

# Detecção de *Cryptosporidium parvum* em alfaces frescas para consumo cru. Estudo de caso: Teresópolis, Rio de Janeiro, Brasil

Cassia R. A. PEREIRA<sup>1</sup>

Aldo P. FERREIRA<sup>2</sup>

Rosalina J. KOIFMAN<sup>3</sup>

## Resumo

A criptosporidiose humana surgiu como importante infecção gastrointestinal como resultado da ingestão de vegetais *in natura* ou contato de pessoa a pessoa, ambos contaminados pelo *Cryptosporidium parvum*. Este patógeno tem especial significado clínico por causar um quadro diarréico profuso, em pessoas imunodeprimidas, incluindo pacientes com AIDS e pacientes com câncer que recebem quimioterápicos sob regimes tóxicos medicamentosos. O emprego de água contaminada, não potável, para a produção de hortaliças, especialmente alface, pode representar importante fonte potencial de sua presença. Este artigo analisou a incidência de *C. parvum* em alface frescas para consumo cru, através de estudo de caso em Teresópolis, RJ, Brasil. Conclui-se que a ingestão de hortaliças contaminadas por estruturas parasitárias é uma via importante de transmissão de enteroparasitoses, necessitando a adoção de medidas, por parte dos órgãos de vigilância sanitária, que resultem em uma melhoria da qualidade higiênica desses produtos.

PALAVRAS-CHAVE: Alface, *Cryptosporidium parvum*, água

## Abstract

DETECTION OF *CRYPTOSPORIDIUM PARVUM* IN FRESH LETTUCE FOR RAW CONSUMPTION. CASE STUDY: TERESÓPOLIS, RIO DE JANEIRO, BRAZIL. Human cryptosporidiosis has emerged as an important gastrointestinal infection which results from the ingestion of vegetables in nature or by person to person contact, both contaminated by *Cryptosporidium parvum*. This pathogen has special clinical significance for causing a profuse diarrheic spectrum in immunocompromised persons, including AIDS patients and cancer patients receiving toxic chemotherapy under drug regimens. Employment of non-drinkable, contaminated, water, in the production of vegetables, particularly lettuce, may represent an important potential source for the presence of this pathogen. This article analyzed the incidence of *C. parvum* in raw lettuce, by means of a case study in Teresópolis, RJ, Brazil. It was concluded that the intake of vegetables contaminated by parasitic structures is an important route of transmission of enteric diseases, requiring the adoption of health measures by professional monitoring boards, which will result in an improvement of the hygienic quality of these products.

KEY WORDS: Human cryptosporidiosis; public health; *Cryptosporidium parvum*; contaminated water and vegetables.

## Introdução

O parasitismo é uma relação direta e estreita entre dois organismos, geralmente bem determinado: o hospedeiro e o parasita, que levam a produção de doenças parasitárias, as quais As parasitoses são responsáveis por considerável morbidade e mortalidade em todo o mundo e, freqüentemente, estão presentes com sinais e sintomas não específicos (Costa et al., 2001). As águas

destinadas à irrigação de hortaliças são fontes originais de contaminação quando comportam grande quantidade de microrganismos como coliformes fecais, *Aeromonas*, *Salmonelas* e *Cryptosporidium* spp. (Pacheco et al., 2002; Heller et al., 2004; Ferreira et al., 2008).

A necessidade de proteção e tratamento adequado da água de consumo humano relaciona-se, diretamente, com

1 SPMA/ENSP/FIOCRUZ – e-mail: cassiaapereira@ensp.fiocruz.br

Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente (doutoranda), Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz - Rua Leopoldo Bulhões, 1480 - 21041-210 - Manguinhos – Rio de Janeiro – RJ – Brasil.

2 CESTE/ENSP/FIOCRUZ – e-mail: aldoferreira@ensp.fiocruz.br

Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz - Rua Leopoldo Bulhões, 1480 - 21041-210 - Manguinhos – Rio de Janeiro – RJ – Brasil.

