



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

**ANÁLISE PARASITOLÓGICA E MICROBIOLÓGICA EM ALFACE CRESPA
PRODUZIDAS POR HORTIGRANJEIROS DO SERTÃO DA PARAÍBA**

ÁLISON JOSÉ DAMASCENO MORATO

**PATOS-PB
2017**

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

**ANÁLISE PARASITOLÓGICA E MICROBIOLÓGICA EM ALFACE CRESPA
PRODUZIDAS POR HORTIGRANJEIROS DO SERTÃO DA PARAÍBA**

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

ÁLISON JOSÉ DAMASCENO MORATO

Orientador: Prof. Dr. Onaldo Guedes Rodrigues

**PATOS-PB
2017**

M831a Morato, Álisson José Damasceno.

Análise parasitológica e microbiológica em alface crespa produzidas por hortigranjeiros do Sertão da Paraíba/ Paulo André Vidal Bandeira. - Patos - PB: [s.n], 2017.

44 f.

Orientador: Professor Dr. Onaldo Guedes Rodrigues.

Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) - Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Saúde e Tecnologia Rural.

1. Horticultura. 2. Alface crespa. 3. Análise parasitológica. 4. Análise microbiológica de hortaliças. 5. Sertão da Paraíba - hortigranjeiros. I. Rodrigues, Onaldo Guedes. II. Título.

CDU:635.1/.8(043)

Elaboração da Ficha Catalográfica:

Johnny Rodrigues Barbosa
Bibliotecário-Documentalista
CRB-15/626

ÁLISON JOSÉ DAMASCENO MORATO

**ANÁLISE PARASITOLÓGICA E MICROBIOLÓGICA EM ALFACE CRESPA
PRODUZIDAS POR HORTIGRANJEIROS DO SERTÃO DA PARAÍBA**

FICHA DE AVALIAÇÃO

Aprovada em: __/__/__

Comissão Examinadora:

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

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

Prof^a. Dra. Ana Célia Rodrigues Athayde
UACB/CSTR/UFCG

Dedico este trabalho:

*Dedico a Deus esse momento de vitória, pois a força que me faz vencer as dificuldades vem do senhor;
A minha família em especial minha mãe que sempre me colocou no caminho do saber, a minha prima Brenda*

Helen (in memoriam);

A todos que diretamente e indiretamente me fizeram acreditar que eu era capaz de realizar meu objetivo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelas maravilhas que ele faz em minha vida.

A minha família por ter acreditado e ter me dado todo suporte necessário para realizar meu sonho profissional.

Aos professores (Prof. Onaldo, Prof^a Rosália, Prof. Wouflan, Prof^a Ana Célia) que com muita competência e paciência nos mostraram os caminhos para obtermos êxito na nossa pesquisa.

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

Aos profissionais do laboratório de microbiologia da unidade de Ciências biológicas (Aline e Seu Eduardo).

Por fim, agradeço aos meus amigos, pois nos momentos bons e difíceis estiveram comigo me dando força e me fazendo acreditar que conseguiríamos vencer as dificuldades.

RESUMO

A contaminação dos alimentos tem se tornado um tema relevante para atualidade, já que muitos alimentos são consumidos *in natura*, como frutas, legumes e hortaliças, e necessitam ser estudados quais as situações microbiológica e parasitológica reais destes alimentos, para que o consumidor final não sofra com possíveis patologias, incluindo infecções graves, que possam surgir com o consumo de alimentos contaminados. Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil microbiológico e parasitológico em alfaces dos Municípios de Teixeira e Patos no sertão Paraibano. Foram realizadas análises microbiológicas e parasitológicas em 30 amostras de alface (*Lactuca sativa*), sendo 15 amostras coletadas em propriedades rurais do município de Teixeira e 15 no município de Patos. Desse total, constatou-se que 40% (6) das amostras de alface coletadas no município de Teixeira estava em níveis insatisfatórios, enquanto que no município de Patos 80% (12) foram satisfatórias ao consumo de acordo com Resolução - RDC nº12 de 02 Janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, que preconiza as hortaliças cruas, preparadas para o consumo direto, não podem conter *Salmonella spp*/25g do produto e Coliformes Termotolerantes acima de 10² UFC/g. Amostras de ambos os municípios, apresentaram formas imaturas de nematódeos e protozoários e constatou-se que as amostras de alfaces 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-chaves: análise microbiológica; análise parasitológica; alface crespa.

ABSTRACT

Contamination of food has become a relevant topic for the moment, since many foods are consumed in natura, such as fruits, vegetables and vegetables, and need to be studied the real microbiological and parasitological situations of these foods, so that the final consumer does not suffer With possible pathologies, including serious infections, that may arise from the consumption of contaminated food. In this context, the objective of this work was to evaluate the microbiological and parasitological profile in lettuces of the municipalities of Teixeira and Patos in the Paraíba hinterland. Microbiological and parasitological analyzes were carried out on 30 lettuce samples (*Lactuca sativa*), 15 of which were collected on rural properties in the municipality of Teixeira and 15 in the municipality of Patos. From this total, it was found that 40% (6) of the lettuce samples collected in the municipality of Teixeira were at unsatisfactory levels, while in the municipality of Patos 80% (12) were satisfactory to consumption according to Resolution - RDC No. 12 Of January 2, 2001 of the National Agency of Sanitary Surveillance - ANVISA, which recommends raw vegetables, prepared for direct consumption, can not contain *Salmonella* spp / 25g of the product and thermotolerant Coliforms above 10^2 CFU / g. Samples from both municipalities presented immature forms of nematodes and protozoa and it was found that the lettuce 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.

Keywords: microbiological analysis; parasitological analysis; crisp lettuce.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	11
REFERÊNCIAS	13
CAPÍTULO I.....	14
Avaliação do perfil parasitológico e microbiológico de alface crespa produzida por hortigranjeiros do Município de Teixeira, PB.....	15
INTRODUÇÃO	16
MATERIAL E MÉTODOS	17
RESULTADOS E DISCUSSÕES	18
CONCLUSÃO	21
REFERÊNCIAS.....	21
CAPÍTULO II.....	23
Avaliação do perfil parasitológico e microbiológico de alface crespa produzida por hortigranjeiros do Município de Patos, PB.....	24
INTRODUÇÃO	25
MATERIAL E MÉTODOS	26
RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
CONCLUSÕES.....	30
REFERÊNCIAS.....	30
CONCLUSÃO GERAL.....	33
ANEXOS	34

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1** Resultados das análises dos microrganismos coliformes totais, coliformes termotolerantes, *E. coli* e *Salmonella spp* pesquisados na alface crespa (*Lactuca sativa*L). Teixeira-PB, 2017..... 19
- Tabela 2** Análises parasitárias encontradas nas amostras de alface crespa (*Lactuca sativa*) em propriedades no município de Teixeira-PB, 2017..... 20

CAPÍTULO II

- Tabela 1** Análises parasitárias encontradas nas amostras de alface (*Lactuca sativa*) em propriedades no município de Patos-PB, 2017..... 28
- Tabela 2** Resultados das análises dos microrganismos coliformes totais, coliformes termotolerantes, *E. coli* e *Salmonella spp* pesquisados na alface (*Lactuca sativa*). Patos-PB, 2017..... 29

LISTA DE ABREVIATURA

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CSTR - Centro de Saúde e Tecnologia Rural

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

NMP - Número Mais Provável

INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos anos observou-se mudanças nos hábitos alimentares da população mundial basicamente no que se refere a uma tendência do consumo de alimentos saudáveis, estando mais presente na mesa da população produtos “in natura”, incluindo frutas e hortaliças (SHINOHAEA et al, 2014). Dentre as diferentes hortaliças, a alface é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil e no mundo (SALA; COSTA, 2012). Além de serem fontes de fibras, vitaminas e minerais (RODRIGUES, 2012), é de fácil aquisição, tem bom sabor, qualidade nutritiva (rica em sais de cálcio e de ferro, vitaminas B1, B2, B6, C e pró-vitamina A) e possui propriedades laxativas, diuréticas e lenitivas, além de propiciar sabor agradável e refrescante (KESKINEN et al., 2009).

Contudo, em todo o mundo, há uma elevada incidência de doenças parasitárias de grande importância para a saúde pública que afetam, principalmente, as comunidades mais pobres de países em desenvolvimento. Entre as doenças parasitárias, as enteroparasitoses são as mais comuns (FARIAS et al., 2008, PAULA et al., 2003). O consumo alimentar de hortaliças folhosas cruas e a preocupação com a qualidade microbiológica levou diversos estudiosos ao interesse de analisar a relação do consumo de alimentos contaminados, devido a maioria das toxinfecções alimentares serem resultantes de falhas no processos e conservação dos alimentos. A infecção alimentar por ingestão de hortaliças cruas contaminadas por helmintos e protozoários tem aumentando, tornando-se necessário o controle parasitológico, uma vez que cresce a inclusão destes alimentos na dieta da população mundial, vinda da globalização da distribuição dos alimentos, da expansão dos serviços alimentares comercialização, do surgimento de novos métodos de produção em larga, dentre outros (QUADROS et al, 2008). Muitas hortaliças podem ser grandes hospedeiras de parasitas causadores de diversas doenças, que se foram por diversas maneiras, isoladas e conjugadas, como o contato de animais no plantio ou no comércio, contaminação da água ou do solo. Dessa forma merece mais atenção no manuseio e na qualidade higiênico-sanitária da água, utilizado para irrigação das hortaliças no plantio, pois a água contaminada por materiais fecal é um dos principais motivadores da transmissão (GREGÓRIO et al, 2012).

