
**PARASIToses INTESTINAIS EM UM CENTRO DE
EDUCAÇÃO INFANTIL PÚBLICO DO MUNICÍPIO
DE BLUMENAU (SC), BRASIL, COM ÊNFASE EM
Cryptosporidium spp E OUTROS PROTOZOÁRIOS**

Fernanda de Andrade, ¹ Gabriela Rode, ¹ Hercílio Higino da Silva Filho ² e Juliane Araújo Greinert-Goulart ^{2*}

RESUMO

Este estudo teve como objetivo conhecer a prevalência de *Cryptosporidium* spp e outros parasitos intestinais em crianças de 0 a 6 anos de idade, de um Centro de Educação Infantil Público de Blumenau (SC), Brasil, entre março e maio de 2006, por meio de exames parasitológicos. Os pais responderam a um questionário sobre as condições sanitárias de moradia. Foram analisadas 53 amostras de fezes processadas de acordo com os métodos de centrífugo-sedimentação pela formalina-éter, sedimentação espontânea, Ziehl Neelsen modificado (a quente) e pesquisa de *Cryptosporidium* spp por meio do ELISA (TechLab®). Verificou-se a prevalência de parasitismo intestinal em 39,6% das crianças analisadas, tendo sido encontrados os seguintes parasitos: *Giardia duodenalis* (18,9%), *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar*/*Entamoeba hartmanni* (15,1%), *Cryptosporidium* spp (7,6%), *Entamoeba coli* (3,8%) *Endolimax nana* (3,8%) e *Cyclospora cayetanensis* (1,9%). O método de Ziehl Neelsen modificado (a quente), usado para análise das amostras e coloração das lâminas, mostrou-se eficaz na coloração das estruturas álcool-ácido-resistentes. Os casos positivos foram encaminhados para tratamento específico e as crianças e os responsáveis participaram de atividades educativas. A elevada taxa de parasitismo encontrada revela a necessidade da adoção de medidas educativas que tenham como objetivos a prevenção e a melhoria da qualidade de vida da população estudada.

DESCRITORES: *Cryptosporidium* spp. *Cyclospora cayetanensis*. Crianças. Creche. Parasitoses intestinais.

1 Alunas graduadas em Farmácia pela Universidade Regional de Blumenau - Blumenau, SC.

2 Departamento de Ciências Naturais da Universidade Regional de Blumenau - Blumenau, SC.

*Endereço para correspondência: Universidade Regional de Blumenau, Departamento de Ciências Naturais, Laboratório de Parasitologia, Rua Antônio da Veiga, nº140, Bairro: Victor Konder, CEP 89012-900, Blumenau, SC, Brasil. E-mail: fernandaandrade25@hotmail.com

Recebido em: 27/7/2007. Revisto em: 26/5/2008. Aceito em: 20/11/2008.

INTRODUÇÃO

Apesar dos avanços científicos e tecnológicos alcançados ao longo dos anos, o parasitismo intestinal continua sendo um grave problema de saúde pública (6). Essa situação é característica, sobretudo, dos países subdesenvolvidos, nos quais as ações para o controle dos enteroparasitos são mais difíceis em consequência do custo das técnicas de detecção, da infra-estrutura muitas vezes precária e da falta de projetos educacionais direcionados à população (14). Somam-se ainda a esses fatores o baixo nível socioeconômico e cultural das pessoas e deficientes hábitos de higiene pessoal. Milhões de pessoas no mundo são acometidas por diarreias, mas o maior impacto se dá entre as crianças, sendo esta uma das principais causas de mortalidade e morbidade infantil (15).

Em creches, o acentuado risco de exposição aos enteroparasitos ocorre por causa das características inerentes a esses estabelecimentos: a facilidade do contato interpessoal (criança-criança, criança-funcionário), treinamento inadequado dos funcionários e deficientes condições de higiene. Além disso, nessa etapa da vida é normal que as crianças apresentem imaturidade do sistema imunológico, estejam na fase oral de exploração, tenham hábitos de higiene ainda em formação e constantemente entrem em contato com o solo (8, 20).