3 DEMQS/ENSP/FIOCRUZ – e-mail: jorger@ensp.fiocruz.br

Departamento de Epidemiologia e Métodos Quantitativos em Saúde, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz - Rua Leopoldo Bulhões, 1480 - 21041-210 - Manguinhos – Rio de Janeiro – RJ – Brasil.

os diferentes surtos epidêmicos onde microrganismos acometem a população por via hídrica. Recentemente, vários patógenos novos e patógenos emergentes têm evidenciado problemas. Dentre outros, ressalta o *Cryptosporidium parvum* que foi primeiramente descrito em 1907, reconhecido como patógeno animal em 1955, mas somente a partir da década de 80, caracterizado como patógeno humano (Szewzik et al., 2000). O *C. parvum* pertence ao reino *Apicomplexa*, classe *Sporozoa* e a família *Cryptosporidiidae*. É um ser parasito coccídeo entérico obrigatório, que infecta o trato gastrointestinal, sendo um dos patógenos entéricos mais importantes dentro do gênero *Cryptosporidium*.

A veiculação hídrica do *Cryptosporidium* é facilitada pelo longo período que o oocisto permanece viável no ambiente e pelo tamanho reduzido (2-5 µm). Hospedeiros infectados eliminam pelas fezes em torno de  $10^9$  a  $10^{10}$  oocistos (Smith & Rose, 1998), que podem ser transmitidos pelas rotas indivíduo-indivíduo, animal-indivíduo, ou ainda pela ingestão de água e alimentos contaminados. Os oocistos de *Cryptosporidium* são altamente infectantes e a ingestão de até 30 oocistos podem resultar em infecções humanas (Dupont et al., 1995).

A criptosporidiose é caracterizada através de diarreia severa acompanhada por perda fluida, febre e dor abdominal. A transmissão ocorre pela rota fecal-oral por contaminação de nascentes, contaminação de alimentos *in natura* ou contato de pessoa-a-pessoa. Animais, como gado, podem eliminar um número grande de oocistos (a fase do ciclo de vida que é excretado no ambiente) em águas superficiais. Indivíduos imunodeprimidos como, por exemplo, aqueles com síndrome de imunodeficiência adquirida são facilmente acometidos por este patógeno (Harwood, 2001; Heller et al., 2004).

No Brasil, as parasitoses intestinais ainda constituem um sério problema de saúde coletiva, apresentando maior prevalência em populações de nível sócio-econômico mais baixo e condições precárias de saneamento básico, resultando em altos índices de morbidade. Em crianças, principalmente com idades entre 0 e 5 anos, por apresentarem, normalmente, hábitos higiênicos mais precários ou a ausência de imunidade de re-infecções, o parasitismo intestinal torna-se mais freqüente e relevante, inclusive pela possibilidade de redução da absorção intestinal, podendo influenciar no crescimento e desenvolvimento, podendo levando a diminuição da imunidade, anemia, subnutrição, desnutrição e até a morte (Uchoa et al., 2001; Heller et al., 2004).

Com base nos estudos desenvolvidos nos anos 90 ficou estabelecido que o *Cryptosporidium* spp. não é espécie-específico e que linhagens de uma espécie animal podem infectar um amplo espectro de outras espécies. Linhagens isoladas do homem, de bezerras, cordeiros, cabritos e cervos foram transmitidos por via oral a cordeiros, bezerras

e leitões, nos quais causaram diarreia. Potros, frangos e animais de laboratório contaminados produziram infecção assintomática (Uchoa et al., 2001). Esse resultado indica que os hospedeiros e reservatórios são múltiplos na natureza e que uma espécie animal pode contrair a infecção de outra (Acha & Szyfres, 1997; Silva et al., 2005).

Os vegetais são amplamente recomendados como parte da alimentação diária por seu apreciável conteúdo em vitaminas, sais minerais e fibras alimentares. Tem crescido o interesse, principalmente, por aqueles que apresentam em sua composição substâncias com atividade antioxidante, a exemplo dos carotenóides, vitamina C e flavonóides, que os caracterizam como alimentos funcionais. As doenças transmitidas por alimentos são resultantes predominantemente do ciclo de contaminação fecal / oral e seu controle tem recebido cada vez maior atenção em todo o mundo (Souto, 2005). Geralmente, tanto nas áreas rurais quanto urbanas dos países de Terceiro Mundo devido às más condições sanitárias, as parasitoses intestinais são amplamente difundidas, sendo as hortaliças citadas como um dos veículos de suas estruturas infectantes (Rolim & Torres, 1992; Slifko et al., 2000; Nóbrega, 2002; Souto, 2005).

