



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS – PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**PERFIL MICROBIOLÓGICO E PARASITOLÓGICO DA *BRASSICA OLERACEA* L.
PRODUZIDA EM SISTEMA CONVENCIONAL NO SERTÃO PARAIBANO**

PABLO DA COSTA SOUSA

**PATOS
2018**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS – PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**PERFIL MICROBIOLÓGICO E PARASITOLÓGICO DA *BRASSICA OLERACEA* L.
PRODUZIDA EM SISTEMA CONVENCIONAL NO SERTÃO PARAIBANO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

PABLO DA COSTA SOUSA

Orientador: Prof. Dr. Onaldo Guedes Rodrigues

PATOS
2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSRT DA UFCG

S725p

Sousa, Pablo da Costa

Perfil microbiológico e parasitológico da *Brassica oleracea* L. produzida em sistema convencional no sertão paraibano / Pablo da Costa Sousa. – Patos, 2018.

41f.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2018.

Referências.

1. Parasitos. 2. Microrganismo. 3. Hortaliça. 4. Qualidade alimentar.
I.Título.

CDU 576.88



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

PROVA DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

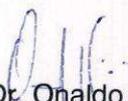
TÍTULO: “Perfil microbiológico e parasitológico da *Brassica oleracea* L. produzida em sistema convencional no sertão paraibano”

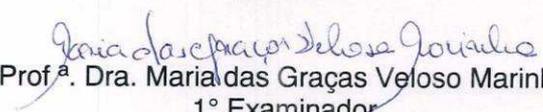
AUTOR: PABLO DA COSTA SOUSA

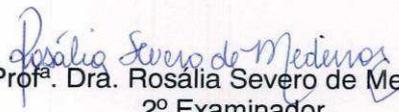
ORIENTADOR: Prof. Dr. ONALDO GUEDES RODRIGUES

JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO


Prof. Dr. Onaldo Guedes Rodrigues
Presidente


Prof.ª Dra. Maria das Graças Veloso Marinho
1º Examinador


Prof.ª Dra. Rosália Severo de Medeiros
2º Examinador

Patos - PB, 28 de fevereiro de 2018


Prof. Dr. José Fábio Paulino de Moura
PPGZICSTR/UFCG
Má. 51411506998
Coordenador

PABLO DA COSTA SOUSA

**PERFIL MICROBIOLÓGICO E PARASITOLÓGICO DA *BRASSICA OLERACEA* L.
PRODUZIDA EM SISTEMA CONVENCIONAL NO SERTÃO PARAIBANO**

FICHA DE AVALIAÇÃO

Aprovado em: __/__/__

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Onaldo Guedes Rodrigues
UACB/CSTR/UFCG (Orientador)

Prof.^a Dra. Maria das Graças Veloso Marinho
UACB/CSTR/UFCG

Prof.^a Dra. Rosália Severo de Medeiros
UACB/CSTR/UFCG

Dedicatória:

Dedico e agradeço a ***Deus***, pelo dom da vida, sabedoria, e paz no coração, pelas bênçãos em cada passo, por sustentar meu ser todos os dias, pois nada me faltou;
Aos meus pais (***Francisco e Zenilda***), a minha noiva (***Darliane***) e a
Minha irmã (***Poliana***) que são as pessoas que vibram com as minhas conquistas e sempre acreditam em mim e por eles cheguei até aqui.
AMO VOCÊS.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Jesus Cristo, razão da minha fé e cosmovisão.

Aos meus pais, Francisco de Freitas de Sousa e Zenilda Alves da Costa, por serem os responsáveis pelas minhas conquistas e constituírem o meu ponto forte de apoiarem todos os caminhos aos quais não posso trilhar sozinho e pelo investimento conferido a mim em todos os aspectos como ser humano.

A minha noiva, Darliane Teodósio Guedes, pessoa que sempre acreditou que eu poderia ir mais longe e sempre apoiando nas minhas decisões e foi e sempre será minha eterna companheira.

A minha irmã, Poliana Sousa Farias, pela amizade, companheirismo e auxílio na tomada de decisões importantes.

Agradeço à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa durante todo o período de realização deste mestrado.

A todos os meus colegas que colaboraram para a realização desta pesquisa, por tudo que vivemos, momentos de companheirismo, amizade, divertimento, que irão ficar em nossa memória para sempre.

Ao professor Dr. Onaldo Guedes Rodrigues, pela orientação e acolhimento, ajudando-me dentro de suas possibilidades na realização desta pesquisa.

Aos professores Wilson Wouflan Silva e Rosália Severo de Medeiros, profissionais que sempre estiveram ao meu lado durante a realização desta pesquisa. Agradeço pelo companheirismo, ensinamentos, disponibilidade, confiança e oportunidade de orientar em todo o decorrer deste trabalho.

A todos os professores que me guiaram nessa jornada, em especial a banca examinadora (Pra. Rosália Severo de Medeiros e Dra. Maria das Graças Veloso Marinho), diante da qualidade e competência dos mesmos.

Aos funcionários dos laboratórios de Parasitologia e Microbiologia da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, pela essencial participação neste trabalho por meio das análises das amostras.

Aos produtores rurais de Patos e Teixeira, pois sem a disponibilidade destes, não seria possível a realização desta investigação.

Enfim, a TODOS que participaram direto ou indiretamente na realização de mais um grande sonho.

RESUMO

Perfil microbiológico e parasitológico da Brassica oleracea L. produzida em sistema convencional no sertão paraibano. Pablo da Costa Sousa, Dr. Onaldo Guedes Rodrigues, Dr. Wilson Wouflan Silva.

As hortaliças têm sido um dos alimentos mais relacionados a surtos de toxinfecção alimentar em nível mundial, especialmente por serem responsáveis por veicular microrganismos patogênicos de significância na saúde pública. Assim sendo, este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil microbiológico e parasitológico em couve dos municípios de Patos e Teixeira no Sertão Paraibano. Foram realizadas análises microbiológicas e parasitológicas em 30 amostras de couve (*Bassica oleracea* L.), sendo 15 amostras coletadas em diferentes propriedades rurais do município de Patos e 15 no município de Teixeira, de acordo com Resolução - RDC nº12 de 02 Janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Desse total, constatou-se que 77% (10) das amostras coletadas no município de Patos estavam em níveis satisfatórios, enquanto que no município de Teixeira 3 (20%) amostras de produtores diferentes estavam contaminadas com valores altos para Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes. Não foi detectada a presença de *Salmonella* spp. no entanto, foi encontrada a presença de *Escherichia coli* em uma das amostras do produtor 1 da cidade de Patos. As amostras de ambos os municípios, apresentaram formas imaturas de nematódeos e protozoários e constatou-se que as amostras de couve estavam contaminadas por estruturas de parasitos de cães como o *Toxocara* spp. e *Ancylostoma* spp. e protozoários como *Giardia* e *Toxoplasma*. É necessário estudos mais aprofundados rastreando todo o sistema de produção, consistindo em analisar a qualidade da água utilizada para irrigação, quantidade de insumos (matéria orgânica), higiene e orientação dos manipuladores.

Palavras-chave: parasitos, microrganismo, hortaliça, qualidade alimentar

ABSTRACT

Microbiological and parasitological profile of *Brassica oleracea* L. produced in a conventional system in the Sertão of Paraíba. Pablo da Costa Sousa, Dr. Onaldo Guedes Rodrigues, Dr. Wilson Wouflan Silva.

Vegetables have been one of the foods most related to outbreaks of food poisoning worldwide, especially because they are responsible for transporting pathogenic microorganisms of public health significance. Therefore, this work had the objective of evaluating the microbiological and parasitological profile in cabbage of the municipalities of Patos and Teixeira in the Sertão of Paraíba. Microbiological and parasitological analyzes were carried out on 30 cabbage (*Bassica oleracea* L.) samples, of which 15 samples were collected in different rural properties of the municipality of Patos and 15 in the municipality of Teixeira, according to Resolution - RDC No. 12 of 02 January 2001 of the National Agency of Sanitary Surveillance – (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) ANVISA. Of this total, 77% (10) of the samples collected in Patos were at satisfactory levels, while in the city of Teixeira 3 (20%) samples from different producers were contaminated with high values for Total Coliform and Thermotolerant Coliforms. No evidence of *Salmonella* spp. however, the presence of *Escherichia coli* in one of the samples of producer 1 of the city of Patos was found. Samples from both municipalities showed immature forms of nematodes and protozoa and it was found that the cabbage samples were contaminated by structures of parasites of dogs such as *Toxocara* spp. and *Ancylostoma* spp. and protozoa such as *Giardia* and *Toxoplasma*. Further studies are needed to track the entire production system, consisting of analyzing the quality of the water used for irrigation, the amount of inputs (organic matter), hygiene and the orientation of the manipulators.

Key words: parasites, microorganism, vegetable, food quality.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
CAPÍTULO I	16
Análise microbiológica e parasitológica da <i>Brassica oleracea</i> L. de produtores da zona rural de Patos, PB	17
INTRODUÇÃO	18
MATERIAL E MÉTODOS	18
RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
CONCLUSÃO	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
CAPÍTULO II	25
Indicadores parasitológicos e microbiológicos da <i>Brassica oleracea</i> L. do município de Teixeira, PB	26
INTRODUÇÃO	26
MATERIAL E MÉTODOS	27
Resultados e Discussão	28
Conclusões	31
Referências BIBLIOGRÁFICAS	31
CONCLUSÃO GERAL	33
ANEXOS	34

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1	Número Mais Provável (NMP/g) de Coliformes Totais e Termotolerantes das amostras da <i>Brassica oleracea</i> L. do município de Patos, PB, coletadas no período de Outubro á Dezembro de 2017.....	20
Tabela 2	Análises microbiológicas em amostras da <i>Brassica oleracea</i> L., do município de Teixeira, PB, coletadas no período de Outubro á Dezembro de 2017, de acordo com a RDC de nº 12 de janeiro de 2001 da ANVISA.....	21
Tabela 3	Estruturas parasitárias identificadas nas amostras da <i>Brassica oleracea</i> L em propriedades no município de Patos-PB, coletadas no período de Outubro á Dezembro de 2017.....	22

CAPÍTULO II

Tabela 1	Número Mais Provável (NMP/g) de Coliformes Totais e Termotolerantes das amostras da <i>Brassica oleracea</i> L. do município de Teixeira, PB, coletadas no período de Outubro á Dezembro de 2017.....	29
Tabela 2	Análises microbiológicas em amostras da <i>Brassica oleracea</i> L., do município de Teixeira, PB, coletadas no período de Outubro á Dezembro de 2017, de acordo com a RDC de nº 12 de janeiro de 2001 da ANVISA.....	30
Tabela 3	Estruturas parasitárias identificadas nas amostras da <i>Brassica oleracea</i> L em propriedades no município de Teixeira-PB, coletadas no período de Outubro á Dezembro de 2017.....	30

LISTA DE ABREVIATURA/SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

DTAs - Doenças Transmitidas por Alimentos

EMB - Ágar Eosina Azul de Metileno

LST - Caldo Lauril Sulfato

NMP - Número Mais Provável

PCA - Ágar Padrão para Contagem

UFCG - Universidade Federal de Campina Grande

INTRODUÇÃO GERAL

As dietas ricas em frutas e hortaliças tem sido uma busca constante no intuito de hábitos alimentares mais saudáveis, com isso, a preocupação crescente com o binômio dieta-saúde tem provocado um aumento do número de pessoas que consomem alimentos orgânicos, já que no sistema convencional utilizam-se produtos químicos que, quando ingeridos podem ser prejudiciais à saúde humana (RIGUEIRA et al., 2016).

