

Universidade Brasil  
Campus de São Paulo

ALISSON DIAS BORGES

AVALIAÇÃO DE INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO MICROBIANA  
EM SOLOS TRATADOS COM ESTERCO DE AVES

ASSESSMENT OF CONTAMINATION ON SOIL MICROBIAL TREATED WITH  
POULTRY MANURE

São Paulo, SP  
2016

Alisson Dias Borges

AVALIAÇÃO DE INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO MICROBIANA  
EM SOLOS TRATADOS COM ESTERCO DE AVES

Orientadora: Profa. Dra. Dora Inés Kozusny-Andreani

Co-orientador: Prof. Dr. Roberto Andreani Junior

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Brasil, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de mestre em Ciências Ambientais.

São Paulo, SP

2016

## FICHA CATALOGRÁFICA

B73a Borges, Alisson Dias  
Avaliação de indicadores de contaminação microbiana em solos tratados com esterco de aves / Alisson Dias Borges. -- São Paulo, 2016.  
58 f. : il. ; 29,5cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Brasil, como complementação dos créditos necessários para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Dora Inés Kozusny-Andreani  
Co-orientador: Prof<sup>o</sup> Dr. Roberto Andreani Júnior

1. Coliformes. 2. Escherichia coli. 3. Salmonella spp.  
4. Resistência à antibióticos. 5. Horta. I.Título.

CDD 631.46

**Termo de Autorização**

**Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico na Página  
WWW do Respeetivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses  
da CAPES**

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no. 13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira.

A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

**Título do Trabalho: "AVALIAÇÃO DE INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO  
MICROBIANA EM SOLOS TRATADOS COM ESTERCOS DE AVES"**

Autor(es):

Discente: Alisson Dias Borges

Assinatura: 

Orientador: Dora Inés Kozusny-Andreani

Assinatura: 

Data: 31/outubro/2016

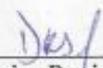
**TERMO DE APROVAÇÃO**

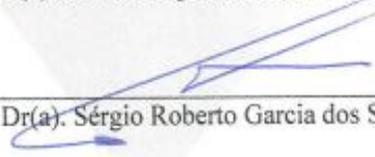
**ALISSON DIAS BORGES**

**AVALIAÇÃO DE INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO MICROBIANA EM  
SOLOS TRATADOS COM ESTERCOS DE AVES.**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:

  
\_\_\_\_\_  
Prof(a). Dr(a) Dora Inés Kozusny-Andreani (Presidente)

  
\_\_\_\_\_  
Prof(a). Dr(a). Denise Regina da Costa Aguiar

  
\_\_\_\_\_  
Prof(a). Dr(a). Sérgio Roberto Garcia dos Santos

São Paulo, 31 de outubro de 2016.

Presidente da Banca Prof(a). Dr(a). Dora Inés Kozusny-Andreani



## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a meus pais, minha esposa Sarah e minha filha Helena.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, aos meus pais, aos professores que tive e à minha esposa Sarah.

*“A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que se ganha, mas o que ele nos torna”*

(John Ruskin)

# AVALIAÇÃO DE INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO MICROBIANA EM SOLOS TRATADOS COM ESTERCO DE AVES

## RESUMO

O solo é um recurso natural importante para o desenvolvimento da vida humana. Tem várias funções que auxiliam no desenvolvimento de outros ecossistemas, como o armazenamento, escoamento e infiltração da água. Pode ser um suporte para as atividades humanas e para resíduos, mas é muito utilizado para a agricultura. Por estar no meio em que vivemos, o solo pode ser contaminado por substâncias tóxicas ou por bactérias patogênicas, vírus e parasitos, passando assim para os alimentos. Estes podem ser contaminados durante o processo de produção, elaboração, transporte, armazenamento e distribuição. Objetivou-se neste estudo avaliar a presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. em solos tratados com esterco de galinha e dos frutos de berinjela produzidos no mesmo e verificar o dano potencial que estas bactérias patogênicas poderiam causar nos seres humanos devido à resistência aos antibióticos. Para tanto foram determinados os micro-organismos presentes no solo e nos frutos de berinjela cultivados no mesmo e determinados os padrões de susceptibilidade antimicrobiana dos isolados bacterianos. Realizaram-se amostragens de solo de seis hortas, antes, durante e no final do cultivo de berinjela, quando foram colhidas amostras de frutos para verificação da provável contaminação cruzada. As bactérias isoladas foram avaliadas quanto à resistência aos antibióticos. Verificou-se que todos os solos e frutos de berinjela apresentaram maior ou menor grau de contaminação por coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. A maioria dos isolados se caracterizou pela multirresistência aos antibióticos.

