

Contaminação parasitária em alfaces crespas (*Lactuca sativa* var. *crispa*), de cultivos tradicional e hidropônico, comercializadas em feiras livres do Rio de Janeiro (RJ)

Parasitological contamination in lettuces (*Lactuca sativa* var. *crispa*), from traditional and hydroponic cultivations, commercialized in free markets of Rio de Janeiro (RJ)

RIALA6/1567

Bruno Barbosa PACIFICO, Otilio Machado Pereira BASTOS, Claudia Maria Antunes UCHÔA*

*Endereço para correspondência: Laboratório de Enteropatógenos Ambientais, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto Biomédico, Universidade Federal Fluminense. Rua Prof. Ernani Pires de Melo, 101, Sala 212C, São Domingos, Niterói, RJ, Brasil. Tels: (21) 2629-2426, 7838-4801. E-mail: claudiauchoa@vm.uff.br

Recebido: 24.05.2013 - Aceito para publicação: 20.08.2013

RESUMO

Foram analisadas por técnicas parasitológicas de sedimentação e de flutuação 100 amostras de alfaces crespas de duas feiras livres, da Zona Norte do Rio de Janeiro (RJ), sendo 50 de cultivo tradicional e 50 de cultivo hidropônico. Doze amostras (12 %) apresentaram positividade para formas evolutivas de helmintos ou protozoários de importância médico-veterinária, como cisto de amebídeo, oocisto de coccídeo e ovos de helmintos da superfamília Ancylostomatoidea e a frequência de positividade foi similar nas amostras de cultivos tradicional e hidropônico. Detectou-se contaminação por organismos em vida livre, sem associação com as formas evolutivas de parasitas, em 85 % das amostras. A presença de contaminantes na maioria das amostras, com detecção de formas evolutivas de parasitas intestinais de seres humanos ou de outros animais, indica que estas hortaliças podem representar uma potencial fonte de contaminação para o ser humano, e serem inadequadas para o consumo sem a devida higienização.

Palavras-chave. alface, contaminação de alimentos, helmintos, protozoários.

ABSTRACT

One hundred samples of lettuce were collected from two free markets in the North Zone of Rio de Janeiro, Brazil, being 50 samples of traditional cultivation and 50 of hydroponic one. These samples were analyzed by means of parasitological sedimentation and flotation techniques. Twelve (12 %) samples were positive for evolutionary forms of helminths or protozoa of medical and veterinary importance, as cyst of amoebids, oocyst of coccidian and eggs of helminths of Ancylostomatoidea superfamily, and similar frequency of positive samples was found among the lettuce samples of traditional and hydroponic cultivations. Contamination with free living organisms was detected, but without association with the evolving forms of parasites in 85 % of samples. The presence of contaminants in the majority of samples, with detection of evolutive forms of human or other animals intestinal parasites, indicate that these vegetables may represent a potential source of contamination for humans, and they are unsuitable for consumption before being properly disinfected.

Keywords. lettuce, food contamination, helminthes, protozoa.

INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa*) é uma das hortaliças mais comercializadas no Brasil, devido ao costume do consumo de saladas, que são importantes fontes de fibras alimentares, de baixo teor calórico, na dieta dos indivíduos¹. Além disso, a alface fornece sais minerais, cálcio e vitaminas, especialmente a vitamina A². Por ser esta hortaliça muito consumida, é comercializada em diversos tipos de estabelecimentos, como supermercados, feiras livres e sacolões, sendo as variedades lisa e cressa as mais encontradas no país³.

A forma tradicional de cultivo é a empregada pela maioria dos pequenos produtores, pois apresenta manejo relativamente simples e baixo custo de produção⁴. Por sua vez, o cultivo hidropônico protege a hortaliça de fatores adversos oriundos do meio ambiente, como chuvas, geadas e ventos fortes, favorecendo uma maior produtividade⁵.