O Sertão paraibano com seu clima semi-árido, de difícil acesso a água, mas com uma vegetação peculiar que sobrevive no limite de seus recursos, característica essa do município de Patos situado na microrregião de Patos, na Mesorregião do Sertão Paraibano. Contudo, o município de Teixeira que localiza-se na Microrregião da Serra do Teixeira, na subunidade espacial da Mesorregião do Sertão Paraibano, apesar de apresentar limitações para a produção agrícola devido a presença de um relevo acidentado, de terrenos rochosos cria condições especiais para o desenvolvimento agrícola (CORREIA, MOREIRA, 2013).

As hortaliças da família da Brassicaceae são bastante reconhecidas, principalmente, pelo teor de glucosinolatos, atividade antioxidante, compostos fenólicos, vitaminas e minerais. Estão entre os principais vegetais cultivados em todo o mundo e tem como representante a couve manteiga (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). Estas hortaliças são fonte de ferro, cálcio, fibras, vitaminas, antioxidantes e compostos fenólicos que protegem o corpo e os alimentos do estresse oxidativo (BAENAS et al., 2012).

As hortaliças quando ingeridas cruas são alimentos que apresentam um alto risco de contaminação microbiológica, o que pode acontecer desde o plantio, por isso as condições higiênico-sanitárias do seu preparo são indispensáveis, já que a manipulação incorreta poderá comprometer a sua qualidade final (CALIL et al., 2013). Além disso, Silva et al. (2016) afirma que as doenças provocadas por agentes veiculados por alimentos são, predominantemente, resultantes do ciclo de contaminação fecal/oral e seu controle deve receber atenção cada vez maior em nosso meio.

A questão da segurança alimentar tem sido tema pertinente não apenas em estudos científicos, como também nas questões de ordem político-econômico dos países de todo o mundo (MARINS et al., 2014).

Para garantir a qualidade do produto, é importante considerar que todas as etapas estão envolvidas, desde a produção até o consumo do alimento. Dentro deste universo de fatores, grande parte dos problemas estão ligados a descuidos com a saúde dos manipuladores, falta de higiene no manuseio e ausência de preservação adequada dos alimentos (SILVA JUNIOR, 2013).

A realização de análises microbiológica e parasitológica de hortaliças é utilizada para identificar as bactérias da família Enterobacteriaceae e parasitas intestinais do homem, através da pesquisa das diferentes formas infecciosas que são liberadas nas fezes, tornando-se assim de grande importância para a Saúde Pública (ALVES et al., 2013) por fornecer dados do estado de higiene das hortaliças permitindo assim o controle das condições em que foram cultivadas, armazenadas e preparadas para o consumo. Já o exame microbiológico permite a identificação da espécie bacteriana e o exame parasitológico de alfaces propicia a visualização de estruturas parasitárias como ovos e larvas de helmintos bem como cistos de protozoários através do método de sedimentação por centrifugação (ABREU et al., 2010).

As análises seguem a Resolução - RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 2001), onde estabelece que hortaliças cruas, preparadas para o consumo direto, não devem apresentar *Salmonella spp*/25g do produto e Coliformes Termotolerantes acima de 10^3 UFC/g (PAIVA, 2011).

A presente dissertação é composta por dois capítulos. O primeiro capítulo consiste de um artigo cujo objetivo foi investigar a ocorrência de contaminação microbiológica e parasitológica na *Brassica oleracea* L. provenientes de sistema convencional em Patos, Paraíba, que será submetido à revista Ciência e Agrotecnologia. O segundo capítulo é composto por artigo que teve como objetivo analisar a presença de patógenos através de testes parasitológicos e microbiológicos, conforme a RDC nº12 (Brasil 2001), da *Brassica oleracea* L. proveniente de produtores da zona rural do município de Teixeira, Paraíba, e está nas normas da revista Agropecuária Científica no Semiárido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU I. M. O. et al. Qualidade microbiológica e produtividade de alface sob adubação química e orgânica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.30, n.1,p.108-18, 2010.
- ALVES, A. S. et al. Parasitos em alface-crespa (*lactuca sativa* L.), de plantio convencional, comercializada em supermercados de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**. v.42, n.2, p. 217-22, 2013.
- BAENAS, N.; MORENO, D. A.; GARCIA-VIGUERA, C. Selecting sprouts of Brassicaceae for optimum phytochemical composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 60, n. 45, p. 11409-11420, 2012.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RDC 12, de 02 de janeiro de 2001, Seção 1. Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 jan. 2001.
- CALIL, E. M. B., FERREIRA, F. L. A., BRAZÃO, C. S., SOVENHI, C. C. Qualidade microbiológica de saladas oferecidas em restaurantes tipo self-service. **ASA – Atlas de Saúde Ambiental**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 36-42, Setembro/Dezembro 2013.
- CORREIA, S. C. C., MOREIRA E. Campesinato do município de Teixeira na Paraíba: resistência e formas de recriação camponesa. **Revista Pegada** – vol. 14 n.1. Julho, 2013.
- MARINS B. R. et al (Org.). **Segurança alimentar no contexto da vigilância sanitária: reflexões e práticas**. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio; 288 p. 2014.
- PAIVA, J. L.; Avaliação microbiológica da alface (*Lactuca sativa*) em sistema de cultivo hidropônico e no solo, correlacionando os microrganismos isolados com os encontrados em toxinfecções alimentares em municípios da região Noroeste de São Paulo – SP. **Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista**. p. 115. 2011.
- RIGUEIRA, G. D. J., BANDEIRA, A. V. M., CHAGAS, C. G. O., MILAGRES, R. C. R. M. Atividade antioxidante e teor de fenólicos em couve-manteiga (*Brassica oleracea* L. var. acephala) submetida a diferentes sistemas de cultivo e métodos de preparo. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 37; n. 2; p. 3-12; 2016.
- SILVA, A. S., MENDES, I. M. S., REBOUÇAS, L. T., ALMEIDA, J. S., ROCHA, E. V. S., AMOR, A. L. M.; Análise parasitológica e microbiológica de hortaliças comercializadas no município de Santo Antônio de Jesus, Bahia (Brasil). **Revista Vigilância Sanitária em Debate**. 4(3): 77-85; 2016.
- SILVA JUNIOR, E.A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6a ed. São Paulo: Varela; 2013.

CAPÍTULO I

Análise microbiológica e parasitológica da *Brassica oleracea* L. de produtores da zona rural de Patos, PB

Manuscrito será submetido ao periódico Ciência e Agrotecnologia

Análise microbiológica e parasitológica da *Brassica oleracea L.* de produtores da zona rural de Patos, PB

Microbiological and parasitological analysis of Brassica oleracea L. from producers in the rural area of Patos, PB

Pablo da Costa Sousa¹, Lamartine José Brito Medeiros¹, Álison José Damasceno Morato¹, Rosália Medeiros Severo¹, Wilson Wouflan Silva¹, Onaldo Guedes Rodrigues¹

RESUMO

A produção de hortaliças no Brasil tem uma alta rotatividade, onde a necessidade de uma produção de agricultura familiar se adequar a padrões de higiene de produção para produtos *in natura* eleva a preocupação de consumidores com a probabilidade de contaminação destes. Nesse contexto, o estudo teve como objetivo avaliar o perfil microbiológico e parasitológico em Couves de produtores do Município de Patos no sertão Paraibano. Foram coletadas e avaliadas 15 amostras da *Brassica oleracea L.* de plantio convencional em três propriedades para a realização de exames microbiológicos e parasitológicos conforme parâmetros estabelecidos pela RDC nº 12/2001 da ANVISA. Constatou-se que as amostras estavam contaminadas por estruturas de parasitos de cães como o *Toxocara spp.* e *Ancylostoma spp.* e protozoários como *Toxoplasma sp.* Quanto à análise microbiológica, não foi detectada a presença de *Salmonella spp.* Assim, 77% (10) das amostras estavam em níveis satisfatórios, no entanto, foi encontrada a presença de *Escherichia coli* em uma das amostras do produtor 1. Conclui-se que a falta de cumprimento de exigências da ANVISA leva a um alto risco de propagação de doenças e a pesquisa revela a dependência de novas investigações para se chegar ao foco, adotando medidas de controle.

Palavras-chave: hortaliça, investigação, helminto, coliformes.

ABSTRACT

Vegetable production in Brazil has a high turnover, where the need for a family farming production to meet production hygiene standards for *in natura* products raises the concern of consumers with the likelihood of contamination of these. In this context, the objective of this study was to evaluate the microbiological and parasitological profile in the Cabbage of producers of the Municipality of Patos in the Sertão Paraibano. Fifteen samples of Cabbage (*Brassica oleracea L.*) of conventional planting were collected and evaluated in three properties for the accomplishment of microbiological and parasitological exams according to parameters established by RDC nº 12/2001 of ANVISA. It was found that the samples were contaminated by parasite structures of dogs such as *Toxocara spp.* and *Ancylostoma spp.* and protozoa such as *Toxoplasma sp.* Regarding the microbiological analysis, the presence of *Salmonella spp.* Thus, 77% (10) of the samples were at satisfactory levels, however, the presence of *Escherichia coli* in one of the samples of the producer 1 was found. It is concluded that the failure to comply with ANVISA requirements leads to a high risk of spread of diseases and research reveals the dependence of new investigations to reach the focus, adopting measures of control.