**Palavras-chave:** coliformes, *escherichia coli*, *salmonella* spp, resistência à antibióticos, horta.

# ASSESSMENT OF CONTAMINATION ON SOIL MICROBIAL TREATED WITH POULTRY MANURE

## ABSTRACT

Soil is an important natural resource for the development of human life. It has various functions that help the development of other ecosystems, such as storage, drainage, and infiltration of the water. It can be a support for human activities and waste, but is widely used for agriculture. Being where we live, the soil may be contaminated with toxic substances or pathogenic bacteria, viruses and parasites, it can pass into the food. These soils can be contaminated during the production, preparation, transportation, storage and distribution. The aim of this study was to evaluate the presence of total coliforms, fecal coliforms, escherichia coli and salmonella spp. in soils treated with chicken manure and eggplant fruits produced in the same and check the potential damage that could cause these pathogenic bacteria in humans due to antibiotic resistance. For that it was determined the micro-organisms present in the soil and eggplant fruits grown in the same and determined the standards of susceptibility antimicrobial of the isolates bacterial. There were six soil samples gardens, before, during and at the end of cultivation of eggplant, when fruit samples were taken for check of the likely cross-contamination. The isolated bacteria were evaluated for resistance to antibiotics. It was found that all soil and eggplant fruits showed greater or lower degree of contamination by fecal coliforms and Escherichia coli and Salmonella spp., The majority of the isolates was characterized by multi resistant to antibiotics.

**Key-words:** coliforms, escherichia coli, salmonella spp., resistance to antibiotics, garden.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localização do município de Caraguatatuba no Estado de São Paulo.....	34
Figura 2. Modelo da área de amostragem de 1m <sup>2</sup> indicando a disposição do local de colheita das 5 sub amostras.....	36
Figura 3. Temperatura Média (°C) durante o experimento em Caraguatatuba-SP. ..	40
Figura 4. Precipitação (mm) durante o experimento em Caraguatatuba-SP.....	40
Figura 5. Turbidez e produção de gás para detecção de coliformes em amostras de solo, 3 <sup>a</sup> coleta – agosto 2016. ....	43
Figura 6. Placas de Petri inoculadas com solo de horta, contendo culturas positivas de <i>Salmonella</i> spp., 3 <sup>a</sup> coleta – agosto 2016. ....	44

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Localização e tratamentos realizados no solo de hortas de cultivo de berinjela, Caraguatatuba – SP. ....	35
Tabela 2. Temperatura média e Precipitação durante o período do experimento no município de Caraguatatuba-SP. ....	39
Tabela 3. Concentração de coliformes totais, coliformes termotolerantes, <i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella</i> spp. em solo de hortas tratado com esterco de galinha. Caraguatatuba – SP. ....	42
Tabela 4. Concentração de coliformes totais, coliformes termotolerantes, <i>Escherichia coli</i> e <i>Salmonella</i> spp. em frutos de berinjela cultivados em solo tratado com esterco de galinha. Caraguatatuba – SP. ....	46
Tabela 5. Susceptibilidade (S), susceptibilidade intermediária (I), resistência (R) e índice de resistência múltipla (IRMA) a diferentes classes de antimicrobianos de cepas de <i>escherichia coli</i> e <i>salmonella</i> spp. isoladas de solos de hortas tratados com esterco Caraguatatuba – SP. ....	48
Tabela 6. Susceptibilidade (S), susceptibilidade intermediária (I), resistência (R) e índice de resistência múltipla (IRMA) a diferentes classes de antimicrobianos de cepas de <i>escherichia coli</i> e <i>salmonella</i> spp. isoladas de frutos de berinjela cultivadas em solos tratados com esterco de galinha. Caraguatatuba - SP. ....	49

