

**UNIVERSIDADE ESTADUALPAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**  
Campus de Araçatuba

**DENISE JUNQUEIRA MATOS**

**PESQUISA DE AGENTES PATOGÊNICOS EM ÁGUA, SOLO,  
ADUBO E HORTALIÇAS DE CONSUMO CRU**

**Araçatuba**  
**2020**

**DENISE JUNQUEIRA MATOS**

**PESQUISA DE AGENTES PATOGÊNICOS EM ÁGUA, SOLO,  
ADUBO E HORTALIÇAS DE CONSUMO CRU**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ciência Animal (Área de Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal).

Orientadora: Profa. Dra. Katia Denise Saraiva Bresciani

**Araçatuba**

**2020**

M433p Matos, Denise Junqueira  
Pesquisa de agentes patogênicos em água, solo, adubo e hortaliças  
de consumo cru / Denise Junqueira Matos. -- Araçatuba, 2020  
51 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),  
Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba  
Orientadora: Katia Denise Saraiva Bresciani

1. Enteroparasitos. 2. Epidemiologia. 3. Saúde Pública. 4. Vegetais.  
I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de  
Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

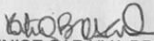
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

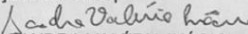
Título: Pesquisa de agentes patogênicos em água, solo, adubo e hortaliças de consumo cru.

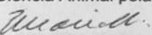
AUTORA: DENISE JUNQUEIRA MATOS

ORIENTADORA: KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI

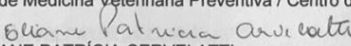
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

  
Profa. Dra. KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI  
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

  
Dra. SANDRA VALÉRIA INÁCIO  
Doutora em Ciência Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

  
Profa. Dra. VALÉRIA MARIA SAVOYA DA SILVA  
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Profa. Dra. FERNANDA PINTO FERREIRA  
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva / Centro de Ciências Agrárias / UEL

  
Profa. Dra. ELIANE PATRÍCIA CERVELATTI  
Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium - Campus de Araçatuba

Araçatuba, 22 de janeiro de 2020.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Araçatuba

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Pesquisa de agentes patogênicos em água, solo, adubo e hortaliças de consumo cru.

AUTORA: DENISE JUNQUEIRA MATOS

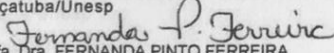
ORIENTADORA: KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em CIÊNCIA ANIMAL, área: Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI  
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Dra. SANDRA VALÉRIA INÁCIO  
Doutora em Ciência Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Profa. Dra. VALÉRIA MARIA SAVOYA DA SILVA  
Departamento de Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

  
Profa. Dra. FERNANDA PINTO FERREIRA  
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva / Centro de Ciências Agrárias / UEL

Profa. Dra. ELIANE PATRÍCIA CERVELATTI  
Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium - Campus de Araçatuba

Araçatuba, 22 de janeiro de 2020.

Dedico esta tese às pessoas que trabalham em comunidade e coletividade, compartilhando saberes e vidas, aos que buscam uma oportunidade digna de inclusão social e aos pesquisadores que se preocupam com a qualidade dos alimentos.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos meus pais, José Ronaldo de Matos e Maria Teresa Junqueira Matos, pelo incentivo e por se deslocarem do aconchego da roça, para Araçatuba, para ficarem com meus filhos sempre que precisei para realizar meu doutorado.

Ao meu marido, Fábio Martinez Rovida, que me apoiou de todas as formas, com muito carinho e amor e filhos, Pedro de Matos Rovida e Raul de Matos Rovida, para que eu nunca desanimasse e quisesse sempre me superar.

Aos trabalhadores de todas as hortas visitadas, por compartilhar suas histórias, ensinamentos e tempo.

À minha orientadora e amiga, Profa. Dra. Katia Denise Saraiva Bresciani pela acolhida depois de longo trajeto, por me ouvir e acreditar em mim, por me deixar livre, mas também me orientar até que eu pudesse desenvolver esse projeto.

À Profa. Dra. Fernanda Pinto Ferreira do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Estadual de Londrina, por me receber aos fins de semana e me ensinar toda a técnica para realização desse trabalho.

À minha banca de qualificação, Profa. Dra. Eliane Patrícia Cervelatti e Dra. Sandra Valéria Inácio, obrigada pelas considerações dadas ao meu trabalho, que foram de muito aprendizado.

Agradeço aos colegas de profissão e aos meus coordenadores pelas dicas e incentivo.

Aos professores do programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Faculdade de Medicina Veterinária Campus de Araçatuba, que contribuíram com meus ensinamentos e serviram de inspiração.

Ao Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium, UniSalesiano, por ceder o espaço e os equipamentos para a realização da minha pesquisa.

*“A mente que se abre  
a uma nova ideia  
jamais voltará  
ao seu tamanho original”  
(Albert Einstein)*



**MATOS, D. J. Pesquisa de agentes patogênicos em água, solo, adubo e hortaliças de consumo cru.** 2020, 51 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2020.

## RESUMO

As práticas comunitárias são realizadas por indivíduos que moram em uma mesma área e unem-se solidariamente para atividades como produção, trocas, doações, comercialização de hortaliças, gerando produtos agrícolas de toda espécie. Porém, a higienização e a qualidade dos alimentos de consumo cru são motivo de preocupação, pois estes podem transmitir bactérias, como a do grupo dos Coliformes termotolerantes, protozoários como *Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp. e helmintos de importância em Saúde Pública. Dessa forma, neste trabalho o objetivo foi investigar as condições de manejo ambiental e a ocorrência de *Escherichia coli* na água de irrigação, helmintos em hortaliças, e protozoários na água, solo, adubo, e hortaliças de seis hortas comunitárias cadastradas na Secretaria de Desenvolvimento Agroindustrial da Prefeitura de Araçatuba. Para isso, foi aplicado um questionário epidemiológico aos trabalhadores e coletadas de cada horta, 40 litros de água tratada ou 10 litros de água não tratada, uma amostra de aproximadamente 10 g de solo e 10 g do adubo e aleatoriamente, uma touceira de alface e uma de almeirão. Análises microbiológicas para detecção de *E. coli* por meio do Kit Colilert (IDEXX Laboratories, EUA) foram realizadas nas águas de irrigação. A pesquisa de helmintos e seus ovos nos vegetais foi efetuada por microscopia óptica. A análise de *T. gondii*, *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. foi realizada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) nas amostras de água de irrigação, solo, adubo, e hortaliças. A localização em área urbana, uso de água tratada, ausência de fossas, limitações das áreas por muros, alambrados ou cercas, ausência de animais domésticos nas hortas comunitárias, foram suficientes para não ocorrer *E. coli* nas águas de irrigação, helmintos nos vegetais e *Cryptosporidium* spp., *G. spp.* e *T. gondii*, em amostras de água, solo, adubo, e vegetais.

**Palavras-chave:** Enteroparasitos. Epidemiologia. Saúde Pública. Vegetais.

**MATOS, D. J. Research of pathogens in water, soil, fertilizer and vegetables for raw consumption.** 2020, 51 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2020.

## **ABSTRACT**

Community practices are carried out by individuals who live in the same area and unite in solidarity for activities such as production, exchanges, donations, marketing of vegetables, generating agricultural products of all kinds. However, hygiene and the quality of raw food are of concern, as they can transmit bacteria, such as that of the thermotolerant Coliform group, protozoa such as *Toxoplasma gondii*, *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp. and helminths of importance in Public Health. Thus, in this work, the objective was to investigate the conditions of environmental management and the occurrence of *Escherichia coli* in irrigation water, helminths in vegetables, and protozoa in water, soil, fertilizer, and vegetables from six community gardens registered with the Agroindustrial Development Secretariat of the City Hall of Araçatuba. For this, an epidemiological questionnaire was applied to the workers and 40 liters of treated water or 10 liters of untreated water were collected from each garden, a sample of approximately 10 g of soil and 10 g of fertilizer and, randomly, a clump of lettuce and one of almond. Microbiological analyzes for the detection of *E. coli* using the Colilert Kit (IDEXX Laboratories, USA) were performed in irrigation waters. The search for helminths and their eggs in vegetables was carried out by optical microscopy. Analysis of *T. gondii*, *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. was carried out by polymerase chain reaction (PCR) in samples of irrigation water, soil, fertilizer, and vegetables. The location in an urban area, use of treated water, absence of pits, limitations of areas by walls, fences or fences, absence of domestic animals in community gardens, were sufficient to prevent *E. coli* in irrigation water, helminths in vegetables and *Cryptosporidium* spp., *G. spp.* and *T. gondii*, in samples of water, soil, fertilizer, and vegetables.

**Keywords:** Enteroparasites. Epidemiology. Public health. Vegetables.

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1- Hortas Comunitárias de Araçatuba- SP, 2019. 20

Tabela 1- Dados epidemiológicos e endoparasitológicos de hortas comunitárias de Araçatuba- SP, 2019. 24

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL .....	12
2 CAPÍTULO 1 - CONDIÇÕES ADEQUADAS DE MANEJO AMBIENTAL: AUSÊNCIA DE PATÓGENOS EM HORTAS COMUNITÁRIAS.....	16
2.1 Resumo .....	16
2.2 Abstract .....	17
2.3 Introdução .....	18
2.4 Material e Métodos.....	19
2.4.1 Período e área do estudo .....	19
2.4.2 Questionário epidemiológico .....	20
2.4.3 Coleta das amostras de água.....	20
2.4.4 Coleta das amostras de solo e adubos .....	21
2.4.5 Coleta das amostras de hortaliças .....	21
2.4.6 Análise microbiológica da água.....	21
2.4.7 Análise parasitológica das amostras vegetais.....	21
2.4.8 Análise parasitológica das amostras de água .....	22
2.4.9 Análise parasitológica das amostras de solo e adubos .....	22
2.4.10 Análises moleculares.....	22
2.5 Resultados e Discussão .....	23
2.6 Conclusão .....	26
2.7 Referências .....	27
APÊNDICE 1 - Ficha epidemiológica de hortas comunitárias do município de Araçatuba-SP, 2019 .....	32
APÊNDICE 2 - REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL 1 .....	37
APÊNDICE 3 - Termo de consentimento livre e esclarecido.....	41
ANEXO 1 - Ofício de aprovação do comitê de ética em pesquisa .....	43
ANEXO 2 - Normas de Publicação da Revista.....	44

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

As práticas comunitárias, como plantio em hortas, são realizadas por indivíduos sem laços de parentesco, que moram em uma mesma área periférica e unem-se solidariamente. A produção organizada coletivamente ocorre, principalmente, em áreas vazias da cidade, próximas aos locais de moradia (COUTINHO; COSTA, 2011).

O cultivo de alimentos em meio urbano e periurbano engloba produção, prestação de serviços, trocas, doações ou comercialização gerando produtos agrícolas de toda espécie (SANTANDREU; LOVO, 2007).

Hortas comunitárias aliadas a Unidades Básicas de Saúde, como atividade promotora de saúde, possuem impactos positivos na saúde mental dos trabalhadores envolvidos no cultivo, fortalece o trabalho coletivo, assim também como promovem ganho na vida pessoal, com a promoção de empoderamento, uma vez que ajuda no orçamento doméstico e fornece uma perspectiva de maior autonomia em relação ao mercado (COSTA et al., 2015). Ela também melhora as condições de vida de grupos em situação de insegurança alimentar (ISTAN et al., 2015).

O alto custo dos alimentos inibe a frequência com que são consumidos, e isso compromete a saúde dos indivíduos porque acarreta na falta de nutrientes básicos. O preço é causa do crescimento urbano, que reduz as áreas agricultáveis, assim, para aumentar a produção é preciso deslocar-se para áreas mais distantes, elevando a complexidade e os custos dos sistemas de distribuição. Dessa forma, a horta comunitária serve como uma boa alternativa (VIEIRA, 2009).

Entretanto, deve haver uma preocupação em relação à ingestão de alimentos *in natura* devido a contaminação por vírus, bactérias (BRASIL, 2014), protozoários e helmintos (VIEIRA et al., 2013).

