

## CONDIÇÕES QUE INFLUEM NA EXTRAÇÃO DE LARVAS DO *STRONGYLOIDES STERCORALIS* DAS FEZES PELO MÉTODO DE LOOSS-BAERMANN MODIFICADO (TÉCNICA DO PIRES)

Francisco FERRIOLLI Filho (1)

### RESUMO

O autor estuda a influência de diversos fatores na extração das larvas do *Strongyloides stercoralis* das fezes, empregando uma variante do método de LOOSS-BAERMANN: a técnica do pires e chega às seguintes conclusões: a) a extração deve ser feita com fezes frescas, pois a manutenção destas em temperatura ambiente (cerca de 25°C), por 18 horas, faz baixar significativamente o número de larvas extraídas; a conservação em geladeira (1 a 5°C) faz cair ainda mais o número de larvas e negativa certa proporção de casos positivos; b) a quantidade de fezes a ser usada é de aproximadamente 10 g, pois o uso de menores quantidades implica em menor número de larvas para a extração e pode dar resultados negativos em casos comprovadamente positivos, mas pobres; c) a duração da extração deve ser de 60 minutos, pois, nestas condições, em 97,83% das amostras sabidamente positivas as larvas são encontradas; nos casos suspeitos a extração deve ser levada até o 120.º minuto, prazo dentro do qual 100% dos casos positivos são confirmados; d) a temperatura inicial deve ser de 45°C, cuidando-se de mantê-la acima de 40°C sempre que possível; e) o uso de luz artificial não melhora as condições de extração, embora as larvas rabditóides sejam dotadas de fototropismo positivo.

### INTRODUÇÃO

Embora se encontrem dispersos na literatura alguns dados a respeito de fatores que influem na extração das larvas do *Strongyloides stercoralis* das fezes pelas técnicas que se baseiam no hidrotropismo positivo destas larvas, não há estudos sistematizados a respeito.

No presente trabalho relatamos os resultados de nossas investigações sobre a influência das seguintes condições principais: conservação de fezes destinadas à pesquisa de larvas, duração da extração e ação do calor e da luz. Empregamos, para a extração das larvas, a técnica do pires que descrevemos em trabalho anterior<sup>8</sup>.

### I — COLHEITA E CONSERVAÇÃO DAS FEZES

As fezes destinadas à pesquisa do *S. stercoralis*, pela extração de larvas, devem ser emitidas espontaneamente. Se bem que a ministração de purgativo salino possa aumentar o número de larvas presentes (pela irritação da parede intestinal que provoca), ela é contra-indicada porque as fezes líquidas não se prestam bem para a extração; partículas fecais pequenas e substâncias coloridas solúveis atravessam a tela metálica e produzem uma turvação que impede ou dificulta a visibilidade das larvas.

As fezes devem ser recolhidas em recipiente limpo; latinhas de pomada ou frascos de boca larga com tampa plástica de pressão

Fac. Medicina de Ribeirão Preto, da Univ. São Paulo — Depart. de Parasitologia (Prof. M. P. Barretto).

(1) Assistente.

e com capacidade de 20-30 g são adequados, sendo êstes os mais indicados.

Uma vez colhidas, as fezes devem ser enviadas o mais depressa possível ao laboratório e examinadas. Isto, porém, nem sempre é viável principalmente no curso de inquéritos coprológicos, quando o ritmo de colheita excede a capacidade de exame de laboratório. O mesmo sucede quando a colheita é feita em lugares distantes do laboratório e a remessa a êste leva muitas horas. Nestas condições, em geral se aconselha conservar as fezes em geladeira ou acondicioná-las em gelo. Outras vêzes acontece que as fezes colhidas à tarda pelos pacientes chegam ao laboratório ao fim do expediente; havendo suspeita da presença de trofozoítas costuma-se fazer um esfregaço e fixá-lo, e conservar as fezes em geladeira para examiná-las no dia seguinte. O hábito de conservar fezes resfriadas é tão generalizado que os clínicos, quando pedem exames de fezes, ou os laboratoristas, quando recebem tais pedidos, dão instruções aos pacientes no sentido de, quando possível, conservar as fezes em geladeira, se a sua remessa ao laboratório não puder ser feita logo após a emissão.