As hortaliças em geral, devido a sua forma de cultivo, armazenamento, comercialização e transporte, podem representar importantes veículos de transmissão de enteropatógenos para hospedeiros susceptíveis^{6,7}. Dentre estes, os enteroparasitos são de elevada prevalência nos países em desenvolvimento, estando associados à baixa qualidade higiênico-sanitária e grupos sociais desfavorecidos⁸. A forma de transmissão mais comum destas parasitoses ocorre por via oral, por meio da ingestão de água e/ou alimentos contaminados por formas evolutivas infectantes de parasitos, representadas por cistos e oocistos de protozoários e ovos de helmintos^{9,10}, bem como, mais raramente, larvas de nematóides¹¹.

Em diversas regiões do mundo, é comum adubar hortas e plantações, com fezes humanas e/ou utilizar água potencialmente contaminada na irrigação¹². No Brasil, a contaminação de alimentos, sobretudo de hortaliças, dá-se principalmente pelo uso de dejetos de animais domésticos e de água infectada por material fecal de origem humana ou de outros animais utilizada na irrigação, sendo considerada uma das principais fontes de transmissão de enteroparasitoses^{13,14}.

A contaminação da alface por enteroparasitos pode estar relacionada a diversos fatores, como o solo e a água de irrigação, contaminados por fezes, entulhos e esgotos¹⁵, a adubação de hortas e locais de produção com fezes de animais¹⁶, o armazenamento impróprio e recipientes contaminados¹⁶, as práticas de lavagem em

tanques de água parada¹⁷ ou a falta de higiene pessoal por manipuladores de alimentos^{18,19}.

No Brasil e no mundo relata-se a importância da alface como veículo de transmissão de formas infectantes de parasitos^{20,21}. Vários estudos vêm demonstrando variação na frequência de contaminação parasitária em amostras de alface cressa²²⁻²⁵, devido a diferentes localidades de coleta, técnicas utilizadas no diagnóstico, tipos de hortaliças estudadas e formas de cultivo^{10,19,22}.

Considerando a interferência de vários fatores na contaminação da alface, o objetivo deste estudo foi identificar a contaminação parasitária em alfaces da variedade cressa, de cultivos tradicional e hidropônico, comercializadas em duas feiras livres da Zona Norte do município do Rio de Janeiro (RJ).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas 100 amostras de alface cressa (*Lactuca sativa* var. *crispa*), sendo 50 de cultivo tradicional e 50 de cultivo hidropônico, no período de abril a novembro de 2012. As amostras foram coletadas em duas feiras livres da zona norte do município do Rio de Janeiro (RJ), por conveniência dos autores, estando uma localizada no Méier e outra na Tijuca. As coletas foram realizadas uma vez por semana durante oito semanas, totalizando 25 unidades de cada feira por tipo de cultivo, sendo analisadas, em seis semanas, oito unidades amostrais por localidade e, nas duas semanas restantes, dois pés de alface por feira. Cada unidade amostral foi constituída por um pé ou touceira.

O Méier é um dos mais tradicionais e importantes bairros cariocas. É habitado, em sua maioria, por famílias de classe média e é o décimo sétimo bairro carioca com maior Índice de Desenvolvimento Humano (0,931), sendo um dos mais valorizados da Zona Norte²⁶. A Tijuca é vista como um dos bairros mais tradicionais e de urbanização mais antiga do Rio e é considerado um bairro de classe média à classe média alta²⁷.

Em ambas as feiras os comerciantes informaram que as hortaliças eram originárias da Região de Teresópolis (RJ). Foram escolhidas, aleatoriamente, quatro barracas de hortaliças em cada feira – duas de cada lado da rua – sendo que todas deveriam comercializar alfaces dos dois tipos de cultivo. Foram obtidas duas unidades de alface por vendedor, uma de cada forma de cultivo, independente de seu tamanho ou peso, sendo

aconditionadas, individualmente, em sacos plásticos primo-utilizados.