O consumo desses alimentos frescos aumentou notavelmente em últimos anos devido a múltiplas contribuições nutricionais e propriedades funcionais (LUNA-GUEVARA et al., 2019).

Uma dieta rica em frutas e vegetais protege contra vários tipos de câncer e doenças crônicas (GOODBURN; WALLACE, 2013) entretanto, ao mesmo tempo, alface, espinafre e ervas frescas, estão associados a um número crescente de surtos por alimentos devido à contaminação por bactéria (JAY-RUSSELL et al., 2015).

Nos Estados Unidos, de 1990 a 2005, o Food and Drug Administration, 2004, relatou que pelo menos 12% de 713 surtos relacionados a alimentos, envolviam frutas e vegetais frescos (GOODBURN; WALLACE, 2013).

Os surtos atribuídos aos vegetais podem resultar em graves resultados. Em 2006, um surto relacionado à *Escherichia coli* em espinafre, nos EUA, causou quase 200 doenças confirmadas em laboratório, 100 hospitalizações e cinco mortes (WENDEL et al., 2006).

A *Escherichia coli* é indicadora de contaminação fecal, uma vez que é um membro inócuo da microbiota intestinal de animais de sangue quente e do ser humano. Entretanto, é patogênica quando ingerida, porque pode causar infecções intestinais e extra-intestinais. Cepas dessas foram isoladas de vegetais, como espinafre, alface, alfaça, agrião, feijão, rúcula, tomate e rabanete (ACKERS et al., 1998; JABLASON; WARRINER; GRIFFITHS, 2005; FRANZ et al., 2007; BERGER et al., 2009), e demonstrado que algumas bactérias usam estômatos (poros naturais) como pontos de entrada para o interior da folha e sobrevivem com baixa atividade metabólica, mudanças drásticas de temperatura, pH, osmolalidade e privação de nutrientes (WINFIELD; GROISMAN, 2003; DINU; BACH, 2011).

A contaminação dos vegetais por patógenos, pode ocorrer pela água usada para irrigação, esterco animal usado como adubo e animais selvagens que acessam campos de vegetais (FERREIRA et al., 2018).

A Organização Mundial da Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1989) determina que as águas de irrigação podem apresentar 1 ovo/litro de nematóide e a legislação brasileira regulamentada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Resolução nº 12, de 1978) estabelece que as verduras devem apresentar, quanto às suas características microscópicas, ausência de sujidades, parasitas e larvas (BRASIL, 1978).

Entretanto, quase um quarto da população global esta infectada com um ou mais espécies de helmintos, como *Trichuris trichiura* (WHO, 2017) e no Brasil a situação não é diferente, como apontado em um estudo realizado em Apucarana que (PR) confirmou elevada incidência de enteroparasitas em agriões e almeirões comercializados (FRIAS; SILVA; TOZATO, 2012), o que enfatiza a importância da pesquisa de enteroparasitas nos vegetais, pois fornece dados para vigilância sanitária e para a população sobre o real estado higiênico desses alimentos disponíveis ao consumidor (ALMEIDA FILHO, 2008).

Embora indivíduos com infecções por *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale* e *Necator americanus*, de baixa intensidade possam ser assintomáticos, infecções pesadas estão associadas a uma morbidade considerável, incluindo lesões abdominais, dor, diarreia e anemia, bem como comprometimento do desenvolvimento cognitivo e físico em crianças (WHO, 2006).

Entre os protozoários que comumente são encontrados nos vegetais, estão os parasitas entéricos *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. (SILVA; ANDRADE; STAMFORD, 2005). Estes são importantes contribuintes para as doenças gastrointestinais na infância e as manifestações clínicas variam de assintomática à diarreia aguda e crônica (KOTLOFF et al., 2013).

Crianças com vulnerabilidade econômica são as mais suscetíveis à infecção por *Cryptosporidium* spp. e esse é a segunda principal causa de mortalidade associada à diarreia após infecção por rotavírus em crianças menores de cinco anos em países com baixos rendimentos (KOTLOFF et al., 2013).

Criptosporidiose e giardíase foram associados a prejuízos no crescimento e desenvolvimento cognitivo em países de baixa e média renda e também na Europa (HALLIEZ et al., 2013; AZCONA-GUTIÉRREZ et al., 2017).

Em países de alta renda, os parasitas entéricos também representam preocupação para a Saúde Pública devido ao ônus socioeconômico vinculado aos custos médicos e de tratamento (FLETCHER et al., 2012).

Uma revisão sistemática realizada sobre os surtos ocasionados por contaminação por *Giardia* spp. nos Estados Unidos, de 1971 a 2011, considerou a vulnerabilidade das águas subterrâneas e do sistema de distribuição, a desinfecção inadequada de piscina, a contaminação de vegetais e falta de higiene dos manipuladores de alimentos como alvos promissores para a giardíase (ADAM et al., 2016).

Um estudo que analisou padrões de ocorrência de surtos de toxoplasmose humana e realizou uma progressão temporal das prováveis fontes de infecção e vias de transmissão descritas em artigos de todo o mundo, entre os anos 1960 e 2018, encontrou que a causa da contaminação foi de cistos de carne contaminada e seus derivados em 47,1% (16/34) dos casos, e oocistos foram implicados em 44,1% (15/34) dos surtos. A transmissão pela ingestão de oocistos na água ocorreu com uma frequência de 20,6% (7/34), pelo contato com areia e solo com uma frequência de 17,6% (6/34) e pelo consumo de vegetais com uma frequência de 5,9% (2/34). Os

surtos ocorridos pela ingestão de cistos na carne e seus derivados, foram mais freqüentes nas décadas de 1960 e 1990. Na década de 1980, o leite de cabra não pasteurizado, contaminado com taquizoítos era a principal via de transmissão. Em 2000, os surtos foram causados por oocistos na água e por contato com fezes felinas. A partir de 2010, os surtos associados à ingestão de oocistos de vegetais crus aumentaram, mostrando a importância destes alimentos na transmissão da toxoplasmose (FERREIRA et al., 2019).

A contaminação dos vegetais podem ocorrerem devido à contaminação durante a produção, incluindo plantio, colheita, transporte e distribuição, mas também durante o processamento e consumo (FERREIRA et al., 2018 ).

A água de consumo pode ser uma via de transmissão de extrema importância, já que foi relatada como responsável pelos maiores surtos de toxoplasmose descrito mundialmente (MOURA et al., 2006). A água também pode servir como rota de contaminação de vegetais e frutas quando utilizada para irrigação (DUTRA et al., 2012; MORAIS et al., 2016).

A infecção por este parasito pode ser assintomática em indivíduos imunocompetentes (FRENKEL, 1996; KIM; WEISS, 2004), por outro lado, pode ser grave em pacientes imunodeprimidos, transplantados e neonatos (FURTADO et al., 2011).

Quando a infecção ocorre durante a gestação, o feto pode desenvolver malformações neonatais como, hidrocefalia, retinocoroidite, calcificação cerebral, retardo mental (CARRUTHERS, 2002; CARLIER et al., 2011; ROBERT-GANGNEUX et al., 2011) e complicações oculares (FIGUEIRÓ-FILHO et al., 2007; SARTORI et al., 2011) que podem ocorrer na fase fetal e após o nascimento (infância ou fase adulta) (BOOTHROYD; GRIGG, 2002) e manifestar com diferentes graus de comprometimento ocular (HOLLAND, 1999; WAKEFIELD et al., 2011) desde dor e fotofobia até perda visual (GILBERT et al., 1999).

Dentro deste contexto, o objetivo nesta pesquisa foi investigar as condições de manejo ambientais e a ocorrência de *Escherichia coli* na água utilizada para irrigação, de helmintos nos vegetais e de protozoários na água, solo, adubo e em hortaliças, de hortas comunitárias da Secretaria de Desenvolvimento Agroindustrial da Prefeitura de Araçatuba, na região Noroeste do Estado de São Paulo.



## 2 CAPÍTULO 1 - CONDIÇÕES ADEQUADAS DE MANEJO AMBIENTAL: AUSÊNCIA DE PATÓGENOS EM HORTAS COMUNITÁRIAS

Denise Junqueira Matos<sup>1\*</sup>, Fernanda Pinto Ferreira<sup>2</sup>, Itamar Teodorico Navarro<sup>2</sup>, Katia Denise Saraiva Bresciani<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Prof<sup>a</sup>. Ms. do Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium, Unisalesiano, Araçatuba, São Paulo Brasil.

<sup>2</sup>Profs. Drs. da Universidade Estadual de Londrina (UEL), Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Londrina, Brasil

<sup>3</sup>Prof<sup>a</sup>, Dra. da Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba, SP, Brasil.

\*Author for correspondence: dejunmatos@hotmail.com

### 2.1 RESUMO

A higienização e a qualidade dos alimentos de consumo cru são motivo de preocupação, pois estes podem transmitir bactérias, como Coliformes termotolerantes, protozoários como *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., *Toxoplasma gondii* e helmintos de importância em Saúde Pública. Dessa forma, neste trabalho o objetivo foi investigar as condições de manejo ambientais e a ocorrência de *Escherichia coli* na água de irrigação, helmintos nas hortaliças, e protozoários no solo, adubo, água e hortaliças de hortas comunitárias de Araçatuba- SP. Para isso, foi aplicado um questionário epidemiológico, em forma de entrevista aos trabalhadores e coletadas de cada horta das seis cadastradas na Secretaria de Desenvolvimento Agroindustrial da Prefeitura de Araçatuba, 40 litros de água tratada ou 10 litros de água não tratada, uma amostra de aproximadamente 10 g de solo e 10 g do adubo e aleatoriamente, uma touceira de alface e uma de almeirão. Análises microbiológicas para detecção de *E. coli* por meio do Kit Colilert (IDEXX Laboratories, EUA) foram realizadas nas águas de irrigação. Para a pesquisa de helmintos e seus ovos nos vegetais foi efetuada por microscopia óptica. A análise de *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp. e *T gondii*, foi realizada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) nas amostras de água de irrigação, solo, adubo e hortaliças. A localização em área urbana, uso de água tratada, ausência de fossas, limitações das áreas por muros, alambrados

ou cercas, ausência de animais domésticos em hortas comunitárias, foram suficientes para não ocorrer *E. coli* nas águas de irrigação, helmintos nos vegetais e *Cryptosporidium* spp., *G. spp.* e *T. gondii*, em amostras de água, solo, adubo, e vegetais.

Palavras-chave: Alimentos *in natura*, Contaminação ambiental, Enteroparasitos, Epidemiologia, Hortaliças. Saúde Pública

## 2.2 ABSTRACT

The hygiene and quality of raw food are of concern, as they can transmit bacteria, such as thermotolerant coliforms, protozoa such as *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., *Toxoplasma gondii* and helminths of public health importance. Thus, in this work, the aim was to investigate environmental management conditions and the occurrence of *Escherichia coli* in irrigation water, helminths in vegetables, and protozoa in soil, fertilizer, water and vegetables from community gardens in Araçatuba-SP. For this, an epidemiological questionnaire was applied, in the form of an interview to workers and collected from each garden of the six registered with the Agroindustrial Development Secretariat of the City of Araçatuba, 40 liters of treated water or 10 liters of untreated water, a sample of approximately 10 g of soil and 10 g of fertilizer and randomly, a clump of lettuce and one of almond. Microbiological analyzes for the detection of *E. coli* using the Colilert Kit (IDEXX Laboratories, USA) were performed in irrigation waters. To search for helminths and their eggs in vegetables, it was performed by optical microscopy. The analysis of *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp. and *T. gondii*, was carried out by polymerase chain reaction (PCR) in samples of irrigation water, soil, fertilizer and vegetables. The location in an urban area, use of treated water, absence of pits, limitations of areas by walls, fences or fences, absence of domestic animals in community gardens, were sufficient to prevent *E. coli* in irrigation water, helminths in vegetables and *Cryptosporidium* spp., *G. spp.* and *T. gondii*, in samples of water, soil, fertilizer, and vegetables.