Resultados negativos obtidos com material sabidamente positivo e conservado de um dia para outro, nos causaram certa estranheza e nos levaram a investigar o assunto.

Revedo a literatura a nosso dispor encontramos observações análogas feitas por CORDI & OTTO<sup>3</sup> que verificaram que fezes, contendo numerosas larvas de *S. stercoralis*, se negativavam quando conservadas em geladeira durante 12 a 15 horas. Além destas, deparamos com algumas outras referências à ação do frio sobre as larvas rãbitóides do *S. stercoralis*. Assim é que LEUCKART<sup>apud</sup> 13 já afirmara que o frio mata estas larvas. KREIS<sup>12</sup> trabalhando com fezes de macacos *Ateles* infestados, verificou a morte das larvas após a permanência em geladeira durante dois dias. CORDI & OTTO<sup>3</sup> em experiências com larvas rãbitóides do *S. jülleborni*, extraídas de culturas pelo aparelho de Baermann e colocadas em geladeira, verificaram que: a) após 9 horas de permanência nestas condições, 15% perdem

a sua atividade; b) mantidas em geladeira durante 25 horas apenas 18% conservam pequena atividade; c) os movimentos cessam completamente e as larvas não mais se recuperam quando trazidas à temperatura ambiente, se permaneceram em geladeira durante 69 horas. Em face dêstes resultados e das observações feitas com fezes humanas, atrás citadas, concluem que não se deve aceitar como negativo para *S. stercoralis* um exame de fezes que tenham permanecido em geladeira por mais de 10 horas.

GAILLARD<sup>11</sup> verificou que, em coprocultura com carvão, o desenvolvimento das larvas rãbitóides se paralisa a 8°C. Elas podem permanecer vivas durante até 8 dias, mas a partir do 4.º dia a metade já se apresenta morta. Após o 8.º dia, aquelas que ainda se mantêm vivas não se recuperam quando trazidas à temperatura de 30°C. Resfriada a 2°C larva alguma consegue sobreviver além de 5 horas.

Tendo em vista que as fezes colhidas à tarde e enviadas ao laboratório no fim do período de atividade dêste, devem ser guardadas para exame a ser feito no dia seguinte, e considerando que entre o momento da colheita e o do exame decorrem, nestas condições, 15 a 18 horas, resolvemos estudar a influência da conservação em geladeira, durante êste lapso de tempo. Em um certo número de casos estendemos o período de observação por 24 horas.

Nossas experiências foram feitas da seguinte maneira: cada amostra de fezes recém-emitidas era homogenizada e delas retirávamos 5 porções de aproximadamente 10 g. Uma porção era submetida imediatamente à extração; outras duas porções eram conservadas à temperatura ambiente, durante 18 a 24 horas, respectivamente, e após êstes prazos, submetidas à extração; finalmente as outras duas porções eram conservadas em geladeira a 1-5°C durante os mesmos prazos e em seguida submetidas à extração. Durante os exames, as larvas presentes eram contadas. A temperatura inicial da água usada para a extração era de 45°C, a duração desta foi de 60 minutos e a temperatura do laboratório durante a

série de experiências, variou pouco, em torno de 25°C. Todas as amostras empregadas eram de fezes recém-colhidas no laboratório, salvo alguns casos em que elas foram colhidas em casa e enviadas imediatamente ao la-

boratório, não havendo decorrido mais de 30 minutos entre a colheita e o início do primeiro exame.

Os resultados obtidos com 22 amostras são apresentados nos Quadros I e II.

QUADRO I

Influência da conservação de fezes, em geladeira ou à temperatura ambiente, nos resultados da extração de larvas pela técnica do pires, expressos em número de larvas extraídas.

Caso nº	Número de larvas extraídas das fezes				
	Exame inicial	Após 18 horas		Após 24 horas	
		temperatura ambiente	em geladeira	temperatura ambiente	em geladeira
1 .....	6	2	3	...	...
2 .....	8	3	1	...	...
3 .....	13	8	—	...	...
4 .....	37	32	26	36	12
5 .....	2	1	—	...	...
6 .....	49	42	18	31	8
7 .....	76	85	8	72	1
8 .....	94	67	5	41	1
9 .....	22	18	5	31	2
10 .....	37	22	11	28	14
11 .....	2	1	—	...	...
12 .....	34	36	—	...	...
13 .....	37	27	8	...	...
14 .....	86	42	6	94	1
15 .....	38	5	—	29	—
16 .....	24	8	—	6	1
17 .....	73	41	2	36	—
18 .....	52	36	13	49	8
19 .....	24	26	8	22	6
20 .....	106	97	33	87	17
21 .....	81	32	2	...	...
22 .....	2	7	2	...	...