A alface (*Lactuca sativa*) é a hortaliça folhosa mais comercializada no Brasil, seu baixo valor calórico a qualifica para diversas dietas, o que favorece o seu consumo sob a forma crua. É cultivada durante o ano inteiro, em canteiros de terra, de maneira que as touceiras ou pés permanecem por todo o período de desenvolvimento em contato com o solo (Filgueira, 2000; Falavigna et al., 2005).

A principal forma de contaminação das hortaliças se dá pela água contaminada por material fecal de origem humana, utilizada na irrigação das hortas. Vários autores mencionam a possibilidade de transmissão de parasitoses ao homem por meio da ingestão de frutas e verduras consumidas cruas, provenientes de áreas cultivadas contaminadas por dejetos fecais (Silva et al., 1995; Mesquita et al., 1999; Takayanagui et al., 2000; Souto, 2005).

Sob os aspectos qualitativos, a segurança alimentar pode ser entendida como a aquisição pelo consumidor de alimento de boa qualidade livre de contaminantes químicos, biológicos e físicos, ou qualquer substância que possa acarretar problemas à saúde (Silva et al., 2005). Nesse aspecto, enquadra-se a importância sanitária da pesquisa do *Cryptosporidium* spp. em hortaliças como a alface.

## Padrões Sanitários

A importância do estudo sobre a ocorrência de *Cryptosporidium* spp. no ambiente aquático foi reforçada pelas citações da portaria n° 518, de 25 de março de 2004 do Ministério da Saúde (Brasil, 2004), que recomenda a inclusão da pesquisa deste patógeno para se atingir o

padrão de potabilidade da água. Atualmente, recomenda-se, mundialmente, o monitoramento de *Cryptosporidium* em sistema de água potável que abastecem cidades entre 10.000 e 100.000 habitantes (Franco et al., 2001).

Como um patógeno em evidência, o *C. parvum* possui implicações significativas à vigilância sanitária (saúde pública e água). Tem sido encontrado em fonte de águas não tratadas, causando substanciais surtos de graves doenças, onde testes de água e métodos de tratamento foram falhos para detectá-los ou removê-los. Dados mais recentes sugerem que mesmo doses baixas (cerca de 10 oocistos) podem causar infecção (Gostin et al., 2000; Heller et al., 2004).

Estudos epidemiológicos têm demonstrado que infecções por *C. parvum* são mais comuns e amplas que previamente se pensava, entretanto, muitos casos registrados têm sido limitados a hospedeiros individuais sofrendo severa doença clínica (Heller et al., 2004; Falavigna et al., 2005; Silva et al., 2005). Embora a verdadeira extensão de infecções por *Cryptosporidium* spp. permaneça conjectural, a importância como patógenos animais e humanos tem se tornado mais reconhecida através do número crescente e diversificado de casos clínicos registrados através do mundo (Cook et al., 2006).

## Água de Cultivo

A água é essencial à vida, porém muitas vezes atua como veículo de doenças ao homem, o que torna primordial a avaliação de sua qualidade microbiológica antes de ser utilizada, com largo espectro de uso, com destaque na irrigação (Uchoa et al., 2001; Nóbrega, 2002).

Geralmente, a água utilizada na irrigação é proveniente de rios, córregos, lagos ou poços adjacentes às hortas, sendo raramente encontrada a utilização de água de abastecimento público, devido principalmente ao seu alto custo, uma vez que a demanda exigida para este propósito é bastante elevada. Portanto, a água destinada a irrigação é transportada através de bombas ou canais desde o rio e riacho até as hortas, sem qualquer tratamento prévio, podendo vir a ser uma fonte potencial de enteropatógenos para o vegetal que será irrigado (Oliveira & Germano, 1992; Nóbrega, 2002). Frequentemente se observa a disposição inadequada de esgotos domésticos, como também a deficiência de saneamento básico em alguns locais, contribuindo efetivamente para a contaminação das coleções hídricas, inclusive dos lençóis freáticos, por matéria orgânica (Talyanagui et al., 1996; Guimarães et al., 2003).

Entretanto, alimentos que estão em contato direto com águas contaminadas e são consumidos crus constituem fontes prováveis desses microrganismos e merecem especial atenção, principalmente nos países em desenvolvimento,

onde o estado nutricional da população é precário, interferindo diretamente nas condições imunológicas dos indivíduos. Crianças, imunodeprimidos e debilitados são considerados grupos susceptíveis, favorecendo o aparecimento dessas enfermidades (Mesquita et al., 1999; Pacheco et al., 2002).

