

Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em hortaliças comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP – Brasil

Occurrence of *Cryptosporidium* spp. in vegetables commercialized in Ribeirão Preto City, São Paulo State, Brazil

Divani M. CAPUANO^{1*}
Madalena H. T. OKINO¹
Maria José do C.B. BETTINI¹
Ana Célia S. MANGINI²

RIALA6/897

Capuano, D. M. et al. Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. em hortaliças comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP – Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 60(1):89-91,2001

RESUMO. O *Cryptosporidium* sp tem sido mundialmente descrito como importante agente causal de diarreia severa e prolongada, principalmente em indivíduos com imunodeficiência, como nos casos de infecção pelo HIV. Nos EUA, têm sido comprovados nos últimos anos surtos de diarreia causados pela contaminação da água de abastecimento por oocistos deste parasita. No entanto, são poucos os relatos sobre o papel dos alimentos como possíveis fontes de infecção da criptosporidiose. Visando detectar a presença de oocistos de *Cryptosporidium* sp em hortaliças comercializadas no município de Ribeirão Preto, foram analisadas no Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto, entre julho de 1997 a junho de 1998, 198 verduras coletadas de diferentes pontos comerciais do município. Foram encontrados oocistos de *Cryptosporidium* sp em duas hortaliças, uma rúcula e uma alface. Concluiu-se que o método parasitológico utilizado, concentração pelo formol-éter modificado com posterior coloração pelo método de Kinyoun, possa ser utilizado na detecção de oocistos de *Cryptosporidium* sp em hortaliças, contribuindo na avaliação das condições higiênico-sanitárias das mesmas.

PALAVRAS-CHAVE. *Cryptosporidium* sp; hortaliças; Ribeirão Preto, SP.

Os coccídeos do gênero *Cryptosporidium* são protozoários parasitas capazes de infectar os trato digestivo e respiratório de humanos, mamíferos, aves e outros animais. Inicialmente considerado um parasita comensal, a partir da década de 50, passou a ter interesse veterinário, devido a sua associação com a mortalidade em aves e em bezerros. A partir de então, foram reportados casos de criptosporidiose em várias

espécies de animais. Os primeiros casos de doença no homem foram relatados a partir de 1976. Enquanto que em indivíduos imunocompetentes este parasita causa diarreia geralmente auto-limitada e de curso benigno, em imunocomprometidos, principalmente em pacientes infectados pelo HIV^{1,18}, produz diarreia prolongada e severa, que pode levar à desidratação e à síndrome de má-absorção. Também têm sido responsável por

¹ Instituto Adolfo Lutz – Laboratório I de Ribeirão Preto - Área de Parasitologia

² Instituto Adolfo Lutz Central-Seção de Enteroparasitoses

* Instituto Adolfo Lutz – Laboratório I de Ribeirão Preto, Rua Minas, 877 – Campos Elíseos – 14085-410 – Ribeirão Preto – SP – Fone: (0xx16) 625-5046

E-Mail: dmcapuano@ig.com.br

surtos de diarreia entre as crianças^{4,7}, principalmente em faixa etária abaixo de 5 anos de idade, e também entre os viajantes¹².

O modo de transmissão dos oocistos é diversa: de pessoa a pessoa, animal-homem, homem-animal, ou através da contaminação da água^{6,14} e dos alimentos^{16,17}. Este coccídio é resistente à maioria dos desinfetantes normalmente utilizados no tratamento de água de abastecimento, e é também bastante resistente à dessecação e ao congelamento⁴. Como o oocisto é pequeno (4 a 6 mm), isto permite que ele passe por filtros comumente usados em sistemas clássicos de filtração de água, contaminando águas de abastecimento público¹⁴ e de recreação¹³, causando surtos de diarreia. Recentemente, vários países desenvolvidos, onde ocorreram surtos de criptosporidiose provocados pela contaminação de águas de abastecimento público, foram obrigados a adotar modificações nos processos de tratamento da água.

A ampla cadeia de hospedeiros, o grande número de oocistos infectantes excretados nas fezes e a carência de desinfetantes efetivos aumentam as chances da contaminação do meio ambiente e dos alimentos. No entanto, diferentemente da água, o papel do *Cryptosporidium* como causador de surtos de diarreia por contaminação alimentar não tem sido bem estabelecido¹⁰. Em 1993, o primeiro surto bem documentado da criptosporidiose veiculada por alimento ocorreu em Maine, USA, causada por um suco de maçã¹⁶. Mais recentemente, outros alimentos vêm sendo incriminados como possíveis fontes de infecção para o *Cryptosporidium*^{5,15}.