As amostras foram processadas no mesmo dia no Laboratório de Enteropatógenos Ambientais, da Disciplina de Parasitologia, do Instituto Biomédico, da Universidade Federal Fluminense (UFF). Seguiu-se o protocolo proposto por Mesquita et al²⁸, com algumas modificações. Cada alface foi desfolhada em vasilhame plástico retangular, previamente higienizado, sendo removida a raiz, quando presente. As folhas foram lavadas manualmente e individualmente, com 500 mL de solução a 1 % de Tween 80 (Vetec[®]), no sentido extremidade da folha-caule. Após a lavagem, todas as folhas foram descartadas e o líquido resultante filtrado em gaze sobre um tamis, apoiado em dois cálices de vidro com fundo cônico, de volume 350 mL, e deixado para sedimentar por 21 horas.

O sobrenadante dos cálices foi descartado e os sedimentos homogeneizados e transferidos para um tubo de centrífuga de fundo cônico, com volume de 15 mL. O material foi aliquoteado para processamento pelas técnicas de Ritchie modificada por Young et al²⁹, segundo o protocolo de Cerqueira³⁰, e de Sheather modificada por Huber et al³¹.

Para mensuração de formas evolutivas de parasitos, utilizou-se microscópio óptico monocular Olympus[®] CH30, com ocular micrométrica Olympus[®] SWH, sendo os dados dispostos na forma de média \pm desvio-padrão (Microsoft Office[®]).

Os resultados sobre a ocorrência de contaminação parasitária nos diferentes tipos de alface foram analisados pelo teste χ^2 (qui-quadrado), utilizando o software IBM SPSS Statistics 20 (IBM, Armonk, New York, USA). Análises que apresentassem um intervalo de confiança superior a 95 % ($p < 0,05$) foram consideradas significativas.

RESULTADOS

Considerando as 100 amostras de alface cresa estudadas, 12 % apresentaram positividade para formas evolutivas de parasitos de seres humanos e/ou de outros animais. Oito destas foram coletadas no Méier e quatro na Tijuca. Das quatro amostras da Tijuca, duas foram de cultivo tradicional e duas de cultivo hidropônico. Já das amostras coletadas no Méier, quatro foram de cultivo tradicional e quatro de cultivo hidropônico. Três amostras foram negativas pelas duas técnicas

parasitológicas, sendo uma de cultivo tradicional (Méier) e duas de cultivo hidropônico (Tijuca). Das 100 amostras, 85 % apresentaram positividade apenas para contaminantes ambientais, como formas evolutivas de nematóides em vida livre e de artrópodes (Tabela 1). Não se obteve diferença significativa entre o tipo de cultivo, considerando a presença de contaminantes independente de serem em vida livre ou de origem parasitária ($p=0,344$).

Tabela 1. Frequência de contaminação parasitária em amostras de alface cresa, de cultivos tradicional e hidropônico, oriundas de feiras livres de dois bairros da cidade do Rio de Janeiro (RJ)

| Tipo de Alface | Bairro | Positivo (%) | | Negativo (%) | Total* (%) |
|----------------|--------|--------------|---------------|--------------|-------------|
| | | C (%)** | C + FP (%)*** | | |
| Tradicional | Méier | 20 | 4 | 1 | 25 |
| | Tijuca | 21 | 4 | 1 | 25 |
| Hidropônica | Méier | 23 | 2 | 0 | 25 |
| | Tijuca | 21 | 2 | 2 | 25 |
| Total (%) | | 85 (85 %) | 12 (12 %) | 3 (3 %) | 100 (100 %) |

C: contaminantes (formas evolutivas de helmintos em vida livre e de artrópodes)

FP: formas evolutivas de parasitos (helmintos da superfamília Ancylostomatoidea, oocisto de coccídio não esporulado e cisto de amebídeo)

p-valor do teste qui-quadrado (p1 – contaminantes totais incluindo C e C+FP, p2 – apenas C e p3 – apenas C+FP)

* $p1=0,344$

** $p2=0,345$

*** $p3=0,268$

As formas evolutivas parasitárias com morfologia similar a de parasitos de seres humanos e/ou de outros animais encontradas foram: oocisto não esporulado de coccídio em duas (4 %) amostras de cultivo hidropônico (Tijuca), cisto de amebídeo com menos de quatro núcleos em uma (2 %) amostra de cultivo tradicional (Méier) e ovos de nematóides da superfamília Ancylostomatoidea em três (6 %) amostras de cultivo tradicional e três (6 %) de cultivo hidropônico. Nas seis amostras positivas para nematóides da superfamília Ancylostomatoidea, foram evidenciados nove ovos, os quais apresentaram tamanho médio de $56,7 \pm 11,7 \mu\text{m} \times 34,5 \pm 4,8 \mu\text{m}$.