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., 2010) 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).

Dessa forma, considerando o interesse pelo consumo alimentar de hortaliças e a preocupação com a qualidade desses alimentos, são necessários estudos investigativos quanto a ocorrência de contaminação microbiológica e parasitológica em alface crespa (*Lactuca sativa*) que possibilite a obtenção de maiores informações sobre os agentes causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs).

A presente dissertação é composta por dois capítulos. O primeiro capítulo por um artigo cujo objetivo foi avaliar o perfil microbiológico e parasitológico de alface crespa (*Lactuca sativa*) produzidas por hortigranjeiros do Município de Teixeira no sertão Paraibano, que foi submetido à revista Acta Scientiarum. Biological Sciences. O segundo capítulo é composto por artigo que teve como objetivo investigar a ocorrência de contaminação microbiológica e parasitológica em alface crespa (*lactuca sativa* L.) provenientes de sistema convencional no município de Patos, semiárido da Paraíba, Brasil e está nas normas da Revista Brasileira de Ciências Agrárias.

REFERÊNCIAS

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.

FARIA, G.F. et al. Freqüência de enteroparasitos em amostras de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres na cidade de Ipatinga, Minas Gerais. **Rev Digital de Nutrição** [Internet]. 2(2), 2008. Disponível em:<http://www.unilestemg.br/nutrirgerais/downloads/artigos/frequencia_entero_parasitos_amostras_alfaces.pdf>.

KESKINEN, L. A. et al. Efficacy of chlorine, acidic electrolyzed water and aqueous chlorine dioxide solutions to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7 from lettuce leaves. **International Journal of Food Microbiology**. v.132, n.2, p.134-40, 2009.

PAULA, P. et al. Contaminação microbiológica e parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) de restaurantes self-service, de Niterói, RJ. **Rev Soc Bras Med Trop**. v.36, p.535-537, 2003.

RODRIGUES, D. G. et al. **Avaliação de dois métodos de higienização alimentar**. **Revista Saúde e Pesquisa**. v.4, n.3, p.341-350, 2011.

SALA F.C.; COSTA C. P. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**. v.30, n.2, p.187-94, 2012.

SHINOHAEA, N. K. S. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres e supermercados do Recife, Brasil. **Revista Eletrônica "Diálogos Acadêmicos"**. v. 06, nº 1, p. 102-112, JAN-JUN, 2014.

GREGÓRIO, D. S. et al. Estudo da contaminação por parasitas em hortaliças da região leste de São Paulo. **Science in Health**. 3(2): 96-103. 2012.

QUADROS, R. M. et al. Parasitos em alfaces (*Lactuca sativa*) de mercados e feiras livres de Lages-Santa Catarina. **Ciência & Saúde**, v. 1, n. 2, p. 78-84, 2008.

CAPÍTULO I

Avaliação do perfil parasitológico e microbiológico de alface crespa produzida por hortigranjeiros do Município de Teixeira, PB

Manuscrito submetido ao periódico Acta Scientiarum. Biological Sciences

Avaliação do perfil parasitológico e microbiológico de alface crespa produzida por hortigranjeiros do Município de Teixeira, PB

Evaluation of the parasitological and microbiological profile of curly lettuce produced by horticultural workers of the Municipality of Teixeira, PB

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

¹Universidade Federal de Campina Grande

Resumo

O crescimento populacional e a tendência de mudança no hábito alimentar do consumidor tem feito a cada dia aumentar o consumo de hortaliças, sendo a alface a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil e no mundo. Contudo, as hortaliças têm sido um dos alimentos mais relacionados a surtos de toxinfecção alimentar em nível mundial, especialmente por serem incriminadas como veículos de microrganismos patogênicos de significância em saúde pública. O objetivo do estudo foi avaliar o perfil microbiológico e parasitológico em alfaces crespas (*Lactuca sativa*) do município de Teixeira-PB, cultivados por produtores da região. Foram analisadas 15 amostras de alfaces crespa (*Lactuca sativa*) adquiridas de três propriedades diferentes. Do total de amostras analisadas, 40% (6) das amostras apresentaram contaminação por Coliformes totais e Coliformes termotolerantes acima do recomendado pela legislação. Em 100% das amostras foi identificado oocistos de parasitos de cães como o *Toxocara spp.* e *Ancylostoma spp.*, ainda foi identificado o nematódeo *Ascaris sp.* e o protozoário *Giardia sp.*

Palavras-chave: alface crespa; parasitas; coliformes fecais.

Abstract

The population growth and the trend of change in the consumer's eating habit has made daily increasing consumption of vegetables, with lettuce being the most consumed hardwood crop in Brazil and in the world. However, vegetables have been one of the most food-related food-borne outbreaks worldwide, especially as they have been implicated as vehicles of pathogenic microorganisms of public health significance. The objective of the study was to evaluate the microbiological and parasitological profile in

crisp lettuces (*Lactuca sativa*) in the municipality of Teixeira-PB, cultivated by producers in the region. Fifteen samples of crisp lettuce (*Lactuca sativa*) purchased from three different properties were analyzed. Of the total samples analyzed, 40% of the samples showed contamination by total coliforms and thermotolerant coliforms above that recommended by the legislation. In 100% of the samples, parasitic oocysts from dogs such as *Toxocara spp.* and *Ancylostoma spp.*, the nematode *Ascaris sp.* and the protozoan *Giardia sp.*

Keywords: curly lettuce; parasites; fecal coliforms.

INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa*) é uma hortaliça folhosa, de origem asiática e pertence à família do grupo *Lactuceas*, de maior consumo no Brasil, sendo classificada como um alimento importante para a população, uma fonte de vitaminas, como A, B1, B2 e B5, cálcio, potássio, sódio, fósforo, ferro, silício, flúor, magnésio e apresenta algumas propriedades medicinais, como: laxante, diurética, depurativa, calmante, mineralizante, vitaminizante, desintoxicante e outros. (SILVA et al., 2016).

O hábito alimentar de ingerir hortaliças “in natura” possibilita a disseminação descontrolada por parte das formas transmissíveis de parasitos entre a população, estando em maior risco as pessoas com distúrbios imunes, crianças e idosos de adquirirem doenças parasitárias, pois é grande a presença de parasitas e helmintos nas hortaliças tornando-se um vasto campo de estudo na saúde pública sobre os produtos, controle de produção e comercialização destes alimentos (MESQUITA et al., 2015).

A análise microbiológica e parasitológica de hortaliças é bastante difundida no mercado atual, para que seja identificado as bactérias da família *Enterobacteriaceae* e parasitas do homem, que através de diferentes formas de pesquisa servem para identificar diversas formas infecciosas, fornecendo dados do estado de higiene das hortaliças, conhecendo as condições que foram cultivadas, armazenadas e preparadas para o consumidor final, neste caso o ser humano (PEREZ JUNIOR et al., 2012).

Na microbiologia, a patologia é vista como um estudo científico das doenças, vinda do grego *pathos* (sofrimento) e *logos* (ciência), tomando como primeiro objeto de estudo a casa, isto é, a etiologia de uma doença, seguida lida com a patogênese, para finalmente alcançar a análise das mudanças estruturais e funcionais decorrentes da doença e seus efeitos finais no organismo (TORTORA, 2012).

Esta pesquisa buscou obter dados para uma percepção da real situação quanto aos aspectos parasitológicos e microbiológicos em alfaces crespa produzidas por hortigranjeiros no Município de Teixeira, Sertão Paraibano, para fim de identificar os níveis de contaminação e assim obter maiores informações sobre os agentes causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) no município estudado.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em propriedades produtoras de hortaliças selecionadas nos territórios da Serra de Teixeira localizada 7° 15' 10" S e 37° 23' 3" O, no município de Teixeira, PB. Foram analisadas 15 amostras de alfaces crespa de plantio convencional, adquiridas de três propriedades diferentes.

As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso, refrigeradas e acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo e encaminhadas para realização das análises microbiológica e parasitológica nos Laboratórios de Microbiologia e Parasitologia da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) - Patos.

Cada amostra foi desfolhada, desprezado 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. 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 feita 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).

Quanto as análises microbiológicas seguiu-se o recomendado pelo Standard Methods (Silva et al., 2007). 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%.

O teste presuntivo de coliformes foi feito por meio da técnica do Número Mais Provável (NMP). 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 Durham. 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 ou 48 h, a confirmação se deu de forma idêntica a da prova presuntiva.

Para o teste confirmativo de coliformes termotolerantes, repicou-se cada tubo positivo no teste presuntivo para o caldo EC com tubos de Durham invertidos e incubaram-se os tubos por 24 h a 45° C, a confirmação foi feita igual à prova presuntiva. O número mais provável foi estimado usando a tabela específica para o teste na faixa 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , considerando os valores encontrados uma casa decimal anterior e multiplicando o resultado por 1000.

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 da coloração de Gram e de testes bioquímicos, a partir de colônias puras crescidas em Ágar Padrão para Contagem (PCA) a 35 °C/24 h. Os testes bioquímicos utilizados foram: Indol, Voges-Proskauer, Citrato e Vermelho de metila.