Keywords: Epidemiology, Enteroparasites, Environmental contamination, Fresh foods, Public Health, Vegetables.

## 2.3 INTRODUÇÃO<sup>1</sup>

O consumo de alimentos *in natura* pela população brasileira tem aumentado devido a fatores como a mudança nos hábitos nutricionais e seus benefícios à saúde. Entretanto, deve haver uma preocupação em relação à ingestão destes alimentos devido a contaminação por bactérias, vírus (Brasil, 2014) protozoários e helmintos (Antunes et al., 2013).

A contaminação em hortaliças pode ser por protozoários como, o complexo *Entamoeba* spp., *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., (Silva, Andrade & Stamford, 2005; Silva, Pinheiro, Paula, & Prigol, 2015), *Toxoplasma* spp. (Cook et al., 2000), por helmintos, como *Strongyloides stercoralis*, *Trichuris* spp. (Silva et al., 2005; Silva et al., 2015), *Ancylostoma* spp., *Ascaris* spp., *Dipylidium* spp., *Hymenolepis* spp., *Taenia* spp., *Enterobius* spp. (Frias, Silva, & Tozato, 2012) e, também por bactérias, como a *Escherichia coli* do grupo de coliformes totais (Scherer, et al., 2016; Silva et al., 2005) e *Salmonella* spp. (Ferreira et al., 2016).

A toxoplasmose pode ser uma infecção assintomática, apresentar sinais clínicos inespecíficos (Elmore et al., 2010), ou mais potencialmente, levar ao desenvolvimento de toxoplasmose ocular e em mulheres grávidas provocar aborto, natimorto e distúrbios graves em recém-nascidos como hidrocefalia, microcefalia e coriorretinite (Weiss, & Dubey, 2009).

As zoonoses criptosporidiose e giardíase são descritas como causas importantes de diarreia persistente em humanos (Huang & White, 2006). Em crianças desnutridas ou imunocompetente, a giardíase (Rogaswki, et al., 2017) e a criptosporidiose (Checkley, et al., 2015) podem ser fatal.

Outra causadora de diarreia é a bactéria *Escherichia coli* que pode aderir, destruir a barreira de células epiteliais intestinais e aumentar o risco de permeabilidade intestinal e resposta inflamatória enterotoxigênica, causando distúrbios intestinais (Ahmed et al., 2016).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) evidencia que problemas de saúde como anemia, obstrução intestinal e desnutrição em crianças, estão associadas a infecções por helmintos, e estes são tipicamente encontrados em regiões tropicais e subtropicais, bem como em países onde falta saneamento e de baixa e média renda (Ojha, et al., 2014).

---

<sup>1</sup> Este artigo está nas normas de publicação da Revista Semina. Vide anexo 2

As hortaliças podem ser contaminadas em diversos momentos e por variados mecanismos desde o plantio até o seu consumo (Coelho et al., 2001; Gupta, Khan, & Santra, 2009; Robertson & Gjerde, 2000). As condições de cultivo que envolvem a qualidade da água de irrigação (Amahmid, Asmama, & Bouhoum, 1999; Chaidez et al., 2005), tipo de adubo (Almeida et al., 2013), presença de animais na propriedade (Ferreira et al., 2018) e contaminação direta dos trabalhadores da fazenda (Dixon, 2016) são os principais pontos de risco.

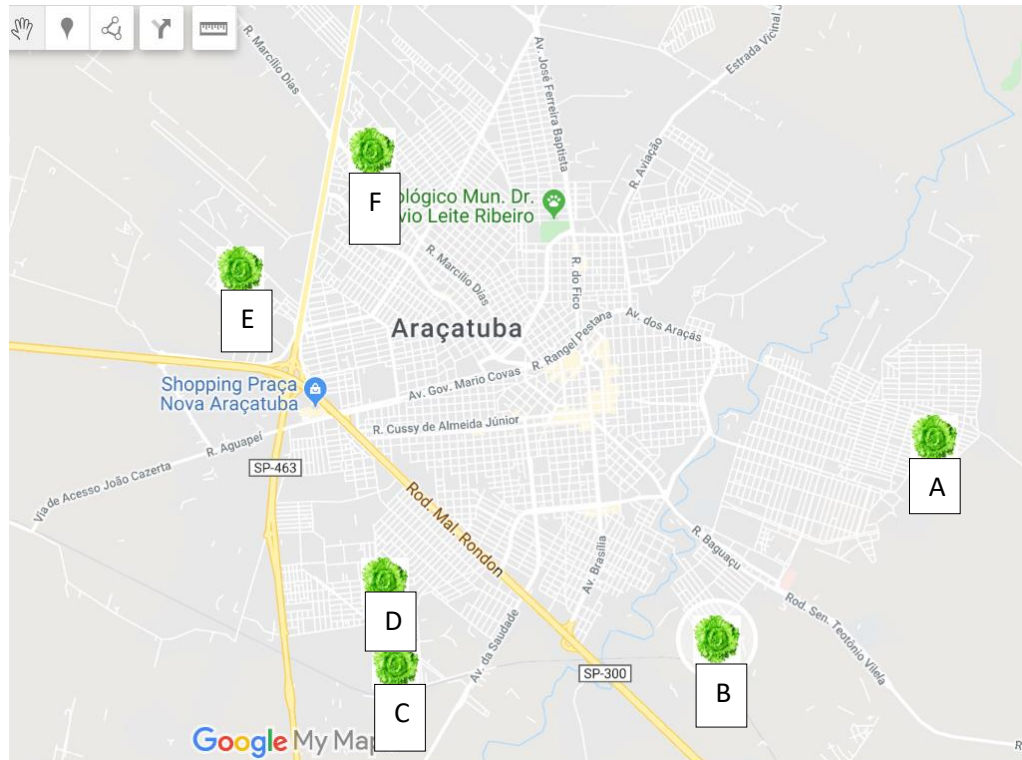
Dentro deste contexto, o objetivo nesta pesquisa foi investigar as condições de manejo ambientais e a ocorrência de *Escherichia coli* na água utilizada para irrigação, de helmintos nos vegetais e de protozoários na água, no solo, no adubo e em hortaliças de hortas comunitárias da Secretaria de Desenvolvimento Agroindustrial da Prefeitura de Araçatuba, na região Noroeste do Estado de São Paulo.

## **2.4 MATERIAL E MÉTODOS**

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética da UNESP - Faculdade de Odontologia de Araçatuba/ Universidade Estadual Paulista "Júlio De Mesquita Filho sob o parecer nº número 3.649.193.

### **2.4.1 Período e área do estudo**

O estudo foi realizado entre outubro e dezembro de 2019, nas seis hortas participantes do Programa de Hortas Comunitárias da Secretaria Municipal de Desenvolvimento Agroindustrial da Prefeitura Araçatuba- SP. A localização das mesmas está demonstrada na Figura 1.



**FIGURA 1:** Hortas Comunitárias de Araçatuba- SP, 2019.

Legenda: A, B, C, D, E e F: hortas comunitárias.

Fonte: Google (2019)

## 2.4.2 Questionário epidemiológico

Um questionário epidemiológico (Apêndice) contendo informações sobre a fonte de água e adubo, presença de animais na propriedade, acesso destes a horta, destino do esgoto, tipo de cultivo (orgânico ou convencional) entre outras informações, foi aplicado aos trabalhadores responsáveis das hortas, mediante à assinatura do Consentimento Livre e Esclarecido.

## 2.4.3 Coleta das amostras de água

Para a descontaminação das torneiras, foi realizada uma limpeza com sabão e posteriormente, álcool iodado (2%). O primeiro jato foi desprezado e foram coletados 10 litros de água não tratada ou 40 litros de água tratada (maior volume de água tratada para aumentar as chances de encontrar parasito). Estas foram acondicionadas em bombonas plásticas e transportadas em temperatura ambiente até o laboratório, para análise em até 12 horas, de endoparasitos. Para análise microbiológica, foram colhidas 100 ml de água, de cada propriedade em recipientes estéreis e transportadas

ao laboratório, para análise imediata, em caixa isotérmica com gelo (Ferreira et al., 2018). Foram no total 12 amostras de água (seis para análise microbiológica e seis para análise parasitológica).

#### **2.4.4 Coleta das amostras de solo e adubo**

Uma amostra de 10 g da superfície do solo e do adubo foram coletadas das propriedades A, C, D, E e F e dos diferentes canteiros da propriedade B, totalizando 9 amostras. Esse material foi armazenado em tubos cônicos de 50 mL com 30 mL de glicina 1M (Ferreira et al., 2018) e transportadas ao laboratório, para análise imediata.

#### **2.4.5 Coleta das amostras de hortaliças**

Uma touceira de alface crespa (*Lactuca sativa var. crispata*) e uma de almeirão (*Cichorium intybus*) com a raiz, foram coletadas aleatoriamente das hortas A, C, D, E e F. A horta B apresentava quatro tipos de canteiros, adubados de formas diferentes, portanto foram coletadas uma touceira de alface e almeirão de cada canteiro, totalizando 18 amostras. As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso e encaminhadas ao laboratório, para processamento em no máximo quatro horas.

#### **2.4.6 Análise microbiológica da água**

As amostras de água com 100 mL foram semeadas em meio Colilert (IDEXX Laboratories, EUA) e incubadas a uma temperatura de 35°C por 24 horas, fornecendo, desse modo, os resultados por coloração amarela e fluorescência para as amostras positivas para coliformes totais e *Escherichia coli*, respectivamente.

#### **2.4.7 Análise parasitológica das amostras vegetais**

Para lavar 50 g de folhas, utilizou-se 300 mL de solução de extração Tween 80 a 1% em um saco plástico, agitando-as manualmente por 10 minutos. O material foi filtrado em copos de vidro de 500 mL por meio de duas camadas de gaze. O filtrado foi dividido em tubos cônicos, e um deles foi deixado em repouso por duas horas e em seguida, 20 µL do sedimento foi observado sob um microscópio objetivo a 40x para a

detecção de helmintos. Os demais foram submetidos a centrifugação dupla a 2100 x g por 10 minutos, separado o sedimento em microtubos e armazenados a -20 ° C até a extração do DNA para detecção de *Cryptosporidium* spp., *G. intestinalis* e *T. gondii* (Ferreira et al., 2018).

#### **2.4.8 Análise parasitológica das amostras de água**

Para *Cryptosporidium* spp., *G. intestinalis* e *T. gondii*, as amostras de água foram filtradas por meio de uma membrana de éster de celulose com uma porosidade de 47 mm de diâmetro e 1,2 µm (Millipore®, Billerica, Massachusetts, EUA) em um sistema de suporte de filtro usando uma bomba de vácuo (4 L / min). Após a filtração, o material foi eluído em Tween 80 a 0,1% com o auxílio de alças plásticas flexíveis (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EUA) (Branco, Leal, & Franco, 2012). O material obtido foi concentrado por centrifugação dupla a 1050xg durante 15 min a 4°C. O sedimento obtido foi armazenado em microtubos a -20°C até a extração do DNA.

#### **2.4.9 Análise parasitológica das amostras de solo e adubo**

Para *Cryptosporidium* spp., *G. intestinalis* e *T. gondii*, as amostras foram armazenadas em tubos cônicos de 50 mL com 30 mL de glicina 1M, foram homogeneizadas com o auxílio de um agitador por 30 minutos, seguidos de cinco minutos em repouso para sedimentação. O sobrenadante foi centrifugado a 1500xg por 15 minutos. O concentrado final foi dividido em alíquotas em microtubos e armazenado a -20°C até a extração do DNA (Ferreira et al., 2018).

#### **2.4.10 Análises moleculares**

As amostras foram transportadas em caixa isotérmica, com gelo, até o laboratório e submetidas previamente ao congelamento e descongelamento (5 ciclos de congelamento a -80°C e descongelamento a 56°C), e a extração do DNA foi realizada utilizando um kit comercial (NucleoSpin Tissue®, Macherey-Nagel, Düren, Alemanha) de acordo com as instruções do fabricante. Foram coletados 100 µL de DNA extraído e armazenado a -20°C até o processamento da reação em cadeia da polimerase (PCR).