Dentre os contaminantes, observou-se maior frequência de formas evolutivas de artrópodes, seguida por larvas de nematóides em vida livre. Não se observou diferença significativa entre as frequências obtidas nas amostras de cultivos tradicional e hidropônico (Tabela 2).

Tabela 2. Número absoluto e frequência de formas evolutivas recuperadas de helmintos, artrópodes e protozoários, em 50 amostras de alface cresa de cultivo hidropônico e 50 amostras de alface cresa de cultivo tradicional, de duas feiras livres dos bairros Méier e Tijuca, do município do Rio de Janeiro (RJ), no período de abril a novembro de 2012

| Formas evolutivas | Alface | Alface |
|--|-----------------------|-----------------------|
| | Tradicional (n=50) | Hidropônica (n=50) |
| Ovos de nematóides em vida livre | 10 (20 %) | 07 (14 %) |
| Larvas de nematóides em vida livre | 37 (74 %) | 39 (78 %) |
| Adultos de nematóides em vida livre | 14 (28 %) | 15 (30 %) |
| Artrópodes | 44 (88 %) | 46 (92 %) |
| Oocisto de coccídeo não esporulado | 00 (0 %) | 02 (4 %) |
| Cisto de amebídeo | 01 (2 %) | 00 (0 %) |
| Ovos de nematóides da superfamília Ancylostomatoidea | 03 (6 %) | 03 (6 %) |

DISCUSSÃO

Neste estudo, obteve-se baixa positividade parasitária (12 %) e pequena diversidade de formas evolutivas de espécies de parasitos de seres humanos e/ou de outros animais, tanto nas amostras hidropônicas como nas de cultivo tradicional. Estes resultados diferem dos obtidos por Guimarães et al²² e por Falavigna et al³², que obtiveram cinco grupos de parasitos e frequência de contaminação de até 23,3 % e 15 grupos de parasitos e frequência de 70 %, respectivamente. Norberg et al³³ e Neres et al¹⁰ também detectaram maior diversidade parasitária e frequência superior à do presente estudo. Por outro lado, os resultados obtidos aproximam-se dos de Mesquita et al²⁸, que evidenciaram dois grupos de parasitos e frequência de contaminação parasitária em 6,6 % das amostras de hortaliças estudadas.

Guimarães et al²² sugerem que a variação no tipo ou na frequência de parasitos intestinais em hortaliças, quando se comparam diversos estudos, é explicada, em parte, pela localidade do estudo, pelos tipos de hortaliças utilizados e até pela metodologia empregada no exame parasitológico. Montanher et al³⁴ associaram a positividade em alfaces à utilização de água de irrigação contaminada. No caso da alface cresa, a estrutura compacta, com múltiplas folhas e configuração ondulada, favorece maior fixação de estruturas parasitárias, conferindo resistência aos processos de higienização^{32,33}. Por outro lado, Melo et al⁹ atribuem

estas diferenças de contaminação ao clima. O índice de contaminação das hortaliças, segundo Cantos et al¹⁹, pode ser influenciado por seu acondicionamento e transporte, geralmente em veículos abertos, tornando-as susceptíveis à contaminação fecal pela ação do vento, por exemplo.

