

Atuação do Laboratório de Saúde Pública na elucidação do surto de diarreia causado por *Cyclospora cayetanensis* no município de General Salgado - SP.

Public Health Laboratory Action For Elucidation of Diarrhea Outbreak by *Cyclospora cayetanensis* in General Salgado Municipality , SP.

RIALA6/986

Rosa Maria ZINI^{1*}, Cecília Cristina M. SANTOS¹, Ivete Aparecida Z. C. ALMEIDA¹, Jacqueline T. M. PERESI¹, Cristiano C.A. MARQUES²

* Endereço para correspondência: 1.Instituto Adolfo Lutz - Laboratório I de São José do Rio Preto. Rua Alberto Sufredine Bertoni, 2325 - Maceno - São José do Rio Preto - SP - CEP: 15060-020.

2. Instituto Adolfo Lutz - Laboratório Central - São Paulo.

Recebido: 12/02/2004 - Aceito para publicação: 02/09/2004

RESUMO

O objetivo deste estudo foi relatar a ocorrência de um surto de diarreia, causado por *Cyclospora cayetanensis* no município de General Salgado - SP e o papel do Laboratório de Saúde Pública na sua elucidação e no posterior monitoramento dos casos de diarreia. No período de agosto de 1999 a dezembro de 2002 foram realizadas no Instituto Adolfo Lutz - Laboratório I de São José do Rio Preto, exames de amostras oriundas do município de General Salgado (SP), como descritos a seguir: 103 análises de potabilidade da água, segundo a recomendação de American Public Health Association; 130 coproculturas, incluindo nove pesquisas de cólera, de acordo com Pessoa *et al*, 1983 e Manual da Comissão Nacional de Cólera, 1991; 132 exames parasitológicos de fezes, incluindo parasitas oportunistas (método de sedimentação espontânea, técnica de centrifugação - sedimentação pela formalina - éter, coloração álcool - ácido resistente de Kinyoun modificada, autofluorescência e esporulação pelo dicromato de potássio à 2-2,5%) e 85 pesquisas de vírus [EIARA (m) - Bio Manguinhos / FIOCRUZ, Rio de Janeiro-RJ]. Das coproculturas realizadas, nove (6,9%) apresentaram-se positivas tendo sido identificadas as seguintes espécies bacterianas: *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli* O111 e O128, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Saintpaul, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Oranienburg e *Salmonella* spp. (não sorotipada). Presença de antígeno de rotavírus foi detectada em duas (2,4%) das amostras de fezes analisadas. A detecção de *Cyclospora cayetanensis* ocorreu em 16 (12,1%) delas. Quanto à análise de água, 23 (22,3%) amostras apresentaram bactérias do grupo coliforme, sendo quatro (17,4%) positivas também para coliformes fecais. A busca de soluções ao agravo que comprometeu a saúde coletiva do referido município resultou na elucidação do primeiro surto de *Cyclospora cayetanensis* no Brasil.

Palavras-Chave. *Cyclospora cayetanensis*, surto de diarreia, parasita.

ABSTRACT

The aim of this study was to report the occurrence of diarrhea outbreak by *Cyclospora cayetanensis* in General Salgado Municipality, SP, and the role of the Public Health Laboratory for its elucidation, and posterior monitoring of patients with diarrhea. At Regional Laboratory of Adolfo Lutz Institute in São José do Rio Preto - SP, during the period from August 1999 to December 2002, analyses of samples that came from General Salgado Municipality, SP were carried out. The following assays were performed: 103 water potability analyses, according to American Public Health Association guidelines; 130 coprocultures, including nine examinations for cholera, according to the technique described by Pessoa *et al*, 1983 and Cholera's National Commission Manual, 1992; 132 faeces parasitological examinations, including opportunistic agents (by means of autofluorescence assay, alcohol - acid resistant staining by modified Kinyoun technique, formol - ether sedimentation, sporulation by 2.5% potassium dichromate, and Hoffman

technique), and 85 virus detection by means of EIARA (m) - Bio Manguinhos/FIOCRUZ, Rio de Janeiro - RJ. Of coproculture-examinations, nine (6.9%) were positive for: *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, O11 and O128, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Saintpaul, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Oranienburg, and *Salmonella* spp (non serotyped). From water samples analyses, 23 (22.3%) were positive for bacterias from coliform group, and 4 four samples (17.4%) were also positive for fecal coliforms. Rotavirus antigen was detected in two (2.4%) fecal samples; and the occurrence of *Cyclospora cayetanensis* was observed in 16 (12.1%) samples. Owing to the investigation delineated for solving the injury threatening the health of population from General Salgado Municipality, the first outbreak of *Cyclospora cayetanensis* in Brazil could be described.