O limitado número de oocistos nas amostras suspeitas e a falta de métodos sensíveis de detecção do *Cryptosporidium* em alimentos, uma vez que os métodos desenvolvidos são para a detecção nas fezes e em amostras de águas ambientais, contribuem para o pouco relato da contaminação de alimentos¹⁰. Vários métodos para a detecção deste parasita em alimentos têm sido testados, como RIFI com anticorpos monoclonais marcado com fluoresceína, aglutinação em látex, ELISA (enzime-linked immunosorbent assays), quimioluminescência e PCR (Polymerase Chain Reaction)¹⁰. O PCR, combinado com a sonda de hibridização de DNA, é um método de detecção promissor¹⁰.

Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a presença de oocistos de *Cryptosporidium* sp em hortaliças comercializadas no município de Ribeirão Preto, São Paulo.

A amostragem foi constituída por 198 hortaliças, coletadas aleatoriamente pela equipe da VISA (Vigilância Sanitária) Municipal de Ribeirão Preto, entre julho de 1997 a

junho de 1998, de estabelecimentos como supermercados, feiras livres, quitandas e varejões, CEASA, hortas e vendedores ambulantes, dando-se preferência à alface. As verduras foram acondicionadas individualmente em sacos plásticos de primeiro uso, sem contato manual e enviadas ao IAL de Ribeirão Preto, para análises bacteriológica e parasitológica.

A análise parasitológica das hortaliças foi realizada segundo descrito por Takayanagui et al.¹⁹, com posterior coloração das lâminas pelo método de Kinyoun¹¹. A análise bacteriológica consistiu na determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes fecais^{3,20} e pesquisa de *Salmonella*^{2,3}. Para o cálculo do NMP de coliformes fecais utilizou-se a tabela de Hoskins⁸.

Os resultados revelaram a presença de oocistos de *Cryptosporidium* sp, medindo entre 4 a 5 mm de diâmetro, em 2 hortaliças, uma rúcula e uma alface. Ambas também apresentaram concentração de coliformes fecais acima do permitido pela legislação em vigor, mas com ausência de *Salmonella*.

A contaminação fecal de alimentos representa um sério problema de saúde pública, principalmente nos países sub-desenvolvidos, onde as condições higiênico-sanitárias são deficientes. Entretanto, não se conhece a real magnitude do problema, devido à inexistência de sistemas eficazes de vigilância sanitária⁹. Como não há legislação adequada para as parasitoses transmitidas por contaminação de hortaliças, o controle tem se baseado principalmente em medidas de educação sanitária e de saneamento básico. Neste contexto, o laboratório exerce um papel importante, buscando novos métodos diagnósticos na análise parasitológica, bem como aprimorando as já existentes.

As técnicas atualmente desenvolvidas para a detecção de oocistos de *Cryptosporidium* em alimentos como o PCR envolvem um alto custo, impossibilitando o uso das mesmas na rotina de muitos laboratórios. No entanto, os métodos de estudo desenvolvidos para a detecção deste parasita nas fezes e em amostras de água já estão bem estabelecidos. Pensamos que algumas destas técnicas poderiam ser utilizadas para a detecção do parasita em alimentos, dependendo do nível de contaminação e do pré-tratamento da amostra. Assim, este estudo veio demonstrar a possibilidade da detecção de oocistos de *Cryptosporidium* sp, utilizando uma técnica já padronizada para a pesquisa deste parasita nas fezes, e contribuiu para um melhor monitoramento das condições higiênico-sanitárias das hortaliças comercializadas em Ribeirão Preto.

RIALA6/897

Capuano, D. M. et al. Occurrence of *Cryptosporidium* spp. in vegetables commercialized in Ribeirão Preto City, São Paulo State, Brazil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 60(1):89-91, 2001

ABSTRACT. *Cryptosporidium* spp. has been described worldwide as an important causal agent of severe and prolonged diarrhea, mainly in immunocompromised patients, particularly those with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Outbreaks of cryptosporidiosis due to contaminated public water supplies have been documented in the United States. Nevertheless, there are only a few reports about the

role of food as a possible source of infection of cryptosporidiosis. The objective of the present study was to detect the presence of oocysts of *Cryptosporidium* spp. in vegetables marketed in the city Ribeirão Preto, Brazil. From July 1997 to June 1998, 198 vegetables collected in different commercial points of the city were analysed in Adolfo Lutz Institute – Ribeirão Preto. Oocysts of *Cryptosporidium* spp. were found in two vegetables, one in arrugula and one in lettuce. We concluded that the parasitological methods used can be useful in the detection of oocysts of *Cryptosporidium* spp. in vegetables and contribute to the evaluation of the hygienic and sanitary conditions of vegetables.