QUADRO II

Influência da conservação das fezes, em temperatura ambiente e na geladeira, medida pela positividade do exame para extração de larvas.

	Condições	Nº de casos	Com exame positivo	
			Nº	Porcentagem
Após 18 horas	Temperatura ambiente .....	22	22	100,00
	Geladeira .....	22	16	73,73
Após 24 horas	Temperatura ambiente .....	13	13	100,00
	Geladeira .....	13	11	84,61

O teste de Wilcoxon aplicado a êstes dados mostra que, conquanto nenhum exame tenha sido negativo, houve uma redução significativa no número de larvas isoladas quando as fezes foram mantidas à temperatura ambiente por 18 horas. Redução muito maior ocorreu no número de larvas extraídas das fezes conservadas em geladeira durante êsse mesmo espaço de tempo. Além disso, das 22 amostras conservadas em geladeira, 6 deram resultados negativos, ocorrência não verificada entre as conservadas em temperatura ambiente.

Nestas condições quando fôr absolutamente impossível o exame no mesmo dia de sua emissão, o material para pesquisa de larvas de *S. stercoralis* pode ser conservado em temperatura ambiente mas nunca em geladeira.

## II — VOLUME DO MATERIAL A EXAMINAR

Em seu trabalho inicial BRUG<sup>2</sup> aconselhava empregar 10 ml de fezes para a extração de largas. MORAES<sup>16</sup> e COUTINHO & col.<sup>4</sup> recomendam 8 a 10 g de fezes. RUGAI & col.<sup>17</sup> utilizam-se de todo o conteúdo das latinhas em que se colhe o material, não especificando a quantidade de fezes.

Em tôdas as nossas observações relatadas no presente trabalho usamos sempre cerca de 8-10 g de fezes. Nos exames de rotina do laboratório temos feito a extração com quantidades de fezes menores, quando o material recebido é insuficiente, mas os resultados obtidos nestas condições não foram tomados em consideração neste trabalho, pois mais de uma vez temos verificado que o uso de pequenas quantidades de fezes, quando o número de larvas é reduzido, tem dado resultados negativos, isto sucedendo em fezes comprovadamente positivas. Aliás, isto é de se esperar, pois a probabilidade de encontro de larvas nestas condições é menor.

## III — DURACÃO DA EXTRAÇÃO

O tempo durante o qual as fezes devem permanecer em contato com a água varia segundo os autores. BRUG<sup>2</sup> recomenda que a extração das larvas das fezes deve durar de 60 a 120 minutos.

SANDGROUND<sup>17</sup>, usando cultura de fezes feitas com carvão animal, obtinha a extração das larvas em espaço de tempo pouco superior a uma hora. LEE<sup>13</sup> aconselha a fazer a extração em estufa a 37°C durante 30 minutos. MORAES<sup>15</sup> recomenda deixar as fezes em contato com a água durante 60 a 90 minutos. COUTINHO & col.<sup>4</sup> mandam esperar 60 minutos. RUGAI & col.<sup>16</sup> recomendam que a colheita das larvas no fundo do cálice deva ser feita após 90 minutos de extração. Nas observações que relatamos em trabalho anterior (FERRIOLLI FILHO<sup>6</sup>) deixávamos as fezes em contato com a água durante 60 minutos.

Mas já BAERMANN<sup>1</sup> assinalava que as larvas de nematóides migram da terra para a água nos primeiros 15 minutos e que a extração se completa em 60 minutos.

É evidente que quanto mais prolongada fôr a extração, tanto maiores serão as oportunidades para uma larva, situada no meio da amostra fecal examinada, migrar para a água. Entretanto, na prática, é conveniente limitar êste tempo sem prejudicar os resultados, e isto por duas razões principais: a) os resultados dos exames serão fornecidos mais rapidamente, o que, em certos casos, é vantajoso; b) evita-se a evaporação da água no pires, o que acontece em climas extremamente secos, acarretando a necessidade de se adicionar mais água.