No meio rural, o risco de ocorrência de surtos de doenças veiculadas pela água é bastante alto, principalmente em função da possibilidade de contaminação bacteriana de águas que muitas vezes são captadas em poços, inadequadamente vedados e próximos de fontes de contaminação, como fossas e áreas de pastagem ocupadas por animais (Guimarães et al., 2003).

O objetivo deste trabalho foi avaliar parasitologicamente a qualidade de hortaliças consumidas cruas provenientes de locais de produção e comercializadas no município de Teresópolis, Rio de Janeiro.

## Metodologia

### Local de Estudo

O município de Teresópolis foi criado em 06 de julho de 1891 e faz parte da Região Serrana do Estado do Rio de Janeiro estando distante da capital 90 km. Apresenta os seguintes municípios como limítrofes: Petrópolis, São José do Rio Preto, Sumidouro, Nova Friburgo, Cachoeiras de Macacu e Guapimirim, e corresponde a 11,1% da área da Região Serrana. Ocupa uma área de 772,4 km<sup>2</sup> e tem altitude da sede de 871 m. Suas coordenadas variam de: 22° 06' 52" a 22° 28' 38" de latitude e 42° 42' 17" a 43° 03' 19" de longitude.

De acordo com o Censo Demográfico do IBGE (2000), o Município de Teresópolis apresenta um total de 138.081 habitantes com 115.198 (83,5%) habitantes na zona urbana e 22.883 (16,5%) habitantes na zona rural, apresentando uma densidade demográfica de 158,7 hab/km<sup>2</sup> e taxa de urbanização de 83,9%.

Esse município é servido por duas estradas federais, a BR-116, que acessam Guapimirim ao sul e São José do Vale do Rio Preto ao norte, e a BR-495, estrada serrana que alcança Petrópolis, a oeste. A rodovia estadual RJ-130 acessa Nova Friburgo, a leste sendo denominada Circuito "Terê-Fri" pelo clima favorável à exploração turística dos recursos naturais e pelo pólo agrícola de importante aporte no Estado do Rio de Janeiro.

Segundo dados do Tribunal de Contas do Estado do Rio de Janeiro (2004) no setor primário, a horticultura (alface, couve-flor, tomate, repolho, salsa, entre outros) é responsável por 81% da produção agrícola do município, o qual é o principal produtor dessa cultura no Estado.

## Preparo e coleta de amostras

Foram utilizadas 50 amostras de alface lisa (*Lactuca sativa*), coletadas em três locais distintos, entre os meses de março a setembro de 2007, perfazendo 15 do primeiro produtor, 15 do segundo produtor e 20 do terceiro produtor. As hortaliças foram coletadas aleatoriamente, no período da manhã, e foram acondicionadas individualmente em sacos plásticos limpos e descartáveis. Cada amostra foi representada por 100g de cada hortaliça. No laboratório, utilizando luvas cirúrgicas, as folhas deterioradas foram descartadas. As demais folhas foram selecionadas em dois grupos: um contendo as folhas da base e outro as do meio do pé.

Todas as folhas foram submetidas à lavagem pela técnica de lavagem descrita por Silva et al. (2005), sendo lavadas com 450ml de solução salina (NaCl 0.85%), esfregando-se com pincel chato nº 16 num recipiente plástico esterilizado e deixadas em repouso por 5 minutos, sendo, então a solução de lavagem submetida à pesquisa de *C. parvum*.

## Deteção de *C. parvum*

A detecção de *C. parvum* foi realizada conforme o método de coloração de Ziehl-Nielsen Modificado (UK National Reference Method, 2006) onde os dados obtidos sugerem a necessidade da adoção de medidas educativas aos produtores e do monitoramento da forma de cultivo dessas hortaliças, evitando-se problemas de saúde coletiva.

Um volume de 50 ml da solução de lavagem foi submetido à centrifugação a 900 RPM por 30 minutos (Silva et al., 2005). Para confecção dos esfregaços foi utilizado um volume de 20 ml do sedimento coletado após centrifugação, em triplicata, num total de 60 ml por amostra. Através de sucção com pipeta automática os sedimentos foram medidos tendo em média 0,25 ml de sedimento final por amostra e feito esfregaço em lâminas limpas e desengorduras.

