1 200 a 15°C). El conteo ovoscópico se realizó posteriormente utilizando la Cámara de Mc. Master con la misma solución para conocer la cantidad de huevos por gramos; los cultivos fueron hechos tomando 100 gramos de heces mezcladas en igual cantidad con carbón animal para asegurar la oxigenación y poco cambio del pH, colocadas para asegurar la humedad sobre papel de filtro húmedo (con agua hervida y con oxígeno) en cristalizadoras y mantenidas éstas a diferentes temperaturas (15°, 20°, 25°, 28° y 30°C).

Dependiendo de la temperatura de incubación, los cultivos fueron examinados a diferentes intervalos de tiempo por medio del método de Baermann. Las distintas fases del ciclo exógeno (larvas y adultos de vida libre) se colectaron del embudo en una probeta de 50 ml para ser procesadas según el método de Stoll para el conteo de larvas, pudiendo de esta forma, hacerse el conteo de los diferentes estadios.

## RESULTADOS

El tiempo en horas, que demoran los distintos estadios ( $L_1$  larvas 1er. estadio,  $L_2$  larvas 2do. estadio y  $L_3$  larvas 3er. estadio) en desarrollarse y que damos a continuación se toma desde el momento en que fueron puestos los cultivos a incubar. Los valores en por ciento están dados en

base al número de huevos en las heces del cultivo. No se toma en consideración las  $L_3$  productos finales del ciclo heterogónico las que por deducción llegan a triplicar las producto del ciclo homogónico.

*Temperatura de incubación 15°C.*

*Ciclo homogónico.* Los cultivos mantenidos a esta temperatura mostraron las primeras  $L_1$  de este ciclo a partir de las 44 horas de incubación, en un 23%; el segundo estadio  $L_2$  se observó después de las 50 horas en un 18%, y posteriormente el estadio filariforme  $L_3$  fue observado después de las 72 horas, obteniéndose un 15% del mismo con una actividad de 60 ondulaciones/min.

El desarrollo de machos y hembras de vida libre (ciclo heterogónico) no ocurrió en estas condiciones.

Se obtuvo un 15% total de larvas filariformes viables, lo que nos indica un 85% de no viabilidad de las mismas a esta temperatura.

*Temperatura de incubación 20°C*

*Ciclo homogónico.* Los cultivos mantenidos a esta temperatura mostraron las primeras  $L_1$  de este ciclo a partir de las 9 horas de incubación, en un 51%; el segundo estadio  $L_2$  se observó en los cultivos a las 30 horas obteniéndose un 50% y los estadios larvales filariformes se desarrollaron luego de las 48 horas en un 50% con una actividad de 90 ondulaciones/min.

*Ciclo heterogónico.* Las  $L_1$  que siguieron este ciclo pudieron ser observadas desde las 9 horas lográndose un 21% de ellas; las  $L_2$  se comenzaron a desarrollar a las 33 horas obteniéndose en un 20%; la generación de vida libre, machos y hembras, después de las 50 horas, se pudieron coleccionar en un 20% siendo la relación macho-hembra de 1:8.

Se obtuvo un 70% total de estadios viables finales lo que nos indica un 30% de no viabilidad de los mismos a esta temperatura.

*Temperatura de incubación 25°C.*

*Ciclo homogónico.* Los cultivos mantenidos a esta temperatura mostraron las primeras  $L_1$  de este ciclo a partir de las 7 horas en un 28%; el segundo estadio  $L_2$  se observó después de las 22 horas en un 27% y

posteriormente el estadio filariforme  $L_3$  fue observado después de las 33 horas llegándose a obtener un 25% de ellas con una actividad de 110 ondulaciones/min.

*Ciclo heterogónico.* Las  $L_1$  fueron observadas a las 7 horas de incubación en un 57%; las  $L_2$  se observaron a partir de las 23 horas obteniéndose un 54% de las mismas, más tarde los adultos de vida libre se pudieron obtener desde las 30 horas en un 54% en una relación macho-hembra de 2:8.

Se obtuvo un 79% total de estadios viables finales lo que nos indica un 21% de no viabilidad de los mismos a esta temperatura.