Key Words. *Cyclospora cayetanensis*, diarrhea outbreak, parasite

INTRODUÇÃO

A característica fundamental das atividades do Laboratório de Saúde Pública é contribuir para o estudo das soluções pertinentes aos principais agravos que comprometem a manutenção da saúde do cidadão. Para tanto, deve alimentar o sistema de saúde com as informações necessárias para a adequada tomada de decisões quanto às medidas de controle a serem adotadas pela sociedade e seus órgãos envolvidos com a preservação das condições globais do bem-estar da coletividade¹⁶.

O Instituto Adolfo Lutz como laboratório de saúde pública tem sido conduzido de maneira a procurar maior participação nas questões relativas à contaminação do meio ambiente, quando envolve risco de comprometimento à saúde humana, seja em nível do setor produtivo, seja no contexto geral da vida comunitária. O trabalho no desenvolvimento de estudos populacionais, sob a ótica laboratorial, integra equipes de Vigilância Sanitária e Epidemiológica, procurando objetividade nas ações que competem a estas instituições no controle de agravos de saúde pública¹⁶.

O desafio da Instituição consiste na conciliação das atividades de rotina e as de pesquisa básica e aplicada. A pesquisa obedece aos propósitos fundamentais de saúde pública participando no planejamento, na elaboração e na avaliação das ações de vigilância sanitária e epidemiológica.

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) são uma importante causa no quadro de morbi-mortalidade em âmbito mundial, ainda consideradas como de ocorrência normal, apesar do acometimento de grande número de pessoas e das importantes perdas econômicas. A epidemiologia das DTA vem sofrendo rápida alteração nos últimos anos com o surgimento de patógenos emergentes, aumento da frequência dos já existentes ou relacionados a novos veículos, causas que devem ser investigadas como de interesse em saúde coletiva²⁹.

Cyclospora spp., um protozoário coccídeo unicelular, é um importante patógeno reconhecido como responsável por doença diarreica. Foi observada pela primeira vez em amostras fecais humanas em Papua Nova Guine em 1979³. Desde então, casos de infecção por este parasita tem sido relatados em diferentes áreas geográficas do mundo, podendo infectar indivíduos imunocomprometidos e imunocompetentes²³.

De acordo com estudos epidemiológicos, *Cyclospora cayetanensis* tem sido observada na África, América do Norte, Sul e Central, Bangladesh, sudeste da Ásia, Austrália, Inglaterra e oeste da Europa, cuja ocorrência tem sido relatada com marcada sazonalidade^{4,22,24}.

Em países desenvolvidos, surtos de *Cyclospora* tem atraído grande atenção, recentemente. Durante 1996 e 1997, ocorreram muitos surtos nos Estados Unidos acometendo mais de 850 indivíduos nos estados leste das Montanhas Rochosas, sendo epidemiologicamente relacionados ao consumo de framboesas⁶.

No ano de 1999, na tentativa de esclarecimento de surto de diarreia no município de General Salgado - SP, foram enviadas ao Instituto Adolfo Lutz - Laboratório I de São José do Rio Preto amostras de fezes para coprocultura e pesquisa de vírus (realizada no IAL Central), e de água de abastecimento público para exame bacteriológico. No ano seguinte repetiu-se o mesmo episódio e as pesquisas foram então direcionadas para parasitas oportunistas, considerando o aspecto cíclico e a sazonalidade da ocorrência, características de alguns parasitas.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi relatar a ocorrência de um surto de diarreia, por *Cyclospora cayetanensis* no município de General Salgado - SP e o papel do Laboratório de Saúde Pública na sua elucidação e no posterior monitoramento dos casos de diarreia.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de agosto de 1999 a dezembro de 2002 foram realizadas no Instituto Adolfo Lutz - Laboratório I de São José do Rio Preto, exames de amostras oriundas do município de General Salgado (SP), como descritos a seguir: 103 análises de potabilidade da água, segundo a American Public Health Association¹, a partir de agosto de 1999; 130 coproculturas, incluindo nove pesquisas de cólera, de acordo com Pessoa et al.²⁵ e Manual da Comissão Nacional de Cólera²⁰, a partir de outubro de 1999; 85 pesquisas de Adenovírus e Rotavírus