Em consequência da maior urbanização e da maior participação feminina no mercado de trabalho, as creches passaram a ser o primeiro ambiente externo ao doméstico que a criança frequenta, o que as torna potenciais ambientes de contaminação (8, 20).

O *Cryptosporidium* acomete principalmente crianças de 1 a 5 anos de idade e sua ocorrência é crescente naquelas que frequentam creches (2, 3, 4, 8, 9, 16) ou vivem em orfanatos (13). No Brasil, na rotina do exame parasitológico das fezes, a maioria dos laboratórios não pesquisa os oocistos de *Cryptosporidium* e outros protozoários Coccidia (24). A metodologia de detecção do parasito somente é realizada quando solicitada pelo médico (24, 28).

Diante de tal realidade, objetivou-se, com este trabalho, verificar a prevalência de *Cryptosporidium* spp e outros parasitos intestinais em crianças que frequentam um Centro de Educação Infantil Público do município de Blumenau (SC).

MATERIAL E MÉTODOS

O Centro de Educação Infantil Público Henrich Reif do município de Blumenau (SC) atendia, no período da pesquisa, 161 crianças de 0 a 6 anos de idade, das quais 53 participaram do trabalho, o que significou uma adesão de 32,1%. A pesquisa foi realizada no período de março a maio de 2006. Inicialmente, realizou-se uma reunião com pais e professores para o esclarecimento do objetivo do trabalho. Para os pais, foram entregues copos coletores contendo conservante SAF (acetato de

sódio-ácido acético-formaldeído) e também o termo de consentimento que, assinado, autorizava as crianças a participarem da pesquisa. Além disso, foi distribuído um questionário para os responsáveis pelas crianças, contendo questões referentes às condições de saneamento básico, entre outras: se possuíam água ligada à rede pública, qual a fonte da água consumida, destino do esgoto, presença de animais domésticos, hábitos de higiene, se apresentavam episódios de diarreia, se as crianças eram medicadas com antiparasitários e se o tratamento ocorria por indicação médica.

Uma amostra de fezes de cada criança foi coletada em casa com o auxílio dos pais. As crianças também participaram de atividades educativas sobre a prevenção das parasitoses intestinais.

Os métodos utilizados para o exame parasitológico de fezes foram: Centrífugo-sedimentação pelo formalina-éter (23), Sedimentação espontânea (11), Ziehl Neelsen modificado - ZNM (a quente). Para a pesquisa dos antígenos de *Cryptosporidium* spp, foi aplicado o método de ELISA (TechLab®) segundo as especificações do fabricante. Para a verificação do tamanho das estruturas encontradas por meio da coloração por ZNM e da confirmação dos oocistos de *Cryptosporidium* spp e *Cyclospora cayetanensis*, foi utilizado um micrômetro ocular acoplado ao microscópio (Olympus CX31®). Os oocistos que mediam em torno de 8-10 µm e tinham aspecto granuloso foram considerados *Cyclospora cayetanensis* e os oocistos que mediam em torno de 4-6 µm, tinham formato esférico e presença de esporozoítos foram considerados *Cryptosporidium* spp (22).

Para a análise estatística dos resultados, aplicou-se o teste qui-quadrado com o nível de significância $\alpha = 0,01$ (26).

O trabalho foi realizado mediante aprovação do Comitê de Ética na Pesquisa com seres Humanos da FURB, sob o número 040/05.

RESULTADOS

Do total de 53 amostras de fezes (20 meninas e 33 meninos), 21 (39,6%) estavam positivas para protozoários e nenhuma amostra se mostrou positiva para helmintos. Os parasitos mais frequentes foram: *Giardia duodenalis* 10 (18,9%), *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar*/*Entamoeba hartmanni* 8 (15,1%), *Cryptosporidium* spp 4 (7,6%), *Cyclospora cayetanensis* 1 (1,9%), *Entamoeba coli* 2 (3,8%) e *Endolimax nana* 2 (3,8%) (Figura 1). As associações encontradas foram as seguintes: *Giardia duodenalis* e *Entamoeba histolytica*/*Entamoeba dispar*/*Entamoeba hartmanni* 4 (0,1%), *Giardia duodenalis* e *Endolimax nana* 1 (0,02%), *Giardia duodenalis* e *Cryptosporidium* spp 1 (0,02%). Os casos positivos foram encaminhados para tratamento específico. Em relação às técnicas empregadas na pesquisa de *Cryptosporidium* spp, observou-se a seguinte distribuição: uma amostra (1,9%) positiva pelo ELISA e quatro amostras (7,6%) positivas pelo método de ZNM. Na Figura 2, estão demonstrados os oocistos de *Cryptosporidium* spp encontrados nas amostras fecais analisadas, sendo possível observar os esporozoítos. Também, na mesma figura, pode-se observar o oocisto de *Cyclospora cayetanensis*.