Os resultados obtidos demonstram elevada contaminação por organismos em vida livre nas amostras analisadas. Noventa e sete amostras apresentaram formas evolutivas de nematóides em vida livre ou de artrópodes, sendo que em doze destas observou-se associação de formas evolutivas de parasitos aos contaminantes. Entretanto, sabe-se que tais agentes biológicos apresentam baixo risco de infecção para o hospedeiro humano. Esta contaminação nas amostras dos dois bairros pode refletir, para as amostras de cultivo tradicional, estreito contato com o solo, o que favorece a veiculação de formas evolutivas de helmintos que naturalmente vivem neste ambiente²⁴. Nas amostras de cultivo hidropônico, Neres et al¹⁴ atribuem a presença de contaminantes a uma forma inadequada de cultivo ou à condição higiênica insatisfatória da água utilizada na irrigação, principalmente na forma de solução nutritiva. No presente estudo, por não ser exatamente conhecido o local de produção, não foi possível determinar com certeza a fonte de contaminação das alfaces hidropônicas.

O encontro de elevada frequência de organismos em vida livre concorda com os resultados obtidos por Guimarães et al²², que estudaram 120 amostras de alfaces no município de Lavras (MG), e com os de Santana et al¹, que analisaram 180 amostras de alfaces, de cultivos hidropônico, tradicional e orgânico, no município de Salvador (BA). Ambos os estudos obtiveram presença de contaminantes em todas as amostras. A frequência de contaminação obtida também foi superior à de Ferro et al²⁵, que evidenciaram organismos em vida livre em 71 % de 100 amostras de alfaces no município de Tangará da Serra (MT). Por outro lado, esta foi inferior à obtida por Mesquita et al²⁸, em 128 hortaliças (96,1 %), comercializadas em Niterói (RJ) e no Rio de Janeiro (RJ). A detecção destes contaminantes demonstram a sensibilidade das técnicas utilizadas para o encontro de formas evolutivas de helmintos, protozoários e artrópodes, como sugerido por Mesquita et al²⁸. A presença desse tipo de contaminação indica qualidade higiênica insatisfatória das alfaces comercializadas nas feiras livres.

Considerando o tipo de cultivo, as alfaces hidropônicas apresentaram frequência de contaminação similar, não havendo diferença estatisticamente significativa entre as amostras estudadas, tanto por

parasitos de importância médico-veterinária como por organismos em vida livre, quando comparadas com as de cultivo tradicional. Este resultado discorda dos obtidos por Neres et al¹⁴, que evidenciaram alfaces hidropônicas com maior frequência de contaminação, associada pelos autores à contaminação da água utilizada na produção, e de Santana et al¹, que encontraram alfaces hidropônicas com menor frequência de contaminação, quando comparadas com alfaces de cultivos tradicional e orgânico, associando o resultado encontrado ao ambiente sanitário onde são cultivadas.

O cultivo hidropônico, pela própria forma de manejo, apresenta menor possibilidade de contaminações ambiental e humana, quando confrontado com o cultivo tradicional. Santana et al¹ afirmam que a presença de contaminantes em amostras de cultivo hidropônico é injustificável, estando a positividade associada à condição higiênico-sanitária inadequada da água de irrigação, que se mistura aos nutrientes utilizados no cultivo das hortaliças.

A observação de frequência similar de contaminação entre as alfaces hidropônicas e de cultivo tradicional, sem diferença significativa ($p=0,344$), pode ter sido devido a práticas inadequadas realizadas pelos comerciantes no processo de exposição nas duas feiras estudadas. Estas ações podem propiciar o contato direto entre os diversos produtos comercializados na mesma barraca ou submetê-los a condições similares de contaminação por meio da água utilizada pelo feirante. Outro fator que pode ter interferido na similaridade de contaminação é a origem comum das hortaliças, pois segundo informações dos feirantes das duas feiras, todas eram oriundas de Teresópolis (RJ). Falavigna et al³² sugerem que o hábito dos feirantes de imergir as hortaliças em água antes de sua exposição, para melhorar sua aparência, pode favorecer sua contaminação. Já Norberg et al³³ relataram para a possibilidade de contaminação devido à prática de irrigação, pelo método de aspersão, realizada durante a exposição das hortaliças nas feiras livres, já que nesses locais o recipiente em que se armazena a água, muitas vezes não tem higiene adequada e a água pode ser reutilizada. Tais ações possibilitariam a dispersão de formas evolutivas de agentes biológicos entre estes vegetais, independente do tipo de cultivo.