(EIARA (m) Bio Manguinhos), a partir de janeiro de 2001 e 132 exames parasitológicos de fezes, incluindo pesquisa de parasitas oportunistas (Método de sedimentação espontânea, técnica centrífugo - sedimentação pela formalina - éter, coloração álcool ácido resistente de Kinyoun modificada, autofluorescência e esporulação pelo dicromato de potássio a 2-2,5%)^{2,10,17,18,21,26}, a partir de maio de 2000.

Descrição das técnicas para detecção dos oocistos de *Cryptosporidium* spp. e *Cyclospora cayetanensis* em material fecal.

Técnica Centrífugo - Sedimentação Pela Formalina - Éter

Diluição da amostra fecal:

- aproximadamente 4 g de fezes diluídas em 10 mL de formalina - éter tamponada

Filtração:

- filtrar em gaze dupla, transferir para um tubo de ensaio e manter em geladeira até o prosseguimento

Extração de lipídios:

- adicionar éter etílico
- agitar e centrifugar por 8 minutos
- desprezar o sobrenadante
- ressuspender o sedimento

Preparação da lâmina:

- dispor sobre uma lâmina de vidro pré-lavada cerca de 10 microlitros do sedimento
- secar a temperatura ambiente
- fixar com metanol

Coloração álcool ácido resistente de Kinyoun modificada:

- cobrir a lâmina já fixada com fuccina carbólica
- corar em temperatura ambiente por 20 minutos
- lavar com água destilada para a retirada do excesso do corante
- lavar a lâmina com solução álcool-ácido por 2 minutos e em seguida com água destilada
- cobrir a lâmina com solução de azul de metileno
- secar em temperatura ambiente por três minutos
- lavar novamente com água destilada
- secar em temperatura ambiente

Leitura:

- prosseguir a leitura microscópica com objetiva de imersão (x100)

Microscopia Direta De Autofluorescência Para Detecção Dos Oocistos De *Cyclospora Cayetanensis* Em Material Fecal

Preparação da lâmina:

- dispor sobre a lâmina uma alíquota do sedimento descrito anteriormente

Leitura microscópica:

- proceder a leitura num microscópio de epifluorescência, utilizando filtros UV na faixa de 330-365 nm
- observar a presença de esferas azuis autofluorescentes

Esporulação

Preparo da amostra e leitura microscópica:

- diluir uma alíquota de fezes frescas com 3 mL de dicromato de potássio a 2,0 a 2,5% e manter a temperatura de 25° C
- proceder a leitura microscópica diária para a visualização da esporulação até o 12° dia

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando que a imensa maioria das enfermidades que prevalecia e/ou prevalece em nosso meio tem etiologia de caráter transmissível, as estruturas dos laboratórios de saúde pública foram organizadas para enfrentá-las, havendo, portanto, grande incremento nessa área de atividade¹⁶.

É necessário que os procedimentos diagnósticos sejam colocados a serviço da saúde pública, tanto em regime de rotina diagnóstica, como de forma episódica, segundo imposto pelas ocorrências que se sucedem, ou seja, os surtos de doenças endêmicas e epidêmicas²⁷.

Do total de coproculturas realizadas, nove (6,9%) apresentaram-se positivas para diferentes agentes bacterianos tais como: *Shigella boydii*, isolada no ano de 2000; *Shigella sonnei*, *Escherichia coli* O111 e O128, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Saintpaul e *Salmonella* spp. (não sorotipada) em 2001 e *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Oranienburg, em 2002.