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Af – Tropical Equatorial

Alt – Alteração

APPCC – Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle

Arm – Armazenamento

Ca – Cálcio

CEPAGRI – Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas a Agricultura

EC – *Escherichia Coli*

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo

CIIAGRO – Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas

CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente

Def – Deficiência

ETP – Evapo-transpiração Potencial

ETR – Evapotranspiração Real

Exc – Excedente

Km<sup>2</sup> – Quilômetro ao quadrado

Mg – Magnésio

mL – mililitro

mm – milímetros

m<sup>2</sup>– metro ao quadrado

Na – Sódio

NaCl – Cloreto de Sódio

NMP – Número mais provável

P – Precipitação

pH – Potencial Hidrogeniônico

Temp. M – Temperatura Média

C – Celsius

µm - micrômetro

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\beta$  – Beta

$^{\circ}$  – Graus

' – Minutos

" – Segundos

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	17
1.1 Objetivo Geral .....	19
1.2 Objetivos Específicos .....	19
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	20
2.1 Solo .....	20
2.1.1 Principais Funções do Solo .....	20
2.1.2 Salinização .....	21
2.2 Berinjela .....	21
2.3 Adubação .....	22
2.3.1 Tipos de Fertilizantes Orgânicos .....	22
2.3.2 Adubação Orgânica com esterco de Ave .....	23
2.4 Irrigação .....	24
2.5 Contaminação .....	25
2.5.1 Agrotóxicos .....	26
2.5.2 Metais Pesados .....	27
2.5.3 Resíduos sólidos .....	27
2.5.4 Micro-organismos .....	28
2.5.4.1 Coliformes Totais .....	29
2.5.4.2 Coliformes Fecais ou Termotolerantes .....	29
2.5.4.3 <i>Escherichiacoli</i> .....	30
2.5.4.4 <i>Salmonella</i> .....	30
2.6 Resistência a antibióticos .....	31
2.7 Riscos à Saúde .....	32
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	34
3.1 Descrição da área .....	34
3.2 Descrição dos Locais de Estudo .....	34
3.3 Procedimentos da coleta de solo .....	35
3.4 Procedimentos da coleta de berinjela .....	36
3.5 Análises microbiológicas do solo .....	36
3.6 Análises microbiológicas dos frutos de berinjela .....	37
3.7 Susceptibilidade bacteriana aos antimicrobianos .....	38

3.8 Avaliação estatística dos resultados.....	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	39
4.1 Condições Climáticas.....	39
4.2 Contaminação bacteriana do solo e dos frutos .....	40
4.3 Resistência bacteriana aos antibióticos.....	47
5. CONCLUSÕES .....	51
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	52

## 1. INTRODUÇÃO

Uma das maiores preocupações do Planeta, nos últimos anos, é a degradação, contaminação, poluição e escassez da água e do solo. Além da água, o solo é imprescindível para a sobrevivência humana, pois tem os nutrientes necessários para as plantações e alimentação de homens e animais. Também, possui outras funções como habitat de seres vivos, proteger as águas subterrâneas, fonte de recursos minerais, entre outros.

De acordo com a Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (CETESB, 2016) a alteração de qualidade do solo fica comprometida quando ocorre a poluição atmosférica que atinge o solo, como deposição de poluentes, aplicação de defensivos agrícolas ( agrotóxicos), aplicação errada de fertilizantes e a disposição de resíduos sólidos industriais, urbanos, materiais tóxicos e radioativos.

Entre os diversos tipos de impactos que o solo sofre, os danos diretos e indiretos maiores são causados pela exploração do homem ao meio ambiente, prejudicando as formas de vida microbiológica (HEIDERSCHEIDT et al., 2016). Para Freitas (2015) muitas inovações tecnológicas trazem algumas substâncias e materiais novos que apresentam dificuldades para se degradar o que prejudica sua incorporação e retorno à natureza.