O ensaio de PCR foi realizado para amplificar um fragmento de 529 pb para *T. gondii* (HOMAN et al., 2000). Para *Cryptosporidium* spp., foi realizada uma reação de nested-PCR com os primers, que têm como alvo um fragmento do gene 18S do RNAr entre 826 e 840 pb (Xiao et al., 1999). Para a detecção do DNA de *G. intestinalis*, as amostras foram submetidas a reação de nested-PCR com os primers para amplificar um fragmento de aproximadamente 300 pb do gene 18S do RNAr de *G. intestinalis* (Coklin, Farber, Parrington, & Dixon, 2007).

Os produtos de PCR foram visualizados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% corada com SYBR Safe DNA (Invitrogen®, Califórnia, EUA). Utilizou-se como controle amostras sabidamente positivas dos protozoários armazenadas no laboratório.

## 2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No total, foram coletadas 42 amostras das seis hortas cadastradas no Programa de Hortas Comunitárias da Secretaria de Desenvolvimento Agroindustrial da Prefeitura Araçatuba- SP, no ano de 2019, localizadas na zona urbana da cidade, conforme foi demonstrado na Figura 1.

Nessas hortas os trabalhadores produziam para consumo próprio, de familiares, trocavam entre eles, doavam para necessitados e também comercializavam o excedente, conforme constatado em entrevista aos responsáveis pelas hortas.

A horta A fazia o controle de pragas manualmente ou utilizando extrato de mamona, conforme demonstrado na tabela 1. O extrato de mamona era produzido a partir de um macerado das folhas da planta com água, e o filtrado era pulverizado sobre as hortaliças. Esse extrato é utilizado em hortas orgânicas como agente protetor contra nematóide, na proporção de 1 Kg de folhas para 5 litros de água (Barbosa, Silva, & Carvalho, 2006). As hortas B, C, D, E e F utilizavam defensivos agrícolas químicos, porém os trabalhadores não souberam informar qual o tipo. Esses produtos têm funções variadas conforme o grupo químico que pertencem, combatendo bactérias, fungos, moluscos, nematóides, insetos e até roedores (Peres, Moreira, & Dubois, 2003). Dessa forma, a utilização de extrato ou de defensivos químicos, podem



ter contribuído para que 100% das amostras vegetais fossem negativas para helmintos nematóides.

**Tabela 1:** Dados epidemiológicos e endoparasitológicos de hortas comunitárias de Araçatuba-SP, 2019.

	PROPRIÉDADES					
	A	B	C	D	E	F
<b>Localização</b>	Urbana	Urbana	Urbana	Urbana	Urbana	Urbana
<b>Água</b>	tratada	tratada	tratada	tratada	poço	tratada
<b>Esgoto</b>	Banheiro próximo	Banheiro próximo	Banheiro Local	Banheiro próximo	Banheiro Local	Banheiro próximo
<b>Limite área</b>	Alambrado	Muro	Cerca	Alambrado	Cerca	Alambrado
<b>Cobertura</b>	Sombrite	-	-	-	-	-
<b>Animais visitantes</b>	Pássaros	Pássaros	Pássaros e Gambás	Pássaros	Pássaros, Galinhas e Gambás	Pássaros
<b>Adubo</b>	Esterco, Extrato de Tírica	1*- Químico; 2*- Químico e Est. de boi; 3*- Est. de boi; 4*- Est. de boi.	Esterco de frango e boi	Esterco de frango e boi	Esterco de boi	Esterco de boi, pó de serra e folhas secas.
<b>Coliformes totais</b>	ÁGUA	-	+	-	+	-
<b><i>E. coli</i></b>	ÁGUA	-	-	-	-	-
<b>Helmintos</b>	HORTALIÇAS	-	-	-	-	-
<b><i>T. gondii</i>, <i>Cryptosporidium</i> <i>spp.</i> e <i>G. intestinalis</i></b>	ÁGUA	-	-	-	-	-
	FERTILIZANTE	-	-	-	-	-
	HORTALIÇAS	-	-	-	-	-
	SOLO	-	-	-	-	-

\*canteiro

As amostras de água, solo, adubo e hortaliças, apresentaram ausência para *Cryptosporidium* spp, *Giardia intestinalis* e *Toxoplasma gondii* (Tabela 1).

A horta E utilizava água de poço para irrigação, enquanto as outras utilizavam a água de abastecimento público (Tabela 1). Alguns estudos encontraram contaminações em águas de poços artesianos por microrganismos, porém é preciso considerar a possibilidade de interferência de vários fatores, como a diversidade de paisagens, fatores climáticos, manejo de animais e resíduos nos locais de estudo (Spilki et al., 2013). Embora o *Cryptosporidium* spp. não seja atingido pelos métodos convencionais de tratamento da água (Rose, Huffman, & Gennaccaro, 2002), a

Organização Mundial de Saúde considera que a água tratada é a melhor forma de reduzir microrganismos (Organização Pan Americana de Saúde, 2001).

Estudos prévios demonstraram que há maior risco de contaminação por *T. gondii*, *Cryptosporidium spp.* e *Giardia spp.*, quando utiliza-se na irrigação água oriunda de mina e rio (Ferreira et al., 2018).

As propriedades E e C (33,4%) possuíam banheiro (Tabela 1), nas outras os trabalhadores moravam nas proximidades, utilizando o banheiro de suas casas. A ausência de fossa e presença de uma rede de esgoto adequada, contribuem para que não ocorra a contaminação de poços artesianos (Stukel et al., 1990). A forma de destino dos esgotos é de extrema importância, para que as fezes não contaminem o solo e a fonte de água de irrigação (Newell et al., 2010; Tiyo et al., 2015).

As hortas estavam localizadas no espaço urbano e eram fechadas por muros, alambrados ou cercas, o que diminuía a invasão por animais, assim, apenas nas que eram limitadas por cerca (C, E), 33,4%, apareciam teiús, gambás e galinhas, 83,4% (A, B, C, D, E e F) eram visitadas por pombas e outros pássaros e 16,4% (A) (Tabela 1) tinha o acesso muito restrito porque era cercada de alambrado e coberta por sombrite vermelha.

Um estudo realizado no Paraná- Brasil (Ferreira et al., 2018), detectou a presença de aves silvestres, cães, gatos, cavalos e gado, porém, relacionou a positividade para *T. gondii* em amostras vegetais, à presença de gatos em três das seis (3/6) propriedades positivas, sugerindo contaminação direta de vegetais por hospedeiros definitivos nessas propriedades (Frenkel, Dubey & Miller, 1970), e que as hortas sem gatos (3/6), a fonte de água de irrigação do rio pode ter influenciado a contaminação devido ao fluxo durante as chuvas, quando o rio recebe vários patógenos fecais de animais domésticos e selvagens (Wells et al., 2015). Além disso, a positividade para *Cryptosporidium spp.* foi relacionada à presença de cervídeos, explicado pela contaminação ambiental pela água drenada (Ferreira et al., 2018).

A propriedade A, adubava com esterco de boi curtido e extrato de tiririca. A propriedade B possuía quatro tipos de adubação, sendo um canteiro com adubo químico, outro combinava o químico com esterco de boi curtido, outro com esterco de boi curtido, por último, um com esterco de boi e de carneiro curtidos. Cama de frango e esterco bovino foram utilizados nas propriedades C e D. A propriedade E utilizava apenas esterco bovino curtido e a F, misturava esse com pó de serra e folhas secas (Tabela 1). *Cryptosporidium spp.* e *Giardia spp.* podem ser transmitidos de fontes não

humanas, como uso de esterco para fertilizar hortas, devido a positividade já descrita desses parasitos em fezes de gado ( Toledo et al., 2017), porém, o presente estudo não apresentou positividade para protozoários nas amostras de hortaliças, adubos e solo. Em estudo no Paraná, Brasil (Ferreira et al., 2018), o tipo de adubo não teve associação estatística com positividade por *Cryptosporidium* spp. nos vegetais. Porém em um estudo realizado em Florianópolis- SC, encontrou em hortaliças de supermercados e sacolões, a presença de ovos de *Trichostrongylus* spp, um parasito de ruminantes e pouco comum em humanos (Soares & Cantos, 2006). Em Cuiabá-MT, também foram encontrados protozoários e helmintos em alfaces comercializadas em supermercados, o que reforça a necessidade de cuidados domésticos no preparo e consumo dos alimentos (Alves, Neto, & Rossignoli, 2013).

Coliformes totais foram presentes nas águas de irrigação, em 33, 3% (2/6) das propriedades e 100% foram negativas para *E. coli* (Tabela 1). Esta bactéria é a principal espécie do grupo dos coliformes, cujo habitat exclusivo é o intestino (BRASIL, 2005), e sua presença em água ou alimentos é indicativa de contaminação fecal (Allende & Monaghan, 2015), sendo uma das principais causadoras de diarreia, provocando quase dois milhões de mortes, principalmente de crianças, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS). Assim, sua presença em meios aquáticos provoca preocupação à Saúde Pública urbana (Trabulsi, Keller, & Tardelli Gomes, 2002).

Estudos associam a presença de parasitos como *G. intestinalis* e *Cryptosporidium* spp. à presença de *Escherichia coli* (Toledo et al., 2017). O que corrobora com o presente trabalho, que também não encontrou positividade para os três em amostras de água de irrigação.

Em relação à análise por PCR em água, solo, adubo e hortaliças para *Cryptosporidium* spp., *G. intestinalis*, *T. gondii*, 100% (42/42) das amostras foram negativas (Tabela 1).

## 2.6 CONCLUSÃO

Nós observamos que em condições adequadas de manejo ambiental, não foram detectados patógenos nas hortas comunitária deste estudo.

## 2.7 REFERÊNCIAS

- Ahmed, I., Roy, B., Khan, S., Septer, S., & Umar, S. (2016). Microbiome, Metabolome and Inflammatory Bowel Disease. *Microorganisms*, 4(2), 20. <https://doi.org/10.3390/microorganisms4020020>
- Allende, A., & Monaghan, J. (2015). Irrigation water quality for leafy crops: A perspective of risks and potential solutions. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(7), 7457–7477. <https://doi.org/10.3390/ijerph120707457>
- Almeida, A. J., Lima, V. S., Rodrigues, A. B. F., & Filippo, P. A. Di. (2013). Contamination with *Cryptosporidium* spp. in manure used as fertilizer in urban gardens. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 108(585–586), 23–27. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.05.051>
- Alves, A. S., Neto, A. C., & Rossignoli, P. A. (2013). Parasitos em alface-crespa (*Lactuca sativa* L.), de plantio convencional, comercializada em supermercados de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. *Revista de Patologia Tropical*, 42(2), 217–229. <https://doi.org/10.5216/rpt.v42i2.25529>
- Amahmid, O., Asmama, S., & Bouhoum, K. (1999). The effect of waste water reuse in irrigation on the contamination level of food crops by *Giardia* cysts and *Ascaris* eggs. *International Journal of Food Microbiology*, 49(1–2), 19–26. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00058-6](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00058-6)
- Antunes, L., Vieira, J. N., Pereira, C. P., Guerch Gindri de Bastos, C., Saggin Nagel, A., & Marreiro Villela, M. (2013). Parasitos em hortaliças comercializadas no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, 12(1), 45. <https://doi.org/10.9771/cmbio.v12i1.6543>
- Barbosa, F. R., Silva, C. S. B. da, & Carvalho, G. K. de L. (2006). Uso de Inseticidas Alternativos no Controle de Pragas Agrícolas. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- Embrapa Semi-Árido. Petrolina: Brasil. Retrieved from <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/133909/uso-de-inseticidas-alternativos-no-controle-de-pragas-agricolas>
- Branco, N., Leal, D. A. G., & Franco, R. M. B. (2012). A parasitological survey of natural water springs and inhabitants of a tourist city in Southeastern Brazil. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 12(5), 410–417. <https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0679>
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Circular técnica 134: Qualidade e segurança sanitária da água para fins de irrigação. Brasília, DF, 2014. 20p.
- Brasil. Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde, Departamento de Saúde Ambiental, Coordenação de Controle da Qualidade da Água. Manual prático de análise de água. 4. ed. Brasília: FUNASA; 2013.
- Chaidez, C., Soto, M., Gortares, P., & Mena, K. (2005). Occurrence of *Cryptosporidium*

and Giardia in irrigation water and its impact on the fresh produce industry. *International Journal of Environmental Health Research*, 15(5), 339–345. <https://doi.org/10.1080/09603120500289010>