Nas amostras deste estudo, dentre os organismos em vida livre, detectou-se maior frequência de formas evolutivas de artrópodes, seguido de larvas de nematóides. Montanher et al³⁴

e Quadros et al³⁵ também detectaram a presença de artrópodes em alfaces crespas. A contaminação por artrópodes foi mais frequente nas amostras hidropônicas. Este resultado discorda dos de Santana et al¹, que não evidenciaram artrópodes nas amostras deste tipo de cultivo. Por sua vez, larvas de nematóides também foram detectadas nas amostras estudadas por Mesquita et al²⁸, estando tais estruturas ausentes nas alfaces analisadas por Santana et al¹.

Não foi possível identificar as espécies das formas evolutivas de parasitos detectados no estudo. No caso dos coccídios, eles encontravam-se não esporulados e em pequena quantidade, bem como em relação ao cisto de amebídeo. Os ovos encontrados apresentaram tamanho médio de $56,7 \pm 11,7 \mu\text{m} \times 34,5 \pm 4,8 \mu\text{m}$. Essas medidas foram menores do que as relacionadas aos ovos de ancilostomídeos que parasitam seres humanos, como *Ancylostoma duodenale* ($60 \times 56 \mu\text{m}$), *Necator americanus* ($76 \times 64 \mu\text{m}$) ou *Ancylostoma ceylanicum* ($60 \times 55 \mu\text{m}$)³⁶, e apresentaram tamanho maior do que os ovos de nematóides em vida livre encontrados nas amostras, em associação a fêmeas com ovos em seu interior. Deve-se ressaltar que a morfologia e o tamanho entre as diversas espécies da superfamília Ancylostomatoidea, que infectam animais, dentre eles os seres humanos, são bastante similares, o que impede a identificação correta do nematóide³², a qual na maioria das vezes só é possível pelo encontro de adultos. Outro elemento importante a ser considerado é que existe uma variação de tamanho entre os ovos eliminados pelas fêmeas de parasitos, o que pode determinar sobreposição das medidas morfométricas de ovos de espécies distintas.

A recuperação de formas evolutivas de parasitos e de organismos em vida livre foi realizada por meio da lavagem sistematizada das folhas, o que permite sugerir que a correta higienização destas poderia minimizar ou mesmo eliminar o risco de infecção parasitária, associada à ingestão de hortaliças *in natura*. Esta prática é preconizada por Avcioglu et al³⁷, que verificaram que a lavagem de vegetais consumidos crus não só previne a infecção por helmintos, como reduz o risco de aquisição de bactérias patogênicas, que representam um problema crescente nas nações desenvolvidas. Entretanto, falhas na higienização podem resultar em consumo de alimentos contaminados, como foi evidenciado por Paula et al³⁸, que detectaram positividade em 6,6 % das amostras de alfaces processadas, disponibilizadas em restaurantes *self-service*, do município de Niterói (RJ).

CONCLUSÃO

O tipo de cultivo das hortaliças não interferiu na frequência de formas evolutivas de parasitos ou de contaminantes biológicos em vida livre. As amostras apresentaram baixa frequência de formas evolutivas de parasitos, representando pequeno risco epidemiológico na transmissão de enteroparasitoses. Sob a análise microscópica, a qualidade das alfaces foi considerada insatisfatória, o que evidencia a importância da utilização de práticas de higienização adequadas antes do consumo.

AGRADECIMENTOS

A Gabriel Martins (UFF), pelo o auxílio na análise estatística.