Quanto à análise de água, 23 (22,3%) amostras apresentaram bactérias do grupo coliforme em 100mL, onde quatro (17,4%) foram positivas, também, para coliformes fecais. Quanto às amostras de fezes analisadas, constatou-se presença de antígeno de Rotavírus em duas (2,4%). A detecção de *Cyclospora cayetanensis* ocorreu em 16 (12,1%) delas (Figura 1).

As características da *Cyclospora cayetanensis* apresentadas por meio das técnicas empregadas e a

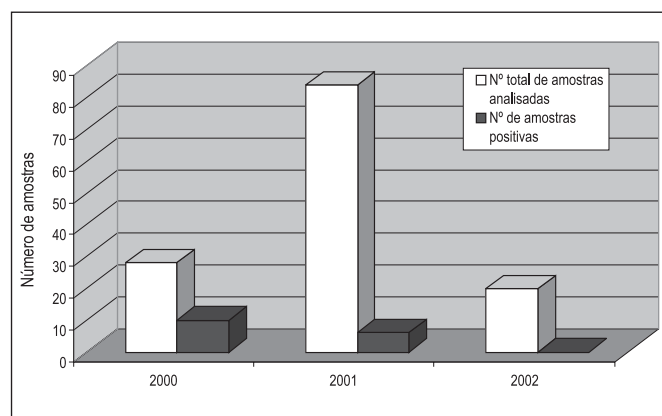


Figura 1. Distribuição anual de positividade de *Cyclospora cayetanensis* em amostras de fezes no período de 2000 a 2002.

Quadro

TÉCNICA	<i>Cyclospora</i>	<i>Cryptosporidium</i>
Coloração ácido resistente de Kinyoun modificada	<ul style="list-style-type: none"> Tamanho: 8-10 μm Coloração variável de rosa clara a púrpura intensa (algumas formas apresentam-se incolores) Oocistos em forma arredondada, podendo apresentar distorções e grânulos Parede de oocistos podendo apresentar aparência enrugada Esporozoítas não visíveis no interior dos oocistos 	<ul style="list-style-type: none"> Tamanho: 4-6 μm Coloração uniforme variando de rosa à púrpura Oocistos apresentam-se como estruturas ovóides ou esféricas Esporozoítas discerníveis no interior dos oocistos
Autofluorescência	<ul style="list-style-type: none"> Presente (a parede do oocisto adquire fluorescência intensa) 	<ul style="list-style-type: none"> Ausente
Esporulação	<ul style="list-style-type: none"> Ocorre em solução de dicromato de potássio a 2,0 - 2,5% em até 12 dias 	<ul style="list-style-type: none"> Não usual

diferenciação em relação a outros parasitas oportunistas como o *Cryptosporidium* encontram-se no quadro abaixo.

Neste estudo foi realizada a técnica de esporulação em duas das 16 amostras de fezes positivas para este agente, sendo que em uma delas foi possível a observação da presença de esporozoítas com os esporocistos, a partir do 5º dia.

O isolamento de bactérias patogênicas e a detecção de Rotavírus nas amostras fecais, durante a investigação do surto e o monitoramento das diarreias, podem ser considerados uma ocorrência esperada, tendo em vista a estimativa da Organização Mundial de Saúde - OMS de que, anualmente, nos países em desenvolvimento, ocorrem mais de 1 bilhão de casos de diarreia aguda em crianças menores de 5 anos, das quais 5 milhões chegam a óbito. Existem cálculos de que até 100 milhões de indivíduos em todos os países civilizados contraem doenças decorrentes de alimentos¹³.

Em relação à análise bacteriológica de água, a detecção de coliformes totais ocorreu nos meses de março e outubro de 2000; em abril, maio e novembro de 2001 e no período de março a junho de 2002. A pesquisa para coliformes fecais foi positiva apenas no ano de 2002, nos meses de março, abril e junho. A ausência de coliformes fecais, durante os períodos de vigência do surto, não descartou a possibilidade da água como veículo de transmissão do parasita, visto sua resistência à cloração. Vários surtos de *Cyclospora* no mundo foram associados à água, onde em muitos deles apresentava-se devidamente clorada⁸. Segundo Boletim Informativo do Centro de Vigilância Epidemiológica⁷, a presença de *Cyclospora* foi confirmada em amostras de água de abastecimento público do município de General Salgado, cuja análise foi realizada pelo Centers of Disease Control and Prevention - CDC de Atlanta⁹.