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 pelo programa Excel® para estabelecimento de frequência simples e percentual.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise microbiológica revelou que quarenta por cento das amostras de alface estava em níveis insatisfatórios de acordo com Resolução de N° 12 janeiro de 2001, devido a presença de coliformes totais e termotolerantes (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados das análises dos microrganismos coliformes totais, coliformes termotolerantes, *E. coli* e *Salmonella spp* pesquisados na alface crespa (*Lactuca sativa*L.). Teixeira-PB, 2017

Fonte	Microrganismos				
	Col. Totais (NMP/g)	Col. termotolerantes (NMP/g)	Resol. N° 12 jan. de 2001	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella spp.</i>
Produtor 1					
1	0,09	< 0,03	Satisfatório		ausência em 25g
2	0,03	0,03	Satisfatório		ausência em 25g
3	23	0,09	Insatisfatório		ausência em 25g
4	0,04	< 0,03	Satisfatório		ausência em 25g
5	0,03	< 0,03	Satisfatório		ausência em 25g
Produtor 2					
1	0,93	0,04	Satisfatório		ausência em 25g
2	< 0,3	0,7	Insatisfatório	+	ausência em 25g
3	15	7	Insatisfatório		ausência em 25g
4	1100	9	Insatisfatório		ausência em 25g
5	0,03	< 0,03	Insatisfatório	+	ausência em 25g
Produtor 3					
1	0,09	<0,03	Satisfatório		ausência em 25g
2	0,11	0,15	Insatisfatório	+	ausência em 25g
3	0,09	< 0,03	Satisfatório		ausência em 25g
4	< 0,03	< 0,03	Satisfatório		ausência em 25g
5	0,09	0,09	Satisfatório		ausência em 25g

Legenda: Satisfatório: houve crescimento até 10^2 ; Insatisfatório: houve crescimento acima da diluição de 10^2 . (-): negativo para *E. coli*; (+): positivo para *E. coli*.

O alto nível de contaminação da alface provavelmente ocorreu devido ao manejo de produção podendo ter como fatores principais à manipulação, a água de irrigação e contato com o solo adubado, isso reflete as reais condições higiênico-sanitárias do ambiente e manejo, proporcionando informações valiosas para conscientizar todos os envolvidos, pois o grupo de bactérias identificadas podem ser encontradas na natureza e no intestino de mamíferos, inclusive o homem, podendo ser bactérias entéricas patogênicas.

Deve-se considerar que durante os meses de coleta a temperatura média do município estudado foi de 28,57°C e não foram registradas chuvas nesse período (AESAs, 2016). Por se tratar de um plantio convencional e depender das chuvas, na ausência desta, a solução é o uso irrigado da água. Esse fator provavelmente pode ter influenciado nos níveis de contaminação das amostras, já que a fonte de água mais utilizada na região é proveniente de açudes e na maioria das vezes essa água não passa por nenhum tratamento prévio.

Os estudos realizados por Paiva (2011) e Shinohara et al. (2014) corroboram com os dados desta pesquisa, já que ambos identificaram elevados índices de contaminação por coliformes.

Não foi presenciada *Salmonella spp.* nas alfaces estando todas em conformidade com a legislação reportada. Trabalhos realizados Abreu et al. (2010) e Arbos et al.

(2010) corroboram com esta pesquisa, pois também não evidenciaram *Salmonella spp* em alfaces provenientes de cultivo com adubação orgânica plantadas em áreas experimentais. Por outro lado, Coelho et al. (2007) presenciaram estas bactérias em 6% das alfaces convencionais comercializadas nos supermercados do município de Cuiabá-MT, em março de 2007, consideradas impróprias ao consumo. Salmonela é considerada patogênica por causar infecções alimentares tendo ação invasiva ao intestino humano ao aderir à mucosa do mesmo. Assim, a RDC nº12/ 20016 não permite sua presença nas hortaliças folhosas como também em outros alimentos.

A presença de *E. coli* em algumas das amostras analisadas indica a necessidade de avaliar a procedência deste microrganismo, analisando todas as hipóteses, fornecimento de água, tipo de esterco e fornecedor, além das condições de saúde dos operários.

A *E. coli* é considerada o mais versátil de todos os patógenos bacterianos. Algumas cepas são membros importantes da microbiota intestinal normal no homem e animais, enquanto que outras possuem fatores de virulência importantes na infecciosidade do trato gastrointestinal e outras regiões do organismo, particularmente o trato urinário. As cepas causadoras de diarreia apresentam vários mecanismos patogênicos distintos e diferem em epidemiologia (MIMS, et al. 1999).

O método de sedimentação revelou a presença de formas imaturas de nematódeos e protozoários. Pela morfologia dos ovos e cistos, constatou-se que as amostras alfaces estavam contaminadas por estruturas de parasitos de cães como o *Toxocara spp.* e *Ancylostoma spp.* e protozoários como *Giardia sp.*. Cistos de *Giardia sp.* também foram identificados (Tabela 2).

Tabela 2: Análises parasitárias encontradas nas amostras de alface crespa (*Lactuca sativa*) em propriedades no município de Teixeira-PB, 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
Cistos de <i>Giardia sp.</i>	P	a	P

Legenda: a: ausente; P: Presente

Trabalhos realizados no Brasil com hortaliças tem demonstrado a presença diversas estruturas parasitaria (FALAVIGNA et al., 2005, GHARAVI et al., 2002). Entre os parasitos contaminantes da alface, os gêneros *Ascaris sp.* e *Ancilostoma spp.*, foram os que apresentaram maior incidência indicando contaminação de origem fecal humana e/ou animal (OLIVEIRA; GERMANO, 1992; SANTANA et al., 2006).

A presença de oocistos de *Toxoplasma gondii* revela a importância 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, as infecções por ingestão de oocistos podem ser consideradas comuns (GOTTELAND et al, 2014) e mais severas do que a ingestão de cistos teciduais (JONES; DUBEY, 2010).

CONCLUSÃO

Mediante a metodologia aplicada, conclui-se que quarente por cento das amostras de alface crespa (*Lactuca sativa*) produzidas por sistema convencional no município de Teixeira-PB, não atenderam as exigências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estando assim inaptos para fins de consumo *in natura*. E em relação à contaminação parasitológica foi perceptível que a grande maioria das amostras estavam contaminadas com nematódeos e protozoários, incluindo aqueles parasitas encontrados em cães que representam um risco a saúde humana, sendo encontrados em 100% das amostras.

REFERÊNCIAS

ABREU I. M. O. et al. Qualidade microbiológica e produtividade de alface sob adubação química e orgânica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 30(supl 1):108-18, 2010.

AESA. **Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba**. 2016. Disponível em: <<http://www.aesa.pb.gov.br/aesa-website/meteorologia-chuvas/>>. Acesso em 15 abril 2017.

ARBOS K. A. et al. Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 30(1):215-20, 2010.

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

COELHO, E. M. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de alface (*Lactuca sativa* L.) em plantio direto e hidropônico. **Revista Higiene Alimentar**. 21(149) 94-98, 2007.

FALAVIGNA L. M. et al. Qualidade de hortaliças comercializadas no noroeste do Paraná, Brasil. **Parasitol Latinoam**. 60:144-149, 2005.

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.

JONES J. L.; DUBEY J. P. Waterborne toxoplasmosis-recent developments. **Experimental Parasitology**. 124: 0–25, 2010.

MESQUITA, D. R. et al. Ocorrência de parasitos em alface-crespa (*Lactuca sativa* L.) em hortas comunitárias de Teresina, Piauí, Brasil. *Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology*, v. 44, n. 1, p. 67-76, 2015.

MIMS, C.; et al. **Microbiologia médica**. São Paulo: Editora Monole, 1999. 584p.

OLIVEIRA C. A. F.; GERMANO P. M. L. Estudo da ocorrência de enteroparasitos em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo – SP, Brasil. I – Pesquisa de helmintos. **Revista de Saúde Pública**. 26: 283-289, 1992.

PEREZ JUNIOR, J. P.; GONTIJO, E. E. L.; SILVA, M. G. Perfil parasitológico e microbiológico de alfaces comercializadas em restaurantes self-service de gurupi-TO. **Revista Científica ITPAC**, v. 5, n. 1, p. 33-37, 2012.

SANTANA L. R. R. et al. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 26: 264-266, 2006.

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

SILVA, A. A. V. et al. Qualidade parasitológica e condições higiênico-sanitárias de sururu (*Mytella charruana*) e alface (*Lactuca sativa*) comercializados em um mercado público de Maceió-AL. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 36, n. 4, 2016.

TORTORA, G. J. et al. **Microbiologia**. 10 ed. Porto Alegre: Artmed. 2012.

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

CAPÍTULO II

Avaliação do perfil parasitológico e microbiológico de alface crespa produzida por hortigranjeiros do Município de Patos, PB

Manuscrito nas normas do periódico Revista Brasileira de Ciências Agrárias

Avaliação do perfil parasitológico e microbiológico de alface crespa produzida por hortigranjeiros do Município de Patos, PB

Evaluation of the parasitological and microbiological profile of crisp lettuce produced by horticultural workers of the Municipality of Patos, PB

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

¹Universidade Federal de Campina Grande

Resumo

O objetivo deste trabalho foi investigar a ocorrência de contaminação microbiológica e parasitológica em alface crespa (*Lactuca sativa*) provenientes de sistema convencional no Município de Patos, semiárido da Paraíba, Brasil. Foram realizadas análises microbiológicas e parasitológicas em 15 amostras de alface. Desse total, 86,66% foram satisfatória ao consumo de acordo com Resol. N° 12 jan. de 2001. Quanto as análises parasitológicas, o método de sedimentação revelou presença de espécies de parasitos, como: *Toxocara spp.* e *Ancylostoma spp.* de cães, *Ascaris SP.*, cistos de *Giardia* e Oocisto de *Toxolasma*. Conclui-se que as alfaces analisadas apresentaram uma baixa frequência de amostras insatisfatórias diante da realização de testes microbiológicos, contudo a presença de parasitas patogênicos ao homem é um indicativo de que as hortaliças são problema de saúde pública estando envolvidas em várias doenças transmitidas pelos alimentos, havendo a necessidade de melhor fiscalização e orientação no setor hortigranjeiro.