Para estudar o fator tempo de espera dois métodos poderiam ser utilizados: a) submeter porções das mesmas fezes homogenizadas, a extrações durante tempos variáveis; b) submeter a mesma porção de fezes a uma extração realizada por etapas sucessivas e de duração determinada. Após experiências preliminares, optamos pelo segundo método, que nos pareceu mais adequado por eliminar eventuais variações adequentes à falta da uniformidade na distribuição das larvas em porções diferentes das mesmas fezes, ainda que previamente homogenizadas.

Eis nossa maneira de proceder: dada amostra de fezes era submetida à extração durante 30 minutos em um primeiro pires com água; após êste prazo, a peneira metálica era transferida para um segundo pires com água, aí permanecendo durante mais 30 minutos. A operação era repetida em

intervalos de 30 minutos, tantas vezes quantas fôsem necessárias. Após cada extração parcial, o pires em que ela se efetuou era examinado e, se o exame fôsse positivo, a operação era interrompida. Releva notar que cada extração parcial era realizada nas mesmas condições de temperatura e iluminação, utilizando-se água aquecida a 40-45°C e luz natural difusa.

Assim procedendo, examinamos 108 amostras de fezes de casos suspeitos ou de indivíduos sabidamente portadores de estrogiloidíase. Os resultados são apresentados no Quadro III.

lidade dos casos a duração de 60 minutos é suficiente. Nos casos em que houver suspeita de estrogiloidíase novo exame deve ser feito após 120 minutos, findos os quais o material deve ser dado como negativo e repetido em outro dia se houver indicação.

#### IV — INFLUÊNCIA DO CALOR

Quando propôs seu método para a extração das larvas de ancilostomídeos de cultura de fezes, LOOSS<sup>14</sup> recomendou que a operação fôsse realizada em estufa a 36°C. BRUC<sup>2</sup>, para a extração de larvas do *S. stercoralis*

QUADRO III

Influência da duração da extração na positividade dos resultados, observada no exame de 108 amostras de fezes de pacientes suspeitos ou sabidamente com estrogiloidíase.

Duração	Nº de casos positivos	Porcentagem sobre o total de positivos	Porcentagem sobre o total de examinados
30 minutos .....	43	93,48	39,81
31- 60 minutos .....	2	4,35	1,85
61- 90 minutos .....	—	—	—
91-120 minutos .....	1	2,17	0,93
Total .....	46	100,00	42,59

Devemos assinalar que na série de amostras estudadas nenhuma se mostrou positiva após 120 minutos, ainda que houvesse suspeita de estrogiloidíase. Por outro lado, em casos sabidamente positivos, a extração sempre revelou larvas dentro dos primeiros 60 minutos.

Como vemos, a positividade se manifesta dentro dos primeiros 30 minutos na grande maioria dos casos, mas, se tomarmos este limite como tempo de espera para o exame, o risco de diagnósticos negativos falsos é de 6,52%. Após 60 minutos aquele risco cai para 2,17% apenas. A orientação prática a seguir deve ser a seguinte: se se tiver pressa em fornecer resultados, deve-se examinar o material após 30 minutos de extração; caso seja negativo, nova extração de 30 minutos deve ser feita. Para a genera-

das fezes, empregou água tépida, sem especificar a temperatura. SANDGROUND<sup>17</sup>, utilizando o aparelho de Baermann para a extração de larvas do *S. stercoralis* a partir de culturas, empregou água a 40-42°C assinalando que o calor ativa as larvas. LEE<sup>13</sup>, valendo-se da recomendação de LOOSS<sup>14</sup>, opera em estufa a 37°C; MORAES<sup>15</sup>, COUTINHO & col.<sup>4</sup>, RUGAI & col.<sup>16</sup> e outros, usam água a 40-42°C.