*Temperatura de incubación 28°C.*

*Ciclo homogónico.* El desarrollo de las  $L_1$  ocurrió a partir de las 6 horas de incubación de los cultivos, obteniéndose un 24% de larvas; posteriormente las  $L_2$  se pudieron observar desde las 17 horas alcanzando un 23%. El tercer estadio filariforme se encontró a partir de las 29 horas en un 23% con una actividad de 130 ondulaciones/min.

*Ciclo heterogónico.* Las larvas del primer estadio  $L_1$  se pudieron observar a las 6 horas en un 73%, los segundos estadios  $L_2$  alcanzaron su desarrollo a las 20 horas obteniéndose un 73% de ellos; los machos y hembras de vida libre se observaron a partir de las 25 horas y se logró obtener un 72% de los mismos en una relación macho-hembra de 1:8.

Se obtuvo un 95% total de estadios viables finales lo que indica un 5% de no viabilidad de los mismos a esta temperatura.

*Temperatura de incubación 30°C.*

*Ciclo homogónico.* En los cultivos mantenidos a esta temperatura se pudo observar el primer estadio  $L_1$  a partir de las 5 horas en un 18% el segundo estadio  $L_2$  se encontró en los cultivos a las 16 horas lográndose un 17% de él. Posteriormente las larvas filariformes, estadio final del ciclo se recolectó después de las 28 horas encontrándose en un 13% con una actividad de 150 ondulaciones/min.

*Ciclo heterogónico.* Las primeras  $L_1$  comenzaron a observarse a las 5 horas de puestos a incubar los cultivos en un 80%, el segundo estadio  $L_2$  se encontró a las 19 horas obteniéndose un 80% de esta fase de desa-

rollo. Los adultos de vida libre se colectaron a partir de las 25 horas lográndose un 78% de ellos en una relación macho-hembra de 1:8. Se obtuvo un 92% total de estadíos viables finales lo que indica un 8% de no viabilidad de los mismos a esta temperatura.

## DISCUSION

El tipo de desarrollo exógeno de las especies del género *Strongyloides* según Levine, (1968) depende de las condiciones ambientales y del tipo de cepa del parásito. Galliard, (1967) plantea que la temperatura es un factor principal y determinante para el desarrollo del ciclo evolutivo de *S. stercoralis*. Nuestros resultados ejemplifican el importante papel de ese factor para el desarrollo del ciclo exógeno de *S. papillosus*.

Premvati, (1963) en estudios con la especie en cuestión obtuvo sólo el desarrollo del ciclo heterogónico entre las temperaturas de 20° a 37°C y del homogónico en condiciones sub-óptimas a 15°C según se puede observar en la tabla I. Nuestros resultados muestran la presencia de estadío de vida libre en cultivos incubados a las temperaturas más elevadas de la experiencia (20°, 25°, 28° y 30°) con una relación macho-hembra de 1:8; encontrándose un ligero aumento en la cantidad de machos en relación 2:8 a 25°C. El desarrollo del ciclo homogónico fue encontrado conjuntamente al heterogónico a las temperaturas mencionadas así como exclusivamente a 15°C según se refleja en la Fig. 1. Sandground, (1926) (citado por Levine, 1968) encontró en un cultivo de heces de ovejas 8 000 L<sub>3</sub>, 35 machos y 210 hembras (1:6).

En la Fig. 1, se puede observar el cambio del por ciento de los dos tipos de ciclos según aumenta la temperatura, observándose que los adultos de vida libre adquieren su valor máximo a 30°C en un 78%, en tanto las larvas infectivas que se encontraron en 15% a 15°C donde se desarrollaron exclusivamente, alcanzaron su valor máximo en un 50% a 20°C, donde se comenzaron a desarrollar conjuntamente con los adultos libres; una disminución de esos estadíos infestivos se encontró a medida que se aumentó la temperatura.

El por ciento de estadíos adultos y de L<sub>3</sub> a 28° y 30°C no varió notablemente. Esto es importante tenerlo en consideración por ser comparables a la temperatura ambiental standard de Cuba.