Palavras-chave: alface crespa; análise parasitária; microrganismo.

Abstract

The objective of this work was to investigate the occurrence of microbiological and parasitological contamination in crisp lettuce (*Lactuca sativa*) from a conventional system in the city of Patos, semi - arid region of Paraíba, Brazil. Microbiological and parasitological analyzes were performed on 15 lettuce samples. Of this total, 86,66% were satisfactory to consumption according to Resol. No. 12 Jan. As for the parasitological analyzes, the sedimentation method revealed the presence of parasite species, such as: *Toxocara spp.* and *Ancylostoma spp.* of dogs, *Ascaris SP.*, *Giardia*

cysts and *Toxoplasma* oocyst. It is concluded that the analyzed lettuce presented a low frequency of unsatisfactory samples in the presence of microbiological tests; however, the presence of pathogenic parasites in humans is an indication that the vegetables are a public health problem, being involved in several foodborne diseases, With the need for better supervision and guidance in the horticultural sector.

Key words: curly lettuce; parasitic analysis; microorganism.

INTRODUÇÃO

A alface (*Lactuca sativa*) é uma planta herbácea, originária de clima temperado, que pertencem à família Asteracea e da subfamília Cichoriaceae, que ocupa o lugar de uma das hortaliças mais populares e consumidas no mundo e no Brasil. Praticamente todos os cultivos de alface desenvolve-se muito bem em climas amenos, principalmente no período de crescimento vegetativo (ALBUQUERQUE JUNIOR et al., 2016).

A presença da contaminação na alface no comércio, ou seja, a presença de parasitas e sujeiras nesta hortaliça pode ser associada ao aumento de venda, maior carga de trabalho para o manipulador e o treinamento e fiscalização ineficientes, pois as pessoas que lidam com este tipo de hortaliça devem dispor de técnicas e manuais de boas práticas e treinamentos especializados, para que as hortaliças higienizadas cheguem aos consumidores finais, seja nas feiras ou restaurantes, com qualidade sanitária (GONÇALVES et al., 2013).

Assim, deve-se existir uma análise microbiológica e parasitológica nas hortaliças através de diferentes formas de pesquisa que serve para identificar formas infecciosa, fornecendo dados do estado de higiene das hortaliças, para que seja identificado as bactérias, como aquelas da família *Enterobacteriaceae*, e helmintos, como os parasitas que se hospedam no ser humano, visando a percepção das condições que foram cultivadas, armazenadas e preparadas para o consumidor final, neste caso o ser humano (PERES JUNIOR et al., 2012).

Para Gregório et al. (2012) em tipos de alfases podem ser encontrados variados microrganismos potencialmente patogênicos, como helmintos (*Ascaris lumbricoides* e *Toxocara sp*) e protozoários (*Entamoeba coli* e *Giardia sp*), além de certa quantidade de artrópodes que podem ser oriundos da contaminação pelo solo do plantio e devido à exposição ao ar livre. Desta forma, é preciso viabilizar técnicas para que seja minimizada a presença desses microrganismos nas hortaliças, e até mesmo erradicada,

através de ações para preparação do solo e análise da água de irrigação para percepção se há parasitas ou bactérias que venham prejudicar as hortaliças e o consumidor final.

Assim, para se ter perpetuação de uma doença, é necessária que se tenha uma fonte de organismo causador dela, podendo ser esta um organismo vivo ou um objeto inanimado que desloque, ao patógeno, condições adequadas de sobrevivência e multiplicação, e com isso, elevar as chances de transmissão (TORTORA, 2012).

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 em alface crespa (*Lactuca sativa*) provenientes de sistema convencional do município de Patos, Paraíba, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em propriedades produtoras de hortaliças selecionadas nos territórios da cidade de Patos-PB localizada 7° 04' 19,1" S e 37° 16' 06,3" O.

Foram analisadas 15 amostras de alfaces crespas (*Lactuca sativa*) de plantio convencional. Em cada propriedade foram coletadas 5 amostras, considerando-se como unidade amostral um pé inteiro de alface. As amostras foram coletadas, identificadas, acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso e encaminhadas em caixa isotérmicas (FALAVIGNA et al., 2005) para realização das análises microbiológica e parasitológica nos Laboratórios de Microbiologia e Parasitologia da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) - Patos.

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. Para a identificação das estruturas parasitárias foram realizadas de acordo com Ueno e Gonçalves (1994).

As análises microbiológicas seguiu-se o recomendado por Standard Methods (SILVA et al., 2007). 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%.

O teste presuntivo de coliformes foi feito por meio da técnica do Número Mais Provável (NMP). 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 a da prova presuntiva.

Para o teste confirmativo de 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 , a confirmação foi feita igual à prova presuntiva. O número mais provável foi estimado usando a tabela específica para o teste na faixa 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , considerando os valores encontrados uma casa decimal anterior e multiplicando o resultado por 1000.

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 da coloração de Gram e de testes bioquímicos, a partir de colônias puras crescidas em Ágar Padrão para Contagem (PCA) a $35^{\circ}\text{C}/24$ h. Os testes bioquímicos utilizados foram: Indol, Voges-Proskauer, Citrato e Vermelho de metila.

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 pelo programa Excel® para estabelecimento de frequência simples e percentual.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método de sedimentação revelou a presença de formas imaturas de nematódeos e protozoários. Pela morfologia dos ovos e cistos, constatou-se que as amostras alfaces estavam contaminadas por estruturas de parasitos de cães como o *Toxocara spp.* e *Ancylostoma spp.* e protozoários como *Giardia* e *Toxoplasma* (Tabela 1).

Tabela 1: Análises parasitárias encontradas nas amostras de alface (*Lactuca sativa*) em propriedades no município de Patos-PB, 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
Cistos de <i>Giardia</i> .	P	a	P
Oocisto de <i>Toxolasma</i>	a	a	P

Legenda: a: ausência; P: Presença.

A presença de contaminação parasitária em alface também foi relatada por Guimarães et al (2003) e por Soares e Cantos (2006), em ambos os trabalhos, falhas higiênicas foram constatadas nas amostras analisadas, haja vista a presença de formas parasitárias de origem animal ou humana. Apesar de todo desenvolvimento tecnológico da agricultura e técnicas melhoradas de cultivo, a maioria dos horticultores trabalham com sistema tradicional de cultivo no solo, utilizando água em condições inadequadas na irrigação, adubos provenientes de fezes animais sem procedência, podendo conter bactérias multi-resistentes e parasitas patogênicos ao homem. Portanto as hortaliças são problema de saúde pública estando envolvidas em várias doenças transmitidas pelos alimentos, havendo a necessidade de melhor fiscalização e orientação no setor hortifrutigranjeiro.

Quanto aos níveis de positividade encontrados nesta pesquisa talvez resultem de atos que propiciam a contaminação nas diferentes etapas produtivas, incluindo o plantio, o transporte e a manipulação das alfaces (TAKAYANAGUI et al., 2006).

A ingestão de verduras cruas e contaminadas expõem ao risco de infecções e/ou infestações por parasitos estando os indivíduos susceptíveis ao desenvolvimento de doenças denominadas de helmintoses (FALAVIGNA et al., 2005; SCHWEIGERT et al., 2008).

Quanto à análise microbiológica, mostrou que das 15 amostras de alfaces crespas (*Lactuca sativa*) 86,66% (13) foram satisfatória ao consumo de acordo com Resolução – RDC de nº 12 de Janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL, 2001) (Tabela 2).

Tabela 2 - Resultados das análises dos microrganismos coliformes totais, coliformes termotolerantes, *E. coli* e *Salmonella spp* pesquisados na alface (*Lactuca sativa*). Patos-PB, 2017

Fonte	Microrganismos				
	Col. Totais (NMP/g)	Col. termotolerantes (NMP/g)	Resol. Nº 12 jan. de 2001	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella ssp.</i>
Produtor 1					
1	0,23	0,23	Satisfatório	-	ausência em 25g
2	2,4	0,93	Satisfatório	-	ausência em 25g
3	2,4	0,09	Satisfatório	-	ausência em 25g
4	0,04	< 0,03	Satisfatório	-	ausência em 25g
5	0,14	< 0,03	Satisfatório	-	ausência em 25g
Produtor 2					
1	46	9,3	Insatisfatório	-	ausência em 25g
2	110	2,8	Insatisfatório	-	ausência em 25g
3	≥ 24	0,23	Satisfatório	-	ausência em 25g
4	≥ 24	0,43	Satisfatório	-	ausência em 25g
5	0,03	< 0,03	Satisfatório	-	ausência em 25g
Produtor 3					
1	2,4	2,4	Satisfatório	-	ausência em 25g
2	110	0,11	Satisfatório	-	ausência em 25g
3	≥ 24	9,3	Satisfatório	-	ausência em 25g
4	0,21	0,23	Satisfatório	-	ausência em 25g
5	2,4	0,43	Satisfatório	-	ausência em 25g

Legenda: Satisfatório: houve crescimento até 10^2 ; Insatisfatório: houve crescimento acima da diluição de 10^2 . (-): negativo para *E. coli*; (+): positivo para *E. coli*.