- Checkley, W., White, C., Jaganath, D., Arrowood, M. J., Chalmers, R. M., Chen, X. M., Fayer, R., Griffiths, J. K., Guerrant, R. L., Hedstrom, L., Huston, C. D., Kotloff, K. L., Gagandeep, K., Mead, J. R., Miller, M., Petri, W. A., Priest, J. W., Roos, D. S., Boris, Striepen, R. C.,... Houpt, E. R. (2015) A review of the global burden, novel diagnostics, therapeutics, and vaccine targets for *Cryptosporidium*. *The Lancet Infectious Diseases*, 15(1), 85–94. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70772-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70772-8)
- Coelho, L. M. D. P. da S., Oliveira, S. M. de, Milman, M. H. de S. A., Karasawa, K. A., & Santos, R. de P. (2001). Detecção de formas transmissíveis de enteroparasitas na água e nas hortaliças consumidas em comunidades escolares de Sorocaba, São Paulo, Brasil. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 34(5), 479–482. <https://doi.org/10.1590/s0037-86822001000500012>
- Cook, A. J., Gilbert, R. E., Buffolano, W., Zufferey, J., Petersen, E., Jenum, P. A., Foulon, W., Semprini, A. E., & Dunn, D. T. (2000). Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 321(7254), 142–147. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10894691> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC27431>
- Coklin, T., Farber, J., Parrington, L., & Dixon, B. (2007). Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in dairy cattle in Ontario, Canada. *Veterinary Parasitology*, 150(4), 297–305. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.09.014>
- Dixon, B. R. (2016). Parasitic illnesses associated with the consumption of fresh produce - an emerging issue in developed countries. *Current Opinion in Food Science*, 8, 104–109. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2016.04.009>
- Elmore, S. A., Jones, J. L., Conrad, P. A., Patton, S., Lindsay, D. S., & Dubey, J. P. (2010). *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. *Trends in Parasitology*, 26(4), 190–196. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2010.01.009>
- Ferreira, C., Gregório, E., Costa, J., Paula, R., Neta, H., & Fontes, M. (2016). Análise de coliformes termotolerantes e *Salmonella* sp. em hortaliças minimamente processadas comercializadas em Belo Horizonte - MG. *HU Rev*, 42(4), 307–313. <https://hurevista.ufjf.emnuvens.com.br/hurevista/article/view/2588/907>
- Ferreira, F. P., Caldart, E. T., Freire, R. L., Mitsuka-Breganó, R., de Freitas, F. M., Miura, A. C., Mareze, M., Martins, F. D. C., Urbano, M. R., Seifert, A. L., & Navarro, I. T. (2018). The effect of water source and soil supplementation on parasite contamination in organic vegetable gardens. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 27(3), 327–337. <https://doi.org/10.1590/s1984-296120180050>

- Frenkel, J. K., Dubey, J. P., & Miller, N. L. (1970) *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science*, 167(3919), 893-896. <http://dx.doi.org/10.1126/science.167.3919.893>. PMID:4903651.
- Frias, A. A. T., Silva, J. B. da, & Tozato, H. D. C. (2012). Ocorrência de ovos de helmintos em hortaliças comercializadas na cidade de Apucarana (PR). *Semina: Ciências Biológicas e Da Saúde*, 33(1), 35–42. <https://doi.org/10.5433/1679-0367.2012v33n1p35>
- Gupta, N., Khan, D. K., & Santra, S. C. (2009). Prevalence of intestinal helminth eggs on vegetables grown in wastewater-irrigated areas of Titagarh, West Bengal, India. *Food Control*, 20(10), 942–945. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.02.003>
- Homan, W. L., Vercammen, M., De Braekeleer, J., Verschueren, H. (2000). Identification of a 200- to 300-fold repetitive 529 bp DNA fragment in *Toxoplasma gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR. *International Journal for Parasitology*, 30(1), 69-75. [https://doi.org/10.1016/s0020-7519\(99\)00170-8](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(99)00170-8)
- Huang, D. B., & White, A. C. (2006). An Updated Review on *Cryptosporidium* and *Giardia*. *Gastroenterology Clinics of North America*, 35(2), 291–314. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2006.03.006>
- Newell, D. G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara-Kane, A., Sprong, H., Opsteegh, M., Langelaar, M., Threlfall, J., Scheutz, F., der Giessen, J. van, & Kruse, H. (2010). Food-borne diseases - The challenges of 20years ago still persist while new ones continue to emerge. *International Journal of Food Microbiology*, 139(SUPPL. 1), S3–S15. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.01.021>
- Ojha, S. C., Jaide, C., Jinawath, N., Rotjanapan, P., & Baral, P. (2014). Geohelminths: Public health significance. *Journal of Infection in Developing Countries*, 8(1), 5–16. <https://doi.org/10.3855/jidc.3183>
- Organização Pan Americana de Saúde. (2001). Água e Saúde. Disponível em: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_docman&view=download&alias=203-agua-e-saude-3&category\\_slug=saude-e-ambiente-707&Itemid=965](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_docman&view=download&alias=203-agua-e-saude-3&category_slug=saude-e-ambiente-707&Itemid=965). Acesso em: 01/01/2020.
- Peres, F., Moreira, J. C., & Dubois, G. S. (2003). Agrotóxicos, saúde e ambiente: uma introdução ao tema. *Agrotóxicos, Saúde e Ambiente*, 5(Nrr 5), 21–41.
- Robertson, L. J., & Gjerde, B. (2000). Isolation and enumeration of *Giardia* cysts, *Cryptosporidium* oocysts, and *Ascaris* eggs from fruits and vegetables. *Journal of Food Protection*, 63(6), 775–778. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.6.775>
- Rogawski, E. T., Bartelt, L. A., Platts-Mills, J. A., Seidman, J. C., Samie, A., Havt, A., Babji, S., Trigoso, D. R., Qureshi, S., Shakoor, S., Haque, R., Mduma, E., Bajracharya, S., Gaffar, S. M. A., Lima, A. A. M., Kang, G., Kosek, M. N., Ahmed, T., Svensen, E., ... Bessong, P. O. (2017). Determinants and impact of *Giardia*

- infection in the first 2 years of life in the MAL-ED birth cohort. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 6(2), 153–160. <https://doi.org/10.1093/jpids/piw082>
- Rose, J. B., Huffman, D. E., & Gennaccaro, A. (2002). Risk and control of waterborne cryptosporidiosis. *FEMS Microbiology Reviews*, 26(2), 113–123. [https://doi.org/10.1016/S0168-6445\(02\)00090-6](https://doi.org/10.1016/S0168-6445(02)00090-6)
- Scherer, K., Granada, C. E., Stülp, S., Sperotto, R. A., Scherer, K., Granada, C. E., Stülp, S., & Sperotto, R. A. (2016). Avaliação bacteriológica e físico-química de águas de irrigação, solo e alface (*Lactuca sativa* L.). *Ambiente e Agua - An Interdisciplinary Journal of Applied Science*, 11(3), 665. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1829>
- Silva, C. G. M. da, Andrade, S. A. C., & Stamford, T. L. M. (2005). Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. e outros parasitas em hortaliças consumidas in natura, no Recife. *Ciência & Saúde Coletiva*, 10(suppl), 63–69. <https://doi.org/10.1590/S1413-81232005000500009>
- Silva, M. R. P., Pinheiro, F. C., De Paula, M. T., & Prigol, M. (2015). Avaliação parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em um município da Fronteira Oeste, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista de Patologia Tropical*, 44(2), 163–169. <https://doi.org/10.5216/rpt.v44i2.36646>
- Spilki, F. R., Luz, R. B. da, Fabres, R. B., Soliman, M. C., Kluge, M., Fleck, J. D., Rodrigues, M. T., Comerlato, J., Cenci, A., Cerva, C., Dasso, M. G., & Roehe, P. M. (2013). Detection of human adenovirus, rotavirus and enterovirus in water samples collected on dairy farms from Tenente Portela, Northwest of Rio Grande do Sul, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(3), 953–957. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000300046>
- Soares, B., & Cantos, G. A. (2006). Detecção de estruturas parasitárias em hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, SC, Brasil. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 42(3), 455–460. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322006000300015>
- Stukel, T. A., Greenberg, E. R., Dain, B. J., Reed, F. C., & Jacobs, N. J. (1990). A Longitudinal Study of Rainfall and Coliform Contamination in Small Community Drinking Water Supplies. *Environmental Science and Technology*, 24(4), 571–575. <https://doi.org/10.1021/es00074a610>
- Tiyo, R., Souza, C. Z. De, Nishi, L., Brustolin, C. F., Ratti, B. A., Falavigna Guilherme, A. L., Tiyo, R., Souza, C. Z. De, Nishi, L., Brustolin, C. F., Ratti, B. A., & Falavigna Guilherme, A. L. (2015). Water from different sources used for the irrigation of vegetables to be marketed: research on *Cryptosporidium* spp., *Giardia* spp., and coliforms in Parana, Brazil. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 57(4), 333–336. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652015000400010>
- Toledo, R. D. S., Martins, F. D. C., Ferreira, F. P., De Almeida, J. C., Ogawa, L., Dos Santos, H. L. E. P. L., Dos Santos, M. M., Pinheiro, F. A., Navarro, I. T., Garcia,

- J. L., & Freire, R. L. (2017). Cryptosporidium spp. And Giardia spp. In feces and water and the associated exposure factors on dairy farms. *PLoS ONE*, 12(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175311>
- Trabulsi, L. R., Keller, R., & Tardelli Gomes, T. A. (2002). Typical and atypical enteropathogenic Escherichia coli. *Emerging Infectious Diseases*, 8(5), 508–513. <https://doi.org/10.3201/eid0805.010385>
- Xiao, L., Escalante, L., Yang, C., Sulaiman, I., Escalante, A. A., Montali, R. J., Fayer, R., & Lal, A. A. (1999). Phylogenetic analysis of Cryptosporidium parasites based on the small- subunit rRNA gene locus. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(4), 1578–1583.
- Wells, B., Shaw, H., Hotchkiss, E., Gilray, J., Ayton, R., Green, J., Katzer, F., Wells, A., & Innes, E. (2015). Prevalence, species identification and genotyping Cryptosporidium from livestock and deer in a catchment in the Cairngorms with a history of a contaminated public water supply. *Parasites and Vectors*, 8(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0684->



## APÊNDICE 1- Ficha epidemiológica de hortas comunitárias do município de Araçatuba-SP, 2019.

Data da Entrevista: ____/____/____	
Material coletado:	
<input type="checkbox"/>	1 Hortaliças _____/_____
<input type="checkbox"/>	2 Água (microbiológico)
<input type="checkbox"/>	3 Água (parasitológico)
<input type="checkbox"/>	4 Adubo: _____
<input type="checkbox"/>	5 Solo
Iniciais do Entrevistador: ____ _	
Endereço: _____	
Cidade: _____	
Destino final da Produção:	
<input type="checkbox"/>	1 Consumo próprio
<input type="checkbox"/>	2 Venda
<input type="checkbox"/>	3 Distribuição para comunidade
Local da Horta:	
<input type="checkbox"/>	1 Urbano
<input type="checkbox"/>	2 Rural
Tipo de Cultivo:	
<input type="checkbox"/>	1 Orgânico
<input type="checkbox"/>	2 Convencional
Tipo de Adubação:	
<input type="checkbox"/>	1 Química
<input type="checkbox"/>	2 Orgânica
<input type="checkbox"/>	3 Mista