Em se tratando do solo agrícola um dos produtos que podem ser os mais tóxicos são os agrotóxicos. O uso indiscriminado e o manuseio inadequado destes produtos pode trazer riscos potenciais para o solo, alimentos e consecutivamente, aos humanos (BOHNER; ARAÚJO; NISHIJIMA, 2013). Pereira et al. (2009) afirmam que a utilização dos defensivos agrícolas, fungicidas e herbicidas contaminam o solo, a água, o ar, os alimentos, a fauna e conseqüentemente o homem que respira o ar e consome os alimentos e a água contaminada. Para Bohner, Araújo e Nishijima (2013) a falta de informações e o baixo nível de instrução das pessoas que manipulam os agrotóxicos é um problema muito sério de toda a sociedade.

A adubação orgânica com esterco de aves também pode oferecer riscos, se ela não for tratada e utilizada de forma correta, pode conter bactérias patogênicas, como coliformes e *salmonella*, e assim contaminar o solo, os frutos e os consumidores.

Em relação a alimentos, na atualidade, houve um aumento significativo na procura por aqueles produzidos de forma orgânica, como frutos e hortaliças, as quais geralmente são consumidas cruas. A berinjela é uma solanácea muito procurada, pois apresenta grande versatilidade culinária, ajudando na manutenção do corpo humano com seus efeitos medicinais. Mas como qualquer outro cultivo, necessita de bom preparo, manejo do solo e prevenção para evitar a contaminação por micro-organismos patogênicos. A contaminação de alimentos pode ocorrer por vários fatores como água de irrigação, adubação errada e inadequada, colheita, transporte e manipulação nos pontos de venda, ou seja, o cuidado deve acontecer desde a preparação do solo, o cultivo e em todo seu processamento até a ingestão. A falta de conhecimento e de higiene são as principais causas de contaminação.

Os coliformes e a *Salmonella* são bastonetes gram-negativos e estão presentes no intestino humano e de animais. Quando encontrados em grande quantidade em alimentos representam um grande risco à saúde humana e animal. Para Sales, Kuchak e Caveião (2016) os coliformes são indicadores da realidade das condições sanitárias em alimentos e água, incluindo nessas condições as práticas de manipulação e fabricação. Além do trato intestinal de animais homeotérmicos, seu habitat pode ser o solo e a vegetação. Existem alguns fatores que contribuem para a sobrevivência de micro-organismos patogênicos no solo como temperatura, umidade, pH, entre outros.

O solo contaminado apresenta grandes riscos para contração de doenças em seres humanos, mas para Cavinatto e Paganini (2007) além do grande número de bactérias para efetivar a doença, outros fatores ajudam como imunidade e nutrição do hospedeiro, falta de medidas de proteção e hábitos higiênicos. A contaminação de um alimento é um fator limitante para sua comercialização. As condições sanitárias desfavoráveis nas áreas rurais e urbanas favorecem essa contaminação. Esta pode ocorrer desde o plantio até o processamento, e também na comercialização e consumo (ABREU et al., 2010 apud RODRIGUES, 2007).

Outra preocupação relacionada a contaminação por micro-organismos patogênicos é a resistência que esses podem apresentar à antibióticos, ocasionando maiores riscos a saúde pública, pois podem interferir no tratamento, não só do solo, mas também do ser humano hospedeiro da bactéria.

### **1.1 Objetivo Geral**

Avaliar a presença de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. em solos tratados com esterco de galinha e dos frutos de berinjela produzidos no mesmo.

### **1.2 Objetivos Específicos**

- Verificar o dano potencial que estas bactérias patogênicas poderiam causar nos seres humanos devido à resistência aos antibióticos.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Solo

O solo é produto de alteração do remanejamento e da organização do material original (rocha, sedimento ou outro solo), sob a ação da vida, da atmosfera e das trocas de energia. Possui quantidades variáveis de minerais, matéria orgânica, água, ar e organismos vivos (CETESB, 2016). Para Araújo et al. (2014) a interação do clima, dos organismos, do relevo, do tempo e do material de origem, de forma independente, produzem o solo.