Keywords: greenery, research, helminth, coliforms.

INTRODUÇÃO

Atualmente a dieta rica em frutas e hortaliças tem sido potencializada na tentativa de hábitos alimentares mais saudáveis (RIGUEIRA et al., 2016). Azevedo (2012) descreve que a preocupação crescente com o binômio dieta-saúde tem provocado um aumento do número de pessoas que consomem alimentos orgânicos, já que no sistema convencional utilizam-se produtos químicos que, quando ingeridos podem ser prejudiciais à saúde humana.

As hortaliças da família da Brassicacea e são bastante reconhecidas, principalmente, pelo teor de glucosinolatos, atividade antioxidante, compostos fenólicos, vitaminas e minerais. Estão entre os principais vegetais cultivados em todo o mundo e tem como representante a couve manteiga (*Brassica oleracea L. var. acephala*). Estas hortaliças são fonte de ferro, cálcio, fibras, vitaminas, antioxidantes e compostos fenólicos que protegem o corpo e os alimentos do estresse oxidativo (BAENAS et al., 2012).

No entanto, o manejo de hortaliças deste tipo contribui para o surgimento de consequências do cultivo convencional que são elevação dos custos de produção, contaminação dos alimentos por agrotóxicos e redução de sua qualidade com vista ao surgimento das doenças crônicas degenerativas que ocasionam o aumento da mortalidade (RIGUEIRA et al., 2016).

Dessa forma, os cuidados com a qualidade do produto envolvem todas as etapas, que vão desde a produção até o consumo do alimento. Dentro deste universo de fatores, grande parte dos problemas estão ligados a descuidos com a saúde dos manipuladores, falta de higiene no manuseio e ausência de preservação adequada dos alimentos (SILVA JUNIOR, 2013).

Considerando o interesse pelo consumo alimentar de hortaliças e a preocupação com a qualidade desses alimentos, este trabalho teve como objetivo investigar a ocorrência de contaminação microbiológica e parasitológica na *Brassica oleracea L.* provenientes de sistema convencional em Patos, Paraíba, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho, foram coletadas 15 amostras de *Brassica oleracea L.* (mais conhecida por couve) de plantio convencional, adquiridas de três propriedades diferentes, no período de outubro a dezembro de 2017, na zona rural do município de Patos-PB, localizada na Mesorregião do Sertão Paraibano, latitude: 07° 01' 28" S e longitude: 37° 16' 48" W.

As amostras foram coletadas, acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso, em separado, e encaminhadas em caixa isotérmicas para a identificação no Herbário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, e também para a realização das análises microbiológica e parasitológica nos Laboratórios de Microbiologia e Parasitologia da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas - UFCG - Patos.

Para análise parasitológica as amostras foram desfolhadas, desprezando as folhas queimadas, danificadas e talos. Cada folha foi lavada com 100ml de água destilada, o líquido resultante da lavagem foi filtrado em gaze sob um cálice de sedimentação e foi completado com água destilada até o volume de 1000ml, deixado em repouso por 24 horas. Logo após o tempo de sedimentação, foram preparadas lâminas para cada uma das amostras, em duplicata e analisadas ao microscópio óptico em aumento de 10x. Em seguida à leitura das lâminas, foi realizada a tabulação dos dados

para melhor visualização e entendimento dos resultados. Para a identificação das estruturas parasitárias foram realizadas de acordo com Ueno e Gonçalves (1994).

Foram realizadas as análises microbiológicas para a estimativa do Número Mais Provável (NMP) de coliformes Totais e Termotolerantes conforme o recomendado por Standard Methods (SILVA et al., 2007) e para presença/ausência de *Salmonella spp.*, bactérias pelas quais existem padrões estabelecidos pela ANVISA (BRASIL, 2001) e testes confirmativos pra *Escherichia coli* para uma melhor avaliação das condições higiênico sanitárias das amostras.

Pesou-se assepticamente 10 gramas de cada amostra e foi misturada a 90 ml de água peptonada a 0,1% esterilizada até a homogeneização, obtendo-se assim a diluição de 10^{-1} . A partir dessa diluição, foram realizadas as demais diluições em série até a obtenção da diluição 10^{-5} , transferindo-se 1 mL de cada diluição para tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada 0,1%.

Utilizou-se o caldo lauril sulfato (LST) em concentração simples. Três séries de três tubos contendo o caldo LST com tubos de Durhan invertidos foram inoculadas com 1 mL das diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} . Incubaram-se os tubos a 36° C por 24 - 48 h. Após o tempo de incubação, a suspeita da presença de coliformes foi verificada nos tubos com formação de gás em fração de no mínimo 1/10 dos tubos de Durhan.

Para o teste confirmativo de coliformes totais, repicou-se cada tubo positivo, na prova presuntiva, para tubos contendo caldo verde brilhante lactose bile (VBLB) 2%, seguida de incubação a 37 °C / 24 h ou 48 h, a confirmação se deu de forma idêntica à da prova presuntiva. Concomitantemente, o teste confirmativo para coliformes termotolerantes, repicou-se cada tubo positivo no teste presuntivo para o caldo EC com tubos de Durhan invertidos e incubaram-se os tubos por 24 h a 45° C em banho maria sob agitação, a confirmação foi feita igual à prova presuntiva. Após o período de incubação, executou-se a leitura dos tubos positivos e o número mais provável (NMP) fora quantificado através da leitura na Tabela de Hoskins (APHA, 1992).

A pesquisa de *E. coli* foi realizada através da repicagem para Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), incubada a 35-37 °C/24 h para observação do crescimento de colônias típicas de *E. coli*. A confirmação de *E. coli* foi realizado através de testes bioquímicos (Indol, Voges-Proskauer, Citrato e Vermelho de Metila), a partir de colônias puras crescidas em Ágar Padrão para Contagem (PCA) a 35 °C/24 h.

A pesquisa de *Salmonella spp.* foi realizada de acordo com as metodologias analíticas descritas em compêndios oficiais (Bacteriological Analytical Manual Online, 2001) afim de verificar a ausência ou presença em 25g da amostra que foi homogeneizada em água peptonada tamponada incubada a 35°C durante 24 horas.

Os dados da análise microbiológica foram agrupados e tratados por meio de estatística descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as amostras foram identificadas e classificadas como *Brassica oleracea L.*, número 6761, no Herbário do Centro de Tecnologia Rural da UFCG, Patos, PB.

A tabela 1 apresenta os resultados das amostras de Couve (*Brassica oleracea L.*) analisadas quanto ao número mais provável de coliformes totais e coliformes termotolerantes (à 45° C), onde entre os produtores tivemos amostras com contaminação por coliformes totais e termotolerantes,

devido os níveis encontrados estarem superiores a 10^2 NMP/g, nos demais o valor encontrado foi inferior.

Tabela 1 – Número Mais Provável (NMP/g) de Coliformes Totais e Termotolerantes das amostras da *Brassica oleracea* L. do município de Patos, PB, coletadas no período de outubro a dezembro de 2017

Fonte	Microrganismos	
	Coliformes Totais (NMP/g)	Coliformes termotolerantes (NMP/g)
Produtor 1		
1	0,04	< 0,03
2	1100	1100
3	≥ 2400	1100
4	0,09	< 0,03
5	< 0,03	< 0,03
Produtor 2		
1	≥ 2400	2400
2	1100	2100
3	0,14	0,14
4	0,04	< 0,03
5	0,43	0,09
Produtor 3		
1	0,93	0,23
2	1,1	< 0,3
3	0,21	0,23
4	1100	2300
5	< 0,03	< 0,03

Autores 2018.

Os valores encontrados por Assis e Uchida (2014), em sua análise da qualidade microbiológica de hortaliças minimamente processadas, foi de >1.100 NMP/g para coliformes totais e 23 NMP/g de coliformes termotolerantes, o que demonstra uma contaminação menor em relação as duas amostras contaminadas na presente pesquisa, embora 77 % das amostras não ter havido contaminação.

A legislação RDC nº 12/2001 (BRASIL, 2001), não descreve valores para coliformes totais, mas de acordo com Smaniotto et al. (2009), consideram elevadas as contagens para coliformes totais de ≥ 1.100 NMP/g para hortaliças minimamente processadas ou que passaram por alguma sanitização. A alta contagem demonstrada em amostras dos produtores 1, 2 e 3, pode se dar devido a hortaliça não ter passado por nenhuma sanitização pós-colheita.

Carvalho et al. 2010, relata que a alta contaminação por coliformes totais inviabiliza o uso das hortaliças e podem indicar condições higiênico-sanitárias insatisfatórias no processamento, resultante da utilização de água de irrigação ou adubos inadequados, na colheita imprópria.

Contagens elevadas de coliformes também podem diminuir a vida útil de prateleira dos produtos e representar riscos para a saúde do consumidor, pois se trata de um grupo de microrganismos indicador de contaminação fecal (ASSIS, UCHIDA, 2014).

A análise de coliformes a 45°C serve como um indicador de contaminação fecal, de condições higiênicas sanitárias deficientes e presença de microrganismos patogênicos (FERREIRA et al., 2016). A detecção de coliformes fecais acima do limite tolerável, além da presença de parasitas patogênicos ao homem, indica que as hortaliças estudadas se encontravam inadequadas para o consumo (CARVALHO et al., 2010).

Na Tabela 2 apresenta os resultados conforme analisados com a Resolução – RDC de nº 12 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001) que estabelece o limite de crescimento de coliformes termotolerantes (à 45°C) até 10², sendo ainda satisfatório para o consumo, o que torna 77% das amostras satisfatórias e apenas 33% insatisfatórias.