**TABLA I**

*Tiempo de desarrollo de los diversos estadios en los ciclos, directo e indirecto de Strongyloides papillosus a diferentes temperaturas, comparando nuestros resultados con los de otros autores*

Autor	Temperatura	Ciclo directo			Ciclo indirecto		Adultos de vida libre
		L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	
Premvati (1963)	15°C	48 hs.	48 hs.	72 hs.			50-60 hs.
	20°C						30-34 hs.
	25°C						24-28 hs.
	30°C						24 hs.
	34°C						20-24 hs.
	37°C						
Basir (1950) cit. por Levine, 1968	27°C	6 hs.	10 hs.	26 hs.	6 hs.	15 hs.	58 hs.
Rodríguez Diego y Breza (1973)	15°C	44-47 hs.	50-55 hs.	72-79 hs.			
	20°C	9-22 hs.	30-37 hs.	48-52 hs.	9-23 hs.	33-38 hs.	50-60 hs.
	25°C	7-15 hs.	22-25 hs.	33-36 hs.	7-19 hs.	23-26 hs.	30-36 hs.
	28°C	5-12 hs.	17-20 hs.	29-31 hs.	5-17 hs.	20-24 hs.	25-31 hs.
	30°C	5-12 hs.	16-20 hs.	29-30 hs.	5-16 hs.	19-23 hs.	25-30 hs.

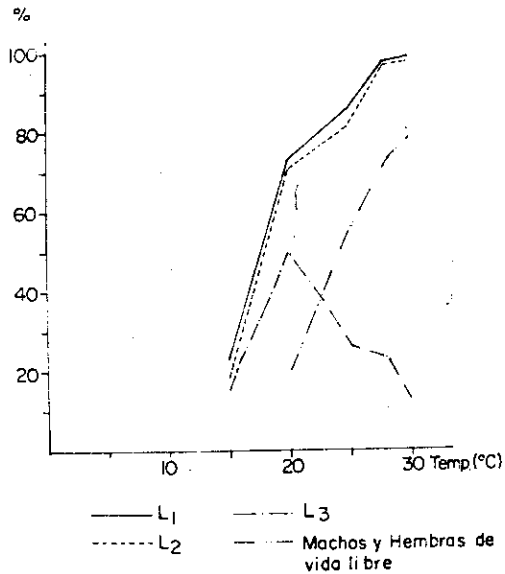


Fig. 1. Relación entre el porcentaje de los diferentes estadios del ciclo de vida de *S. papillosus* y las diferentes temperaturas de incubación de los cultivos.

Según se puede observar en la Fig. 2, existe una relación directa entre la temperatura y la viabilidad de los estadios finales de ambos ciclos, obteniéndose a 28°C (temperatura óptima en el rango 15 — 30°C) la más alta viabilidad.

La movilidad de las larvas que penetran activamente es señalado por diferentes autores como una condición fundamental para la infestación. Barrett, (1968) en *S. ratti* señala la importancia del movimiento activo traducido en las ondulaciones por minutos de las L<sub>3</sub>. En nuestros resultados encontramos una relación directa entre la temperatura y las ondulaciones por minutos de las L<sub>3</sub> de *S. papillosus*, observándose movimientos más lentos a 15°C y notándose una gran actividad a 30°C según se puede observar en la Tabla II.

Los resultados de nuestras observaciones con respecto al tipo de ciclo a seguir están de acuerdo con muchos autores y son válidos para los animales utilizados, pero es conveniente siempre tener en cuenta la alta

variabilidad en los ciclos de las especies del género *Strongyloides*, Sandground, (1926) (citado por Levine, 1968) encontró ambos tipos de ciclos con gran cantidad de L<sub>3</sub> en cultivos de heces de ovejas y al ser transmitida la infección a conejos, se encontró un gran por ciento de estadios sexuales con alto número de machos presentes; en tanto Premvati, (1963) solo encontró en cultivos de heces de ovejas; presencia de adultos libres entre 20° — 37°C. Galliard, (1947) (citado por Levine, 1968) creyó que para *S. stercoralis* el ciclo homogónico era predominante en condiciones ambientales pero al ser pasadas las cepas humanas a perros se produjo una mezcla de ambos desarrollos exógenos. Later, (1950) (citado por Levine, 1968) reportó que el desarrollo de *S. stercoralis* fue puramente heterogónico en una cepa humana en tanto en otros fue puramente homogónica o se desarrollaron conjuntamente ambos ciclos. Otras especies, muestran también variaciones similares. Por todo lo anteriormente expuesto es que recomendamos tener en consideración la variabilidad de ciclos al trabajar con diferentes animales, aún de la misma especie.