O solo é considerado um dos recursos naturais mais valiosos, em função das propriedades físicas, químicas e biológicas. As propriedades físicas auxiliam na filtração e lixiviação devido à penetração e movimentação de água nos poros, gerando condições para que os processos químicos (adsorção, fixação química, precipitação, oxidação, troca, neutralização) e biológicos (decomposição de matéria orgânica) possam ocorrer. Estes atributos do solo em conjunto são responsáveis pelos principais mecanismos de atenuação de poluentes (AL-JABOOBI et. al., 2014; BASHIRI; AHMADI; KHEZRI, 2015).

As propriedades físicas, químicas e biológicas do solo serão de acordo com a influência que este recebeu em sua formação. O solo pode ser classificados como areia, siltes ou argilas. As propriedades físicas do solo são: textura, estrutura, densidade, porosidade, permeabilidade, fluxo de água, ar e calor. E as propriedades químicas são: pH, teor de nutrientes, capacidade de troca iônica, condutividade elétrica e matéria orgânica (CETESB, 2016).

#### 2.1.1 Principais Funções do Solo

A Resolução nº 420/09 do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) lista as principais funções do solo que são:

- I - servir como meio básico para a sustentação da vida e de habitat para pessoas, animais, plantas e outros organismos vivos;
- II - manter o ciclo da água e dos nutrientes;
- III - servir como meio para a produção de alimentos e outros bens primários de consumo;
- IV - agir como filtro natural, tampão e meio de adsorção, degradação e transformação de substâncias químicas e organismos;
- V - proteger as águas superficiais e subterrâneas;

- VI - servir como fonte de informação quanto ao patrimônio natural, histórico e cultural;
- VII - constituir fonte de recursos minerais;
- VIII - servir como meio básico para a ocupação territorial práticas recreacionais e propiciar outros usos públicos e econômicos (BRASIL, 2009, p.82).

### **2.1.2 Salinização**

A salinização do solo é um problema ambiental grave. Acontece em áreas de clima mais seco e pode ser intensificada pela interferência humana. A CETESB (2016, s/p) explica que “o aumento de sais solúveis em um solo, eleva o seu potencial osmótico, assim as plantas têm dificuldade de absorver água e nutrientes provocando a redução do seu crescimento”.

Para correção da salinidade do solo, deve-se considerar o clima da região, o tipo de solo, a água de irrigação, os cultivos e sua tolerância à salinidade e as práticas de manejo do solo e água, esses fatores podem influenciar a salinidade do solo e causar impactos sobre a produtividade das culturas (MOURA; CARVALHO, 2014).

### **2.2 Berinjela**

A berinjela (*Solanum melongena* L.) pertence a família *Solanaceae*, a mesma família de outras hortaliças como tomate, pimentão, batata inglesa, jiló, entre outras (LIMA et al., 2015). É uma espécie termófila, pois necessita de alta temperatura para seu desenvolvimento vegetativo. Sua colheita é feita de 3 a 6 meses após o plantio.

Para Kumar et al. (2008) a cultura da berinjela é considerada de grande importância pois além de econômica está sendo muito procurada por sua qualidade nutricional, sendo uma importante fonte de antioxidantes e minerais para a dieta humana. Para Moura e Carvalho (2014) a berinjela teve seu consumo aumentado devido as suas propriedades medicinais. A qualidade do produto também é importante e não só sua produtividade. Para garantir qualidade a adubação e doses de potássio devem ser efetivos e na dosagem correta (MONACO, 2012).