Tabela 2 – Análises microbiológicas em amostras da *Brassica oleracea* L., do município de Teixeira, PB, coletadas no período de outubro a dezembro de 2017, de acordo com a RDC de nº 12 de janeiro de 2001 da ANVISA

Fonte	Microrganismos			
	Diluição de Crescimento	RDC de nº 12 de Janeiro de 2001	<i>Salmonella sp.</i>	<i>E. coli</i>
Produtor 1				
1	10 ¹	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
2	10 ³	Insatisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
3	10 ⁵	Insatisfatório	Ausência em 25g	Presença em 10g
4	10 ²	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
5	10 ²	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
Produtor 2				
1	10 ³	Insatisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
2	10 ⁴	Insatisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
3	10 ¹	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
4	10 ²	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
5	10 ¹	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
Produtor 3				
1	10 ¹	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
2	10 ¹	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
3	10 ²	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
4	10 ³	Insatisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
5	10 ¹	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g

Autores 2018.

De acordo com os resultados na tabela 2, destaca-se também a ausência de *Salmonella sp.* em todas as amostras analisadas, no entanto, Ferreira et al. (2016) em sua pesquisa destacou que 50% das amostras testadas ficaram fora do padrão microbiológico legal estabelecido para o parâmetro *Salmonella sp.*, exigido pela Resolução nº 12 de janeiro de 2001 do Ministério da Saúde, que

determina que esse patógeno esteja ausente em porções de 25 g analisadas, dessa forma, ficando impróprias para o consumo (BRASIL, 2001).

Observa-se que na amostra 3 do produtor 1 foi encontrada a presença de *Escherichia coli*. Resultados semelhantes foram observados no trabalho realizado na cidade de Uberlândia, avaliando a qualidade higiênica sanitária de alfaces comercializadas em feiras livres, que apresentaram elevada contaminação de micro-organismos aeróbios mesófilos, com números superiores a 10⁶ UFC/g, indicando possível presença de micro-organismos patogênicos, resultante da falta, ou falha de higiene na obtenção e manuseio do produto (FRANÇA; BONNAS; SILVA, 2014).

A *Escherichia coli* é a principal bactéria pertencente ao grupo de coliformes a 45°C (coliformes termotolerantes), tem seu habitat exclusivo no trato intestinal do homem e de outros animais de sangue quente. Alguns sorotipos de *Escherichia coli* podem causar sintomas brandos ou agressivos, podendo desencadear doenças como gastroenterite, infecção urinária e cistite (ELPO et al., 2004).

A destacada contaminação por coliformes totais, apesar de não está associada como risco a saúde do consumidor, acarretará em prejuízo econômico devido não suportar um longo período de exposição ou armazenamento. E confirmada a presença de *E. coli*, que é um bioindicador de contaminação fecal, levando risco a saúde do consumidor torna as amostras impossibilitadas de serem comercializadas, obrigando o produtor a reaver seus métodos de produção para que seja evitado este tipo de microrganismo (CARVALHO et al., 2010).

A Tabela 3 apresenta os resultados obtidos a partir da análise parasitológica das amostras da couve proveniente de três agricultores diferentes, com um destaque para *Toxocara spp.* e *Ancylostoma spp.* que estiveram presentes em todas as amostras, semelhantemente, Junior et al. 2012 observou em seu experimento com hortaliças utilizando a mesma metodologia.

Tabela 3 - Estruturas parasitárias identificadas nas amostras da *Brassica oleracea* L em propriedades no município de Patos-PB, coletadas no período de outubro a dezembro de 2017

PARASITOS ENCONTRADOS	PROPRIEDADES		
	01	02	03
<i>Toxocara spp.</i>	P	P	P
<i>Ancylostoma spp.</i>	P	P	P
<i>Ascaris sp.</i>	A	P	P
Oocisto de <i>Toxolasma</i>	A	A	P

Legenda: a: ausente; P: Presente;

Autores 2018.

As helmintíases, no Brasil é alvo de preocupação constante, devido às numerosas espécies de helmintos que parasitam o homem, pelos distúrbios que provocam, e pela vasta disseminação destes entre os habitantes das várias regiões do país (MOURA et al., 2016). Entre os parasitos contaminantes, os gêneros *Toxocara sp.* e *Ancylostoma spp.*, foram os que apresentaram maior incidência indicando contaminação de origem fecal humana e/ou animal, também observado por Silva et al. (2016) e Coutinho et al. (2015).

Moura et al. (2016) afirma que vários estudos também apontam o *Ascaris sp.* entre os helmintos mais prevalentes em hortaliças contaminadas. Contudo, Silva et al. (2016) considera importante mencionar que os helmintos presentes nas amostras (*Ancylostoma sp.*, e *Ascaris sp.*) são facilmente encontrados no solo, o que pode justificar a existência destas formas parasitárias nas hortaliças que são cultivadas em contato direto com o solo.

Com a contaminação por oocistos de *Toxoplasma*, eleva significativamente a tolerância que se deve ter com a higienização dos alimentos. A toxoplasmose é uma zoonose com grande impacto em saúde pública devido às graves consequências em humanos, devendo atentar-se com a segurança alimentar. Cabe lembrar que, a infecções por ingestão de oocistos podem ser consideradas comuns (GOTTELAND et al., 2014).

CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que as amostras do município de Patos-PB, não atendem as exigências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estando assim inaptas para fins de consumo *in natura*. Portanto, são necessários estudos mais aprofundados rastreando todo o sistema de produção, consistindo em analisar a qualidade da água utilizada para irrigação, quantidade de insumos (matéria orgânica), higiene e orientação dos agricultores/manipuladores.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. Technical committee on microbiological methods for food. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3 ed. p. 336-383. Washington, 1992.

ASSIS, L. L. R.; UCHIDA, N. S.; Análise da qualidade microbiológica de hortaliças minimamente processadas comercializadas em Campo Mourão, PR. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research – BJSCR**. Vol. 5, n. 3, pp. 17-22. 2014.

AZEVEDO, E. Alimentos orgânicos: ampliando os conceitos de saúde humana, ambiental e social. Florianópolis: SENAC São Paulo, 2012.

Bacteriological Analytical Manual Online, 2001. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html>>. Acesso em 15 abril 2017

BAENAS, N.; MORENO, D. A.; GARCIA-VIGUERA, C. Selecting sprouts of Brassicaceae for optimum phytochemical composition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 60, n. 45, p. 11409-11420, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RDC 12, de 02 de janeiro de 2001, Seção 1. Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 jan. 2001.

CARVALHO, P. G. O.; RODRIGUES, S. E. S.; ALMEIDA, C. G. L.; FIGUEIREDO, F. R. S. D. N.; RODRIGUES, F. F. G.; OLIVEIRA, A. D. L.; COSTA, J. G. M.; Análises microbiológicas e parasitológicas de saladas verdes servidas em self-service no município de CRATO – CE. **Cadernos de Ciência e Cultura**. Ano IV - Vol. 2- Nº 2. 2010.

COUTINHO, M. G. S.; FERREIRA, C. S.; NEVES, A. M.; ALVES, F. R. L.; SOUZA, F. F. P.; FONTENELLE, R. O. S.; Avaliação microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa* L) comercializadas em feiras livres no município de Sobral – CE. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 13, n. 2, p. 388-397, 2015.

FERREIRA, C. C.; GREGÓRIO, E. L.; COSTA, J. D.; PAULA, R. B. O.; NETA, H. A. G. A.; FONTES, M. D.; Análise de coliformes termotolerantes e Salmonella sp. em hortaliças minimamente processadas comercializadas em Belo Horizonte- MG. **HU Revista**, Juiz de Fora, v. 42, n. 4, p. 307-313, 2016.

FRANÇA, B. R.; BONNAS, D. S.; SILVA, C. M. de O. Qualidade higiênica sanitária de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres na cidade de Uberlândia-MG, Brasil. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.30, supplement 1, p.458-466, junho, 2014.

GOTTELAND, C. et al. Spatial distribution of *Toxoplasma gondii* oocysts in soil in a rural area: Influence of cats and land use. **Veterinary Parasitology**. 205: 629-37, 2014.

JUNIOR, J. P.; GONTIJO, É. E. L.; SILVA, M. G.; Perfil parasitológico e microbiológico de alfaces comercializadas em restaurantes self-service de Gurupi-TO. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v.5, n.1, Pub.2, Janeiro, 2012.

MOURA, L. R.; SANTOS, T.; VIEGAS, Â. A. Avaliação parasitológica em *Lactuca sativa* (alface) e *Brassica oleracea* L. (couve) procedentes da ceasa no município de Anápolis – GO. **RESU – Revista Educação em Saúde**: V4, N1, 2016.

RIGUEIRA, G. D. J.; BANDEIRA, A. V. M.; CHAGAS, C. G. O.; MILAGRES, R. C. R. M. Atividade antioxidante e teor de fenólicos em couve-manteiga (*Brassica oleracea* l. var. *acephala*) submetida a diferentes sistemas de cultivo e métodos de preparo. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 37; n. 2; p. 3-12; 2016.

SILVA, A. S.; MENDES, I. M. S.; REBOUÇAS, L. T.; ALMEIDA, J. S.; ROCHA, E. V. S.; AMOR, A. L. M.; Análise parasitológica e microbiológica de hortaliças comercializadas no município de Santo Antônio de Jesus, Bahia (Brasil). **Revista Vigilância Sanitária em Debate**. 4(3): 77-85; 2016.

SILVA JUNIOR, E.A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6a ed. São Paulo: Varela; 2013.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela; 2007.

SMANIOTO, T. F., et al. **Qualidade microbiológica de frutas e hortaliças minimamente processadas**. Rev. Inst. Adolfo Lutz. 68 (1):150-4; 2009.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Tóquio, 1994. 84 p.

CAPÍTULO II

Indicadores parasitológicos e microbiológicos da *Brassica oleracea* L. do município de Teixeira, PB

Manuscrito será submetido ao periódico Agropecuária Científica no Semiárido

Indicadores parasitológicos e microbiológicos da *Brassica oleracea* L. do município de Teixeira, PB

RESUMO: Uma alimentação equilibrada e saudável pede que o consumidor seja criterioso na busca de produtos naturais de qualidade, com procedência regulamentada, principalmente quando estes são orgânicos onde o cuidado deve ser excessivo por parte do produtor também. Para tanto, o estudo teve como objetivo analisar a presença de microrganismos através de exames microbiológicos e parasitológicos na *Brassica oleracea* L. de produtores do Município de Teixeira no sertão Paraibano. Foram coletadas e avaliadas 15 amostras de *Brassica oleracea* L. de plantio convencional em três propriedades diferentes onde foram testadas conforme os parâmetros estabelecidos pela RDC nº 12/2001 da ANVISA. Observou-se que 20% amostras de produtores diferentes estavam contaminadas com valores elevados para Coliformes Totais e Termotolerantes. Não foi encontrada a presença de *Salmonella* sp. e *Escherichia coli*. A análise parasitária revelou oocistos de *Toxocara* spp. em 100% das amostras, na propriedade 2 também evidenciou *Giardia* e na propriedade 3 *Ascaris* sp. Conclui-se que o não cumprimento de exigências da ANVISA leva a um alto risco de propagação de doenças, com isso os agricultores precisam tomar conhecimento de como utilizar um biofertilizante adequadamente, higienização de manipuladores atrelado com um manejo recomendado pela legislação para se manter a qualidade.