KEY WORDS. *Cryptosporidium* spp.; vegetables; Ribeirão Preto.

REFERÊNCIAS

1. Baraldi, S.R.; Marques, E.G.L.; Dias, R.M.D.S. Ocorrência de *Cryptosporidium parvum* e *Isospora belli* na região de Campinas, SP. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 58(1): 97-103, 1999.
2. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 12, **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 45, 10 de janeiro de 2001.
3. Brasil. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária de Alimentos. Portaria nº 451, **Diário Oficial da União**, Seção 1, p. 4, 02 de julho de 1998.
4. Cordel, R.L.; Addis, D.G. Cryptosporidiosis in child care settings: A review of the literature and recommendations for prevention and control. **Ped. Infect. Dis. J.**, 13: 210-217, 1994.
5. Fayer, R. et al. *Cryptosporidium parvum* in oysters from commercial harvesting sites in the Chesapeake Bay. **Emerging Infect. Dis.**, 5(5): 706-710, 1999.
6. Fricker, C.R. e Crabb, J.H. Water-borne cryptosporidiosis: detection methods and treatment options. In: Baker, J.; Muller, R. e Rollinson, D. Opportunistic protozoa in humans. **Advances Parasit.**, 40: 241-278, Academic Press, San Diego, 1998.
7. Griffiths, J.K. Human cryptosporidiosis: epidemiology, transmission, clinical disease, treatment and diagnosis. In: Baker, J.; Muller, R. e Rollinson, D. Opportunistic protozoa in humans. **Advances Parasit.**, 40: 37-85, Academic Press, San Diego, 1998.
8. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microorganisms in foods: their significance and methods of enumeration**. University of Toronto, Toronto, 1978.
9. Käferstein, F.K. Food safety: a commonly underestimated public health issue. **World Health Statistics Quarterly**, 50: 3-4, 1997.
10. Laberge, I.; Griffiths, M.W. Prevalence, detection and control of *Cryptosporidium parvum* in food. **Int. J. Food Microbiol.**, 31: 1-26, 1996.
11. Lennette, E.H. et al. **Manual of Clinical Microbiology**, 4th ed. Washington: American Society for Microbiology; 1985.
12. Ma, P. et al. Cryptosporidiosis in tourists returning from Caribbean. **New England J. Med.**, 312: 647-648, 1985.
13. MacKenzie, W.R. et al. A massive outbreak in Milwaukee of *Cryptosporidium* infection transmitted through the public water supply. **New England J. Med.**, 331: 161-167, 1994.
14. MacKenzie, W.R.; Kasmierzak, J.S.; Davis, J.P. An outbreak of cryptosporidiosis associated with a resort swimming pool. **Epidemiol. Infect.**, 115: 545-553, 1995.
15. Mead, P.S. et al. Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infect. Dis.**, 5(5): 607-625, 1999.
16. Millard, P.S.; Gensheimer, K.F.; Addis, D.G. An outbreak of cryptosporidiosis from fresh-pressed apple cider. **JAMA**, 272: 1592-1596, 1994.
17. Petersen, C. *Cryptosporidium* and the food supply. **Lancet**, 345: 1128-1129, 1995.
18. Sauda, F.C. et al. Prevalence of *Cryptosporidium* sp and *Isospora belli* among AIDS patients attending Santos Reference Center for AIDS, São Paulo, Brazil. **J. Parasit.**, 79(3): 454-456, 1993.
19. Takayanagi, O.M. et al. Fiscalização de hortas produtoras de verduras do município de Ribeirão Preto, SP. **Rev. Soc. Bras. Med. trop.**, 33(2): 169-174, 2000.
20. Vanderzant, C.; Splittsoesser, D.F. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 3rd ed. American Public Health Association; 1992, 1100p.

Recebido em 26/04/2001; Aprovado em 02/08/2001