## 2.3 Adubação

A adubação é realizada para melhora da qualidade dos cultivos, fertilidade do solo e aumento da produtividade. Os adubos, também chamados de fertilizantes orgânicos podem ser de origem vegetal, animal ou agro-industrial e seus efeitos são em todas as propriedades do solo: físicas, químicas, físico-químicas e biológicas. Os benefícios para a adubação do solo são vários, entre eles podemos citar: melhorias na estrutura, aeração, armazenamento e drenagem de água, absorção de nutrientes pelas plantas, diminuição de temperatura, aumento do teor de matéria orgânica, aumento da biodiversidade, melhora da fertilidade, aumento de micro-organismos para controle de pragas das raízes das plantas, entre outras. Quando mal decompostos ou de origem não controlada, os fertilizantes apresentam desvantagens como: introduzir ou aumentar a quantidade de micro-organismos nocivos às plantas, introdução de metais pesados, micro-organismos patogênicos ao homem, alto custo de produção, transporte e aplicação e proporção de nutrientes ineficaz (TRANI et al., 2013).

### 2.3.1 Tipos de Fertilizantes Orgânicos

Trani et al. (2013) citam alguns tipos de fertilizantes orgânicos:

- *Fertilizante Orgânico Simples* – produzido por um material de origem animal ou vegetal. Exemplos: esterco animal, vinhaça de cana, palhadas de milho, bagacilho, casca de eucalipto, entre outros.
- *Fertilizante Orgânico composto* – produzido através de processo bioquímico natural ou controlado com mistura de resíduos orgânicos de origem vegetal, animal, industrial ou urbano. A compostagem é um exemplo de processo para aquisição do adubo.
- *Bokashi* - produzido com resíduos orgânicos vegetais e animais e ativado com micro-organismos úteis que aceleram o processo de compostagem. Os micro-organismos úteis são provenientes do solo sendo selecionados e cultivados em laboratórios.
- *Adubo verde* – plantas que são cultivadas e incorporadas ao solo que liberam nutrientes para as plantas que serão cultivadas posteriormente. Melhoram também as propriedades físicas do solo. Exemplos: mucunas, guandu,

leucena, aveia branca, milheto, naboforrageiro, entre outras. A escolha da planta deve ser feita de acordo com o clima.

- *Fertilizante Organomineral* – produzido através da mistura de fertilizantes minerais e orgânicos. Exemplo: mistura de esterco animal com superfosfato simples, enriquece o material com fósforo, cálcio e enxofre e diminui a perda de amônia do esterco. A combinação entre adubos orgânicos e minerais fornecem equilíbrio na produtividade e mantem as características físicas e químicas do solo adequadas (FERNANDES et al., 2013).

Segundo Venancio et al. (2012) os compostos orgânicos devem possuir boas propriedades físicas para serem utilizados como substrato. O condicionador de solo é um material com alta capacidade de reter a umidade e drenar o excesso de água por isso é muito utilizado.

Para tratamento do solo o esgoto doméstico pode ser utilizado, mas este contribui para a proliferação de bactérias do grupo coliforme (LINHARES et al., 2015). O lodo de esgoto pode ser utilizado como fertilizante ou condicionador de solo, devido sua composição ser rica em matéria orgânica, nitrogênio e fósforo, apresentando melhora na qualidade química, física e biológica do solo, aumentando assim a produtividade das culturas. Mas seu uso deve ser avaliado, pois o lodo de esgoto pode prejudicar o desenvolvimento das plantas e oferecer riscos à saúde humana por conter elementos como metais pesados, micro-organismos patogênicos e contaminantes orgânicos (NASCIMENTO et al., 2014).

### **2.3.2 Adubação Orgânica com esterco de Ave**

Em diversos países a aplicação de esterco na agricultura é uma prática comum. A utilização de esterco como adubo orgânico, é a opção mais econômica e prática para melhorar a qualidade do solo, proporcionando assim uma fonte adicional de nutrientes para o crescimento das plantas. Esta prática é frequente, especialmente, na agricultura orgânica na qual os fertilizantes sintéticos não podem ser utilizados. No entanto, o emprego de esterco na forma líquida ou em pasta requer a observância do intervalo de segurança adequado, caso contrário uma carga elevada de bactérias patogênicas e vírus podem ser introduzidos ao solo, o que representa uma ameaça à saúde humana e animal, assim como ao meio ambiente (SEMENOV; VAN OVERBEEK; VAN BRUGGEN, 2009; AMIN et al., 2013; KOSTADINOVA et al.,

2014; PUÑO-SARMIENTO et al., 2014; BASHIRI; AHMADI; KHEZRI, 2015; BALKHAIR, 2016; TRAWIŃSKA et al., 2016).