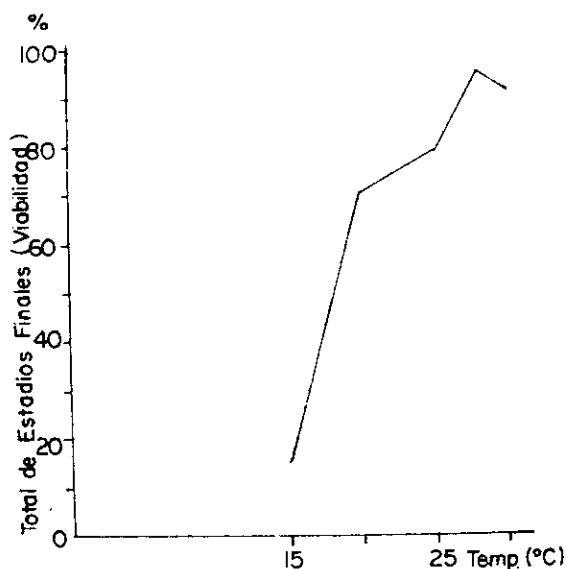


Fig. 2. Relación entre la viabilidad de los estadios finales del ciclo de vida de *S. papillosus* y las diferentes temperaturas de incubación de los cultivos.

TABLA II

*Actividad de las L<sub>3</sub> de S. papillosus a las diferentes temperaturas de incubación de los cultivos*

Temperatura	Actividad Ondulaciones/min.
15°C	60
20°C	90
25°C	110
28°C	130
30°C	150

## REFERENCIAS

- BARRET J. The effect of temperature on the development and survival of the infective larvae of *Strongyloides ratti* Sandground, 1925. *Parasitology*, 58, 641, 1968.
- BREZA M., SWARCH R. Y DEL VALLÍ R. Informe preliminar sobre chequeo parasitológico realizado en Isla de Pinos en los días comprendidos del 18 al 21 de abril y del 1 al 4 de agosto. Informe a la dirección del Ints. de Zoología, 1967.
- FAUST B. C. *Strongyloides* and Strongyloidiasis. *Rev. de Parasitología, Clínica y Laboratorio*. 2, 315, 1936.
- GALLIARD H. Pathogenesis of *Strongyloides*. *Helminthological Abstracts*. 36, 247, 1967.
- KOURÍ P., BASNUEVO J. Y SOTOLONGO F. *Helminología Humana*. 133-152. Imp. "El siglo XX". La Habana, 1944.
- LEVINE N.D. *Nematode parasites in animals and of man*. 65-81 Burgess Publishing Co. Minneapolis, 1968.
- NEMETH I. UND VARJU L. *Strongyloides Studen II Uber die Entwecklung von Strongyloides ransomi*. Schwartz und Alicata, 1930 der AnBenwelt. *Acta Veterinaria Hungara*, 13, 289, 1963.
- PREMVATI. Effects of temperature on the development of free-living adults of *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856) *Parasitology*, 53, 483, 1963.
- PROKOPIC J. *Helmintos de los bóvidos cubanos*. *Poeyana Serie A*, 60, 1969.
- ROQUE E. Comunicación personal, 1973.

SOTOLONGO F., KOURÍ J. Y QUINTANA S. Hallazgo del macho parásito strongyloides de *Strongyloides stercoralis*. *Rev. Cub. Med. Trop.*, 23, 3, 1971.

SOULSBY E.J.L. *Textbook of Veterinary Clinical Parasitology*. 56-57. Blackwell Scis. Pub. Oxford, 1965.