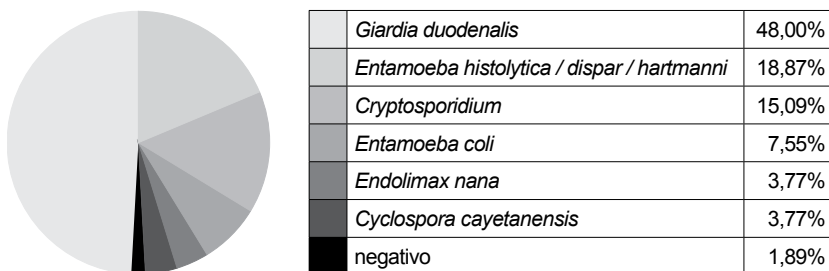


Figura 1. Prevalência dos enteroparasitos encontrados com a aplicação das metodologias de Centrífugo-sedimentação em formalina-éter, Sedimentação espontânea, Ziehl Neelsen modificado (a quente) e ELISA nas fezes das crianças de um Centro de Educação Infantil Público do município de Blumenau (SC).

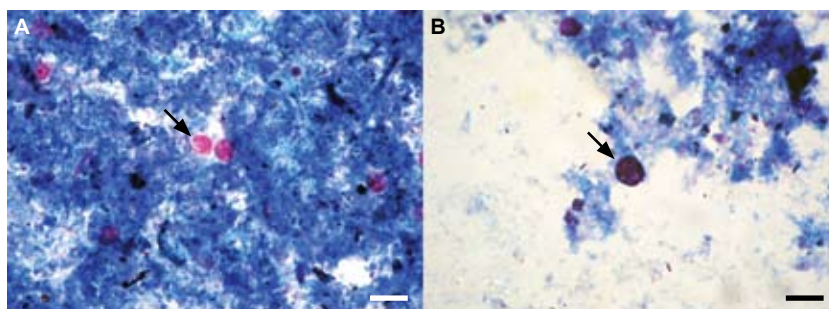


Figura 2. Oocistos de *Cryptosporidium* (a) e oocistos de *Cyclospora cayetanensis* (b) corados pelo método de Ziehl Neelsen modificado (a quente) (1000X, a barra corresponde a 10 μ m).

As crianças do sexo masculino apresentaram uma frequência de parasitismo (13 amostras = 24,5%) que não diferiu estatisticamente da frequência observada entre as crianças do sexo feminino (8 amostras = 15,1%) ($\chi^2 = 1,5803$, GL = 1, $p < 0,01$).

Quando aplicados os métodos de Centrífugo-sedimentação pela formalina-éter e Sedimentação espontânea, também não foram observadas diferenças significativas nos resultados obtidos ($\chi^2 = 0,7658$, GL = 1, $p < 0,01$).

A análise dos questionários respondidos pelos responsáveis pelas crianças revelou os seguintes resultados relativos aos principais atributos epidemiológicos relacionados às condições de higiene e saneamento: 98,0% afirmaram possuir água ligada à rede pública; 52,0% afirmaram consumir água da torneira; 16,0% disseram consumir água fervida e 32,0% assinalaram o item outros; 85,0% afirmaram

ter o esgoto ligado à rede pública; 29,0% possuíam animais domésticos em sua residência; 34% consideravam os hábitos de higiene dos filhos satisfatórios e 66,0% os consideravam bons; 14,0% afirmaram que seu filho apresentava episódios de diarreia; 67,0% medicavam seus filhos com anti-helmínticos, entre os quais 97,0% o faziam por indicação médica (Tabela 1).