## Base do Adubo:

- |   |                              |
|---|------------------------------|
| 1 | Esterco bovino/ovino/caprino |
| 2 | Cama de frango               |
| 3 | Esterco suíno                |
| 4 | Resto de alimentos           |
| 5 | Outros _____                 |

## Produção do Adubo:

- |   |           |
|---|-----------|
| 1 | Comercial |
| 2 | Própria   |

## Se produção própria

## Tipo de Curtimento

- |   |                 |
|---|-----------------|
| 1 | Compostagem     |
| 2 | Esterco curtido |
| 3 | Esterco fresco  |

## Se produção própria

## Tempo de Curtimento

- |   |                  |
|---|------------------|
| 1 | Menos de 30 dias |
| 2 | 30 dias          |
| 3 | 60 dias          |
| 4 | 90 dias          |
| 5 | Mais de 90 dias  |

## Frequência de Adubação

- |   |           |
|---|-----------|
| 1 | Semanal   |
| 2 | Quinzenal |
| 3 | Mensal    |
| 4 | Bimestral |
| 5 | Semestral |

Conrole de Pragas

- |   |          |
|---|----------|
| 1 | Sim      |
| 2 | Não      |
| 3 | Não sabe |

Se controle de pragas

Tipo de Controle de Pragas

- |   |                      |
|---|----------------------|
| 1 | Urina de vaca        |
| 2 | Fumo                 |
| 3 | Químico _____        |
| 4 | Outro Controle _____ |

Origem da Água usada na irrigação

- |   |                            |
|---|----------------------------|
| 1 | Água abastecimento público |
| 2 | Mina desprotegida          |
| 3 | Mina protegida             |
| 4 | Rio                        |
| 5 | Poço artesiano superficial |
| 6 | Poço artesiano profundo    |
| 7 | Outra fonte _____          |

A água irrigada é clorada:

- |   |          |
|---|----------|
| 1 | Sim      |
| 2 | Não      |
| 3 | Não sabe |

Presença de animais domésticos na propriedade:

- |   |                  |
|---|------------------|
| 1 | Ruminantes _____ |
| 2 | Cães             |
| 3 | Gatos            |
| 4 | Galinha          |
| 5 | Porco            |
| 6 | Cavalo           |
| 7 | Outros _____     |

Presença de animais sinantrópicos na propriedade:

- |   |         |
|---|---------|
| 1 | Ratos   |
| 2 | Pombos  |
| 3 | Pardais |
| 4 | Gambás  |

Presença de animais silvestres na propriedade:

- |   |                     |
|---|---------------------|
| 1 | Cervídeos           |
| 2 | Capivaras           |
| 3 | Lebres              |
| 4 | Felídeos silvestres |
| 5 | Canídeos silvestres |
| 6 | Roedores silvestres |
| 7 | Outros _____        |

Alguns dos animais têm acesso à horta:

- |   |          |
|---|----------|
| 1 | Sim      |
| 2 | Não      |
| 3 | Não sabe |

Se algum animal tem acesso à horta

Quais animais têm acesso à horta:

Animais domésticos \_\_\_\_\_

Animais sinantrópicos \_\_\_\_\_

Animais silvestres \_\_\_\_\_

Banheiro mais próximo à horta

- |   |                           |
|---|---------------------------|
| 1 | Dentro da edificação      |
| 2 | Fora da edificação        |
| 3 | Não há banheiros próximos |

Se há banheiros

Características do banheiro:

- |   |                         |
|---|-------------------------|
| 1 | Com vaso sanitário      |
| 2 | Sem vaso sanitário      |
| 3 | Com pia e água encanada |
| 4 | Sem pia e água encanada |

Se há banheiros

Destino do esgoto:

- |   |                |
|---|----------------|
| 1 | Fossa séptica  |
| 2 | Fossa seca     |
| 3 | Esgoto público |
| 4 | Outro _____    |

## APÊNDICE 2- REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO GERAL

- ACKERS, M. L. et al. An outbreak of Escherichia coli O157:H7 infections associated with leaf lettuce consumption. **7e Journal of Infectious Diseases**, v. 177, n. 6, p. 1588–1593, 1998.
- ADAM, E. A. et al. Giardiasis outbreaks in the United States, 1971–2011. **HHS Public Access**, v. 144, n. 13, p. 2790–2801, 2016.
- ALMEIDA FILHO, Pedro Costa de. *Avaliação das condições ambientais e higiênic-sanitárias na produção de hortaliças folhosas no núcleo hortícola suburbano de Vargem Bonita, Distrito Federal*. 2008. 103f. *Dissertação (Mestrado em Planejamento e Gestão Ambiental)* - Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2008.
- AZCONA-GUTIÉRREZ, J. M. et al. Molecular diversity and frequency of the diarrheagenic enteric protozoan Giardia duodenalis and Cryptosporidium spp. in a hospital setting in Northern Spain. **PLoS ONE**, v. 12, n. 6, p. 1–21, 2017.
- BERGER, C. N. et al. Interaction of enteroaggregative Escherichia coli with salad leaves. **Environmental Microbiology Reports**, v. 1, n. 4, p. 234–239, 2009.
- BOOTHROYD, J. C.; GRIGG, M. E. Population biology of Toxoplasma gondii and its relevance to human infection: Do different strains cause different disease? **Current Opinion in Microbiology**, v. 5, n. 4, p. 438–442, 2002.
- BRASIL. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. **Normas técnicas especiais**. n. 12. São Paulo: CNNPA/ANVISA; 1978.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Circular técnica 134**: Qualidade e segurança sanitária da água para fins de irrigação. Brasília, DF, 2014. 20p.
- CARLIER, Y. et al. Congenital parasitic infections: A review. **Acta Tropica**, v. 121, n. 2, p. 55–70, 2012.
- CARRUTHERS, V. B. Host cell invasion by the opportunistic pathogen Toxoplasma gondii. **Acta Tropica**, v. 81, n. 2, p. 111–122, 2002.
- COSTA, C. G. A. et al. Hortas comunitárias como atividade promotora de saúde: uma experiência em Unidades Básicas de Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 20, n. 10, p. 3099–3110, out. 2015.
- COUTINHO, M. N.; COSTA, H. S. M. Agricultura urbana: prática espontânea, política pública e transformação de saberes rurais na cidade. **Geografias \artigos Científicos**, v. 07, n. 2, p. 81–97, 2011.
- CROXEN, M. A., R. et al. Recent advances in understanding enteric pathogenic Escherichia coli. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 822–880, 2013.

DINU, L.D.; BACH, S. Induction of viable but nonculturable *Escherichia coli* O157:H7 in the phyllosphere of lettuce: a food safety risk factor. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 23, p. 8295–8302, 2011.

DUTRA, L. H et al. Investigação de surto de toxoplasmose transmitido pelo consumo de açaí em Rondônia, Brasil, 2011. Anais da 12ª EXPOEPI: mostra nacional de experiências bem-sucedidas em epidemiologia, prevenção e controle de doenças; 2012 nov 16-19; Brasília, Brasil. Brasília (DF): Ministério da Saúde; p. 108-109, 2012.

FERREIRA, F. P. et al. The effect of water source and soil supplementation on parasite contamination in organic vegetable gardens. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, n. 3, p. 327–337, 2018.

FERREIRA, F. P. et al. Patterns of Transmission and Sources of Infection in Outbreaks of Human Toxoplasmosis. **Emerging Infectious Diseases**, v. 25, n.12, p. 2177–2182, 2019.

FIGUEIRÓ-FILHO, E. A. et al. Toxoplasmose aguda: revisão de métodos diagnósticos baseada em evidências e proposta de protocolo de seguimento durante a gestação. **Femina**, v. 35, n. 111, p. 723–729, 2007.

FLETCHER, S. M. et al. Enteric protozoa in the developed world: A public health perspective. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 3, p. 420–449, 2012.

FRANZ, E. et al. Quantification of contamination of lettuce by GFP-expressing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. **Food Microbiology**, v. 24, n. 1, p. 106–112, 2007.

FRENKEL, J. K. Toxoplasmose. Tratado de infectologia. 2ª ed. São Paulo: Atheneu, 1996.

FRIAS, A. A. T.; SILVA, J. B. DA; TOZATO, H. D. C. Ocorrência de ovos de helmintos em hortaliças comercializadas na cidade de Apucarana (PR). **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 33, n. 1, p. 35–42, 2012.

FURTADO, J. M. et al. Toxoplasmosis: A global threat. **Journal of Global Infectious Diseases**, v. 3, n. 3, p. 281–284, 2011.

GILBERT, R. E. et al. Incidence of symptomatic toxoplasma eve disease: Aetiology and public health implications. **Epidemiology and Infection**, v. 123, n. 2, p. 283–289, 1999.

GOODBURN, C.; WALLACE, C. A. The microbiological efficacy of decontamination methodologies for fresh produce: a review. **Food Control**, v. 32, n. 2, p. 418–427, 2013.

HALLIEZ, M. C. M.; BURET, A. G. Extra-intestinal and long term consequences of *Giardia duodenalis* infections. **World Journal of Gastroenterology**, v. 19, n. 47, p. 8974–8985, 2013.

HOLLAND, G. N. Reconsidering the Pathogenesis of Ocular Toxoplasmosis. v. 9394, n. 99, 1999.

INSTAN, L. P. et al. a Viabilidade De Hortas Comunitárias Como Unidade. v. 3, p. 80–92, 2015.

JABLASON, J.; WARRINER, K.; GRIFFITHS, M. Interactions of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* plants cultivated in a gnotobiotic system. **International Journal of Food Microbiology**, v. 99, n. 1, p. 7–18, 2005.

JAY-RUSSELL, M. T. et al. Prevalence and characterization of *Escherichia coli* and *Salmonella* strains isolated from stray dog and coyote feces in a major leafy greens production region at the United States-Mexico border. **PLoS One**, v. 9, n. 11, 2014.

KIM, K.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: The model apicomplexan. **International Journal for Parasitology**, v. 34, n. 3, p. 423–432, 2004. KIM, K.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: The model apicomplexan. **International Journal for Parasitology**, v. 34, n. 3, p. 423–432, 2004.

KOTLOFF, K. L. et al. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the Global Enteric Multicenter Study, GEMS): A prospective, case-control study. **The Lancet**, v. 382, n. 9888, p. 209–222, 2013.

LUNA-GUEVARA, M. L. et al. Phenolic Compounds: A Good Choice Against Chronic Degenerative Diseases. **Studies in Natural Products Chemistry**, v. 59, p. 79–108, 2018.

MORAIS, R. A. P. B. et al. Surto de toxoplasmose aguda no Município de Ponta de Pedras, Arquipélago do Marajó, Estado do Pará, Brasil: características clínicas, laboratoriais e epidemiológicas. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 7, n. esp, p. 143–152, 2016.

MOURA, L. et al. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 2, p. 326–329, 2006.

ROBERT-GANGNEUX, F. et al. The placenta: A main role in congenital toxoplasmosis? **Trends in Parasitology**, v. 27, n. 12, p. 530–536, 2011.

SANTANDREU, A.; LOVO I. C. Panorama da agricultura urbana e periurbana no Brasil e diretrizes políticas para sua promoção. **Rede de Intercâmbio de Tecnologias Alternativas**. Belo Horizonte: 2007.

SARTORI, A. L. et al. Triagem pré-natal para toxoplasmose e fatores associados à soropositividade de gestantes em Goiânia, Goiás. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 33, n. 2, p. 93–98, fev. 2011.

SILVA, C. G. M. DA; ANDRADE, S. A. C.; STAMFORD, T. L. M. Ocorrência de *Cryptosporidium* spp. e outros parasitas em hortaliças consumidas *in natura*, no Recife. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 10, n. suppl, p. 63–69, dez. 2005.



SILVA, M. R. P. et al. AVALIAÇÃO PARASITOLÓGICA DE ALFACES (*Lactuca sativa*) COMERCIALIZADAS EM UM MUNICÍPIO DA FRONTEIRA OESTE, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL. **Revista de Patologia Tropical**, v. 44, n. 2, p. 163–169, 2015.