O emprêgo da água aquecida se justifica, segundo os autores, em virtude do termotropismo positivo de que as larvas do *S. stercoralis* são dotadas. Segundo SANDGROUND<sup>17</sup>, o calor torna as larvas mais ativas, fazendo com que elas mais rapidamente procurem a água. O termotropismo positivo das larvas filariformes do *S. stercoralis* foi bem estudado principalmente por FÜLLE-

BORN<sup>9, 10</sup>, mas não encontramos um estudo do mesmo fenômeno efetuado com as larvas rabbitóides, que são as que se encontram nas fezes recentemente emitidas. Investigações que realizamos a respeito e que constituem objeto de outro trabalho (FERRIOLLI FILHO<sup>7</sup>) mostram que estas larvas são também dotadas de termotropismo positivo.

Diante disto procuramos verificar se o aproveitamento deste tropismo melhoraria as condições de extração das larvas das fezes. Para isto submetemos 43 amostras de fezes de indivíduos suspeitos ou portadores de estrongiloidíase ao tratamento seguinte: de cada amostra, depois de homogeneizada, re-

tiramos duas porções de aproximadamente 10 g e as submetemos à extração, uma em água mantida no pires à temperatura do laboratório, que variou durante os exames de 25 a 30°C, e a outra em água mantida a temperaturas superiores a 37°C e inferiores a 45°C que era a inicial; para conseguir estas temperaturas empregamos uma caixa de madeira aquecida internamente por lâmpadas elétricas e com a tampa dotada de orifícios aos quais se adaptavam bem os pires.

Os resultados obtidos são apresentados em detalhes no Quadro IV e sumariados no Quadro V.

QUADRO IV

Influência do calor sobre a extração das larvas de *S. stercoralis*: número de larvas obtidas a frio e a quente, em cada um dos casos examinados.

Caso nº	Nº de larvas obtidas		Caso nº	Nº de larvas obtidas		Caso nº	Nº de larvas obtidas	
	a frio	a quente		a frio	a quente		a frio	a quente
1	8	12	16	48	35	31	36	76
2	25	25	17	4	4	32	74	123
3	37	41	18	2	3	33	2	5
4	1	1	19	21	18	34	—	—
5	3	2	20	—	—	35	17	39
6	—	—	21	—	—	36	3	5
7	19	17	22	26	32	37	—	—
8	—	2	23	—	—	38	13	22
9	23	~	24	~	~	39	—	2
10	8	54	25	—	—	40	—	—
11	2	2	26	41	47	41	—	—
12	4	6	27	88	82	42	35	37
13	27	26	28	—	2	43	—	—
14	14	13	29	42	37			
15	29	72	30	32	49			

OBS. — ~ : larvas muito numerosas e incontáveis.

QUADRO V

Influência do calor sobre a extração das larvas de *S. stercoralis*: positividade em temperatura ambiente e a quente, observada em 43 casos examinados.

Temperatura (°C)	Nº de positivos	Porcentagem sobre o total de positivos	Porcentagem sobre o total de examinados
37-42 .....	33	100,00	76,74
25-30 .....	30	90,90	69,76
Só a 37-42 .....	3	9,09	6,97
Só a 25-30 .....	—	—	—
Ambas temperaturas .....	30	90,90	69,76
Total .....	33	...	76,74

O exame destes quadros mostra que não há diferenças significativas entre as proporções de casos positivos usando-se água à temperatura ambiente ou aquecida, embora em três casos só tenhamos observado larvas quando a extração foi feita nesta última condição.

Se tomarmos em consideração o número de larvas obtidas em cada caso e aplicarmos a estes dados o teste de Wilcoxon, verificamos que, empregando água aquecida, obtêm-se números significativamente maiores de larvas do que quando se usa água à temperatura ambiente. Por isto, recomendamos o uso de água aquecida a 40-45°C na extração pela técnica do pires.

V — INFLUÊNCIA DA LUZ

Embora encontremos dados referentes à influência da luz sobre as larvas filariformes (DARLING<sup>5</sup>, FÜLLEBORN<sup>9</sup>), nenhum estudo sobre larvas rabditóides existe na literatura de que pudemos dispor. Investigações que serão relatadas em outro trabalho (FERRIOLI FILHO<sup>7</sup>) puseram em evidência a existência deste tropismo.

Procuramos, por isto, associar o fototropismo, à ação atrativa exercida pela água e pelo calor; ainda que soubéssemos que as radiações luminosas não poderiam penetrar

na massa fecal, quisemos verificar se a luz, atuando sobre as larvas situadas na periferia das fezes ou já fora delas, melhoraria as condições de extração, uma vez que DARLING<sup>5</sup> refere ser possível isolar larvas infestantes mediante a atração pela luz elétrica.