O primeiro exame positivo para *Cyclospora* ocorreu em setembro de 2000 com picos de detecção no trimestre correspondente aos meses de outubro, novembro e dezembro de 2000 e de 2001 (Figura 2). Esse período corresponde, na região, ao início do período de chuvas, que precede os meses de verão.

Embora no ano de 1999 não tenha sido realizado diagnóstico laboratorial para este parasita, houve registro de elevado número de casos de diarreia, neste mesmo período. Estes dados foram fornecidos pelo Grupo Técnico de Vigilância Epidemiológica da Direção Regional de Saúde - DIR XXII, quando da requisição de exames de coprocultura e pesquisa de vírus ao Instituto Adolfo Lutz - Laboratório I de São José do Rio Preto, os quais foram negativos, não elucidando, naquele ano, a etiologia do surto. Esta sazonalidade marcada é similar à observada na cidade de Guatemala e Kathmandu, cidades de clima subtropical, cujos casos de *Cyclospora* foram encontrados próximos ao período de chuvas^{5,15}.

Lima, no Peru, tem um padrão semelhante de detecção do parasita, porém, em períodos de ausência de chuvas, o que sugere que a sazonalidade não pode ser definida só em relação a esta característica. Bern et al.⁵ relataram que seriam necessários vários anos de vigilância em lugares com variações climáticas distintas, assim como conhecer melhor a biologia do parasita no meio ambiente para explicar porque as infecções por *Cyclospora* são flutuantes com as estações.

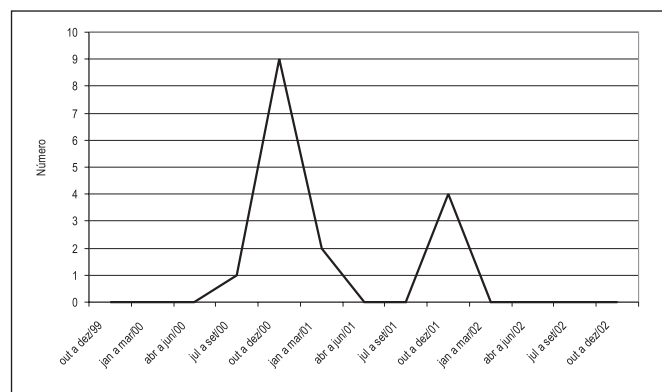


Figura 2. Distribuição trimestral do número de amostras fecais positivas para *Cyclospora cayetanensis* diagnosticadas no Laboratório I de São José do Rio Preto - SP.

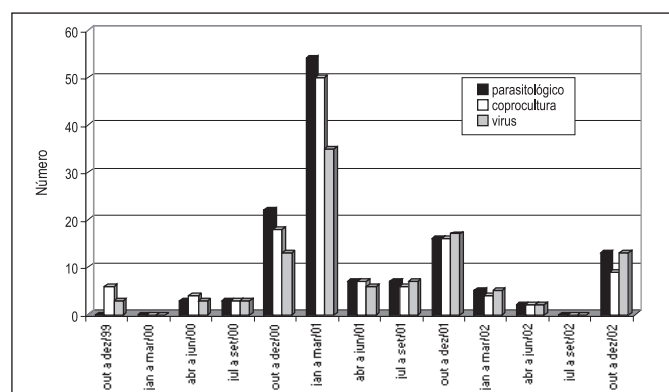


Figura 3. Distribuição trimestral das amostras fecais analisadas referentes ao surto de diarreia de General Salgado - SP.