SOARES, B.; CANTOS, G. A. Detecção de estruturas parasitárias em hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, SC, Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 3, p. 455–460, set. 2006.

VIEIRA, Paulo Pennaforte. *Caracterização do projeto agricultura urbana "Horta Comunitária Portal I" acompanhado pelo CEPAGRO em Itajaí (SC)*. 2009. 52f. *Trabalho de Conclusão de Curso*, Graduação em Agronomia- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal e Santa Catarina, Florianópolis, 2009. Disponível em <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/120353/271843.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em 15 de dezembro de 2020.

WAKEFIELD, D. et al. Controversies in ocular toxoplasmosis. **Ocular Immunology and Inflammation**, v. 19, n. 1, p. 2–9, 2011.

WENDEL, A. M. et al. Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with consumption of packaged spinach, August-September 2006: the Wisconsin investigation. **Clinical Infectious Diseases**, v. 48, n. 8, p. 1079–1086, 2009.

WINFIELD, M. D.; GROISMAN, E. A. Role of nonhost environments in the lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 7, p. 3687–3694, 2003.

WHO. Preventive chemotherapy in human helminthiasis. Coordinated use of anthelmintic drugs in control interventions: a manual for health professionals and programme managers. **World Health Organization**. Geneva: 2006.

WHO. Guideline: preventive chemotherapy to control soil-transmitted helminth infections in at-risk population groups. **World Health Organization**. Geneva: 2017.

## APÊNDICE 3- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: **“INVESTIGAÇÃO PARASITOLÓGICA E MOLECULAR NA CADEIA PRODUTIVA DE HORTALIÇAS COMERCIALIZADAS E A RELAÇÃO COM A FONTE DE ÁGUA E SUPLEMENTAÇÃO DE SOLO”**

Nome do (a) Pesquisador (a): Denise Junqueira Matos

Nome do (a) Orientador (a): Katia Denise Saraiva Bresciani

1. **Natureza da pesquisa:** o(a) sr.(a) está sendo convidado (a) a participar desta pesquisa que tem como finalidade investigar a ocorrência de parasitos e bactérias em hortaliças, na água utilizada para irrigação, no solo e na suplementação de hortas comunitárias da Secretaria Municipal de Desenvolvimento Agroindustrial da Prefeitura de Araçatuba- SP, bem como determinar os fatores associados à contaminação dos vegetais
2. **Participantes da pesquisa:** O questionário epidemiológico será aplicado em cuidadores de 6 hortas comunitárias, as quais são cadastradas na prefeitura Municipla de Araçatuba.
3. **Envolvimento na pesquisa:** ao participar deste estudo o(a) sr.(a) permitirá que o (a) pesquisador (a) (...). O(a) sr.(a) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se recusar a continuar participando em qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo para o(a) sr.(a) (...). Sempre que quiser poderá pedir mais informações sobre a pesquisa através do telefone do (a) pesquisador (a) do projeto e, se necessário através do telefone do Comitê de Ética em Pesquisa.
4. **Sobre as entrevistas:** O cuidador da horta será abordado e receberá informações sobre o projeto e o convite de participação.
5. **Riscos e desconforto:** a participação nesta pesquisa não infringe as normas legais e éticas (especificar aqui possíveis riscos e desconfortos gerados durante a pesquisa). Osprocedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos Critérios da Ética em Pesquisa com Seres Humanos conforme Resolução nº. 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Nenhum dos procedimentos usados oferece riscos à sua dignidade.
6. **Confidencialidade:** todas as informações coletadas neste estudo são estritamente confidenciais. Somente o (a) pesquisador (a) e seu (sua) orientador

(a) (e/ou equipe de pesquisa) terão conhecimento de sua identidade e nos comprometemos a mantê-la em sigilo ao publicar os resultados dessa pesquisa.

7. **Benefícios:** ao participar desta pesquisa o(a) sr.(a) não terá nenhum benefício direto. Entretanto, esperamos que este estudo resulte em informações importantes sobre a relação entre os tipos de manejo e sua influencia na positividade de parasitos nas hortaliças, onde pesquisador se compromete a divulgar os resultados obtidos, respeitando-se o sigilo das informações coletadas, conforme previsto no item anterior.
8. **Pagamento:** o(a) sr.(a) não terá nenhum tipo de despesa para participar desta pesquisa, bem como nada será pago por sua participação.

Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para participar desta pesquisa. Portanto preencha, por favor, os itens que se seguem: Confiro que recebi via deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo.

Obs: Não assine esse termo se ainda tiver dúvida a respeito.

### **Consentimento Livre e Esclarecido**

Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida, manifesto meu consentimento em participar da pesquisa.

\_\_\_\_\_  
Nome do Participante da Pesquisa

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Participante da Pesquisa

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Pesquisador

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Orientador

**Pesquisador(a): NOME E O TELEFONE PARA CONTATO**

**Orientador(a): NOME E O TELEFONE PARA CONTATO**

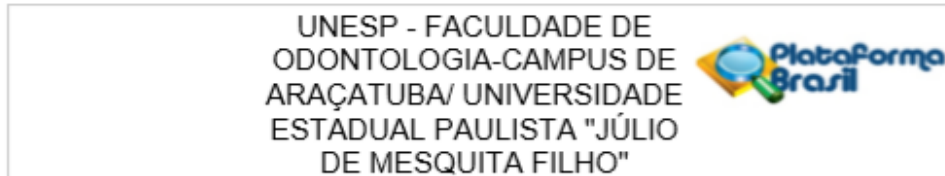
**Coordenador(a) do Comitê de Ética em Pesquisa: Prof. Dr. Aldiéres Alves Pesqueira**

**Vice-Coodenador(a): Profa. Dra. Cristiane Duque**

**Telefone do Comitê: (18) 3636-3234**

**E-mail [cep@foa.unesp.br](mailto:cep@foa.unesp.br)**

## ANEXO 1- Ofício de aprovação do comitê de ética em pesquisa



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Investigação parasitológica molecular na cadeia produtiva de hortaliças comercializadas e a relação com a fonte de água e suplementação de solo.

**Pesquisador:** DENISE JUNQUEIRA MATOS

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 22498819.4.0000.5420

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA JULIO DE MESQUITA FILHO

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.649.193

#### Apresentação do Projeto:

Os índios que viviam no Brasil, antes mesmo de sua descoberta, já cultivavam hortaliças, como mandioca e palmito. Essa prática tornou-se maior e mais diversificada durante o período escravagista e com as diferentes colonizações. Assim, há uma preocupação em relação à qualidade dos alimentos in natura porque se não higienizadas de forma adequada, podem servir como fonte de transmissão de bacterioses, como Coliformes totais e fecais e Salmonella spp e parasitoses como Toxoplasma gondii, Cryptosporidium spp. e Giardia spp. A contaminação pode ocorrer durante o processo de cultivo, adubação, irrigação, coleta, transporte, armazenamento e comercialização. As condições de cultivo que envolvem a qualidade da água de irrigação, tipo de fertilizante, presença de animais na propriedade e contaminação direta dos trabalhadores da fazenda são os principais pontos de risco. Dessa forma, o trabalho tem como objetivo investigar a ocorrência de endoparasitos e bactérias em hortaliças, na água utilizada na irrigação, no solo e na suplementação de hortas comunitárias da Secretaria Municipal de Desenvolvimento Agroindustrial da Prefeitura de Araçatuba

<b>Endereço:</b> JOSE BONIFACIO 1193	<b>CEP:</b> 16.015-050
<b>Bairro:</b> VILA MENDONÇA	
<b>UF:</b> SP	<b>Município:</b> ARACATUBA
<b>Telefone:</b> (18)3636-3200	<b>Fax:</b> (18)3636-3332 <b>E-mail:</b> andrebertoz@foa.unesp.br

## ANEXO 2- Normas de Publicação da Revista

### Editorial standards for publishing in *Semina: Ciências Agrárias*, Universidade Estadual de Londrina (UEL)

**Articles can be submitted in Portuguese or English, but will only be published in English.** Articles that are submitted in Portuguese, if accepted for publication, will have to be **translated into English.**

#### **Presentation of the Work**

Complete original articles, communications, case reports, and reviews should be written in Portuguese or English using Microsoft Word for Windows, on A4-size paper, with lines numbered per page, 1.5 spacing between lines, Times New Roman font, size 11 normal, 2 cm margins on all sides, with pages numbered on the upper right corner and following the guidelines for the maximum number of pages according to the category of the work.

*Figures (drawings, graphics, and photographs) and tables* should be numbered with Arabic numerals, should be included at the end of the work immediately after the bibliographic references, and should be cited within the text. Also, the figures must be of good quality and must be attached in their original format (JPEG, TIFF, etc.) in Docs Sup on the submission page. Figures and tables will not be accepted if they do not comply with the following specifications: width of 8 cm or 16 cm with a maximum height of 22 cm. If the figure has greater dimensions, it will be reduced during the editorial process to the above-mentioned dimensions.

**Note:** Figures (Ex. **Figure 1.** Title) and tables (**Table 1.** Title) should have a width of 8 cm or 16 cm with a maximum height of 22 cm. Those with greater dimensions will be reduced during the editorial process to the above-mentioned dimensions. For any tables and figures that are not the author's original work, a citation to the source consulted is mandatory. Place this citation below the table or figure and indicate using a smaller font (Times New Roman 10).

Ex: "**Fonte**": IBGE (2017), or **Source**: IBGE (2017).

#### **Manuscript preparation**

##### **Scientific article:**

Scientific articles should report results of original research on the related areas, with the sections organized in the following way: Title in English; Title in Portuguese; Three to five Highlights; Abstract in English with keywords (maximum six words, in alphabetic order); Abstract in Portuguese with keywords (maximum six words, in alphabetical order); Introduction; Materials and Methods; Results and Discussion; Conclusions; Acknowledgements; Suppliers, if applicable; and Bibliographic References. The headings should be in boldface without numbering. If there is a need to include a subheading within a section, it should be placed in italics, and if there are further sub-topics to include under a sub-heading, these should be numbered with Arabic numerals. (Example: **Materials and Methods**, *Areas of study*, 1. *Rural area*, 2. *Urban area*.)

The submitted work cannot have been published elsewhere with the same content, except in the form of an Abstract in Scientific Events, Introductory Notes, or Reduced Format.

**The work should be presented in the following order:**

- 1. Title of the work**, accompanied by its translation in Portuguese, if appropriate.
- 2. Three or five highlights**, it consists result-oriented points that provide readers an overview of the main findings of your article. Each Highlight must be 85 characters or fewer.
- 3. Abstract and Keywords:** An informative abstract with a minimum of 200 words and a maximum of 400 words must be included, in the same language used in the text of the article, accompanied by an English translation (*Abstract and Keywords*) if the text has not been written in English.
- 4. Introduction:** The introduction must be concise and contain only the review that is strictly necessary to introduce the topic and support the methodology and discussion.
- 5. Materials and Methods:** This section may be presented in a continuous, descriptive way or with sub-headings to allow the reader to understand and be able to repeat the methodology cited with or without the support of bibliographic citations.
- 6. Results and Discussion:** *This section* must be presented clearly, with the aid of tables, graphs, and figures, so that it does not raise any questions for the reader concerning the authenticity of the results and points of view discussed.
- 7. Conclusions:** *These* must be clear and presented according to the objectives proposed in the work.
- 8. Acknowledgments:** People, institutions, and companies that contributed to the work should be mentioned at the end of the text, before the Bibliographic References section.

**Note:**

**Notes:** Each note regarding the body of the text must be indicated with a superscripted symbol immediately after the phrase it concerns and must be included as a footnote at the end of the page.

**Figures:** Should be inserted at the end of the article, one on each page, after the references. The figures that are deemed essential will be accepted and should be cited in the text by their numeric order, in Arabic numerals. If any submitted illustrations have already been published, the source and permission for publication should be stated.

**Tables:**

Should be inserted at the end of the article, one on each page, after the references. Tables should be accompanied by a header that will allow an understanding of the data collected without the need to use the body of the text for reference.