Utilizamos, então, a caixa de madeira aquecida que descrevemos ao estudar o termotropismo, cobrindo alguns dos orifícios com papel preto para impedir a passagem das radiações luminosas, e deixando outros abertos. A água do pires onde se deveria dar a extração das larvas foi mantida, em todas as experiências, em temperatura acima de 37°C, mas abaixo de 45°C. Cada amostra de fezes a ser estudada era homogeneizada e, dividida em duas partes iguais (10 g cada), sendo uma porção submetida à extração à luz e outra sem luz.

Examinamos assim 77 amostras de fezes de indivíduos suspeitos ou portadores de strongiloidíase. Os resultados são apresentados em detalhes no Quadro VI e resumidos no Quadro VII.

O exame destes quadros mostra que, embora as larvas rabditóides do *S. stercoralis* sejam dotadas de fototropismo positivo, a luz não exerceu ação favorável durante a extração. A quantidade de larvas extraídas com e sem luz foi aproximadamente a mesma. Por outro lado, todos os casos positivos revelados pela extração com luz, o foram

QUADRO VI

Influência da luz sobre a extração das larvas de *S. stercoralis*: positividade registrada com e sem luz, em 77 casos examinados.

Condições	Exames positivos		
	Nº absoluto	Porcentagem sobre o total de positivos	Porcentagem sobre o total de examinados
Com luz .....	30	88,24	38,96
Sem luz .....	34	100,00	44,16
Só com luz .....	—	—	—
Só sem luz .....	4	11,75	5,19
Com e sem luz .....	30	88,24	38,96
Total .....	34	...	44,16

QUADRO VII

Influência da luz sobre a extração de larvas do *S. stercoralis*: quantidade de larvas obtidas com e sem luz, em 77 casos examinados.

Caso nº	Extração de larvas		Caso nº	Extração de larvas		Caso nº	Extração de larvas	
	com luz	sem luz		com luz	sem luz		com luz	sem luz
1	—	—	27	—	—	53	—	—
2	—	—	28	++++	++++	54	++	++
3	—	+	29	—	—	55	+	+
4	—	—	30	—	—	56	++	++
5	—	—	31	—	—	57	—	—
6	—	—	32	++	++	58	—	+
7	—	—	33	—	—	59	—	—
8	+++	+++	34	+++	+++	60	—	—
9	+++	+++	35	—	—	61	++	++
10	—	—	36	—	—	62	—	—
11	+	++	37	—	—	63	—	—
12	—	—	38	—	—	64	—	—
13	—	—	39	++	+	65	+	+
14	—	+	40	+	+	66	—	—
15	++	+++	41	+	+	67	—	—
16	—	—	42	—	—	68	—	—
17	—	—	43	+	+	69	+++	+++
18	+	+	44	—	—	70	++	++
19	++	+	45	—	+	71	+++	+++
20	—	—	46	—	—	72	+++	+++
21	—	—	47	+++	+++	73	—	—
22	—	—	48	++++	++++	74	+	+
23	++	++	49	—	—	75	++++	++++
24	—	—	50	—	—	76	++	++
25	—	—	51	—	—	77	++	++
26	—	—	52	+	+			

OBS. —    +: 1 a 5 larvas;  
           ++: 6 a 10 larvas;  
           +++: 11 a 30 larvas;  
           ++++: mais de 30 larvas.



também quando não usamos luz e a extração sem luz revelou, em adição, mais quatro casos. As percentagens de positividade da extração com e sem luz foram, respectivamente, 88,24 e 100,00, sendo a diferença significativa.

#### SUMMARY

*Studies on the conditions influencing the extraction of larvae of Strongyloides stercoralis from stools by the modified Looss-Baermann method: the dish technique.*

The influence of various factors in the recovering of *Strongyloides stercoralis* larvae from stools was investigated. A modification of Looss-Baermann's method, that is, the dish technique FERRIOLLI FILHO<sup>8</sup>, was used.