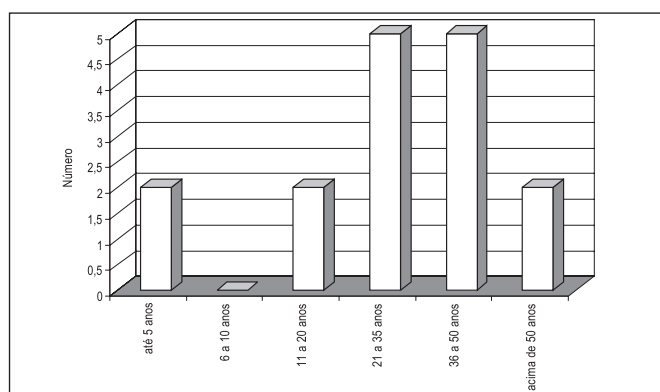


Figura 4. Distribuição, por faixa etária, de casos positivos para *Cyclospora cayetanensis* diagnosticados no IAL - Laboratório I de São José do Rio Preto - SP.

Nesse estudo, considerando o ano de 1999, quando houve somente o registro de diarreia, foram quatro anos de observação da periodicidade de casos positivos para *Cyclospora*, onde os três primeiros foram coincidentes e o último, ano de 2002, não houve registro de casos (Figura 2).

Ressaltamos ainda, que no período estudado, não houve detecção de *Cyclospora* nos primeiros seis meses de 2000 e entre os meses de março e setembro de 2001. No período de janeiro a março de 2001, apesar da grande demanda de amostras fecais para exame laboratorial (parasitológico, coprocultura e pesquisa de vírus) (Figura 3), indicando a permanência do quadro diarreico no município, a positividade para *Cyclospora* foi em apenas duas (12,5%) amostras, em relação ao total de detecção. Tal fato pode ser devido a uma característica própria do agente que consiste na eliminação intermitente dos oocistos nas fezes, ou ainda, ao tratamento precoce com trimetropim e sulfametoxazol mediante os primeiros sinais da doença, aumento da busca ativa ou a presença de outro agente etiológico associado.

Quanto à idade, a maior frequência de *Cyclospora* em General Salgado foi entre adultos de 21 a 35 anos e 36 a 50 anos (Figura 4), correspondendo aproximadamente, ao triplo de casos ocorridos neste município, em relação às crianças, jovens e idosos.

Nos países em desenvolvimento, especialmente em populações onde as condições de saúde são precárias, este protozoário está associado com diarreia em crianças (Ortega et al.²²). Em populações periurbanas, infecções e diarreias devido a *Cyclospora* são raras em adultos, exceto para aqueles que apresentam imunossupressão²³.

Resultados diferentes ao do presente estudo, em relação à faixa etária, também foram observados em outros relatos. Eberhard et al.¹¹, em estudo de coorte em população da pequena comunidade de Leogane - Haiti verificaram que a infecção por *Cyclospora* foi mais comum em crianças do que em adultos, fato coincidente com as ocorrências na Guatemala, Peru, Nepal e também em países desenvolvidos, cujo parasita é comumente associado a gastroenterites pediátricas^{5,14,19,23,28}.

Os dados gerados neste estudo permitiram concluir a importância das inúmeras e complexas atividades do Laboratório de Saúde Pública, na produção de conhecimentos necessários ao bom desempenho e otimização das ações de prevenção e controle. A busca de soluções ao agravo que comprometeu a saúde coletiva do município de General Salgado resultou na elucidação do primeiro surto de *Cyclospora cayetanensis* no Brasil.