Tabela 1. Principais atributos epidemiológicos relacionados às condições de higiene e saneamento

Questões	Respostas		
Possui água encanada?	98% sim	2% não	
Fonte de água consumida?	52% da torneira	16% fervida	32% outros
Destino do esgoto?	85% rede pública	15% sumidouro	
Possui animais domésticos?	29% sim	71% não	
Hábitos de higiene?	66% bom	34% satisfatório	
Apresenta episódios de diarreia?	14% sim	86% não	
São medicadas com anti-helmíntico?	67% sim	33% não	
O tratamento é feito sob indicação médica?	97% sim	3% não	

DISCUSSÃO

As crianças em idade escolar, que vivem em áreas pobres dos centros urbanos, são o principal alvo da infecção parasitária. As enteroparasitoses prejudicam o desenvolvimento físico e mental e contribuem de forma significativa para a elevação dos índices de mortalidade e morbidade infantil (6, 14).

A distribuição geográfica das parasitoses varia conforme os fatores predisponentes, como a presença de hospedeiros susceptíveis, migrações humanas, condições ambientais (temperatura, umidade, altitude) favoráveis, potencial biológico elevado e outros (14). O conhecimento das parasitoses presentes em determinada região é de fundamental importância para a adoção de medidas específicas de controle.

A prevalência de parasitos nas crianças do Centro de Educação Infantil estudado foi de 39,6%. Este resultado mostrou-se inferior aos observados em outras pesquisas, como a de Uchôa (2001) e seus colaboradores, que verificaram prevalência de 55,0% em crianças de creches comunitárias da cidade de Niterói, no estado do Rio de Janeiro, utilizando os métodos de Faust, Lutz e Baermann-Moraes (28). O índice de parasitismo verificado também foi inferior ao encontrado por Saturnino (2003) e seus colaboradores: ocorrência de parasitoses intestinais em 76,0% das crianças de uma comunidade de Natal, no Rio Grande do Norte (24).

Os percentuais de ocorrência de giardíase mostram-se preocupantes em algumas regiões do país, principalmente por se tratar de uma parasitose capaz de causar danos de natureza funcional ou carencial (27), havendo, portanto, associação

dessa infecção com desnutrição energética e protéica, avitaminose e alterações orgânicas (19). No presente trabalho, *Giardia duodenalis* foi o protozoário mais prevalente. Resultado similar foi encontrado em outros estudos parasitológicos, os quais apontaram giardíase como a principal parasitose intestinal em crianças brasileiras (3, 27). A transmissão pode ocorrer pela água e por alimentos contaminados com cistos ou por contato direto. Convém ressaltar que os cistos são muito resistentes e permanecem viáveis por até dois meses. O tratamento da água tanto pela utilização de cloro como por aquecimento até 60°C não é efetivo para a inativação dos cistos (20). A infecção pelo parasito também pode estar relacionada a: presença de animais domésticos, em razão do potencial zoonótico que eles apresentam; fatores relacionados ao hospedeiro; condições socioeconômicas e meio ambiente (21). Esses fatores podem explicar a elevada prevalência nas crianças analisadas, principalmente porque a comunidade era de baixa renda, a maioria das pessoas (52,0%) consumia água da torneira, grande parte possuía animais domésticos (29,0%) e, para 15,0% das famílias, o destino do esgoto era o sumidouro.

Neste trabalho não foi possível realizar a diferenciação entre as espécies *Entamoeba histolytica*, *E. dispar* e *E. hartmanni*. De acordo com o estabelecido pela OMS (1997), o tratamento da amebíase deve ser adotado somente nos casos em que *E. histolytica* for especificamente confirmada (29).

A prevalência de *Cryptosporidium* spp observada neste trabalho foi de 7,6%, superior ao verificado em estudo realizado em creches da cidade de Campinas (SP), no qual 5,5% das crianças estavam infectadas (8). Assis e colaboradores relataram o primeiro surto de criptosporidiose em crianças de uma creche na cidade do Rio de Janeiro. O estudo mostrou que 5,7% das crianças possuíam o protozoário (2). Em outro estudo realizado na cidade do Rio de Janeiro, o parasito foi evidenciado nas amostras fecais de 9,3% das crianças atendidas em um hospital pediátrico apresentando quadro de diarreia aguda e desidratação grave (5).