Palavras-chave: Hortaliça, agricultura, qualidade, microbiologia, parasitologia.

Parasitological and microbiological indicators of *Brassica oleracea* L. of the municipality of Teixeira, PB

ABSTRACT: A balanced and healthy diet demands that the consumer be careful in the search for quality natural products, with regulated origin, especially when they are organic where the care should be excessive by the producer as well. The objective of this study was to analyze the presence of microorganisms through microbiological and parasitological exams in *Brassica oleracea* L. from producers in the municipality of Teixeira, in the Sertão Paraibano. Fifteen samples of *Brassica oleracea* L. from conventional planting were collected and evaluated in three different properties where they were tested according to the parameters established by RDC nº 12/2001 of ANVISA. It was observed that 20% samples from different producers were contaminated with high values for Total and Thermotolerant Coliforms. The presence of *Salmonella* sp. and *Escherichia coli*. Parasite analysis revealed oocysts of *Toxocara* spp. in 100% of the samples, in property 2 also evidenced *Giardia* and in property 3 *Ascaris* sp. It is concluded that the non-compliance of ANVISA requirements leads to a high risk of disease spread, so farmers need to be aware of how to use a biofertilizer properly, hygienization of manipulators coupled with a management recommended by the legislation to maintain quality.

Keywords: Horticulture, agriculture, quality, microbiology, parasitology.

INTRODUÇÃO

A couve (*Brassica oleracea* L.) tem um papel importante na mesa daqueles que buscam uma alimentação saudável, pois é fonte de ferro, cálcio, fibras, vitaminas, antioxidantes e compostos fenólicos que protegem o corpo e os alimentos do estresse oxidativo (RIGUEIRA et al., 2016). No entanto, um dos maiores desafios para a agricultura na atualidade é

desenvolvimento de sistemas agrícolas sustentáveis que possam produzir alimentos e fibras em quantidades e qualidades suficientes, sem afetar os recursos do solo e do ambiente (SOUSA et al., 2014).

O município de Teixeira localiza-se no estado da Paraíba, na Microrregião da Serra do

Teixeira, na subunidade espacial da Mesorregião do Sertão Paraibano. Apesar de Teixeira apresentar limitações para a produção agrícola devido a presença de um relevo acidentado, de terrenos rochosos, da susceptibilidade à erosão e da falta de água, o clima semi-árido ao ser suavizado pelo relevo cria condições especiais para o desenvolvimento agrícola (CORREIA, MOREIRA, 2013).

Na busca de um desenvolvimento agrícola sustentável, cada vez mais o agricultor familiar afasta-se dos insumos sintéticos para fazer o uso de insumos orgânicos, o que tem demandado a pesquisa informações e indicadores de fertilidade, controle de pragas e doenças cada vez mais preciso (ALENCAR et al., 2012).

Atualmente, a preocupação do homem com a qualidade e a segurança dos alimentos vem crescendo, com isso, os consumidores estão levando em consideração as práticas higiênicas, os riscos microbiológicos, os métodos de produção, o uso de pesticidas e de inovações tecnológicas que podem acarretar em prejuízo à saúde. Vários estudos sugerem a possibilidade de ocorrência de transmissão de agentes infecciosos e parasitários ao homem por meio de ingestão de vegetais consumidos crus, provenientes de áreas cultivadas e contaminadas por dejetos fecais de animais e do próprio homem (SILVA et al., 2016).

As hortaliças ingeridas cruas são alimentos que apresentam um alto risco de contaminação microbiológica, o que pode acontecer desde o plantio, por isso as condições higiênico-sanitárias do seu preparo são indispensáveis, já que a manipulação incorreta poderá comprometer a sua qualidade final (CALIL et al., 2013). Além disso, Silva et al. (2016) afirma que as doenças provocadas por agentes veiculados por alimentos são, predominantemente, resultantes do ciclo de contaminação fecal/oral e seu controle deve receber atenção cada vez maior em nosso meio.

Segundo Moura et al. (2016) afirmam que as helmintíases são as doenças, por contaminação alimentar, com maior prevalência no Brasil, por ser comumente encontrado oocistos de helmintos no solo, o que leva a grande preocupação devido várias espécies parasitarem o ser humano provocando distúrbios alimentares.

Portanto, com a procura por alimentos naturais para uma dieta saudável e rica em nutrientes, ocasiona a investigação sobre as

formas de produção e manipulação desta hortaliça. Neste trabalho objetivou-se avaliar indicadores parasitológicos e microbiológicos, conforme a RDC nº12 (Brasil 2001), da *Brassica oleracea* L. proveniente de produtores da zona rural do município de Teixeira, Paraíba.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho, foram coletadas 15 amostras de *Brassica oleracea* L. (mais conhecida por couve) de plantio convencional, adquiridas de três propriedades diferentes, no período de outubro a dezembro de 2017, provenientes da zona rural do município de Teixeira-PB, localizado na Microrregião da Serra do Teixeira, latitude: 07° 13' 22" S e longitude: 37° 15' 15" W.

As amostras foram coletadas, acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso, em separado, e encaminhadas em caixa isotérmicas para a identificação no Herbário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, Patos, e também para a realização das análises microbiológica e parasitológica nos Laboratórios de Microbiologia e Parasitologia da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas - UFCG - Patos.

Para a análise parasitológica cada amostra foi desfolhada, desprezando as folhas queimadas, danificadas e talos. Cada folha foi lavada com 100ml de água destilada, o líquido resultante da lavagem foi filtrado em gaze sob um cálice de sedimentação e foi completado com água destilada até o volume de 1000ml, deixado em repouso por 24 horas. Logo após o tempo de sedimentação, foram preparadas lâminas para cada uma das amostras, em duplicata e analisadas ao microscópio óptico em aumento de 10x. Em seguida à leitura das lâminas, foi realizada a tabulação dos dados para melhor visualização e entendimento dos resultados. A identificação das estruturas parasitárias foram realizadas de acordo com Ueno e Gonçalves (1994).

Foram realizadas as análises microbiológicas para a estimativa do Número Mais Provável (NMP) de coliformes Totais e Termotolerantes conforme o recomendado por Standard Methods (SILVA et al., 2007) e para presença/ausência de *Salmonella spp.*, bactérias pelas quais existem padrões estabelecidos pela ANVISA (BRASIL, 2001) e testes confirmativos

pra *Escherichia coli* para uma melhor avaliação das condições higiênico sanitárias das amostras.

Pesou-se asepticamente 10 gramas de cada amostra e foi misturada a 90 ml de água peptonada a 0,1% esterilizada até a homogeneização, obtendo-se assim a diluição de 10^{-1} . A partir dessa diluição, foram realizadas as demais diluições em série até a obtenção da diluição 10^{-5} , transferindo-se 1 mL de cada diluição para tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada 0,1%.

Utilizou-se o caldo lauril sulfato (LST) em concentração simples. Três séries de três tubos contendo o caldo LST com tubos de Durhan invertidos foram inoculadas com 1 mL das diluições 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} . Incubaram-se os tubos a 36°C por 24 - 48 h. Após o tempo de incubação, a suspeita da presença de coliformes foi verificada nos tubos com formação de gás em fração de no mínimo 1/10 dos tubos de Durhan.

Para o teste confirmativo de coliformes totais, repicou-se cada tubo positivo, na prova presuntiva, para tubos contendo caldo verde brilhante lactose bile (VBLB) 2%, seguida de incubação a $37^{\circ}\text{C}/24$ ou 48 h, a confirmação se deu de forma idêntica à da prova presuntiva. Concomitantemente, o teste confirmativo para coliformes termotolerantes, repicou-se cada tubo positivo no teste presuntivo para o caldo EC com tubos de Durhan invertidos e incubaram-se os tubos por 24 h a 45°C em banho maria, sob agitação, a confirmação foi feita igual à prova presuntiva. Após o período de incubação, executou-se a leitura dos tubos positivos e o número mais provável (NMP) fora quantificado

através da leitura na Tabela de Hoskins (APHA, 1992).

A pesquisa de *E. coli* foi realizada através da repicagem para Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), incubada a $35-37^{\circ}\text{C}/24$ h para observação do crescimento de colônias típicas de *E. coli*. A confirmação de *E. coli* foi realizado através de testes bioquímicos (Indol, Voges-Proskauer, Citrato e Vermelho de Metila), a partir de colônias puras crescidas em Ágar Padrão para Contagem (PCA) a $35^{\circ}\text{C}/24$ h.

A pesquisa de *Salmonella spp.* foi realizada de acordo com as metodologias analíticas descritas em compêndios oficiais (Bacteriological Analytical Manual Online, 2001) afim de verificar a ausência ou presença em 25g da amostra que foi homogeneizada em água peptonada tamponada incubada a 35°C durante 24 horas.

Os dados da análise microbiológica e parasitológica foram agrupados e tratados por meio de estatística descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Herbário do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da UFCG, Patos, Paraíba, as amostras foram identificadas e classificadas como *Brassica oleracea* L., número 6760.

Na tabela 1 podemos observar que 20% amostras estavam em níveis elevados ($75, \geq 2400$ e ≥ 2400 respectivamente) para coliformes termotolerantes, que são justamente os que possuem maior relevância para a saúde pública, podendo causar danos graves em humanos como afirma Coutinho et al. (2015).

Tabela 1 Número Mais Provável (NMP/g) de Coliformes Totais e Termotolerantes das amostras da *Brassica oleracea* L. do município de Teixeira, PB, coletadas no período de outubro a dezembro de 2017.