REFERÊNCIAS

1. Santana LRR, Carvalho RDS, Leite CC, Alcântara LM, Oliveira TWS, Rodrigues BM. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes formas de cultivo. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2006;26(2):264-9.
2. Moraes FA, Cota AM, Campos FM, Pinheiro-Sant'ana HM. Perdas de vitamina C em hortaliças durante o armazenamento, preparo e distribuição em restaurantes. *Ciênc Saúde Colet*. 2010;15(1):51-62.
3. Mogharbel ADI, Masson ML. Perigos associados ao consumo da alface (*Lactuca sativa*), *in natura*. *Alim Nutr Araraquara*. 2005;16(1):83-8.
4. Biscaro GA, Guimarães-Tomazela AB, Cruz RL, Lopes MDC. Aspectos sanitários do cultivo da alface americana, irrigada com águas receptoras de efluentes urbanos. *Ciênc Agrotec*. 2008; 32(1):295-301.
5. Silva DF, Michelon N, Orsini F, Tromboni F, Gianquinto GP. Manual prático de horticultura hidropônica para cultivas hortaliças em área urbana e periurbana. Piauí: Codecrop; 2007.
6. Oliveira CAF, Germano, PML. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo – SP, Brasil. I – Pesquisa de helmintos. *Rev Saúde Pública*. 1992;26(4):283-9.
7. Oliveira CAF, Germano PML. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo – SP, Brasil. II – Pesquisa de protozoários intestinais. *Rev Saúde Pública*. 1992;26(5):332-5.
8. Frei F, Juncansen C, Ribeiro-Paes JT. Levantamento epidemiológico das parasitoses intestinais: viés analítico decorrente do tratamento profilático. *Cad Saúde Pública*. 2008; 24(12):2919-25.
9. Melo ACFL, Furtado LFV, Ferro TC, Bezerra KC, Costa DCA, Costa LA, et al. Contaminação parasitária de alfaces e sua relação com enteroparasitoses em manipuladores de alimentos. *Rev Tropic Ciênc Agr Biol*. 2011;5(3):47-52.
10. Silva JC, Furtado LFV, Ferro TC, Bezerra KC, Borges EP, Melo ACFL et al. Parasitismo por *Ascaris lumbricoides* e seus aspectos epidemiológicos em crianças do Estado do Maranhão. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2011;44(1):100-2.
11. Pedroso RS, Siqueira RV. Pesquisa de cistos de protozoários, larvas e ovos de helmintos em chupetas. *J Pediatr*. 1997; 73(1):21-5.
12. Shahnazi M, Jafari-Sabet M. Prevalence of parasitic contamination of raw vegetables in villages of Qazvin Province, Iran. *Foodborne Pathog Dis*. 2010;7(9):1025-30.
13. Prado SPT, Ribeiro EGA, Capuano DM, Aquino AL, Rocha GM, Bergamini AMM. Avaliação microbiológica, parasitológica e da rotulagem de hortaliças minimamente processadas comercializadas no município de Ribeirão Preto, SP/Brasil. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2008;67(3):221-7.
14. Neres AC, Nascimento AH, Lemos KRM, Ribeiro EL, Leitão VO, Pacheco JBP, et al. Enteroparasitos em amostras de alface (*Lactuca sativa* var. *crispa*), no município de Anápolis, Goiás, Brasil. *Biosci J*. 2011; 27(2): 336-41.
15. Blumenthal UJ, Mara DD, Peasey A, Ruiz-Palacios G, Stott R. Redução dos riscos para a saúde com a utilização agrícola de águas residuais: mudanças recomendadas nas pautas da Organização Mundial da Saúde – OMS. [acesso 2012 Nov 05]. Disponível em: [http://www.ruaf.org/sites/default/files/AU3oms.pdf].
16. Chitarra MIF. Processamento mínimo de frutos e hortaliças. Lavras: UFLA; 2000.
17. Evangelista J. Contaminações de alimentos. *In: Evangelista J. Tecnologia de Alimentos*. São Paulo: Atheneu; 1992. p.153-85.
18. Silva-Junior EA. Fundamentos em microbiologia importantes. *In: Silva-Junior EA. Manual de Controle Higiênico-Sanitário de Ambientes*. São Paulo: Varela; 1995. p.38.
19. Cantos GA, Soares B, Maliska C, Gick D. Estruturas parasitárias encontradas em hortaliças comercializadas em Florianópolis, Santa Catarina. *NewsLab*. 2004; 66:154-63.
20. Kozan E, Gonenc B, Sarimehmetoglu O, Aycicek H. Prevalence of helminth eggs on raw vegetables used for salads. *Food Control*. 2005; 16:239-42.
21. Daryani A, Ettehad GH, Sharif M, Ghorbani L, Ziaei H. Prevalence of intestinal parasites in vegetables consumed in Ardabil, Iran. *Food Control*. 2008;19:790-4.
22. Guimarães AM, Alves EGL, Figueiredo HCP, Costa GM, Rodrigues LS. Frequência de enteroparasitas em amostras de alface (*Lactuca sativa*) comercializadas em Lavras, Minas Gerais. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003;36(5):621-3.
23. Freitas AA, Kwiatkowski A, Nunes SC, Simonelli SM, Sangioni LA. Avaliação parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres e supermercados do município de Campo Mourão, Estado do Paraná. *Rev Ciênc Saúde*. 2004; 26(4):381-4.
24. Rocha A, Mendes RA, Barbosa CS. *Strongyloides* spp. e outros parasitos encontrados em alfaces (*Lactuca sativa*), comercializados na cidade do Recife, PE. *Rev Patol Trop*. 2008; 37(2):151-60.
25. Ferro JJB, Costa-Cruz JM, Barcelos ICS. Avaliação parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em Tangará da Serra, Mato Grosso, Brasil. *Rev Patol Trop*. 2012;41(1):47-54.
26. Rio de Janeiro. Meier. Disponível em <http://www.oriodejaneiro.net/meier.htm>. capturado em 25 de julho de 2013.
27. Rio de Janeiro. Tijuca. Disponível em <http://www.oriodejaneiro.net/meier.htm>. capturado em 25 de julho de 2013.
28. Mesquita VCL, Serra CMB, Bastos OMP, Uchôa CMA. Contaminação por enteroparasitas em hortaliças comercializadas nas cidades de Niterói e Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1999;32(4):363-6.