Para a coloração dos esfregaços foi utilizada a técnica de Ziehl-Nielsen Modificado (Rigo & Franco, 2002; UK National Reference Method, 2006). Utilizando o concentrado obtido, fez-se um esfregaço delgado e homogêneo em lâminas de microscopia. Após isso, foi deixado secar ao ar e posteriormente fixado em metanol por 5 minutos, deixando secar a temperatura ambiente. A seguir, foi corado com carbolfucsina por 5 minutos e processadas as lavagens, utilizando primeiramente álcool etílico a 50% e depois água corrente. Descorar a lâmina mergulhando-a em álcool-ácido a 1% (ácido clorídrico concentrado em álcool etílico 95%). Lavar novamente em água corrente e contracorar com azul de metileno por 1 a 5 minutos. Lavar em água corrente e deixar as lâminas secarem ao ar. Para o

cálculo do número total de oocistos na amostra utilizou-se a metodologia de Oliveira & Germano (1992).

## Resultados

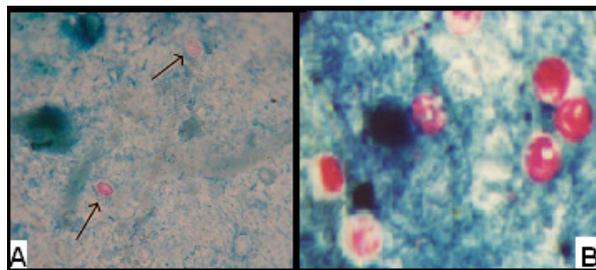
Das 50 amostras de alface, os 50 esfregaços obtidos das folhas provenientes da base do pé apresentaram 100% de presença de oocistos. Das demais 50 amostras provenientes das folhas do meio das alfaces, 38% apresentaram presença de oocistos (**Tabela 1**).

Oocistos <i>Cryptosporidium parvum</i>	Positivas		Negativas	
	F	%	F	%
Nas folhas da base	50	100,0	0	0,0
Nas folhas do meio	19	38,0	31	62,0

Tabela 1. Ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium parvum* em 50 amostras de alfaces lisas (*Lactuca sativa*) coletadas no município de Teresópolis, RJ. Manguinhos, FIOCRUZ, 2007.

Legenda  
F= frequência

A **Figura 1** denota oocistos presentes nas amostras pesquisadas. A leitura e contagem dos oocistos foram realizadas utilizando-se microscopia óptica, com objetiva de imersão, percorrendo-se todo o esfregaço.



**Figura 1.** Oocistos de *C. parvum* nas amostras positivas analisadas (aumento 1000x).

## Discussão

O estudo investigativo de parasitas intestinais tem por objetivo determinar as principais doenças e seus respectivos agentes etiológicos que se encontram distribuídos por todo o mundo, de forma endêmica ou epidêmica, observando as áreas de maior incidência ou prevalência e os fatores que favorecem a proliferação dessas parasitoses, para que possam ser diagnosticadas e utilizados programas de controle e de tratamento.

Essa pesquisa comprovou 100% de contaminação nas folhas da base dos pés de alface, provavelmente devido ao contato estreito de tal parte do vegetal com o solo que pode abrigar água contaminada e fezes de animais de sangue quente (Acha & Szyfres, 1997; Gostin et al., 2000).

A presença dos oocistos em 38% das folhas do meio do pé de alface demonstrou uma forma de contaminação, talvez, relacionada à água contaminada, uma vez que em seu habitat natural a alface apresenta uma formação folhosa densa e fechada ao miolo (Rolim & Torres, 1992), havendo apenas a suposição de que a água de irrigação, sem controle prévio pode ser potencial fonte de surto de doenças (Gostin et al., 2000; Pacheco et al., 2002).

Outro fator importante a ressaltar, e que explicaria os resultados encontrados, é o fato de no Brasil se utilizar estrume (fezes de animais) como fertilizantes para hortaliças, que é uma fonte de contaminação, bem como a água que irriga essas plantações, muitas vezes são oriundas de rios ou nascentes contaminadas, possibilitando a chegada à mesa do consumidor alimentos contaminados (Pacheco et al., 2002).

As doenças causadas por parasitos intestinais não têm sido prioritárias em programas de saúde pública. Algumas explicações para a falta de interesse das autoridades podem ser a carência de estudos epidemiológicos em várias regiões do país, assim como as altas taxas de reinfecção e a rapidez com que ocorrem após o tratamento.

É interessante enfatizar que verminose não é somente um problema que afeta crianças de baixa renda, mas ocorre em todo o país. Para mudar este quadro é necessário que haja transformação nas condutas de higiene, e se deve propor medidas sanitárias mais sérias tanto no saneamento básico, mais também no refinamento e controle sanitário de restaurantes, bares, lanchonetes, escolas, agricultura e tudo que se relacione à veiculação de água em alimentos.

## Conclusões

Esta pesquisa, embora tenha utilizado pequena amostragem de hortaliças, revela que elas podem estar sendo cultivadas em solos poluídos, ou que a água de irrigação utilizada esteja contaminada com material fecal, ou ainda, que no cultivo desses vegetais esteja sendo utilizado adubo animal (suíno, bovino), que podem carrear ovos e larvas de helmintos, bem como cistos de protozoários, podendo causar enteroparasitoses.

Fator importante na mitigação do problema pode ser a implantação de políticas sanitárias aliadas ao tratamento das pessoas infectadas, bem como o fomento a programas educacionais junto às populações do meio rural para conscientização desse problema de caráter coletivo já que muitos casos são assintomáticos, não existe tratamento efetivo e pode ser fatal em indivíduos imunocomprometidos.

Conclui-se que a ingestão de hortaliças contaminadas por estruturas parasitárias é uma via importante de transmissão de enteroparasitoses, necessitando a adoção de medidas, por parte dos órgãos de vigilância sanitária,

que resultem em uma melhoria da qualidade higiênica desses produtos. Adicionalmente, torna-se importante o uso de instalação de fossas sépticas e redes de esgoto para impedir que o solo venha a se contaminado, bem como da água para irrigação.

## Referências

- ACHA, P.N. & SZYFRES, B. 1997. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2 ed., Washington: Organización Panamericana de La Salud – Publicación Científica n. 503.
- BRASIL. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004. O Ministério da Saúde aprova normas e padrões de potabilidade da água destinada ao consumo humano. Diário Oficial, Brasília, 26 mar., Seção 1, p.266-70.
- COOK, N.; PATON, C.A.; WILKINSON, N.; NICHOLS, R.A.B.; BARKER, K. & SMITH, H.V. 2006. Towards standard methods for the detection of *Cryptosporidium parvum* on lettuce and raspberries. Part 1: Development and optimization of methods. International Journal of Food Microbiology 109: 215–221.
- COSTA, M.C.; PATRICK, A.; RUBINA, A.; OLIVEIRA, A.S.; PANGARO, C.; MOITINHO, C.; MENDONÇA, D.; VIEIRA, F.; JOSÉ, F. & WILSON, P. 2001. Doenças parasitárias. Parasitology 128: 113-116.
- DUPONT, H.L.; CHAPPEL, C.L.; STERLING, C.R.; OKHUYSEN, P.C., ROSE, J.B. & JAKUBOWSKI, W., 1995. The infectivity of *Cryptosporidium parvum* in healthy volunteers. New England Journal of Medicine 332: 855-859.
- FALAVIGNA, L.M.; RODRIGUES DE FREITAS, C.B. & CARDOSO DE MELO, G. 2005. Qualidade de hortaliças comercializadas no noroeste do Paraná, Brasil. Parasitologia Latinoamericana 60(3-4): 144-149.
- FERREIRA, A.P.; CUNHA, C.L.N. & ROQUE, O.C.C. 2008. Avaliação da microfauna no efluente final para monitoramento da qualidade ambiental em estações de tratamento de esgotos do tipo lodos ativados. Gaia Scientia 1(2): 51-59.
- FILGUEIRA, F.A.R. 2000. Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. Viçosa: UFV.
- FRANCO, R.M.B.; ROCHA-EBERHARDT, R.; NETO, R.C. 2001. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in raw water from the Atibaia River, Campinas, Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 43(2): 109-111.

- GOSTIN, L.O.; LAZZARINI, Z.; NESLUND, V.S. & OSTERHOLM, M.T. 2000. Water quality laws and waterborne diseases: *Cryptosporidium* and other emerging pathogens. *American Journal of Public Health* 90(6): 847-53.
- GUIMARÃES, A.M.; ALVES, E.G.L.; FIGUEIREDO, H.C.P.; COSTA, G.M. & RODRIGUES, L.S. 2003. Frequência de enteroparasitas em amostra de alface (*Lactuca sativa*) comercializada em Lavras, Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 36(5): 621-623.
- HARWOOD, V.J. 2001. Detection and occurrence of indicator organisms and pathogens. *Water Environment Research* 73(5):155-167.
- HELLER, L.; BASTOS, R. K. X. & VIEIRA, M. B. C. M. 2004. Oocistos de *Cryptosporidium* e cistos de *Giardia*: circulação no ambiente e riscos à saúde humana. *Epidemiologia dos Serviços de Saúde* 13(2): 79-92.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2000. Projeto Teresópolis. Hydrology and elevation Teresópolis (Map). Scale Layer: 1:50.000. 4d ed., DAMTD. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/>> Acessado em 01/04/2008.
- MESQUITA, V.C.L.; SERRA, C.M.B.; BASTOS, O.M.P. & UCHOA, C.M.A. 1999. Contaminação por enteroparasitas em hortaliças comercializadas nas cidades de Niterói e Rio de Janeiro, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 32(4): 363-366.
- NÓBREGA, M.F.F. 2002. Perfil sócio-demográfico dos vendedores de hortaliças e prevalência de entoparasitas humanos em *Lactuca sativa*. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande-PB, 108f.
- OLIVEIRA, C.A. & GERMANO, P.M. 1992. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo—SP, Brasil – II- Pesquisa de protozoários intestinais. *Revista Saúde Pública* 26(5): 332- 335.
- PACHECO, M.S.R; FONSECA, Y.S.K.; DIAS, H.G.G.; CANDIDO, V.L.P.; GOMES, A.H.S.; ARMELIN, J.M. & BERNARDES, R. 2002. Condições higiênicas–sanitárias de verduras e legumes comercializadas no Ceagesp de Sorocaba–SP. *Higiene Alimentar* 16(101): 50-51.
- RIGO, C.R. & FRANCO, R.M.B. 2002. Comparação entre os métodos de Ziehl-Neelsen modificado e Acid-Fast-Trichrome para a pesquisa fecal de *Cryptosporidium parvum* e *Isospora belli*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 35(3): 209-214.
- ROLIM, H.M.V. & TORRES, M.C.L. 1992. Ocorrência de coliformes fecais e *Escherichia coli* em alface comercializada em Goiana-GO. *Anais da Escola de Agronomia e Veterinária* 22(1): 47–53.
- SMITH, H.V. & ROSE, J.B., 1998. Waterborne Cryptosporidiosis: Current Status. *Parasitol. Today*, 14:14-22.
- SILVA, C.G.M.; ANDRADE, S.A.C. & STAMFORD, T.L.M. 2005. Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. e outros parasitas em hortaliças consumidas in natura no Recife. *Ciência & Saúde Coletiva* 10: 63-69.
- SLIFKO, T.R.; SMITH, H.V. & ROSE, J.B. 2000. Emerging parasite zoonoses associated with water and food. *International Journal of Parasitology* 30: 1389-1393.
- SOUTO, R.A.D. 2005. Avaliação sanitária das águas de irrigação e de alfaves (*Lactuca sativa*) produzidas no município de Lagoa Seca, Paraíba. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal da Paraíba, 58f.
- SZEWZYK, U.; SZEWZYK, R.; MANZ, W. & SCHLEIFER, K.H., 2000. Microbiological safety of drinking water. *Annual Review Microbiology* 54: 81-127.
- TAKAYANAGUI, O. M.; FEBRÔNIO, L.H.P.; BERGAMINI, A.M.; OKINO, M.H.T.; SILVA, A.A.M.C.C.E. & SANTIAGO, R. 2000. Fiscalização de hortas produtoras de verduras do município de Ribeirão Preto, SP. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 33(2): 169-174.
- TRIBUNAL DE CONTAS DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO. 2004. Estudo Socioeconômico 2004 – Teresópolis. Secretaria Geral de Planejamento do Rio de Janeiro.
- UCHÔA, C.M.A.; LOBO, A.G.B.; BASTOS, O.M.P. & MATOS, A.D. 2001. Parasitoses intestinais: prevalência em creches comunitárias da cidade de Niterói, Rio de Janeiro-Brasil. *Revista Instituto Adolfo Lutz* 60(2): 97-101.
- UK NATIONAL REFERENCE METHOD. 2006. *Cryptosporidium* detection and identification in faeces Standard Operating Procedure – For the Examination of Faeces for *Cryptosporidium*. Veterinary and Public Health Test Standardisation Group on behalf of SGDI.

Artigo recebido:24/05/2008

Artigo aceito: 7/7/2008