Sodré e Franco (2001) realizaram uma pesquisa sobre *Cryptosporidium* nos principais laboratórios de Campinas (SP) e constataram que 39,0% dos laboratórios não realizam a pesquisa do Coccidia, principalmente em razão do desconhecimento das técnicas e do custo (25). Os mesmos autores observaram que a grande maioria dos centros de diagnóstico não emprega métodos de concentração antes da coloração e o procedimento tintorial de Ziehl Neelsen é o mais utilizado.

A metodologia usada, neste trabalho, para análise das amostras e coloração das lâminas – Ziehl Neelsen modificado (a quente) – mostrou-se eficaz na coloração dos oocistos de *Cryptosporidium* spp. No entanto, sugere-se que, para amostras de fezes diarreicas de pacientes imunossuprimidos ou que apresentam sintomatologia semelhante à apresentada na criptosporidiose, além da coloração, seja utilizada também uma metodologia mais sensível e específica como o ELISA ou mesmo a PCR para a confirmação do resultado (12, 17). O teste complementar viria corroborar o resultado apresentado na metodologia da coloração, possibilitando a identificação de organismos desintegrados, seus produtos ou mesmo antígenos livres de alguma

parte do estágio evolutivo do ciclo de vida extracelular (12, 17). Apenas uma das quatro amostras positivas segundo o método de ZNM foi positiva pelo método de ELISA. Segundo o fabricante do Kit utilizado (Techlab®), as amostras podem ser previamente conservadas em formalina 10%. Neste caso, as amostras foram preservadas em solução contendo conservante SAF (acetato de sódio, ácido acético, formaldeído), o que pode ter influenciado nos resultados obtidos.

Cyclospora cayetanensis é um agente emergente de diarreia e existem poucos relatos do encontro deste protozoário no Brasil. Neste trabalho, uma criança apresentou exame de fezes positivo. No Brasil, Araújo e colaboradores relataram, em 1994, um caso de ciclosporiose em um paciente com o HIV, que apresentava diarreia com duração de três meses, com significante perda de peso (1). Fernandes e colaboradores, em 1998, identificaram oocistos de *Cyclospora cayetanensis* em fezes de um paciente de São Paulo (7). A transmissão direta pessoa a pessoa é pouco provável porque a esporulação dos oocistos tem início na presença de altas concentrações atmosféricas de oxigênio e está completa em 5 a 13 dias em temperatura ambiente de 25° a 30°C (18). Assim, a fonte de infecção pode ter sido alimentos e/ou água contaminados.

O uso freqüente de anti-helmíntico (67,0%), conforme evidenciaram os relatos, pode ter contribuído para o resultado negativo para helmintos em todos os exames parasitológicos realizados. As metodologias empregadas para a análise das amostras são adequadas para a detecção de ovos, cistos, trofozoítos e oocistos. No entanto, outras metodologias para pesquisa de larvas (método de Baermann e Moraes) e ovos (método de Graham) não foram empregadas nesta pesquisa, pois as amostras foram coletadas em casa, pelos pais, diretamente na solução conservante.

Gurgel e colaboradores, após compararem o nível de parasitismo entre crianças que freqüentavam creches e grupo controle, verificaram que a maior prevalência de parasitoses se deu entre crianças freqüentadoras de creches, cujo risco de infecção é 1,5 vez maior (10).

Diante das elevadas taxas de parasitismo observadas neste estudo, ficou evidenciada a importância de se desencadear medidas de prevenção e controle específicas. Assim, os responsáveis pelas crianças receberam informações sobre as principais formas de transmissão das parasitoses intestinais por meio de palestras realizadas no centro de educação infantil estudado. Para as crianças foram desenvolvidas atividades lúdicas com o intuito de incentivar lavagem das mãos e das frutas, corte das unhas e outras medidas de higiene.

A elevada taxa de infecção por protozoários encontrada revela a necessidade da adoção de medidas educativas permanentes dirigidas às crianças. Sugere-se que as educadoras promovam brincadeiras instrutivas com o intuito de despertar a educação sanitária. Outra medida importante seria a realização freqüente de palestras para os responsáveis pelas crianças, nas quais fossem apresentadas as formas de prevenção das parasitoses. Trabalhos futuros poderão ser realizados em conjunto com as famílias com o objetivo de diminuir o número de parasitados, o que, conseqüentemente, produzirá melhoria da qualidade de vida das crianças e da comunidade em geral.

ABSTRACT

Intestinal parasitism in a public day care center in Blumenau city (Brazil) with emphasis in *Cryptosporidium* spp and other protozoans

The purpose of this study was to establish the prevalence of *Cryptosporidium* spp and others parasites among infants of 0 to 6 years of age, from a public day-care center in Blumenau, SC, Brazil, between March and May of 2006, through parasitological examinations. The infants' parents answered a domiciliary inquiry about sanitary conditions and 53 fecal processed samples were evaluated by the formalin-ether sedimentation technique; spontaneous sedimentation, a modified Ziehl-Neelsen, and the ELISA method (TechLab®) for detection of *Cryptosporidium parvum*. Of the analyzed children it was verified a prevalence of intestinal parasitism of 39,6%, and the parasites found were: *Giardia duodenalis* (18,9%), *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar/Entamoeba hartmanni* (15,1%), *Cryptosporidium* spp (7,6%), *Entamoeba coli* (3,8%) *Endolimax nana* (3,8%) and *Cyclospora cayetanensis* (1,9%). The methodology, modified Ziehl-Neelsen, used for sample analysis and coloring the structures, was effective on coloring the acid-fast stain structures. The positive cases received specific treatment and the children took part of educational activities. Our data showed that the high rate of parasitism found reveals the necessity to adopt sanitary educational measures towards the people from that area.

KEYWORDS: *Cryptosporidium* spp. *Cyclospora cayetanensis*. Children. Day care center. Enteroparasitosis.

REFERÊNCIAS

1. Araújo ALT, Teramussi LA, Mangini ACS, Freitas EG, Hakme NA, Lins NS. Descrição de um caso de ciclosporoze em paciente portador de SIDA/AIDS, Brasília-DF, Brasil. *Rev Patol Trop* 23 (Supl.): 244, 1995.
2. Assis KV, Schubach TMP, Camilo-Coura L, Melo MP, Moura H. Primeiro surto documentado de criptosporidiose em crianças de uma creche no Rio de Janeiro, Brasil. In: XXXV Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Guarapari, Resumos, março, 1999.
3. Buschini MLT, Pittner E, Czervinski T, Moraes IF, Moreira MM, Sanches HF, Monteiro MC. Distribuição espacial de enteroparasitas em crianças escolares na cidade de Guarapuava, Estado do Paraná, Brasil. *Rev Bras Epidemiol* 10: 568-578, 2007.
4. Carvalho TB, Carvalho LR, Mascarini L M. Occurrence of enteroparasites in day care centers in Botucatu (São Paulo State, Brazil) with emphasis on *Cryptosporidium* sp., *Giardia duodenalis* and *Enterobius vermicularis*. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 48: 269-273, 2006.
5. Carvalho-Costa FA, Gonçalves AQ, Lassance, SL, Albuquerque CP, Leit, JPG, Bóia MN. Detection of *Cryptosporidium* spp and other intestinal parasites in children with acute diarrhea and severe dehydration in Rio de Janeiro. *Rev Soc Bras Med Trop* 40: 346-348, 2007.
6. Chan MS. The global burden of intestinal nematode onfections: "fifty years". *Parasitol Today* 13: 438-443, 1997.
7. Fernandes AODP, Carollo MCC, Braz LMA, Amato Neto V, Villela MSH. Human cyclosporiasis diagnosis: report of a case in São Paulo, SP, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 39: 177-179, 1998.

8. Franco RMB, Cordeiro NS. Giardiose e criptosporidiose em creches no município de Campinas, SP. *Rev Soc Bras Med Trop* 29: 583-591, 1996.
9. Guerrant RL. Cryptosporidiosis: an emerging, highly infectious threat. *Emerg Infect Dis* 3: 51-57, 1997.
10. Gurgel RQ, Cardoso GS, Silva AM, Santos LN, Oliveira, RCV. Creche: ambiente expositor ou protetor nas infestações por parasitas intestinais em Aracaju, SE. *Rev Soc Bras Med Trop* 38: 267-269, 2005.
11. Hoffman WA, Pons JA, Janer JL. The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. *J Publ Health* 9: 281-298, 1934.
12. Hunter PR, Hughes S, Woodhouse S, Syed Q, Verlander NQ, Chalmers RM, Morgan K, Nichols G, Breching N, Osborn K. Sporadic cryptosporidiosis case-control study with genotyping. *Emerg Infect Dis* 10:1241-1249, 2004.
13. Janoff EM, Mead OS, Echeverria P, Bodhidatta L, Bhaiubulaya M, Sterling CR, Taylor DN. Endemic *Cryptosporidium* and *Giardia lamblia* infections in a Thai orphanage. *Amer J Trop Med Hyg* 43: 248-256, 1990.
14. Ludwig KM, Frei F, Alvares FF, Ribeiro Paes JT. Correlação entre condições de saneamento básico e parasitoses intestinais na população de Assis, estado de São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop* 32: 547-575, 2000.
15. Machado RC, Marcari EL, Cristiane SFV, Cacaretto CMA. Giardiase e helmintíase em crianças de creches e escolas de 1º 2º graus (públicas e privadas) da cidade de Mirassol, SP, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 32: 697-704, 1999.
16. Mascarini LM, Donalísio MR. Giardiase e criptosporidiose em crianças institucionalizadas em creches no estado de São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop* 39: 577-579, 2006.
17. Morgan-Ryan UM, Fall A, Ward LA, Hijjawi N, Sulamain I, Fayer R, Thompson ARC, Olson M, Altaf L, Xiao L. *Cryptosporidium hominis* n. sp. (Apicomplexa: Cryptosporidiidae) from *Homo sapiens*. *J Euk Microbiol* 49: 433-440, 2002.
18. Ortega YR, Sterling CR, Gilman RH, Gama VA, Diaz F. *Cyclospora* species - a new protozoan pathogen of humans. *N Engl J Med* 328: 1308-1312, 1993.
19. Ortega YR, Adam RD. *Giardia*: overview and update. *Clin Infect Dis* 25: 545-550, 1997.
20. Osterholm MT, Reves RR, Murph JR, Pickering LK. Infectious disease and child day care. *Pediatr Infect Dis J* 11: S32-S41, 1992.
21. Pereira MGC, Atwill ER, Barbosa AP. Prevalence and associated risk factors for *Giardia lamblia* infection among children hospitalized for diarrhea in Goiânia, Goiás state, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 49: 139-145, 2007.
22. Rigo CR, Franco RMB. Comparison between the modified Ziehl-Neelsen and Acid-Fast-Trichrome methods for fecal screening of *Cryptosporidium parvum* and *Isospora belli*. *Rev Soc Bras Med Trop* 35: 209-214, 2002.
23. Ritchie LS. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. *Bull US Army Med Dept* 8: 326, 1948.
24. Saturnino ACRD, Nunes JFL, Silva EMA. Relação entre a ocorrência de parasitas intestinais e sintomatologia observada em crianças de uma comunidade carente de Cidade Nova, em Natal, Rio Grande do Norte, Brasil. *Rev Bras Anal Clin* 35: 85-87, 2003.
25. Sodré FC, Franco RMB. Novos aspectos sobre um tema bem conhecido: *Cryptosporidium*. *Rev Bras Anal Clin* 33: 97-107, 2001.
26. Sokal RR, Rohlf FJ. *Biometry*. 3. ed. New York, W. H. Freeman, 1995. 850p.
27. Teixeira JC, Heller L, Barreto ML. *Giardia duodenalis* infection: risk factors for children living in sub-standard settlements in Brazil. *Cad Saúde Pública* 23: 1489-1493, 2007.
28. Uchôa CMA. Parasitoses Intestinais: prevalência em creches comunitárias da cidade de Niterói, Rio de Janeiro. *Rev Inst Adolfo Lutz* 60: 97-101, 2001.
29. World Health Organization. *Entamoeba* taxonomy. *Bull World Health Organ* 75: 291-292, 1997.