Fonte	Microrganismos	
	Coliformes Totais (NMP/g)	Coliformes termotolerantes (NMP/g)
Produtor 1		
1	0,04	< 0,03
2	4	4
3	460	75
4	1100	≥ 2400
5	0,03	< 0,03
Produtor 2		
1	0,09	< 0,03
2	0,04	< 0,03
3	< 0,03	< 0,03
4	0,43	< 0,03
5	120	≥ 2400
Produtor 3		
1	< 0,03	< 0,03
2	0,04	< 0,03
3	39	21
4	28	28
5	0,04	< 0,03

Autores 2018.

Conforme os dados da Tabela 1, para as bactérias do grupo coliformes termotolerantes (45°C), os resultados nas amostras que apresentaram valores que variaram de < 0,03 a 28 NMP/g, segundo a RDC nº12, estão dentro dos padrões aceitáveis e consideradas próprias para o consumo, por possuírem quantidades inferiores a 10² UFC/g, que é o limite máximo estabelecido pela legislação para saladas cruas e sem tempero (Brasil 2001).

Calil et al. (2013) em seu estudo sobre a qualidade microbiológica de saladas oferecidas em restaurantes tipo self-service, que utilizou os parâmetros da RDC nº12 da ANVISA (Brasil 2001), encontrou resultados semelhantes onde variaram de < 3 a 28 NMP/g. Também ressalta que embora a legislação brasileira não estabeleça limites para coliformes totais, números elevados indicam condições higiênicas precárias podendo este fato ocorrer devido à matéria prima contaminada.

Santos et al. (2015) em seu estudo comparativo da couve minimamente processada e *in natura*, evidenciou valores de coliformes totais nas couves *in natura* apresentaram quantidade maior em comparação com as couves minimamente processadas, com média de 9,3 .10³ UFC/g, enquanto os resultados referentes às couves minimamente processadas apresentaram média de 7,8 .10³ UFC/g.

A tabela 2, demonstra a ausência, em todas as amostras, de *Salmonella sp.* e *Escherichia coli* em 25 e 10 gramas, respectivamente, conforme preconiza a RDC nº12 da ANVISA (BRASIL, 2001), mas o crescimento de coliformes totais leva a um manejo de produção inadequado e confirmado através de algumas análises se mostrarem inaptas para alimentação devido alta concentração de coliformes termotolerantes.

Tabela 2. Análises microbiológicas em amostras da *Brassica oleracea* L., do município de Teixeira, PB, coletadas no período de outubro a dezembro de 2017, de acordo com a RDC de nº 12 de janeiro de 2001 da ANVISA.

Fonte	Microrganismos			
	Diluição de Crescimento	RDC de nº 12 de janeiro de 2001	<i>Salmonella sp.</i>	<i>Escherichia coli</i>
Produtor 1				
1	10 ¹	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
2	10 ¹	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
3	10 ³	Insatisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
4	10 ⁴	Insatisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
5	10 ¹	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
Produtor 2				
1	10 ¹	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
2	10 ²	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
3	10 ¹	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
4	10 ¹	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
5	10 ³	Insatisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
Produtor 3				
1	10 ¹	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
2	10 ¹	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
3	10 ²	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
4	10 ²	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g
5	10 ¹	Satisfatório	Ausência em 25g	Ausência em 10g

Autores 2018.

A RDC nº12 da ANVISA (BRASIL, 2001) considera ainda que para hortaliças *in natura* estarem satisfatórias para o consumo, o limite de crescimento de coliformes termotolerantes é até 10³, o que torna 80% das amostras de couve próprias para o consumo, enquanto que 20% estavam insatisfatórias.

Os resultados obtidos para *Salmonella sp.* corroboram com Prado et al. (2008), que utilizou a mesma metodologia empregada, onde foram todos negativos, mas para *E. coli* houve 21 amostras contaminadas. Enquanto que Ferreira et al. (2016) relatou, na sua pesquisa de coliformes termotolerantes e *Salmonella sp.* em hortaliças minimamente processadas, que 50% de suas amostras foram positivas para *Salmonella* e 100% estavam de acordo com a legislação para coliformes termotolerantes.

Apesar de não está associada como risco a saúde do consumidor, a contaminação de coliformes totais acarretará em prejuízo econômico devido não suportar um longo período de exposição ou armazenamento, enquanto que a presença elevada de coliformes termotolerantes pode denunciar a falta cuidados quanto a biofertilizantes, higienização antes da manipulação, presença de animais, manejo adequado e sustentável (CARVALHO et al., 2010).

A tabela 3 nos informa os parasitas evidenciados nas amostras da Couve (*Brassica oleracea* L.) de grande importância para a medicina e veterinária foram *Toxocara spp.*, *Ascaris sp.* e *Giardia*. Com destaque para *Toxocara* que esteve presente em todas as amostras examinadas.

Tabela 3. Estruturas parasitárias identificadas nas amostras da *Brassica oleracea* L em propriedades no município de Teixeira-PB, coletadas no período de outubro a dezembro de 2017.

PARASITOS ENCONTRADOS	PROPRIEDADES		
	01	02	03
<i>Toxocara spp.</i>	P	P	P
<i>Giardia</i>	A	P	A
<i>Ascaris sp.</i>	A	A	P

Legenda: A: ausente; P: Presente

Autores 2018.

Estes resultados se equiparam aos encontrados por Vieira et al. (2013), onde 29% das análises apresentaram resultado positivo para algum tipo de parasito e também observou-se a presença de *Giardia*, ovos de *Ascaris spp.*, e *Toxocara spp.* Este também relata que a presença de cistos de helmintos e protozoários indicam contaminação fecal das hortaliças o que pode ocorrer em virtude de falhas na higienização ou na manipulação dos alimentos.

Vários estudos evidenciam que sendo encontrado *Giardia* nas análises de hortaliças, incluindo a couve (*Brassica oleracea L.*), denuncia um sistema de produção contaminado, manipuladores em risco e também como possíveis transmissores deste parasito já que tem como característica de alojar-se no intestino delgado ou no trato biliar do corpo humano causando diarreia aquosa (DEVIDES et al., 2014; COUTINHO et al., 2015; PEREIRA et al., 2015).

CONCLUSÃO

Detectou-se, portanto, a contaminação em 20% amostras de produtores diferentes para Coliformes Termotolerantes. As mesmas amostras também tiveram níveis consideráveis para Coliformes Totais. Com isso, 80% das amostras estavam satisfatórias para o consumo, enquanto que 20% estavam insatisfatórias. Os testes para a presença de *Salmonella sp.* e *E. coli* não foram identificadas nas amostras de couve analisadas.

A análise parasitária revelou oocistos causadores de zoonoses importantes para saúde humana, o que torna as amostras impróprias para o consumo, provocando assim mais investigações que revelem as causas destas contaminações.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALENCAR, T. A., TAVARES, A. T., CHAVES, P. P. N., FERREIRA, T. A., NASCIMENTO, I. R. Efeito de intervalos de aplicação de urina bovina na produção de alface em cultivo protegido. **Revista Verde**. Mossoró, v.7, n.3, p. 53-67, 2012.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. Technical committee on microbiological methods for food. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the**

microbiological examination of foods. 3 ed. p. 336-383. Washington, 1992.

Bacteriological Analytical Manual Online, 2001. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html>>. Acesso em 15 abril 2017

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RDC 12, de 02 de janeiro de 2001, Seção 1. Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 Janeiro 2001.

CALIL, E. M. B., FERREIRA, F. L. A., BRAZÃO, C. S., SOVENHI, C. C. Qualidade microbiológica de saladas oferecidas em restaurantes tipo self-service. **ASA – Atlas de Saúde Ambiental**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 36-42, Setembro/Dezembro 2013.

CARVALHO, P. G. O.; RODRIGUES, S. E. S.; ALMEIDA, C. G. L.; FIGUEIREDO, F. R. S. D. N.; RODRIGUES, F. F. G.; OLIVEIRA, A. D. L.; COSTA, J. G. M.; Análises microbiológicas e parasitológicas de saladas verdes servidas em self-service no município de CRATO – CE. **Cadernos de Ciência e Cultura**. Ano IV - Vol. 2- Nº 2. 2010.

CORREIA, S. C. C., MOREIRA E. Campesinato do município de Teixeira na Paraíba: resistência e formas de recriação camponesa. **Revista Pegada** – vol. 14 n.1. Julho, 2013.

COUTINHO, M. G. S.; FERREIRA, C. S.; NEVES, A. M.; ALVES, F. R. L.; SOUZA, F. F. P.; FONTENELLE, R. O. S.; Avaliação microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa L*) comercializadas em feiras livres no município de Sobral – CE. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 13, n. 2, p. 388-397, 2015.

DEVIDES, G. G. G., MAFFEI, D. F., CATANOZI, M. P. L. M.; Perfil socioeconômico e profissional de manipuladores de alimentos e o impacto positivo de um curso de capacitação em Boas Práticas de Fabricação. **Brazilian Journal of Food Technology**. Campinas, v. 17, n. 2, p. 166-176, abr./jun. 2014.

FERREIRA, C. C.; GREGÓRIO, E. L.; COSTA, J. D.; PAULA, R. B. O.; NETA, H. A. G. A.; FONTES, M. D.; Análise de coliformes

termotolerantes e *Salmonella* sp. em hortaliças minimamente processadas comercializadas em Belo Horizonte- MG. **HU Revista**, Juiz de Fora, v. 42, n. 4, p. 307-313, 2016.

MOURA, L. R.; SANTOS, T.; VIEGAS, Â. A. Avaliação parasitológica em *Lactuca sativa* (alface) e *Brassica oleracea* L. (couve) procedentes da ceasa no município de Anápolis – GO. **RESU – Revista Educação em Saúde**: V4, N1, 2016.

RIGUEIRA, G. D. J., BANDEIRA, A. V. M., CHAGAS, C. G. O., MILAGRES, R. C. R. M. Atividade antioxidante e teor de fenólicos em couve-manteiga (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) submetida a diferentes sistemas de cultivo e métodos de preparo. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 37; n. 2; p. 3-12; 2016.

PEREIRA, E. M., SANTOS, Y. M. G., FILHO, M. T. L., FRAGOSO, S. P., PEREIRA, B. B. M.; Qualidade pós-colheita de frutas e hortaliças cultivadas de forma orgânica. **Revista Verde** (Pombal - PB - Brasil) v. 10, n.2, p. 56 - 60, abr-jun, 2015.