REFERÊNCIAS

- American Public Health Association. **Standard Methods for the examination for water and wastewater**, 18 th ed., 1992.
- Ash, L. R.; Orihel, T. C. **Atlas of Human Parasitology**. Chicago:ASCP PRESS; 1997. 410p.
- Ashford, R. W. Occurrence of na undescribed coccidian in Papua New Guinea. **Ann Trop. Med. Parasitol**, v. 73, p. 497-500, 1979.
- Berlim, O. G. W. et al. Recovery of *Cyclospora* organisms from patients with prolonged diarrhea. **Clin. Infect. Dis.**, v. 18, p. 606-9, 1994.
- Bern, C. et al. Epidemiologic studies of *Cyclospora cayetanensis* in Guatemala. **Emerging Infectious Diseases**, v. 5, n. 6, 1999.
- Centers of Diseases Control and Prevention - CDC. Uptade: outbreaks of *Cyclospora cayetanensis* infection - United States and Canada, **MMWR**, v. 45, p. 611-2, 1996.
- Centro de Vigilância Epidemiológica - Secretaria de Estado da Saúde - SP. Boletim Informativo, ano 17, n. 60, 2002.
- Centro de Vigilância Epidemiológica - Secretaria de Estado da Saúde - SP. Ciclosporíase / *Cyclospora cayetanensis*. **Manual de doenças transmitidas por alimentos - INFORME-NET DTA** [http://www.cve.saude.sp.br/htm/hidrica/inf_cyclospora.htm].17 fevereiro 2001.
- Centro de Vigilância Epidemiológica - Secretaria de Estado da Saúde - SP. Surto de diarreia relacionada com alimentos: um estudo caso - controle, General Salgado - SP, 1999-2000. [ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/dta_inqsurtogs.ppt]. 26 janeiro 2004].
- De Carli, G. A. **Parasitologia clínica: diagnóstico de laboratório dos coccídios e microsporídios intestinais**. Edipucrs; 2000. 73p.
- Eberhard, M. L. et al. *Cyclospora cayetanensis* Infections in Haiti: a common occurrence in the absence of watery diarrhea. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.60, n. 4, p. 584-6, 1999.
- Eberhard, M. L.; Pieniasek, N. J.; Arrowood, M. J. Laboratory diagnosis of *Cyclospora* infections. **Arch. Pathol.Lab.Med.**, v. 121, 1997.
- Germano, M. P. L.; Germano, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Livraria Varela; 2001. 629p.

14. Hoge, C. W. et al. Prevalence of *Cyclospora* species and other enteric pathogens among children less than 5 years of age in Nepal. **J. Clin. Microbiol.**, v. 33, p. 3058-60, 1995.
15. Hoge, C. W. et al. Epidemiology of diarrhoeal illness associated with coccidian-like organism among travellers and foreign residents in Nepal. **Lancet**, v. 341, p. 1175-9, 1993.
16. Instituto Adolfo Lutz - São Paulo, SP - **100 anos do Laboratório de Saúde Pública**. São Paulo: Letras & Letras; 1992. 280p.
17. Leventhal, R.; Cheadle, R. **Parasitologia médica**. 4ª ed. Editorial Premier Ltda; 1997. p. 124-6.
18. Lima, A. O. et al. **Métodos de laboratório aplicados à clínica**. 5ª ed. Guanabara Koogan; 1977. 669p.
19. Madico, G. et al. Epidemiology and treatment of *Cyclospora cayetanensis* infection in Peruvian children. **Clin.Infect.Dis.**, v. 24, p. 977-81, 1997.
20. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Prevenção da Cólera - CNPC - **Manual de Diagnóstico Laboratorial da Cólera**. Brasília: 1ª ed.; 1992.
21. Neves, D. P. et al. **Parasitologia Humana**. São Paulo: Atheneu; 2000. 428p.
22. Ortega, Y. R. et al. Isolation of *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis* from vegetables collected in markets of an endemic region in Peru. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 57, n. 6, p. 683-6, 1997.
23. Ortega, Y. R. et al. *Cyclospora* species: a new protozoan pathogen of humans. **N. Engl. J. Med.**, v.328, p. 1308-12, 1993.
24. Ortega, Y.R.; Sterling, C.R.; Gilman, R.H. *Cyclospora cayetanensis*. **Advanc. Parasit.**, v. 40, p.399-418, 1998.
25. Pessoa, G. V. A et al. Ocorrência de enterobactérias em São Paulo, no septênio 1970-1976. I - Sorotipos de *Salmonella* isolados e identificados. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, n. 38, p. 97-103, 1983.
26. Pessoa, S. B.; Martins, A.V. **Parasitologia médica**. 10 ed. Guanabara Koogan; 1977. p. 124-6.
27. São Paulo, Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo, Coordenadoria dos Institutos de Pesquisa da Secretaria de Saúde. **Atas do Fórum Saúde**. São Paulo; 1992. 302p.
28. Soave, R.; Herwaldt, B. L.; Relman, D. A. *Cyclospora*. In: Hughes, J. M.; Conte, J. E. editors. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 12, n. 1, Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1998.
29. Tauxe, R. V. Emerging foodborne diseases: an evolving public health challenge. **Emerging Infectious Diseases**, v. 3, n. 4, p. 425-34, 1997.