29. Young KH, Bullock SL, Melvin DM, Spruill CL. Ethyl Acetate as a substitute for diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique. *J Clin Microbiol*. 1979;10(6):852-3.
30. Cerqueira FL. Coprotest: metodologia confiável para exame parasitológico de fezes. *LAES/HAES*. 1988;5(51):5-12.
31. Huber F, Bomfim TC, Gomes RS. Comparação da eficiência da Técnica de Sedimentação pelo formaldeído-éter e da técnica de centrífugo-flutuação modificada na detecção de cistos de *Giardia* sp. e oocistos de *Cryptosporidium* sp. em amostras fecais de bezerros. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2003;12(2):135-7.
32. Falavigna LM, Freitas CBR, Melo GC, Nishi L, Araújo SM, Falavigna-Guilherme AL. Qualidade de hortaliças comercializadas no noroeste do Paraná, Brasil. *Parasitol Latinoam*. 2005;60:144-9.
33. Norberg AN, Ribeiro PC, Gonçalves JS, Sanches FG, Silveira VFC, Oliveira MF, et al. Prevalência de ovos, larvas, cistos e oocistos de elementos parasitários em hortaliças comercializadas no município de Nova Iguaçu, Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Ciênc Tecnol*. 2008;8(1):12-21.
34. Montanher CC, Coradin DC, Fontoura-da-Silva SE. Avaliação parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em restaurantes *self-service* por quilo, da cidade de Curitiba, Paraná, Brasil. *Est Biol*. 2007;29(66):63-71.
35. Quadros RM, Marques SMT, Favaro DA, Pessoa VB, Arruda AAR, Santini J. Parasitos em alfaces (*Lactuca sativa*) de mercados e feiras livres de Lages - Santa Catarina. *Rev Ciênc Saúde*. 2008; 1(2):78-84.
36. Rey L. Parasitologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.
37. Avcioglu H, Soykan E, Tarakci U. Control of helminth contamination of raw vegetables by washing. *Vector-Borne Zoon Dis*. 2011;11(2):189-91.
38. Paula P, Rodrigues PSS, Tórtora JCO, Uchôa CMA, Farage S. Contaminação microbiológica e parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) de restaurantes *self-service* de Niterói (RJ). *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003;36(4):535-7.