Considerando os resultados microbiológicos, a menor frequência de amostras insatisfatórias pode ser consequência de uma higienização prévia ou da melhoria na qualidade da higiene no plantio, como discutido por Carvalho et al.(2003).

Na região de realização do estudo as chuvas apresentam uma distribuição irregular, sendo que 82% de seu total concentra-se em quatro meses, de janeiro a abril (CPRM, 2005), dessa maneira, nos demais meses do ano a água destinada ao plantio de alface é proveniente de açude, sendo este um ponto questionável, pois não foi informado pelos produtores se a água utilizada passava por algum tratamento prévio.

Os resultados do presente estudo foram semelhantes aos de Nascimento et al. (2003) em hortaliças comercializadas em Campinas-SP e diferem do observado por Martins et al. (2008) e Oliveira et al. (2006) que constataram níveis elevados de coliformes termotolerantes acima do que a legislação permite.

Deve-se ressaltar que nesse estudo não foi isolado bactérias do gênero *Escherichia coli.*, assim como em estudos realizados por Amaro et al. (2006), ao avaliar as condições microbiológicas de alface e agrião no município de Murié – MG.

Não foi presenciada *Salmonella spp.* nas alfaces estando todas em conformidade com a legislação reportada. Trabalhos realizados Abreu et al. (2010) e Arbos et al. (2010) corroboram com esta pesquisa, pois também não evidenciaram *Salmonella spp.* em alfaces provenientes de cultivo com adubação orgânica plantadas em áreas experimentais. Por outro lado, Coelho et al. (2007) presenciaram estas bactérias em 6% das alfaces convencionais comercializadas nos supermercados do município de Cuiabá-MT, em março de 2007, consideradas impróprias ao consumo. Salmonela é considerada patogênica por causar infecções alimentares tendo ação invasiva ao intestino humano ao aderir à mucosa do mesmo. Assim, a RDC nº12/ 2016 não permite sua presença nas hortaliças folhosas como também em outros alimentos.

CONCLUSÕES

Conclui-se que as alfaces (*Lactuca sativa* L.) cultivadas no Município de Patos no semiárido paraibano, apresentaram uma baixa frequência de amostras insatisfatórias diante da realização de testes microbiológicos. Observou-se parasitas patogênicos ao homem em amostras de todas as três propriedades analisadas, havendo então a necessidade de melhorias no sistema de manejo desses hortigranjeiros, através de cursos de capacitação para os produtores, bem como um sistema melhor de fiscalização pelos órgãos competentes.

REFERÊNCIAS

- ABREU, I.M. O.; JUNQUEIRA, A.M.R.; PEIXOTO, J.R.; OLIVEIRA, S.A. Qualidade microbiológica e produtividade de alface sob adubação química e orgânica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, p.108-18, 2010.
- ALBUQUERQUE JÚNIOR, J. E.; AZEVEDO, C. A. V. DE; AZEVEDO, M. R. Q.; XAVIER, J. F. X.; MONTEIRO FILHO, A. F. M. Qualidade de águas residuárias e salobra utilizadas no cultivo hidropônico de três cultivares de alface crespa. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 11, n. 2, p. 19-24, 2016.
- AMARO, D. X.; ALMEIDA, A. B.; SOUZA, J. M. DE; PÓVOA, H.; ARÊDES, E. M. Avaliação da qualidade microbiológica de alface e agrião comercializado no município de Muriaé-MG. **Revista científica da FAMINAS**, v.2, p.27, 2006.
- ARBOS K.A.; FREITAS, R.J.S.; STERTZ, S.C.; CARVALHO, L.A. Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, p.215-20, 2010.

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 nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Dispõe sobre regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos.

CARVALHO, J.B.; NASCIMENTO, E.R.; RIBEIRO, V.R.; NOGUEIRA NETO, J.F.; CARVALHO, I.S.; CARVALHO, F.S. ET AL. Presença de ovos de helmintos em hortaliças fertilizadas com lodo e lagoa de estabilização. **Rev Bras Anal Clin**, v.35, p.101-3, 2003.

COELHO, E.M.; LIMA, M. G.; ROSA, O.O. Avaliação da qualidade microbiológica de alface (*Lactuca sativa* L.) em plantio direto e hidropônico. **Revista Higiene Alimentar**. 21(149) 94-98, 2007.

CPRM – Serviço Geológico do Brasil. **Projeto Cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea. Diagnóstico do município de Teixeira, estado da Paraíba**. Org. João de Castro Mascarenhas, Breno Augusto Beltrão, Luiz Carlos de Souza Júnior, Franklin de Moraes, Vanildo Almeida Mendes, Jorge Luiz Fortunato de Miranda. Recife: CPRM/PRODEEM, 2005. 19 p.

FALAVIGNA L.M.; FREITAS, C.B.R.F. DE; MELO, G.C. DE; NISHI, L.; ARAÚJO, S.M. DE; FALAVIGNA-GUILHERME, A.L. Qualidade de hortaliças comercializadas no noroeste do Paraná, Brasil. **Parasitol Latinoam**, v.60, p.144-149, 2005.

GONÇALVES, R. M.; SILVA, S. R. P.; STOBBE, N. S. Frequência de parasitos em alfaces (*lactuca sativa*) consumidas em restaurantes self-service de porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 42, n. 3, 2013.

GREGÓRIO, D. S. et al. Estudo da contaminação por parasitas em hortaliças da região leste de São Paulo. **Science In Health**. 3(2): 96-103. 2012.

GUIMARÃES, A.M.; ALVES, E.G.L.; FIGUEIREDO, H.C.P.; COSTA, G.M.; RODRIGUES, L.S. Frequência de enteroparasitas em amostras de alface (*Lactuca sativa*) comercializadas em Lavras, Minas Gerais. **Rev Soc Bra. Med Trop**, v.36, p. 621-3, 2003.

MARTINS, A.C.A.; SILVA, L.A. DA; SANTOS, J.G.DOS; ANDRADE, L.F.DE; MARTINS, L.P. **Avaliação da qualidade microbiológica da alface (*Lactuca sativa*) comercializada na cidade de Bananeiras - PB**, III Jornada Nacional da Agroindústria, agost. 2008, ISSN 1980-1122.

NASCIMENTO, M.S.; SILVA, N.; CATANOZI, M.P.L.M. Avaliação microbiológica de frutas e hortaliças frescas, comercializadas no município de Campinas-SP. **Higiene Alimentar**, v.17, p.73-76, 2003.

OLIVEIRA, M.L.S.; FIGUEIREDO, E.L. Análise microbiológica de alface (*Lactuca sativa*, L.) e tomate (*Solanum lycopersicum*, L.) comercializados em feiras-livres da cidade de Belém, Pará. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.20, n.143, p.96-101, 2006.

PERES JUNIOR, J. P.; GONTIJO, E. E. L.; SILVA, M. G. Perfil parasitológico e microbiológico de alfaces comercializadas em restaurantes self-service de gurupi-TO. **Rev. Cient. ITPAC**, v. 5, n. 1, p. 33-37, 2012.

SCHWEIGERT, A.; BALESTRIN, R.; CAVALHERI, V.M.; IGARASHI, M. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em variedades de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas na feira do produtor de Campo Mourão – PR e padronização de Técnica para a procura de ovos. **Camp Dig**, v.1, p. 86-89, 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela; 2007.

SOARES, B.; CANTOS, G.A. Detecção de estruturas parasitárias em hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, SC, Brasil. **Rev Bras Ciênc Farm**, v.42, p.455-60, 2006.

TAKAYANAGUI, O.M.; CAPUANO, D.M.; OLIVEIRA, C.A.D.; BERGAMINI, A.M.M.; OKINO, M.H.T.; CASTRO E SILVA, A.A.M.C.; OLIVEIRA, M.A.; RIBEIRO, E.G.A.; TAKAYANAGUI, A.M.M. Análise da produção de verduras em Ribeirão Preto, SP. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 39, p.224-226, 2006.

TORTORA, G. J. **Microbiologia**. 10 ed. Porto Alegre: Artmed. 2012.

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

CONCLUSÃO GERAL

Com o estudo realizada percebeu-se que nas duas cidades pesquisadas, Teixeira e Patos, ambas do Estado da Paraíba, os resultados foram divergentes no tocante a análise microbiológica, uma vez que níveis de contaminação identificados mostraram-se mais elevados nas amostras pertencentes ao município de Teixeira, quando comparado ao município de Patos.

As análises parasitológicas revelarem presença de parasitas patogênicos ao homem em amostras de ambos os municípios.

De posse de tais informações, podemos sugerir que os fatores relacionados a contaminação possam estar relacionados ao sistema de produção, de forma que é necessário 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.

ANEXOS

ANEXO I
Documento comprobatório de submissão (Acta Scientiarum. Biological Sciences)

The screenshot shows the submission details for article #38351. The page is titled "#38351 Sinopse" and includes a navigation menu at the top with options like "CAPA", "SOBRE", "PÁGINA DO USUÁRIO", "PESQUISA", "ATUAL", "ANTERIORES", "NOTÍCIAS", "EDUEM", and "PORTAL ACTA". Below the navigation, there is a breadcrumb trail: "Capa > Usuário > Autor > Submissões > #38351 > Resumo". The main content area is divided into sections: "Submissão" (Submission), "Situação" (Status), and "Metadados da submissão" (Submission Metadata). The "Submissão" section provides details about the authors, title, document type, submission date, and editor. The "Situação" section shows the current status as "Em avaliação" (Under evaluation) and the submission date as "2017-07-25". The "Metadados da submissão" section includes a link to "EDITAR METADADOS". On the right side, there are several utility boxes: "OPEN JOURNAL SYSTEMS", "Ajuda do sistema", "USUÁRIO" (User) showing the user is logged in as "alisonmorato", "AUTOR" (Author) showing submission statistics, "IDIOMA" (Language) set to "Português (Brasil)", and "CONTEÚDO DA REVISTA" (Journal Content) with a search bar.