PRADO, S. P. T., RIBEIRO, E. G. A., CAPUANO, D. M., AQUINO, A. L., ROCHA, G. M., BERGAMINI A. M. M. Avaliação microbiológica, parasitológica e da rotulagem de hortaliças minimamente processadas comercializadas no município de Ribeirão Preto,

SP/Brasil. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 67(3):221-227, 2008.

SANTOS, K. R. S. B., TEIXEIRA, C. N. S., JÚNIOR, N. M. V., SANTANA, R. F., MIRANDA, A. S., COUTINH, R. G. Estudo comparativo da couve minimamente processada e in natura, segundo aspectos de qualidade microbiológica. **Demetra: alimentação, nutrição e saúde**. 10(2); 279-287. 2015

SILVA, A. S., MENDES, I. M. S., REBOUÇAS, L. T., ALMEIDA, J. S., ROCHA, E. V. S., AMOR, A. L. M.; Análise parasitológica e microbiológica de hortaliças comercializadas no município de Santo Antônio de Jesus, Bahia (Brasil). **Revista Vigilância Sanitária em Debate**. 4(3): 77-85; 2016.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela; 2007.

SOUSA, T. P., NETO, E. P. S., SILVEIRA, L. R. S., SANTOS, E. F. F., MARACAJÁ P. B. Produção de alface (*Lactuca sativa* L.), em função de diferentes concentrações e tipos de biofertilizantes. **Revista Verde** (Pombal - PB - Brasil), v 9, n. 4, p. 168 - 172, out-dez, 2014.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Tóquio, 1994. 84 p.

CONCLUSÃO GERAL

Os níveis de contaminação identificados nas análises microbiológicas mostraram-se mais elevados nas amostras pertencentes ao município de Patos quando comparado ao município de Teixeira, não atendendo as exigências da ANVISA, estando assim inaptos para fins de consumo *in natura*.

As análises parasitológicas revelarem presença de parasitas patogênicos ao homem em amostras de ambos os municípios, o que torna todas as amostras analisadas impróprias para o consumo humano.

Portanto, diante de tais informações, os fatores relacionados a contaminação podem estar relacionados ao sistema de produção, de forma que são necessários estudos mais aprofundados, analisando desde a qualidade da água utilizada para irrigação, quantidade de insumos (matéria orgânica), higiene e orientação dos manipuladores, bem como necessita-se de um sistema melhor de fiscalização pelos órgãos competentes para o cumprimento das exigências para que se obtenha produtos de qualidade para os agricultores e consumidores.

ANEXOS

ANEXO I

Normas do periódico Ciência e Agrotecnologia

A publicação de artigos dependerá da observância das Normas Editoriais, dos pareceres do Corpo Editorial e da Comissão *ad hoc*. Todos os pareceres têm caráter sigiloso e imparcial, e tanto os autores quanto os membros do Corpo Editorial e/ou Comissão *ad hoc* não obtêm informações identificadoras entre si.

Forma de preparação dos manuscritos

1. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos são de inteira responsabilidade do (s) autor (es).

2. A *Ciência e Agrotecnologia* é uma revista científica, editada bimestralmente pela Editora da Universidade Federal de Lavras (Editora UFLA). Publica artigos científicos elaborados por membros da comunidade científica nacional e internacional, nas áreas de Ciências Agrárias, Zootecnia e Medicina Veterinária, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Economia e Administração do Agronegócio e Engenharia Rural. É condição fundamental que os artigos submetidos não tenham sido e nem serão publicados simultaneamente em outro periódico. Com a aceitação do artigo para publicação, a revista adquire amplos e exclusivos direitos sobre o artigo para todas as línguas e países.

3. **Processo para publicação de artigos:** O artigo é inicialmente avaliado pelo Conselho Editorial quanto à relevância, comparativa a outros artigos da área de conhecimento submetidos para publicação. Apresentando relevância comparativa, o artigo é avaliado por consultores 'ad hoc' para emitirem seus pareceres. Aprovado por consultores, caso necessário, o artigo é enviado ao autor correspondente para atendimento das correções e/ou sugestões. Caso as correções não sejam retornadas no prazo solicitado, a tramitação do artigo será automaticamente cancelada. O não atendimento às solicitações dos consultores sem justificativas também leva ao cancelamento automático do processo de publicação do artigo. Após a aprovação das correções, o artigo é revisto quanto à nomenclatura científica, inglês, referências bibliográficas e português (resumo), sendo a seguir encaminhado para diagramação e publicação.

4. **Custo para publicação:** O custo da publicação é de R\$60,00 (sessenta reais) por página editorada (página impressa no formato final) até seis páginas e R\$120,00 (cento e vinte reais) por página adicional. No encaminhamento inicial, deve-se efetuar o pagamento de R\$120,00 (cento e vinte reais), **não reembolsável**, valor esse a ser descontado no custo final do artigo editorado (formato final). Por ocasião da submissão, deverá ser encaminhado o comprovante de depósito ou transferência bancária a favor de Fundecc/Livraria, Banco do Brasil, agência 0364-6, conta corrente 75.353-X. O comprovante de depósito ou de transferência bancária deve ser anexado no campo "**File Upload**".

5. O artigo deverá ser encaminhado via **eletrônica** (www.editora.ufla.br), editados em **língua inglesa** e deve-se usar somente nomenclaturas oficiais e abreviaturas consagradas. O artigo deverá ser digitado no processador de texto **Microsoft Word para Windows**, tamanho A4 (21cm x 29,7cm), espaço duplo entre linhas, fonte: Times New Roman, tamanho 12, observada uma margem de 2,5 cm para o lado esquerdo e de 2,5 cm para o direito, 2,5 cm para margem superior e inferior, 2,5 cm para o cabeçalho e 2,5 cm para o rodapé. Cada artigo deverá ter no **máximo 25 páginas** e junto do mesmo deverá ser encaminhado ofício dirigido ao Editor Chefe, solicitando a publicação. Esse ofício deverá ser assinado por todos os autores, constando nome dos autores sem abreviação, a titulação e o endereço profissional completo (rua, nº, bairro, caixa postal, cep, cidade, estado, país e e-mail). Ao submeter o artigo, esse ofício deverá ser anexado

no campo "**Cover Letter**". Qualquer futura inclusão, exclusão ou alteração na ordem dos autores deverá ser notificada mediante ofício assinado por todos os autores (inclusive do autor excluído, se o caso).

6. O **artigo** deverá conter os seguintes tópicos: a) **Título** (em letras maiúsculas) **em inglês e português**, escrito de maneira clara, concisa e completa, sem abreviaturas e palavras supérfluas. Recomenda-se começar pelo termo que represente o aspecto mais importante do trabalho, com os demais termos em ordem decrescente de importância; b) **NOME(S) DO(S) AUTOR(ES)** listado(s) no lado direito, um debaixo do outro, **sendo no máximo 6** (seis); c) **ABSTRACT** não deve ultrapassar **250** (duzentos e cinquenta) palavras e estar em um único parágrafo. **Deve conter pelo menos, breve introdução, objetivo(s) e resultados mais importantes**; d) **INDEX TERMS** contendo entre 3 (três) e 5 (cinco) palavras-chave em inglês que identifiquem o conteúdo do artigo, diferentes daquelas constantes no título e separadas por vírgula; e) **RESUMO** (versão em português do abstract); f) **TERMOS PARA INDEXAÇÃO** (versão em português dos index terms); g) **INTRODUCTION** (incluindo a revisão de literatura e objetivo); h) **MATERIAL AND METHODS**; i) **RESULTS AND DISCUSSION** (podendo conter tabelas e figuras); j) **CONCLUSION(S)**; k) **ACKNOWLEDGEMENT(S)** (opcional) com estilo sério e claro, indicando as razões dos agradecimentos; l) **REFERENCES** (sem citações de teses, dissertações e/ou resumos de congressos e de outros eventos).

7. **RODAPÉ**: Deve constar formação, instituição de vínculo empregatício, contendo endereço profissional completo (rua, número, bairro, Cx. P., CEP, cidade, estado, país e e-mail) do autor correspondente. Os demais autores devem informar o endereço profissional, cidade, estado e país.

8. **TABELAS**: Deverão ser providas de um título claro e conciso e construídos de modo a serem auto-explicativos. Não deverão usar linhas verticais. As linhas verticais devem aparecer para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma ao final da tabela. A tabela deve ser feita utilizando-se Microsoft Word (TABELA/INSERIR TABELA), no qual cada valor deve ser inserido em células distintas, estando centralizado e alinhado.

9. **Caso o artigo contenha fotografias, gráficos, figuras, símbolos e fórmulas, essas deverão obedecer às seguintes normas:**

Observação: Além de inseridas, no texto após a citação, foto, figura e gráficos deverão ser enviados em arquivos separados anexados no campo "manuscript files".

9.1 **Fotografias** podem ser coloridas ou em preto e branco, nítidas e com contraste, inseridas no texto, após a citação das mesmas, **salvas em extensão "TIFF" ou "JPEG" com resolução de 300 dpi**. Na versão impressa da revista, as fotografias sairão em **preto e branco**.

9.2 **Figuras** podem ser coloridas ou em preto e branco, nítidas e com contraste, inseridas no texto, após a citação das mesmas, **salvas em extensão "TIFF" ou "JPEG" com resolução de 300 dpi**. As figuras deverão ser elaboradas com letra **Times New Roman, tamanho 10, sem negrito, sem caixa de textos e agrupadas**. Na versão impressa da revista, as figuras sairão em **preto e branco**.

9.3 **Gráficos** deverão ser inseridos no texto após a citação dos mesmos. Esses deverão ser elaborados preferencialmente em Excel, com letra Times New Roman, tamanho 10, sem negrito, **salvos em extensão XLS e transformados em TIFF ou JPG**, com resolução de 300 dpi.

9.4 **Símbolos e Fórmulas Químicas** deverão ser feitos em processador que possibilite a formatação para o programa **Adobe InDesign CS6** (ex: MathType), sem perda de suas formas originais.

10. **CITAÇÃO BIBLIOGRÁFICA NO CORPO DO TEXTO: PELO SISTEMA ALFABÉTICO (AUTOR-DATA)**

Dois autores: Silva and Leão (2014).
Três autores: Silva, Pazeto and Vieira, (2013).
Mais de três autores: Ribeiro et al. (2014).