From the results obtained, which are reported in detail and discussed, the following conclusions may be drawn:

a) Recently passed stools must be used because, when the specimens are kept at room temperature (circa 25°C) for 18 hours, the number of larvae recovered is significantly smaller; on the other hand, keeping the specimens in the ice-box (1-5°C) leads to a still larger reduction of the number of larvae recovered, as well as to the negatization of a significant proportion of positive stools.

b) Approximately 10 g. of feces should be subject to extraction, since the use of smaller amounts may give negative results in positive cases where the number of larvae present in stools is small.

c) The extraction must last at least 60 minutes; in this condition, larvae were recovered from 97.83 per cent of known positive specimens; in suspect patients the extraction may be carried out up to the 120<sup>th</sup> minute; within this period of time larvae were recovered from one hundred per cent of known positive specimens.

d) The initial temperature of the water in which the extraction is carried out should be 45°C; whenever possible the temperature of the water is to be kept above 40°C.

e) Although rhabditoid larvae have a positive phototropism, the use of artificial light did not improve the extraction. On the contrary, a significant proportion of specimens became negative when an intense illumination was used, other conditions remaining constant.

#### REFERÊNCIAS

1. BAERMANN, G. — Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomum (Nematoden) Larven in Erdproben. Mededeel. H. Geneesk. Lab. te Weltvreden, Festbundel, Batavia, p. 41-47, 1917.
2. BRUG, S. L. — De methode van Baermann toegepast op het onderzoek der faeces op mijnwormeieren. Gen. Tjdschr. Ned. Indië 61:565-573, 1921.
3. CORDI, J. M. & OTTO, G. F. — The effect of various temperatures on the eggs and larvae of *Strongyloides*. Amer. J. Hyg. 19: 103-114, 1934.
4. COUTINHO, J. O.; CAMPOS, R. & AMATO Neto, V. — Nota sobre diagnóstico e presença da estrogiloidose em São Paulo. Rev. clín. São Paulo 27:1-10, 1951.
5. DARLING, S. T. — The intestinal worms of 300 insane patients detected by special methods. Bull. Soc. Path. éxot. 4:334-341, 1911.
6. FERRIOLLI Filho, F. — Diagnóstico da estrogiloidose: modificações do método de Baermann-Moraes. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 1:138-140, 1959.
7. FERRIOLLI Filho, F. — Estudo de tropismo das larvas rhabditóides de *Strongyloides stercoralis*. [no prelo]
8. FERRIOLLI Filho, F. — Nova modificação do método de extração de Looss-Baermann para a pesquisa de larvas do *Strongyloides stercoralis* nas fezes: técnica do pires. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 3: 9-14, 1961.
9. FULLEBORN, F. — Ueber die Taxen und das sonstige Verhalten der infektionsfähigen Larven von *Strongyloides* und *Ankylostoma*. II. Mitteilung. Zentralbl. Bakt., I. Abt., Originale 126:161-180, 1932.
10. FULLEBORN, F. — Ueber "Taxis" (Tropismus) bei *Strongyloides* und *Ankylostomum* Larven. Arch. Schiffs- & Tropen-Hyg. 28:144-165, 1924.

11. GALLIARD, H. — Recherches sur l'infestation expérimentale a *Strongyloides stercoralis* au Tonkin. XIII. Action des facteurs physiques et chimiques sur le développement exogène. Ann. Parasitol. hum. & comp. 26:201-227, 1951.
12. KREIS, H. A. — Studies on the genus *Strongyloides* (Nematodes). Amer. J. Hyg. 16: 450-491, 1932.
13. LEE, C. V. — Some observations on *Strongyloides stercoralis*. Arch. Schiffs- & Tropen-Hyg. 34:262-274, 1930.
14. LOOSS, A. — The anatomy and life-history of *Agchilostoma duodenale* Dub. Rec. Egypt. Govt. School Med. 4:159-613, 1911.
15. MORAES, R. G. — Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da estrongiloidose no Brasil. Rev. S.E.S.P. 1: 507-624, 1948.
16. RUGAI, E.; MATTOS, T. & BRISOLA, A. P. — Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes: modificação do método de Baermann. Rev. Inst. Adolfo Lutz 14:1-8, 1954.
17. SANDGROUND, J. H. — Some observations on the life-cycle, methods of diagnosis and incidence of *Strongyloides stercoralis* in the tropics. Ann. Rep. United Fruit Co. med. Dept. 14:240-245, 1925.

Recebido para publicação em 20 dezembro 1960.