CAPA SOBRE PÁGINA DO USUÁRIO PESQUISA ATUAL ANTERIORES NOTÍCIAS EDUEM "PORTAL ACTA"
TUTORIAL NORMAS/ENVIAR ARTIGO

Capa > Usuário > Autor > Submissões > #38351 > Resumo

#38351 Sinopse

RESUMO AVALIAÇÃO EDIÇÃO

Submissão

Autores	Álison Damasceno José, Álison Damasceno José, Pablo Sousa da Costa Sousa, Lamartine Brito José, Rosália Severo Medeiros, Wilson Silva Wouflan, Onaldo Rodrigues Guedes
Título	Parasitological and microbiological control in horticultural farms in Teixeira and region
Documento original	38351-170762-1-SM.DOC 2017-07-25
Docs. sup.	Nenhum(a) INCLUIR DOCUMENTO SUPLEMENTAR
Submetido por	Sr. Álison Damasceno José
Data de submissão	julho 25, 2017 - 09:06
Seção	Notas científicas
Editor	Evanilde Benedito

Situação

Situação	Em avaliação
Iniciado	2017-07-25
Última alteração	2017-07-25

Metadados da submissão

[EDITAR METADADOS](#)

OPEN JOURNAL SYSTEMS

Ajuda do sistema

USUÁRIO
Logado como:
alisonmorato

- Meus periódicos
- Perfil
- Sair do sistema

AUTOR
Submissões

- Ativo (1)
- Arquivos (0)
- Notas submissões

IDIOMA
Selecione o idioma

Português (Brasil)

Submeter

CONTEÚDO DA REVISTA

Pesquisa

Escopo de Busca

Todos

Pesquisar

ANEXO II
Normas do periódico Acta Scientiarum. Biological Sciences

DIRETRIZES PARA AUTORES

POLÍTICA DE ACESSO ABERTO

Acta Scientiarum. Biological Sciences é publicada sob o modelo Acesso Aberto e permite a qualquer um a leitura e download, bem como a cópia e disseminação de seu conteúdo de acordo com as políticas de copyright Creative Commons Attribution 3.0.

APCs (TAXA DE PROCESSAMENTO DE ARTIGO) E TAXA DE SUBMISSÃO

Acta Scientiarum. Biological Sciences não cobra aos autores qualquer tipo de taxa de submissão ou publicação.

POLÍTICA CONTRA PLÁGIO E MÁIS-CONDUTAS EM PESQUISA

Continuando nossa tradição de excelência, informamos as melhorias editoriais que visam fortalecer a integridade dos artigos publicados por esta revista. Em conformidade com as diretrizes do [COPE](http://publicationethics.org) (*Committee on Publication Ethics*), que visam incentivar a identificação de plágio, más práticas, fraudes, possíveis violações de ética e abertura de processos, indicamos:

1. Os autores devem visitar o website do COPE <http://publicationethics.org>, que contém informações para autores e editores sobre a ética em pesquisa;

2. Antes da submissão, os autores devem seguir os seguintes critérios:

- artigos que contenham aquisição de dados ou análise e interpretação de dados de outras publicações devem referenciá-las de maneira explícita;
- na redação de artigos que contenham uma revisão crítica do conteúdo intelectual de outros autores, estes deverão ser devidamente citados;
- todos os autores devem atender os critérios de autoria inédita do artigo e nenhum dos pesquisadores envolvidos na pesquisa poderá ser omitido da lista de autores;
- a aprovação final do artigo será feita pelos editores e conselho editorial.

3. Para responder aos critérios, serão realizados os seguintes procedimentos:

- a) Os editores avaliarão os manuscritos com o sistema [CrossCheck](#) logo após a submissão. Primeiramente será avaliado o conteúdo textual dos artigos científicos, procurando identificar plágio, submissões duplicadas, manuscritos já publicados e possíveis fraudes em pesquisa;
- b) Com os resultados, cabe aos editores e conselho editorial decidir se o manuscrito será enviado para revisão por pares que também realizarão avaliações;
- c) Após o aceite e antes da publicação, os artigos poderão ser avaliados novamente.

INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS:

1. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, ISSN 1807-863X (*on-line*), é publicada trimestralmente pela Universidade Estadual de Maringá.
2. A revista publica artigos originais em todas as áreas relevantes de Ciências Biológicas, incluindo anatomia, bacteriologia, biologia molecular, bioquímica,

botânica, citologia e biologia celular, comportamento animal, ecologia e limnologia, embriologia e histologia, morfofisiologia, genética, microbiologia, parasitologia e zoologia.

3. Os autores se obrigam a declarar a cessão de direitos autorais e que seu manuscrito é um trabalho original, e que não está sendo submetido, em parte ou no seu todo, à análise para publicação em outro meio de divulgação científica sob pena de exclusão. Esta declaração encontra-se disponível no endereço:

<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/about/submissions>.

4. Os dados, ideias, opiniões e conceitos emitidos nos artigos, bem como a exatidão das referências, são de inteira responsabilidade do(s) autor(es). A eventual citação de produtos e marcas comerciais não significa recomendação de seu uso por parte do Conselho Editorial da revista.

5. Os relatos deverão basear-se nas técnicas mais avançadas e apropriadas à pesquisa. Quando apropriado, deverá ser atestado que a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Biossegurança da instituição.

6. Os artigos submetidos deverão ser em inglês.

7. Os artigos serão avaliados por, no mínimo, três consultores da área de conhecimento da pesquisa, de instituições de ensino e/ou pesquisa nacionais e estrangeiras, de comprovada produção científica. Após as devidas correções e possíveis sugestões, o artigo será aceito se tiver dois pareceres favoráveis e rejeitado quando dois pareceres forem desfavoráveis.

8. O conflito de interesses pode ser de natureza pessoal, comercial, política, acadêmica ou financeira. Conflitos de interesses podem ocorrer quando autores, revisores ou editores possuem interesses que podem influenciar na elaboração ou avaliação de manuscritos. Ao submeter o manuscrito, os autores são responsáveis por reconhecer e revelar conflitos financeiros ou de outra natureza que possam ter influenciado o trabalho. Os autores devem identificar no manuscrito todo o apoio financeiro obtido para a execução do trabalho e outras conexões pessoais referentes à realização do mesmo. O revisor deve informar aos editores quaisquer conflitos de interesse que poderiam influenciar sobre a análise do manuscrito, e deve declarar-se não qualificado para revisá-lo.

9. Os artigos deverão ser submetidos pela internet, acessando o **Portal ACTA**, no endereço <http://www.uem.br/acta>.

10. A revisão de português (Resumo) e a revisão de língua estrangeira serão de responsabilidade e custeados pelos autores dos artigos já aceitos para publicação, mediante comprovação emitida pelos revisores credenciados.

11. Estão listadas abaixo a formatação e outras convenções que deverão ser seguidas:

a) No processo de submissão, deverão ser inseridos os nomes completos dos autores (no máximo seis), número identificador (ID) do ORCID, seus endereços institucionais e o *e-mail* do autor indicado para correspondência. Mais de seis autores serão aceitos desde que devidamente justificado. Neste caso a contribuição de cada um dos autores deverá ser apresentada em uma declaração específica para esta finalidade. Nesta justificativa deve-se considerar os seguintes aspectos: participação na elaboração do projeto ou análise e interpretação dos dados; redação ou revisão crítica do artigo e aprovação da versão final a ser publicado.

- b)** Os artigos deverão ser subdivididos com os seguintes subtítulos: Resumo, Palavras-chave, *Abstract*, *Keywords*, Introdução, Material e métodos, Resultados e/ou Discussão, Conclusão, Agradecimentos (opcional) e Referências. Esses itens deverão ser em caixa alta e em negrito e não deverão ser numerados.
- c)** O título, com no máximo vinte palavras, em português e inglês, deverá ser preciso. Também deverá ser fornecido um título resumido com, no máximo, seis palavras.
- d)** O resumo (bem como o *abstract*), não excedendo 200 palavras, deverá conter informações sucintas sobre o objetivo da pesquisa, os materiais experimentais, os métodos empregados, os resultados e a conclusão. Até seis palavras-chave que não estejam citadas no título deverão ser acrescentadas ao final tanto do resumo como do *abstract*.
- e)** Os artigos não deverão exceder 15 páginas digitadas, incluindo figuras, tabelas e referências. Deverão ser escritos em espaço 1,5 linhas e ter suas páginas e linhas numeradas. O trabalho deverá ser editado no *MS-Word*, ou compatível, utilizando *Times New Roman* fonte 12.
- f)** O trabalho deverá ser formatado em A4 e as margens inferior, superior, direita e esquerda deverão ser de 2,5 cm.
- g)** O arquivo contendo o trabalho que deverá ser anexado (transferido), durante a submissão, não poderá ultrapassar o tamanho de 5 MB, nem poderá conter qualquer tipo de identificação de autoria, inclusive na opção propriedades do *Word*.
- h)** Tabelas, figuras e gráficos deverão ser inseridos no texto, logo após a sua citação. As tabelas deverão ter preferencialmente 7,65 ou 16 cm de largura. Os gráficos não deverão ter molduras externas, linhas internas ou mesmo cor de fundo. Para os gráficos de barra, usar padrões de preenchimento diferentes (horizontal, vertical, listras diagonais e múltiplos pontos).
- i)** As figuras (fotos, pranchas, mapas, desenhos ou esquemas) deverão ter o tamanho máximo de 16 x 23 cm, incluindo-se o espaço necessário para a legenda. Gráficos e figuras que possam ser publicados em uma única coluna (7,65 cm) serão reduzidos. Dessa forma, será necessário atentar para o tamanho de números ou letras, para que continuem visíveis após a redução. O tipo de fonte utilizado deverá ser *Times New Roman*, tamanho 8 pt. Gráficos e figuras confeccionados em planilhas eletrônicas devem vir acompanhados do arquivo com a planilha original. Deve-se utilizar escala de barras para indicar tamanho, a qual deverá, sempre que possível, estar situada à esquerda da figura; o canto inferior direito deve ser reservado para o número da(s) figura(s).
- j)** As figuras digitalizadas deverão ter no mínimo 300 dpi de resolução, gravadas em formato jpg ou png. Não serão aceitas figuras que ultrapassem o tamanho estabelecido ou que apresentem qualidade gráfica ruim. Ilustrações em cores serão aceitas.
- k)** Deverá ser adotado o Sistema Internacional (SI) de medidas.
- l)** As equações deverão ser editadas, utilizando o *software Math Type* ou inseridas como figura jpg ou png.
- m)** As variáveis deverão ser identificadas após a equação.
- n)** Artigos de revisão poderão ser publicados mediante convite do Conselho Editorial ou Editor-Chefe da Eduem.
- o)** A revista recomenda que oitenta por cento (80%) das referências sejam de artigos listados na base *ISI Web of Knowledge* e/ou *Scopus* com menos de 10

anos. Não serão aceitas nas referências citações de dissertações, teses, monografias, anais, resumos, resumos expandidos, jornais, magazines, boletins técnicos e documentos eletrônicos.

p) As citações deverão seguir os exemplos abaixo, que se baseiam na norma da *American Psychological Association* (APA). **Para citação no texto**, usar o sobrenome e ano: Oleksiak (2008) ou (Oleksiak, 2008); **para dois autores**: Silva e Diniz Filho (2008) ou (Silva & Diniz, 2008); **para três a cinco autores** (1.^a citação): Andrade, Santos, Oliveira, Cerqueira, e Meireles (2008) ou (Andrade, Santos, Oliveira, Cerqueira, & Meireles, 2008) e, nas citações subsequentes, Andrade et al. (2008) ou (Andrade et al., 2008); **para seis ou mais autores**, citar apenas o primeiro seguido de et al.: Cardozo et al. (2007) ou (Cardozo et al., 2007).

MODELOS DE REFERÊNCIAS

Deverão ser organizadas em ordem alfabética, alinhamento justificado, conforme os exemplos seguintes, que se baseiam na norma da *American Psychological Association* (APA). Listar todos os autores do trabalho. Os títulos dos periódicos deverão ser completos e não abreviados e em itálico, sem o local de publicação.

ARTIGOS

Um autor

Oleksiak, M. F. (2008). Changes in genexpression due to chronic exposure to environmental pollutants. *Aquatic Toxicology*, 90(3), 161-171.

Dois autores

Silva, M. M. F. P., & Diniz Filho, J. A. F. (2008). Extinction of mammalian populations in conservation units of the Brazilian Cerrado by inbreeding depression in stochastic environments. *Genetics and Molecular Biology*, 31(3), 800-803.

Até sete autores (devem-se indicar todos os autores separados por vírgula, exceto o último que deve ser separado por vírgula seguido de &)

Santana, N. F., Thomaz, T. A., & Roberto, M. C. (2015). Relationship between bacterial density and abiotic factors at different sediment depths of lakes in the Upper Paraná River floodplain. *Acta Scientiarum. Biological Science*, 37(1), 1-8. doi:10.4025/actascibiolsoci.v37i1.22240

Oito ou mais autores (devem-se indicar os seis primeiros, inserir reticências e acrescentar o último autor)

Cardozo, K. H. M., Guaratini, T., Barros, M. P., Falcão, V. R., Tonon, A. P., Lopes, N. P., ... Pinto, E. (2007). Metabolites from algae With economical impact. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C – Toxicology and Pharmacology*, 146(102), 60-78.

LIVROS

Haynie, D. T. (2001). *Biological thermodynamics*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Foster, R. G., & Kreitzman, L. (2005). *Rhythms of life: the biological clocks that control the daily live of every living thing*. Yale, CT: Yale University Press.

Agostinho, A. A., Gomes, L. C., & Pelicice, F. M. (2007). Impactos dos represamentos. In A. A. Agostinho, L. C. Gomes, & F. M. Pelicice (Ed.), *Ecologia e manejo de recursos pesqueiros em reservatórios do Brasil* (p. 107-152). Maringá, PR: Eduem.

Prazo médio entre submissão e publicação dos artigos publicados em 2016: **8 meses**.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita e não está sendo avaliada por outra revista.
2. Os manuscritos deverão ser submetidos em **inglês**.
3. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, Open Office ou RTF (desde que não ultrapasse 5MB).
4. Todos os endereços de páginas da Internet, incluídas no texto (Ex: <http://www.eduem.uem.br>) estão ativos e prontos para clicar.
5. O texto está em **espaço 1,5**; usa uma fonte de 12-pontos Times New Roman; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final. No máximo 15 páginas.
6. O texto segue os padrões de estilo e quisitos bibliográficos em [Diretrizes para Autores](#), na seção Sobre a Revista.
7. A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção propriedades do Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação por Pares Cega](#).
8. **TODOS OS CONTATOS MANTIDOS ENTRE O AUTOR E EDITORA DEVE MENCIONAR INICIALMENTE O NÚMERO DO MANUSCRITO INSERIDO NO SISTEMA**

Declaração de Direito Autoral

DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE E DIREITOS AUTORAIS

Declaro que o presente artigo é original, não tendo sido submetido à publicação em qualquer outro periódico nacional ou internacional, quer seja em parte ou em sua totalidade.

Os direitos autorais pertencem exclusivamente aos autores. Os direitos de licenciamento utilizados pelo periódico é a licença Creative Commons Attribution 3.0 (CC BY 3.0): são permitidos o compartilhamento (cópia e distribuição do material em qualquer meio ou formato) e adaptação (*remix*, transformação e criação de material a partir do conteúdo assim licenciado para quaisquer fins, inclusive comerciais).

Recomenda-se a leitura [desse link](#) para maiores informações sobre o tema: fornecimento de créditos e referências de forma correta, entre outros detalhes cruciais para uso adequado do material licenciado.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou à terceiros.

ANEXO III

Normas do periódico Revista Brasileira de Ciências Agrárias

DIRETRIZES PARA AUTORES

Objetivo e Políca Editorial

A **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** (RBCA) é editada pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) com o objetivo de divulgar artigos científicos, para o desenvolvimento científico das diferentes áreas das Ciências Agrárias. As áreas contempladas são: Agronomia, Engenharia Agrícola, Engenharia Florestal, Engenharia de Pesca e Aqüicultura, Medicina Veterinária e Zootecnia. Os artigos submetidos à avaliação devem ser originais e inéditos, sendo vetada a submissão simultânea em outros periódicos. A reprodução de artigos é permitida sempre que seja citada explicitamente a fonte.

Forma e preparação de manuscritos

O trabalho submetido à publicação deverá ser cadastrado no portal da revista (<http://www.agraria.pro.br/ojs-2.4.6>). O cadastro deverá ser preenchido apenas pelo autor correspondente que se responsabilizará pelo artigo em nome dos demais autores.

Só serão aceitos trabalhos depois de revistos e aprovados pela Comissão Editorial, e que não foram publicados ou submetidos em publicação em outro veículo. Excetuam-se, nesta limitação, os apresentados em congressos, em forma de resumo.

Os trabalhos subdivididos em partes 1, 2..., devem ser enviados juntos, pois serão submetidos aos mesmos revisores. Solicita-se observar as seguintes instruções para o preparo dos artigos.

Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente deve apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.

Composição seqüencial do artigo

a. Título: no máximo com 15 palavras, em que apenas a primeira letra da primeira palavra deve ser maiúscula.

b. Os artigos deverão ser compostos por, **no máximo, 8 (oito) autores**;

c. Resumo: no máximo com 15 linhas;

d. Palavras-chave: no mínimo três e no máximo cinco, não constantes no Título;

e. Título em inglês no máximo com 15 palavras, ressaltando-se que só a primeira letra da primeira palavra deve ser maiúscula;

f. Abstract: no máximo com 15 linhas, devendo ser tradução fiel do Resumo;

g. Key words: no mínimo três e no máximo cinco;

h. Introdução: destacar a relevância do artigo, inclusive através de revisão de literatura;

i. Material e Métodos;

j. Resultados e Discussão;

k. Conclusões devem ser escritas de forma sucinta, isto é, sem comentários nem explicações adicionais, baseando-se nos objetivos da pesquisa;

l. Agradecimentos (facultativo);

m. Literatura Citada.

Observação: Quando o artigo for escrito em inglês, o título, resumo e palavras-chave deverão também constar, respectivamente, em português ou espanhol, mas com a seqüência alterada, vindo primeiro no idioma principal.

Edição do texto

a. Idioma: Português, Inglês e Espanhol

b. Processador: Word for Windows;

c. Texto: fonte Times New Roman, tamanho 12. Não deverá existir no texto palavras em negrito;

d. Espaçamento: duplo entre o título, resumo e abstract; simples entre item e subitem; e no texto, espaço 1,5;

e. Parágrafo: 0,5 cm;

f. Página: Papel A4, orientação retrato, margens superior e inferior de 2,5 cm, e esquerda e direita de 3,0 cm, no máximo de 20 páginas não numeradas;

g. Todos os itens em letras maiúsculas, em negrito e centralizados, exceto Resumo, Abstract, Palavras-chave e Key words, que deverão ser alinhados à esquerda e apenas as primeiras letras maiúsculas. Os subitens deverão ser alinhados à esquerda, em negrito e somente a primeira letra maiúscula;

h. As grandezas devem ser expressas no SI (Sistema Internacional) e a terminologia científica deve seguir as convenções internacionais de cada área em questão;

i. Tabelas e Figuras (gráficos, mapas, imagens, fotografias, desenhos)

- Títulos de tabelas e figuras deverão ser escritos em fonte Times New Roman, estilo normal e tamanho 9;

- As tabelas e figuras devem apresentar larguras de 9 ou 18 cm, com texto em fonte Times New Roman, tamanho 9, e ser inseridas logo abaixo do parágrafo onde foram citadas pela primeira vez. Exemplo de citações no texto: Figura 1; Tabela 1. Tabelas e figuras que possuem praticamente o mesmo título deverão ser agrupadas em uma tabela ou figura criando-se, no entanto, um indicador de diferenciação. A letra indicadora de cada sub-figura numa figura agrupada deve ser maiúscula e com um ponto (exemplo: A.), e posicionada ao lado esquerdo superior da figura e fora dela. As figuras agrupadas devem ser citadas no texto da seguinte forma: Figura 1A; Figura 1B; Figura 1C.

- As tabelas não devem ter tracejado vertical e o mínimo de tracejado horizontal. Exemplo do título, o qual deve ficar acima: Tabela 1. Estações do INMET selecionadas (sem ponto no final). Em tabelas que apresentam a comparação de médias, mediante análise estatística, deverá existir um espaço entre o valor numérico (média) e a letra. As unidades deverão estar entre parêntesis.

- As figuras não devem ter bordadura e suas curvas (no caso de gráficos) deverão ter espessura de 0,5 pt, e ser diferenciadas através de marcadores de legenda diversos e nunca através de cores distintas. Exemplo do título, o qual deve ficar abaixo: Figura 1. Perda acumulada de solo em função do tempo de aplicação da chuva simulada (sem ponto no final). Para não se tornar redundante, as figuras não devem ter dados constantes em tabelas. Fotografias ou outros tipos de figuras deverão ser escaneadas com 300 dpi e inseridas no texto. O(s) autor(es) deverá(ão) primar pela qualidade de resolução das figuras, tendo em vista uma boa reprodução gráfica. As unidades nos eixos das figuras devem estar entre parêntesis, mas, sem separação do título por vírgula.

Exemplos de citações no texto

a. Quando a citação possuir apenas um autor: ... Freire (2007) ou ... (Freire, 2007).

b. Quando possuir dois autores: ... Freire & Nascimento (2007), ou ... (Freire & Nascimento, 2007).

c. Quando possuir mais de dois autores: Freire et al. (2007), ou (Freire et al., 2007).

Literatura citada

O artigo deve ter, preferencialmente, no máximo **25 citações bibliográficas**, sendo a maioria em **periódicos recentes (últimos cinco anos)**.

As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

As referências citadas no texto deverão ser dispostas em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor e conter os nomes de todos os autores, separados por ponto e vírgula. As citações devem ser, preferencialmente, de publicações em periódicos, as quais deverão ser apresentadas conforme os exemplos a seguir:

a. Livros

Mello, A.C.L. de; Vêras, A.S.C.; Lira, M. de A.; Santos, M.V.F. dos; Dubeux Júnior, J.C.B; Freitas, E.V. de; Cunha, M.V. da. Pastagens de capim-elefante: produção intensiva de leite e carne. Recife: Instituto Agrônômico de Pernambuco, 2008. 49p.

b. Capítulo de livros

Serafim, C.F.S.; Hazin, F.H.V. O ecossistema costeiro. In: Serafim; C.F.S.; Chaves, P.T. de (Org.). O mar no espaço geográfico brasileiro. Brasília- DF: Ministério da Educação, 2006. v. 8, p. 101-116.

c. Revistas

Sempre que possível o autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers).

Quando o artigo tiver a url.

Oliveira, A. B. de; Medeiros Filho, S. Influência de tratamentos pré-germinativos, temperatura e luminosidade na germinação de sementes de leucena, cv. Cunningham. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.7, n.4, p.268-274, 2007.

<http://agraria.pro.br/sistema/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path%5B%5D=183&path%5B%5D=104>. 29 Dez. 2012.

Quando o artigo tiver DOI.

Costa, R.B. da; Almeida, E.V.; Kaiser, P.; Azevedo, L.P.A. de; Tyszka Martinez, D. Tsukamoto Filho, A. de A. Avaliação genética em progênies de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. na região do Pantanal, estado do Mato Grosso. Revista Brasileira de Ciências Agrárias, v.6, n.4, p.685-693, 2011. <https://doi.org/10.5039/agraria.v6i4a1277>.

d. Dissertações e teses

Bandeira, D.A. Características sanitárias e de produção da caprinocultura nas microrregiões do Cariri do estado da Paraíba. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2005. 116p. Tese Doutorado.

e. WWW (World Wide Web) e FTP (File Transfer Protocol)

Burka, L.P. A hipertext history of multi-user dimensions; MUD history. <http://www.aka.org.cn/Magazine/Aka4/interhisE4.html>. 29 Nov. 2012.

Não serão aceitas citações bibliográficas do tipo apud ou citado por, ou seja, as citações deverão ser apenas das referências originais.

Citações de artigos no prelo, comunicação pessoal, folder, apostila, monografia, trabalho de conclusão de curso de graduação, relatório técnico e trabalhos em congressos, devem ser evitadas na elaboração dos artigos.

Outras informações sobre a normatização de artigos

- 1) Os títulos das bibliografias listadas devem ter apenas a primeira letra da primeira palavra maiúscula, com exceção de nomes próprios. O título de eventos deverá ter apenas a primeira letra de cada palavra maiúscula;
- 2) O nome de cada autor deve ser por extenso apenas o primeiro nome e o último sobrenome, sendo apenas a primeira letra maiúscula;
- 3) Não colocar ponto no final de palavras-chave, keywords e títulos de tabelas e figuras. Todas as letras das palavras-chave devem ser minúsculas, incluindo a primeira letra da primeira palavra-chave;
- 4) No Abstract, a casa decimal dos números deve ser indicada por ponto em vez de vírgula;
- 5) A Introdução deve ter, preferencialmente, no máximo 2 páginas. Não devem existir na Introdução equações, tabelas, figuras, e texto teórico sobre um determinado assunto;
- 6) Evitar parágrafos muito longos;
- 7) Não deverá existir itálico no texto, em equações, tabelas e figuras, exceto nos nomes científicos de animais e culturas agrícolas, assim como, nos títulos das tabelas e figuras escritos em inglês;
- 8) Não deverá existir negrito no texto, em equações, figuras e tabelas, exceto no título do artigo e nos seus itens e subitens;
- 9) Em figuras agrupadas, se o título dos eixos x e y forem iguais, deixar só um título centralizado;
- 10) Todas as letras de uma sigla devem ser maiúsculas; já o nome por extenso de uma instituição deve ter maiúscula apenas a primeira letra de cada nome;
- 11) Nos exemplos seguintes o formato correto é o que se encontra no lado direito da igualdade: 10 horas = 10 h; 32 minutos = 32 min; 5 l (litros) = 5 L; 45 ml = 45 mL; l/s = L.s⁻¹; 27°C = 27 °C; 0,14 m³/min/m = 0,14 m³.min⁻¹.m⁻¹; 100 g de peso/ave = 100 g de peso por ave; 2 toneladas = 2 t; mm/dia = mm.d⁻¹; 2x3 = 2 x 3 (deve ser separado); 45,2 - 61,5 = 45,2-61,5 (deve ser junto). A % é unidade que deve estar junta ao número (45%). Quando no texto existirem

valores numéricos seguidos, colocar a unidade somente no último valor (Ex: 20 e 40 m; 56,0, 82,5 e 90,2%). Quando for pertinente, deixar os valores numéricos com no máximo duas casas decimais;

12) Na definição dos parâmetros e variáveis de uma equação, deverá existir um traço separando o símbolo de sua definição. A numeração de uma equação deve estar entre parêntesis e alinhada esquerda. Uma equação deve ser citada no texto conforme os seguintes exemplos: Eq. 1; Eq. 4.;

13) Quando o artigo for submetido não será mais permitida mudança de nome dos autores, sequência de autores e quaisquer outras alterações que não sejam solicitadas pelo editor.

Procedimentos para encaminhamento dos artigos

O autor correspondente deve se cadastrar como autor e inserir o artigo no endereço <http://www.agraria.pro.br/ojs-2.4.6>.

O autor pode se comunicar com a Revista por meio do e-mail agrarias@prppg.ufrpe.br, editorgeral@agraria.pro.br ou secretaria@agraria.pro.br