### Quantities, units, and symbols:

- a) Manuscripts should be in agreement with the criteria established in the International Codes for each subject area.
- b) Use the International System of Units in all text.
- c) Use the negative power format to note and present related units: e.g., kg ha<sup>-1</sup>. Do not use the forward-slash symbol to relate units: e.g., kg/ha.
- d) Use a simple space between units: g L<sup>-1</sup>, not g.L<sup>-1</sup> or gL<sup>-1</sup>.
- e) Use 24-hour time representation with four digits for the hours and minutes: 09h00, 18h30.

### 8. In-text author citations

The **APA** Rules use the author-date system for indirect citations, that is, the author's last name, comma, and year of publication. The page number is only entered when there is a direct citation. In this case, the surname of the cited author, comma, year, comma followed by "p." And the page number

When in the citations, the authors are outside the parentheses, always use "e" (Portuguese); "And" (English) and "y" (Spanish); to separate the penultimate from the last cited author. The "&" is always inserted between the penultimate and last author when cited in parentheses and references.

#### Citation:

**A Work by Two Authors:** Name both authors in the signal phrase or parentheses each time you cite the work. Use the word "and" between the authors' names within the text and use the ampersand in parentheses.

#### Ex:

The results by Wegener and Petty (1994) confirmed that...  
(Wegener & Petty, 1994)

**A Work by Three to Five Authors:** List all the authors in the signal phrase or parentheses the first time you cite the source. Use the word "and" between the authors' names within the text and use the ampersand in parentheses.

#### Ex:

Almeida, Parisi and Pereira (1999, p. 379)  
or Almeida, Parisi and Pereira (1999, pp. 372-373)  
or (Almeida, Parisi, & Pereira, 1999, p. 73)

Kernis, Cornell, Sun, Berry e Harlow (1993)  
(Kernis, Cornell, Sun, Berry, & Harlow, 1993)

In subsequent citations, only use the first author's last name followed by "et al." in the signal phrase or in parentheses.

(Kernis et al., 1993)

Example: **citation model with one, six or more authors**

**Figure 1**  
**Basic In-text Citation Styles**

Type of Citation	Signal Phrase		Parenthetical Reference	
	1 <sup>st</sup> Use of Source	Subsequent use of Source	1 <sup>st</sup> Use of Source	Subsequent use of Source
1-2 authors	Minosso and Toso (2019)	Minosso and Toso (2019)	(Minosso & Toso, 2019)	(Minosso & Toso, 2019)
3-5 authors	Lopes, Meier and Rodrigues (2019)	Lopes et al. (2019)	(Lopes, Meier, & Rodrigues, 2019)	(Lopes et al., 2019)
6 or more authors	Werner et al. (2017)	Werner et al. (2017)	(Werner et al., 2017)	(Werner et al., 2017)
Organization w/ identifiable abbreviation	Instituto Brasileiro de Ciência e Tecnologia (IBICT) (2018)	IBICT (2018)	(Instituto Brasileiro de Ciência e Tecnologia [IBICT], 2018)	(IBICT, 2018)
Organization w/o abbreviation	Simply Cats (2019)	Simply Cats (2019)	(Simply Cats, 2019)	(Simply Cats, 2019)



Two or More Works by the Same Author in the Same Year - use lower-case letters (a, b, c) with the year to order the entries in the reference list. Use the lower-case letters with the year in the in-text citation.

**Ex:** (Porter, 1999a, 1999b, 1999c)

Authors With the Same Last Name: To prevent confusion, use first initials with the last names.

(E. Johnson, 2001; L. Johnson, 1998)

Two or More Works by the Same Author with different publication dates. (Chronological order)

Ex: Segundo Porter (1986, 1991, 1999, 2000),

### Reference example:

**All the authors participating in a referenced study must be mentioned, regardless of the number of participants.**

### Article:

Berndt, T. J. (2002). Friendship quality and social development. *Current Directions in Psychological Science*, 11, 7-10.

**More Than one Author** - List by their last names and initials. Use the ampersand instead of "&."

Adair, J. G., & Vohra, N. (2003). The explosion of knowledge, references, and citations: Psychology's unique response to a crisis. *American Psychologist*, 58(1), 15–23. doi: 10.1037/0003-066X.58.1.15

Pereira, G.P, Sequinatto, I., Caten, A., & Mota, M. (2019). VIS-NIR spectral reflectance for discretization of soils with high sand content. *Semina: Ciências Agrárias*, 40(1),99-112. doi: 10.5433/1679-0359.2019v40n1p99

Wegener, D. T., & Petty, R. E. (1994). Mood management across affective states: The hedonic contingency hypothesis. *Journal of Personality and Social Psychology*, 66, 1034-1048. doi: 10.1037/0022-3514.66.6.1034

### Electronic Article:

Santos, C. P., & Fernandes, D. H. von der (2007). A recuperação de serviços e seu efeito na confiança e lealdade do cliente. *RAC-letrônica*, 1(3), 35-51. Retrieved from [http://anpad.org.br/periodicos/content/frame\\_base.php?revista=3](http://anpad.org.br/periodicos/content/frame_base.php?revista=3)

### Book

Kashdan, T., & Biswas-Diener, R. (2014). *The upside of your dark side*. New York, NY: Hudson Street Press.

### **Book Chapter**

Serviss, G. P. (1911). A trip of terror. In *A Columbus of space* (pp. 17-32). New York, NY: Appleton.

### **Electronic Book Chapter**

Shuhua, L. (2007). The Night of Midautumn Festival. In J. S. M. Lau & H. Goldblatt (Eds.), *The Columbia Anthology of Modern Chinese Literature* (pp. 95-102). New York, NY: Columbia University Press. Retrieved from <https://www.worldcat.org/title/columbia-anthology-of-modern-chinese-literature/oclc/608153696>

### **Annals/Proceedings**

Costa, E. R., & Boruchovitch, E. (2001). Entendendo as relações entre estratégias de aprendizagem e a ansiedade. *Anais da XXXI Reunião Anual de Psicologia* (p.203). Ribeirão Preto, SP: Sociedade Brasileira de Psicologia.

### **A printed thesis and/or dissertation**

Leon, M. E. (1998). *Uma análise de redes de cooperação das pequenas e médias empresas do setor das telecomunicações*. Dissertação de mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

### **Electronic thesis or dissertation**

Hirata, C. A. (2016). *Microbiologia agrícola, Microorganismos do solo, Fungos micorrízicos, Microorganismos fixadores de nitrogênio, Ecologia microbiana*. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR, Brasil. Retrieved from <http://www.bibliotecadigital.uel.br>

### **Organization as Author**

American Psychiatric Association. (1988). *DSM-III-R, Diagnostic and statistical manual of mental disorder* (3rd ed. rev.). Washington, DC: Author.

### **Law**

Lei n. 11.638, de 28 de setembro de 2007. Altera e revoga dispositivos da Lei n. 6.404, de 15 de dezembro de 1976, e da Lei n. 6.385, de 7 de dezembro de 1976, e estende às sociedades de grande porte disposições relativas à elaboração e divulgação de demonstrações financeiras. Retrieved from [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2007-2010/2007/lei/l11638.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/lei/l11638.htm)

The accuracy and adequacy of references for works that have been consulted and mentioned in the text of the article, as well as opinions, concepts, and statements, are entirely the responsibility of the authors.

**Note:** Consult recently published issues of *Semina: Ciências Agrárias* for more details about how to format references in the article.

The remaining categories of works (Scientific Communication and Review) must follow the above-mentioned standards but with the following additional directions for each category:

### **Scientific communication**

Scientific communications must be presented concisely but with a complete description of the term research or ongoing research (Introductory note), with complete bibliographic documentation and methodologies, similar to a regular scientific article. Scientific communications must contain the following sections: Title (in Portuguese and English); Abstract with Keywords in Portuguese; Abstract with Keywords in English; and Body of the text. The body of the text should not be divided into sections but should follow this sequence: introduction, methodology, results, and discussion (tables and figures may be included), conclusion, and bibliographic references.

### **Bibliographic review articles**

Review articles must involve relevant topics within the scope of the journal. The number of review articles per issue is limited, and authors can only write review articles of interest to the journal, following an invitation by the editorial board members of the journal. If a review article is submitted by an author, the inclusion of relevant results from the author or the group involved in the study is required, along with bibliographic references demonstrating experience and knowledge about the topic.

A review article must contain the following sections: Title (Portuguese and English); Abstract with Keywords in Portuguese; Abstract with Keywords in English; Development of the proposed topic (the text may be divided into sections, but this is not required); Conclusions or Final Considerations; Acknowledgements (if applicable); and Bibliographic References.

### **Other important information**

1. The publication of articles depends on the favorable opinion of ad hoc advisors and the approval of the *Semina: Ciências Agrárias* UEL Editorial Board.

2. Reprints will not be given to the authors since the issues will be available online at the journal's website (<http://www.uel.br/revistas/uel>).

3. Copyright transfer: The authors agree with the transfer of publication rights of the manuscript to the journal. The reproduction of the articles is only allowed when the source is cited. Commercial use of the information is forbidden.

4. Unforeseen questions about or problems in the present standards will be addressed by the Editorial Board of the subject area in which the article was submitted for publication.

5. *The number of authors:* There is no limit to the number of authors, but people included as co-authors should have effectively participated in the study. People with limited participation in the study or the article preparation should be cited in the Acknowledgements section, as should institutions that granted scholarships and other financial resources.

6. Include the ORCID of all authors approved for publication. The ORCID identifier can be obtained from the ORCID record. You must accept the standards for ID ORCID presentation and include the full URL (for example <http://orcid.org/0000-0002-1825-0097>).

### Submission conditions

As part of our submission process, the authors should verify that the submission conforms to all of the items listed below. Submissions that are not in compliance with the standards will be rejected and the authors informed about the decision.

1. The authors should state that the contribution is original and new and that it is not being assessed for publication elsewhere; any exception(s) should be justified in the “Comments to the Editor.”
2. The authors should also state that the material is correctly formatted and that the Supplementary Documents are attached, BEING AWARE that the **incorrect format will result in the SUSPENSION of the evaluation process WITHOUT EVALUATION OF MERIT.**
3. **Authoring data for all of the authors should be entered in the Metadata field during the submission process.**

Use the button “include author.”

1. **In the following step, please fill in the metadata in English.**

To include the data, after saving the submission data in Portuguese, click on “**edit metadata**” at the top of the page. Change the language to English and insert the title in English, the abstract, and keywords. Save and continue to the next step.

1. The **authorship identification** of the work should be removed from the archive and Word using the “Properties” option to ensure the anonymity criteria of the journal, in case the article is subjected to peer review, according to the directions available at Ensuring a blind peer review.
2. The files for submission should be in Word, OpenOffice, or RTF format (as long as they do not exceed 2 MB).

The text should be typed on A4 paper, with numbered lines, 1.5 line spacing, and Times New Roman size 11 font.

1. Confirm that all ethical standards were followed if the research was performed with living beings. Include proof documents of approval by an institutional ethics committee involving humans and/or an ethics committee involving animals, if these documents are requested.
2. **Include the payment of the Submission Fee, and attach the proof of payment as a supplementary document in “Docs. Sup.”**

## **Copyright Declaration**

The **Copyright Declaration** for articles published in this journal is the author's right. Since the articles published in this journal are open access, the articles may be used freely, with their attributions, for educational and non-commercial purposes.

The journal has the right to make changes on a normative, orthographic, and grammatical level in the original articles, to maintain proper standard use of the language and the credibility of the journal. Nevertheless, the writing style of the authors will be respected.

Alterations, corrections, or suggestions at a conceptual level, when necessary, will be directed to the authors.

The opinions expressed by the authors of the articles are their exclusive responsibility.

## **Privacy Policy**

The names and affiliations reported in this journal are used exclusively for the services provided and are not made available for any other purpose or to third parties.

**Semina: Ciências Agrárias**

Londrina - PR

ISSN 1676-546X

E-ISSN 1679-0359

[semina.agrarias@uel.br](mailto:semina.agrarias@uel.br)