Obs.: Quando dois autores de uma mesma obra forem citados na sentença, deve-se separá-los por (and), se não incluídos na sentença separá-los por ponto e vírgula (;). Se houver mais de uma citação no mesmo texto, deve-se apresentar os autores em ordem alfabética dos sobrenomes, seguidos pela data e separados por ponto e vírgula (;), por exemplo: Araújo (2010); Nunes Junior (2011); Pereira (2012) and Souza (2013).

11. **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:** A exatidão das referências constantes da listagem e a correta citação no texto são de responsabilidade do(s) autor(es) do artigo.

Orientações

gerais:

- O nome do periódico deve ser descrito por extenso e em negrito.
- Em todas as referências deve-se apresentar volume, número entre parênteses, página inicial e final e ano de publicação.
- As referências devem ser ordenadas alfabeticamente e "alinhas à margem esquerda". Deve-se deixar espaçamento simples nas entrelinhas e duplo entre as referências.

EXEMPLIFICAÇÃO (TIPOS MAIS COMUNS):

ARTIGO DE PERIÓDICO:

-Até três autores:
PINHEIRO, A. C. M.; NUNES, C. A.; VIETORIS, V. Sensomaker: a tool for sensorial characterization of food products. **Ciência e Agrotecnologia**, 37(3):199-201, 2013.

-Mais de três autores:
MENEZES, M. D. de et al. Digital soil mapping approach based on fuzzy logic and field expert knowledge. **Ciência e Agrotecnologia**, 37(4):287-298, 2013.

LIVRO:

a) Livro no todo:
FERREIRA, D.F. **Estatística multivariada**. Lavras: Editora UFLA, 2008. 672p.

b) Capítulo de livro com autoria específica:
BERGEN, W.G.; MERKEL, R.A. Protein accretion. In: PEARSON, A.M.; DUTSON, T.R. **Growth regulation in farm animals: advances in meat research**. London: Elsevier Science, 1991. v.7, p.169-202.

c) Capítulo de livro sem autoria específica:
JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Tecido muscular. In: _____. **Histologia básica**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 524p.

DISSERTAÇÃO E TESE:

Não utilizar citações de dissertações e teses.

TRABALHOS DE CONGRESSO E de OUTROS EVENTOS:

Não utilizar citações de trabalhos de congressos e de outros eventos.

DOCUMENTOS ELETRÔNICOS:

As obras publicadas somente *online* são referenciadas conforme normas específicas para cada tipo de documento, **acrescidas de informações sobre o endereço eletrônico apresentado entre braquetes (< >), precedido da expressão "Available in:" e da data de acesso ao documento, precedida da expressão "Access in:"**. Nota: "Não se deve referenciar material eletrônico de curta duração, na internet. Segundo padrões internacionais, a divisão de endereço eletrônico, no fim da linha, deve ocorrer sempre após barra (/).

a) Livro no todo
TAKAHASHI, T. (Coord.). **Tecnologia em foco**. Brasília, DF: Socinfo/MCT, 2000. Available in: <<http://www.socinfo.org.br>>. Access in: August, 22, 2000.

b) Parte de livro
TAKAHASHI, T. Mercado, trabalho e oportunidades. In: _____. **Sociedade da informação no Brasil**: livro verde. Brasília, DF: Socinfo/MCT, 2000. cap.2. Available in: <<http://www.socinfo.gov.br>>. Access in: August, 22, 2000.

c) Artigo de periódico (acesso online):

AVELAR, A.E.de; REZENDE, D.C.de. Hábitos alimentares fora do lar: um estudo de caso em Lavras MG. **Organizações Rurais & Agroindustriais**. 15(1):137-152, 2013. Available in: <<http://revista.dae.ufla.br/index.php/ora/article/view/652>> Access in: August, 18, 2014.

ANEXO II

Norma do periódico Agropecuária Científica no Semiárido

Título do artigo científico em português (Times New Roman 11)

RESUMO: O resumo/abstract deve conter objetivo do trabalho com breves relatos da metodologia, resultados e conclusões. Não deverá exceder 200 palavras. Após o resumo/abstract, devem ser inseridas as palavras-chaves/keywords, de 3 a 5, não podendo estas, estarem inclusas no título do trabalho (**Times New Roman 10**).

Palavras-chave: palavra1, palavra2, palavra3,...

Título do artigo científico em inglês

ABSTRACT: O resumo/abstract deve conter objetivo do trabalho com breves relatos da metodologia, resultados e conclusões. Não deverá exceder 200 palavras. Após o resumo/abstract, devem ser inseridas as palavras-chaves/keywords, de 3 a 5, não podendo estas, estarem inclusas no título do trabalho (**Times New Roman 10**).

Keywords: keyword1, keyword2, keyword3, ...

1 INTRODUÇÃO

A Agropecuária Científica no Semiárido somente aceita trabalhos na forma de artigo científico, escritas em espaço simples com, papel tamanho A4, utilizando fonte Times New Roman tamanho 11, com margens superior, inferior, esquerda e direita de 2,0 cm. O título do trabalho em português deve ser centralizado, com letra maiúscula no início da frase, não excedendo 15 palavras. O título em inglês deve ser incluído após as palavras-chave e antes do abstract. Deve ser escrito com letra maiúscula no início da frase e centralizado. **Será permitido até no máximo 15 páginas para artigo científico.**

Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussões, Conclusões, Agradecimento e Referências Bibliográficas devem ser escrito em forma maiúscula, em negrito e sem numeração.

Os títulos das figuras e tabelas devem ser autoexplicativos (somente em português ou inglês em caso de artigos neste idioma) e sua formatação conforme apresentado na Figura 1 e Tabela 1. As dimensões em ambos os casos, não devem exceder 16 cm em largura, e devem ser inclusos sempre com a orientação da página na forma retrato.

As figuras e tabelas devem ser numeradas sequencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas logo após a sua citação no texto. As chamadas podem ser no início ou fim da frase entre parênteses. Por exemplo: Na Figura 1, observa-se... (Figura 1).

O título da Figura deve vir logo abaixo da imagem, precedido pelo nome Figura e o número identificação da imagem. A fonte utilizada deve ser Times New Roman 9. Caso a imagem tenha em seu interior nome, estas deve utilizar a mesma fonte do título da Figura. As Figuras podem ser coloridas.

REGRAS GERAIS

1 Figuras e gráficos

2



3
4 Figura 1 - Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande.

5

As tabelas devem apresentar apenas as linhas horizontais, conforme Tabela 1. As chamadas no texto devem seguir o mesmo padrão adotado para as figuras. O texto e o título das tabelas deve ter fonte

Tabela 1. Comparações entre médias para os rendimentos em carvão vegetal.

	Campus da UFCG						
	Campina Grande	Patos	Cuité	Sumé	Pombal	Sousa	Cajazeiras
Ano de criação	2002	2002	-	-	-	-	-
Cursos de Graduação	-	-	-	-	-	-	-
Cursos de Pós- Graduação	-	-	-	-	-	-	-

Legenda da tabela em Times New Roman.

1

Equações

Equações citadas no texto devem ser indicadas e postas em sequencia (Equação 1), alinhadas de forma centralizada com a chamada da equação entre parêntesis, conforme o exemplo abaixo. Símbolos e abreviações presentes nas fórmulas devem ser identificados logo após a apresentação da fórmula.

$$\% \text{ cerne} = \frac{V_{\text{cerne}} * 100}{V_{\text{madeira s/c}}} \quad (\text{Equação 1})$$

em que: V_{cerne} : volume de cerne (m^3); e $V_{\text{madeira s/c}}$: volume de madeira sem casca (m^3).

REFERÊNCIAS (Times New Roman 10)

Normas

Citações

1 ou 2 autores:

Carmo (2017) ou Fiedler, Minette (2015) para citações ao longo do parágrafo.

(CARMO, 2017) ou (FIEDLER, MINETTE, 2015) para citações no final do parágrafo.

3 ou mais autores:

Medeiros Neto et al. (2017) para citações ao longo do parágrafo.

(MEDEIROS NETO et al., 2017) para citações no final do parágrafo.

Siglas:

UNFCCC (2010) para citações ao longo do parágrafo.

(UNFCCC, 2010) para citações no final do parágrafo.

Quando citadas pela primeira vez, o significado deve ser citada por extenso: United Nations Framework Convention on Climate Change – UNFCCC (2010)

Documentos de um mesmo autor ou grupo de autores, publicados no mesmo ano:

Souto (1999a); Souto (1999b).

(SOUTO, 1999a); (SOUTO, 1999b).

Regras gerais: espaçamento simples e texto justificado.

Norma técnica

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR 8112**: Carvão vegetal: análise imediata. Rio de Janeiro: ABNT, 1983. 6p.

Artigo científico

CARMO, F. A. C., FIEDLER, N. C., LOPES, E. S., PEREIRA, P. P., MARIN, H. B., SILVA, E. N. Análise da densidade ótima de estradas florestais em propriedades rurais. **Revista Cerne**, Lavras, v.19, n. 3, p. 451-459, 2013

Livro

PANSHIN, A. J.; DE ZEEUW, C. **Textbook of wood technology**. 4. ed. New York: McGraw-Will, 1980, 722p.

Capítulo de livro

PAIVA, H. N. Implantação de florestas econômicas. In: OLIVEIRA, J. T. S., FIEDLER, N. C.; NOGUEIRA, M. N. **Tecnologias aplicadas ao setor madeireiro**, Visconde do Rio Branco, MG. 2007. p. 61-106.

Conteúdo de páginas de internet

UNITED NATIONS FRAMEWORK CONVENTION ON CLIMATE CHANGE (UNFCCC). **The mechanisms under the Kyoto Protocol: Emissions Trading, the Clean Development Mechanism and Joint Implementation**. 2010. Disponível em: <http://unfccc.int/kyoto_protocol/mechanisms/items/1673.php>. Acesso em: 21 de mar. 2014.

Dissertação/Tese

ALMEIDA, A. M. C. **Avaliação anatômica, físico-química e energética da madeira das espécies *Piptadenia stipulacea* (Benth.) Ducke**

e *Amburana cearensis* (Allemao) A. C. Smith de ocorrência no semiárido nordestino brasileiro. 2010. 40 f. Dissertação (Mestrado

em Ciências Florestais) - Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba.