

Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. e outros parasitas em hortaliças consumidas *in natura*, no Recife

Occurrence of *Cryptosporidium* spp. and others parasites in vegetables consumed *in natura*, Recife, Brazil

Celiane Gomes Maia da Silva ¹
Samara Alvachian Cardoso Andrade ¹
Tânia Lúcia Montenegro Stamford ^{1*}

Abstract *The study was carried with the aim to evaluate the occurrence of enteroparasites in vegetables commercialized and consumed in natural form in the state of Pernambuco, Brazil. Horticultural samples purchased from supermarket and free market: 40 from lettuce (Lactuca sativa), 40 from watercress (Nasturtium officinale) and 20 from chard (Beta vulgaris) were analyzed. Cryptosporidium spp. detection was realized following Menge and Arias methodology, using two staining processes (Koster modified and Ziehl-Nielsen). Parasitological analysis was determined by the spontaneous sedimentation technique (Gelli et al.), and total coliformes and Escherichia coli following Andrews. The distribution of parasitic contamination was lettuce 60%, watercress 30% and chard 20%, with evidence of helminthes (Ascaris lumbricoides, Strongyloides stercoralis, Ancylostoma duodenale) and protozoas (Complex Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar, Cryptosporidium spp. and Entamoeba coli). Lettuce showed greater contamination of total coliformes and Escherichia coli in samples from supermarket and watercress in samples from free market. These data suggest the need of adoption of educative programs for horticulturalists and monitoration of the water used in horticulture was in evidence as future needs.*

Key words *Cryptosporidium spp., Escherichia coli, Enteroparasites, Vegetables, Water*

Resumo *O objetivo deste estudo foi verificar a ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas e consumidas em Pernambuco. Foram utilizadas 100 amostras de hortaliças: 40 amostras de alface lisa (Lactuca sativa), 40 de agrião (Nasturtium officinale) e 20 de acelga (Beta vulgaris), provenientes de feiras livres e supermercados. A detecção de Cryptosporidium spp. foi realizada conforme Menge e Arias sendo utilizado dois métodos de coloração, Koster modificado e Ziehl-Nielsen. Foi usada a técnica de sedimentação espontânea de Gelli et al. para a análise parasitológica. As análises de coliformes totais e Escherichia coli foram realizadas de acordo com Andrews. Os resultados obtidos mostraram um percentual de contaminação parasitária em 60% de alface, 30% de agrião e 20% de acelga, destacando-se o Ascaris lumbricoides, Strongyloides stercoralis e Ancylostoma duodenale dentre os helmintos, e o Cryptosporidium spp., Entamoeba coli e o complexo Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar, dentre os protozoários com maior frequência. As hortaliças mais contaminadas por coliformes totais e Escherichia coli foram alface e agrião em amostras de supermercado e agrião em feira livre. Esses dados sugerem a necessidade da adoção de medidas educativas aos produtores, e do monitoramento das águas destinadas à irrigação das hortas.*

Palavras-chave *Cryptosporidium spp., Escherichia coli, Enteroparasitas, Hortaliças, Água*

^{1*} Departamento de Nutrição, Centro de Ciências da Saúde, UFPE. Rua Jader de Andrade 335, Casa Forte, 52061-060, Recife PE. tlmstamford@yahoo.com.br

Introdução

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. 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 (Slifko et al., 2000). A principal forma de contaminação dessas 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 com sumidas cruas, provenientes de áreas cultivadas contaminadas por dejetos fecais (Silva et al., 1995; Mesquita et al., 1999; Takayanagi et al., 2000; 2001).

O diagnóstico laboratorial de parasitas de ocorrência em humanos presentes em hortaliças é de grande importância para a saúde pública uma vez que fornece dados sobre as condições higiênicas envolvidas na produção, armazenamento, transporte e manuseio desses produtos e, portanto, sobre os riscos de contaminação dos seus consumidores.

Dentre tantos parasitos que infectam o homem, o *Cryptosporidium spp.* atualmente se apresenta como um patógeno oportunista frequente principalmente em pacientes imunodeprimidos. Este parasito cosmopolita de caráter zoonótico é encontrado em todos os continentes, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento nas áreas urbanas e rurais (Lima, 2001; Silva et al., 2002; Lima & Stamford, 2003).

Diversos trabalhos têm sido realizados para pesquisar enteroparasitas em hortaliças, porém poucos têm enfatizado a contaminação destas com o *Cryptosporidium spp.* É de extrema relevância a pesquisa deste parasito em virtude de sua importância na saúde pública e, principal-

mente, pelo grande impacto da criptosporidiose em pacientes imunodeprimidos.

O presente estudo teve como objetivo verificar a ocorrência de *Cryptosporidium spp.* e outros enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana do Recife (PE), além de avaliar a contaminação por coliformes totais e *Escherichia coli*.

Métodos

Foram utilizadas cem unidades de hortaliças distribuídas em 40 amostras de alface lisa (*Lactuca sativa*), 40 de agrião (*Nasturtium officinale*) e 20 de acelga (*Beta vulgaris*) entre os meses de maio a julho. Do total de hortaliças coletadas, 50% foram provenientes de três diferentes feiras livres e 50% de três diferentes supermercados, ambos localizados na região metropolitana do Recife.

Durante a coleta, as hortaliças foram acondicionadas, individualmente, em sacos plásticos e levadas ao laboratório para serem analisadas.

Preparo das amostras

As folhas das hortaliças foram selecionadas, excluindo-se as danificadas, e pesadas antes de serem submetidas à lavagem com água destilada para retirada de sujidades. Posteriormente, foram processadas pela técnica de lavagem descrita por Monge e Arias (1996), onde 50 g de folhas foram lavadas com 450 ml de solução salina (NaCl 0.85%), esfregando-se com pincel chato nº 16 num recipiente plástico e deixadas em repouso por 5 minutos. A seguir as folhas foram desprezadas e a solução de lavagem submetida às análises microbiológicas e parasitológicas.

Análises microbiológicas

Foram utilizadas placas Petrifilm™ para contagem de coliformes totais e *Escherichia coli* de acordo com a metodologia de Andrews (1993).

Pesquisa de *Cryptosporidium spp.*

• Preparo das lâminas

Um volume de 50 ml da solução de lavagem foi submetido à centrifugação a 900 rpm por 30 minutos (Monge & Arias, 1996). Para con-

fecção dos esfregaços foi utilizado um volume de 20 ml do sedimento coletado após cen trifugação, em triplicata, num total de 60 ml por amostra. Todas as lâminas foram confeccionadas em duplicata para aplicação de dois métodos de coloração, resultando em 200 lâminas com 600 esfregaços. Através de sucção com pipeta automática os sedimentos foram medidos tendo em média 0,25 ml de sedimento final por amostra.

Processo de coloração

Para a coloração dos esfregaços foram utilizadas as técnicas de Koster modificada (Kageruka *et al.*, 1984) e a técnica de Ziehl-Nielsen (Luna, 1968) modificada pelo uso da fucsina fenolada.

Leitura e contagem dos oocistos

A leitura e a contagem dos oocistos foram realizadas utilizando-se microscopia óptica com objetiva de imersão, percorrendo-se todo o esfregaço. Observou-se a característica dos oocistos referente à forma, cor e estruturas internas em ambos os métodos de coloração (Ongerth & Stibbs, 1987; Bennet *et al.*, 1999).

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

Pesquisa de enteroparasitas

O restante da solução de lavagem passou por um processo de sedimentação em cálices cônicos durante 24 horas. Para cada amostra foram utilizados três esfregaços com cerca de 1 ml do sedimento cada, posteriormente corado com lugol e analisado ao microscópio óptico, investigando-se a presença de formas contaminantes de enteroparasitas (Gelli *et al.*, 1979).

Análise estatística

Os dados foram avaliados através da análise de variância (ANOVA), sendo aplicado o Teste de Tuckey e a correlação de Pearson (r) no nível de 5% de significância. As análises estatísticas foram realizadas através do programa *Statistica Soft for Windows 6.0*.

Resultados e discussão

Os percentuais de contaminação por enteroparasitas nas três variedades de hortaliças estudadas foram 60% para alface lisa, 30% para agrião e 20% para acelga. Vale ressaltar que o *Cryptosporidium spp.* foi detectado apenas nas amostras de alface lisa, portanto o percentual de contaminação, excluindo-se este parasita, foi de 30% neste vegetal. Através desses resultados observamos que apesar das limitações dos métodos empregados, o nível de contaminação encontrado foi bastante elevado.

Takayanagui *et al.* (2001), analisando 139 amostras de alface, detectaram 33% de contaminação parasitária, resultado considerado semelhante ao nosso, quando comparado às amostras sem os valores de *Cryptosporidium spp.* Guilherme *et al.* (1999) na cidade de Maringá (PR) constataram 21,4% de contaminação parasitária para alface lisa e 100% para agrião, enquanto que Oliveira & Germano (1992a, 1992b) evidenciam São Paulo vários tipos de helmintos em 32% das amostras de alface lisa e em 66% de agrião, e na pesquisa de protozoários detectaram 18% e 60%, respectivamente. Estes resultados contrastam com os baixos níveis de contaminação por estruturas parasitárias relatados nas cidades de Niterói e Rio de Janeiro (RJ), onde apenas 3,9% de alface e 2,3% de agrião apresentaram contaminação por enteroparasitas. Os autores sugerem que esses resultados, possivelmente, indicam uma melhoria na qualidade higiênica no plantio, irrigação, armazenagem e distribuição de hortaliças (Mesquita *et al.*, 1999).

É possível que a estrutura física natural das hortaliças estudadas contribua para a ocorrência de diferenças nos percentuais de contaminação observados entre as três variedades. Isto se aplica, sobretudo, aos resultados obtidos em relação à alface e ao agrião, que se mostram maiores que os obtidos para acelga. O agrião, por possuir folhas múltiplas e separadas, permite maior fixação dos cistos. A alface possui folhas largas, justapostas e flexíveis podendo ocorrer contato com o solo durante o cultivo levando a um maior índice de contaminação, dependendo das condições de cultivo. A acelga assemelha-se à alface por possuir folhas largas e justapostas, porém rígidas, promovendo ao vegetal uma forma fechada e firme que dificulta seu contato com o solo, diminuindo sua carga de contaminação.

No nosso experimento, a acelga apresentou um nível de contaminação de 20%, sendo a hor-

taliça que mostrou menor percentual entre as amostras estudadas. Não foram encontrados na literatura estudos abordando a contaminação da acelga por enteroparasitas, não permitindo comparações.

A análise das frequências de cada tipo de enteroparasita (Tabela 1) mostrou predominância de protozoários no total de amostras analisadas (complexo *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* (14,0%), *Cryptosporidium spp.* (12,0%) e *Entamoeba coli* (10,0%) em comparação com os helmintos (*Ascaris lumbricoides* (5,0%), *Strongyloides stercoralis* (3,0%) e *Ancylostoma duodenale* (3,0%)). Entre os enteroparasitas encontrados com menor frequência incluíram-se *Giardia lamblia* (1,0%), *Trichuris trichurus* (1,0%) e *Hymenolepis nana* (1,0%). A menor frequência de enteroparasitas foi detectada nas amostras de acelga.

Devido à dificuldade de fazer a distinção por microscopia entre *Entamoeba histolytica* e *Entamoeba dispar*, estas foram classificadas como Complexo *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar*, ressaltando que *Entamoeba histolytica* provoca doença intestinal conhecida como amebíase e a *Entamoeba dispar* não causa doença (Gomes et al., 1999; Freitas et al., 2004).

De acordo com diversos autores, as condições sanitárias do ambiente em que as hortaliças são cultivadas, as práticas de cultivo utilizadas e a sua estrutura física possivelmente justificam as diferenças entre os percentuais de contaminação nas variedades de hortaliças (Mesquita et al., 1999; Coelho et al., 2001; Takayanagi et al., 2001). Deste modo, os menores percentuais de contaminação observados nas amostras de acelga podem ser atribuídos, entre outros fatores, às suas melhores condições de cultivo. Diversos estudos comprovam que os ovos de helmintos podem sobreviver por períodos de tempo mais prolongados no meio aquático (Slifko et al., 2000). Este fato poderia justificar a frequência encontrada no agrião, cujo cultivo exige terrenos permanentemente úmidos.

Com relação aos enteroparasitas, todos são de importância para a saúde pública. A maioria indica contaminação fecal de origem humana e/ou animal, tal como ocorre com *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichurus*, *Hymenolepis nana*, *Strongyloides stercoralis* e *Ancylostoma duodenale*, uma vez que acometem o homem e outros animais (Cimerman et al., 1999; Slifko et al., 2000). Há, portanto, similaridade entre estes resultados e os observados por outros au-

tores no país quando relacionados à contaminação por enteroparasitas em vegetais (Oliveira & Germano, 1992a; 1992b; Guilherme et al., 1999; Takayanagi et al., 2000), embora tenha ocorrido variação na frequência das espécies de parasitas quando comparada aos trabalhos citados anteriormente.

Alguns autores consideram, no entanto, que a ordem de frequência dos enteroparasitas nas hortaliças não é necessariamente a mesma encontrada na população humana do local estudado, devido, sobretudo, às diferenças na carga parasitária e na eliminação diária dos ovos pelos hospedeiros, variáveis para cada tipo de parasita (Rey, 1991; Slifko et al., 2000).

É provável que a contaminação das hortaliças por oocistos de *Cryptosporidium spp.* e outros parasitas seja proveniente, principalmente, das condições sanitárias do ambiente em que são cultivadas, das práticas de cultivo, da qualidade da água utilizada tanto na irrigação quanto na higienização antes de serem comercializadas em supermercados. Segundo Kori ch et al. (1990) o *Cryptosporidium spp.* é resistente ao tratamento convencional de águas de abastecimento utilizando-se cloro.

As médias das contagens de coliformes totais e de *Escherichia coli* obtidas nas amostras analisadas encontram-se na tabela 2. Com relação à contagem de coliformes totais nas amostras provenientes de supermercados, houve diferença significativa entre alface e agrião. Nas amostras provenientes de feiras livres houve diferença significativa entre alface e acelga e entre agrião e acelga. O mesmo não foi constatado na contagem de *Escherichia coli* em nenhuma das amostras provenientes de supermercados, porém nas amostras oriundas de feira livre, observamos uma diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras de agrião e acelga. Os dados obtidos revelaram que as amostras de alface adquiridas de supermercados foram as mais contaminadas tanto para coliformes totais como *E. coli* quando comparadas às outras hortaliças e nas amostras de feiras livres a mais contaminada foi a do agrião.

Entre as localidades só houve diferença significativa nas amostras de agrião, tanto para a população de coliformes totais como para a de *E. coli* (Tabela 2). Estes dados mostram que a higienização aplicada às hortaliças antes de serem expostas à venda nos supermercados não é eficaz na diminuição de bactérias contaminantes em vegetais como alface e acelga. Porém, este procedimento demonstrou eficiência

Tabela 1

Frequência e percentual de enteroparasitas por tipo de hortaliça estudada.

Espécie de Enteroparasita	Alface lisa N=40		Agrião N=40		Acelga N=20		Total N=100	
	F	%	F	%	F	%	F	%
* <i>Cryptosporidium spp.</i>	12	30,0	0	–	0	–	12	12,0
<i>Entamoeba coli</i>	1	2,5	8	20,0	1	5,0	10	10,0
Complexo <i>Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar</i>	7	17,5	4	10,0	3	15,0	14	14,0
<i>Giardia lamblia</i>	0	–	1	2,5	0	–	1	1,0
<i>Trichuris trichiura</i>	1	2,5	0	–	0	–	1	1,0
<i>Ascaris lumbricoides</i>	2	5,0	3	7,5	0	–	5	5,0
<i>Strongyloides stercoralis</i>	1	2,5	1	2,5	1	5,0	3	3,0
<i>Hymenolepis nana</i>	1	2,5	0	–	0	–	1	1,0
<i>Ancylostoma duodenale</i>	0	0	3	7,5	0	0	3	3,0

* Valor obtido combinando-se os resultados das duas metodologias investigadas.

N= número de amostras

F= frequência

Tabela 2Médias da contagem e desvio padrão de coliformes totais e *Escherichia coli* nas amostras oriundas de diferentes localidades.

	Localidades					
	Supermercados			Feiras livres		
	Alface lisa*	Agrião*	Acelga**	Alface lisa*	Agrião*	Acelga**
Coliformes totais (UFC/g) ¹	7,5ac±0,6	6,1b±1,4	6,3bc±1,4	7,5ac±0,8	8,08a±1,3	5,3b±1,4
<i>Escherichia coli</i> (UFC/g) ¹	1,0ab±1,4	0,3b±0,9	0,6bc±1,9	1,7ac±1,3	2,4a±2,2	0,0bc±0,0

* Média de 20 amostras com três repetições.

** Média de 10 amostras com três repetições.

¹ Média da contagem representada pela função "Logaritmo Neperiano (LN)".

Na mesma linha letras iguais não diferem estatisticamente ao nível de 5%.

nas amostras de agrião onde aquelas provenientes de supermercados apresentaram resultados mais baixos tanto para coliformes totais como para *E. coli*.

Um percentual de contaminação de 100% para coliformes totais foi verificado nas amostras analisadas e foi confirmada a presença de *Escherichia coli* em 50% das amostras de alface, 37,5% de agrião e 5% de acelga. Estes resultados demonstram um grau de contaminação semelhante aos verificados para os enteroparasitas citados anteriormente. Monge *et al.* (1996) detectaram 50% de amostras de alface contaminadas com coliformes totais onde em 42% foi confirmada a presença de *Escherichia coli*. Takayanagui *et al.* (2000), numa fiscalização de hortas produtoras de verduras no município de Ribeirão Preto (SP), detectaram a presença de

elevada população de coliformes fecais em 22 das 129 hortas fiscalizadas.

Foi verificado que houve fraca correlação entre a quantidade de oocistos de *Cryptosporidium spp.* e *Escherichia coli* nas amostras de alface adquiridas em supermercado e feira livre. Foram utilizados os valores para o *Cryptosporidium spp.* obtidos com a utilização do método de coloração de Koster modificado, pois este apresentou melhor eficácia na detecção deste protozoário.

Marzochi (1977) relata que a contaminação dos produtos vegetais por enteroparasitas depende da concentração de matéria orgânica de origem fecal nas águas de irrigação provenientes da drenagem de esgotos domésticos. Monge *et al.* (1996), analisando hortaliças consumidas cruas em Costa Rica, verificaram correlação

positiva entre a ocorrência de parasitas intestinais e coliformes fecais.

Na avaliação da qualidade microbiológica de água e alimentos incluindo as hortaliças, as bactérias do grupo coliformes são utilizadas como microrganismos indicadores, portanto a presença de coliformes fecais sugere a presença de patógenos intestinais, porém Harich *et al.* (1999) citam que os coliformes não são bons indicadores para protozoários patogênicos, sendo de fundamental importância sua pesquisa em alimentos.

Considerando-se os resultados obtidos neste estudo, bem como o risco à saúde que as hortaliças podem apresentar quando contaminadas por parasitas intestinais, ressalta-se a necessidade da adoção de medidas que propiciem uma melhoria do quadro apresentado, através de ações educativas destinadas aos produtores e do monitoramento laboratorial das águas destinadas à irrigação das hortas.

A desinfecção das hortaliças, previamente ao consumo, pode apresentar relevância considerável no sentido de minimizar os riscos de transmissão de enteroparasitoses através desses

alimentos, uma vez que a lavagem simples não reduz a contaminação por cistos. Um método simples e eficaz consiste na imersão das folhas em água aquecida a 60°C, por dez minutos (Oliveira & Germano, 1992b). Este procedimento, pela maior facilidade de execução no nível doméstico, deve ser especialmente considerado na formulação de programas educativos direcionados à população consumidora desses alimentos.

Conclusões

A ocorrência de oocistos de *Cryptosporidium spp.* nas amostras de alface lisa vem alertar sobre o risco de infecção pela população humana, podendo provocar graves danos à saúde. Os demais enteroparasitas, coliformes totais e *E. coli* foram encontrados em todas as variedades de hortaliças estudadas, comprovando assim a necessidade de ações voltadas para a melhoria da qualidade na produção das hortaliças como da água utilizada na irrigação.

Colaboradores

Tese de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Nutrição, área Ciência dos Alimentos, desenvolvida por CGMSilva, sendo a estatística do trabalho realizada pela professora SAC Andrade, sob a orientação da professora TLM Stamford.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAAL), do Departamento de Nutrição/UFPE, pelo consentimento da utilização dos equipamentos, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela bolsa de mestrado concedida à primeira autora.

Referências bibliográficas

- Andrews WH 1993. Food microbiology-nondairy. *Journal of Association Official Analytical Chemists International* 76(1):154-159.
- Bennet JW, Gauci MR, Moënic SL, Scraefer FW & Lindquist HAD 1999. A comparison of enumeration techniques for *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Journal of Parasitology* 85(6):1165-1168.
- Cimerman S, Cimerman B & Lewi DS 1999. Avaliação da relação entre parasitoses intestinais e fatores de risco para o HIV em pacientes com Aids. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 32(2):181-185.
- Coelho LMPS, Oliveira SM, Milman MHSA, Karasawa KA & Santos RP 2001. Detecção de formas transmissíveis de enteroparasitas na água e nas hortaliças consumidas em comunidades escolares de Sorocaba, São Paulo, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 34(5):479-482.
- Freitas MAR, Vianna EM, Martins AS, Silva EF, Pesquero JL & Gomes MA 2004. A Single Step Duplex PCR to distinguish *Entamoeba histolytica* from *Entamoeba dispar*. *Parasitology* 128:625-628.
- Gelli DS, Tachibana T, Oliveira IR, Zamboni CQ, Pacheco JÁ & Spiteri N 1979. Condições higiênico-sanitárias de hortaliças comercializadas na cidade de São Paulo, SP, Brasil. *Revista do Instituto Adolfo Lutz* 39:37-43.
- Gomes MA, Pesquero JB, Furst C, Valle PR, Pesquero JL & Silva EF 1999. An improved method to distinguish *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba dispar*. *Parasitology* 119:359-362.
- Guilherme ALF, Araújo SM, Falavigna DLM, Pupulim ART, Dias MLGG, Oliveira HS *et al.* 1999. Prevalência de enteroparasitas em horticultores e hortaliças da Feira do Produtor de Maringá, Paraná. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 32(4):405-411.
- Hari ch EM, Galvani AT, Padula JA, Santos AIP, Menegon N & Sa to MIZ 1999. Detecção de oocistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* em águas superficiais captadas para consumo humano, pp. 27. *XX Congresso Brasileiro de Microbiologia*, Bahia.
- Kageruka P, Brand J, Taelman H & Jonas C 1984. Modified Koster staining method for the diagnosis of cryptosporidiosis. *American Society Belge of Medicine Tropical* 64:171-175.
- Korich DG, Mead JR, Madore MS, Sinclair NA & Sterling CR 1990. Effect of ozone, chlorine dioxide, chlorine and monochloroamine on *Cryptosporidium* oocysts viability. *Applied and Environmental Microbiology* 56:1423-1428.
- Lima EC 2001. *Avaliação de métodos de detecção e enumeração de oocistos de Cryptosporidium spp. em amostras de água e leite*. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- Lima EC & Stamford TLM 2003. *Cryptosporidium spp.* no ambiente aquático: aspectos relevantes da disseminação e diagnóstico. *Ciência e Saúde Coletiva* 8(3):791-800.
- Luna LG 1968. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3ª ed. McGraw Hill Book Company.
- Marzochi MCA 1977. Estudo dos fatores envolvidos na disseminação dos enteroparasitas. II – Estudo da contaminação de verduras e solo de hortas na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 19:148-1556.
- Mesquita VCL, Serra CMB, Bastos OMP & Uchôa CMA 1999. Contaminação por enteroparasitas em hortaliças comercializadas nas cidades de Ni terói e Rio de Janeiro, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 32(4):363-366.
- Monge R & Arias ML 1996. Presencia de microorganismos patógenos em hortaliças de consumo cru em Costa Rica. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion* 46(4):292-294.
- Monge R, Chinchilla M, Reyes L 1996. Estacionalidade de parasitos y bacterias intestinales en hortaliças que se consumen crudas en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical* 44(2):369-375.
- Oliveira CAF & Germano PML 1992a. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil. I – Pesquisa de helmintos. *Revista de Saúde Pública* 26(4):283-289.
- Oliveira CAF & Germano PML 1992b. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil. II – Pesquisa de Protozoários intestinais. *Revista de Saúde Pública* 26(5):332-335.
- Ongerth JE & Stibbs HH 1987. Identification of *Cryptosporidium* oocysts in river water. *Applied and Environmental Microbiology* 53(4):672-676.
- Rey L 1991. *Parasitologia*. 2ª ed., GuanabaraKoogan, Rio de Janeiro.
- Silva CGM, Oliveira AM & Stamford TLM 2002. Enteroparasitas em vegetais: Uma revisão. *Revista Higiene Alimentar* 17(109):13-18.
- Silva JP, Marzochi MCA, Camilo-Coura L, Messias AA & Marques S 1995. Estudo da contaminação por enteroparasitas em hortaliças comercializadas nos supermercados da cidade do Rio de Janeiro. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 28:237-241.
- Slifko TR, Smith HV, Rose JB 2000. Emerging parasite zoonoses associated with water and food. *International Journal for Parasitology* 30:1389-1393.
- Takayanagui OM, Febrônio LHP, Bergamini AM, Okino MHT, Silva AAMC CE, Santiago R, *et al.* 2000. Fiscalização de hortas produtoras de verduras do município de Ribeirão Preto, SP. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 33(2):169-174.
- Takayanagui OM, Oliveira CD, Bergamini AMM, Capuano DM, Okino MHT, Febrônio LHP *et al.* 2001. Fiscalização de verduras do município de Ribeirão Preto, SP. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 34(1):37-41.

Artigo apresentado em 19/08/2004

Aprovado em 24/05/2005

Versão final apresentada em 22/06/2005