Segundo um estudo realizado por Fernandes et al. (2013) a utilização de esterco promoveu ao solo melhorias físicas, físico-químicas, químicas e biológicas e disponibilizou melhoria constante dos nutrientes, de forma lenta e gradual, que reduz perdas por lixiviações.

A utilização de esterco no solo como fertilizante orgânico pode provocar, além da contaminação com bactérias patogênicas, a disseminação de genes de resistência aos antibióticos (AMINOV; MACKIE, 2007).

## **2.4 Irrigação**

No Brasil, a atividade humana que utiliza mais água é a agricultura sendo 70% do total de água recolhida e para a irrigação é utilizada a maior parte (TESSARO; SAMPAIO; CASTALDELLI, 2016).

Para o cultivo de berinjela a água de irrigação pode afetar negativamente o crescimento e a capacidade de produção de seus frutos, devido ao aumento de sua salinidade (MOURA; CARVALHO, 2014).

A reutilização das águas residuais tem sido uma alternativa mais econômica para irrigar plantações (TESSARO; SAMPAIO; CASTALDELLI, 2016). Segundo Moraes et al. (2016) a utilização de esgoto doméstico tratado pode ser uma alternativa para o desenvolvimento social e econômico, mas há o risco de dispersão de coliformes fecais e de outras bactérias, pois o esgoto contém muitos organismos vivos como bactérias, vírus, protozoários e vermes e estão junto com os dejetos humanos.

Para se utilizar essas águas, as mesmas devem passar por tratamento, ser escolhido o tipo ideal de cultura, passar por métodos efetivos de aplicação e manejo, controlar os riscos para o meio ambiente, pois pode ser prejudicial para o solo, aquíferos, para a cultura e à saúde humana. Os principais problemas estão relacionados com as mudanças físico-químicas do solo, poluição das águas superficiais e subterrâneas e quanto ao rendimento das culturas. Os organismos dos solos que são submetidos as águas residuais podem ter benefícios ou malefícios, dependendo da quantidade aplicada e composição dessas águas (TESSARO; SAMPAIO; CASTALDELLI, 2016).

A utilização das águas residuárias está associada com a possibilidade da presença de patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., bem como ovos de vermes intestinais, mas com manejo adequado a presença desses micro-organismos pode ser amenizada (SOARES et al., 2011).

Em um estudo realizado por Abreu et al.(2010) foi observada que a água de irrigação era o fator contaminante dos alimentos, sendo que os adubos orgânicos e o solo não estavam contaminados pelos micro-organismos encontrados na hortaliça.

## **2.5 Contaminação**

Um ambiente é considerado contaminado por algum elemento, quando houver aumento de suas concentrações em relação às concentrações naturais (STEFFEN; STEFFEN; ANTONIOLLI, 2011). De acordo com a CETESB (2016) uma área pode ser contaminada devido ao depósito, acumulação, armazenamento, enterro ou infiltração de forma planejada, acidental ou natural de substâncias ou resíduos contaminantes, e estes alteram sua qualidade e características naturais. Os poluentes podem ser dispersos por diferentes vias como ar, água subterrânea ou superficial e solo.

O solo pode ser contaminado por diferentes fontes poluidoras de origens distintas, tais como as atividades agrícolas, as industriais e os resíduos sólidos, que causam efeitos diversos no meio, os quais podem ser transitórios ou permanentes, estes últimos danificam o solo para uso futuro. A contaminação do solo é um grande problema ambiental devido à ameaça ecológica que representa, afetando o crescimento e sanidade das plantas, a qualidade e a quantidade da produção agrícola, provocando erosão do solo e causando desertificação. A poluição do solo pode, também, ter graves efeitos sobre a contaminação das águas superficiais e subterrâneas, tornando-se uma séria ameaça para o meio ambiente e o ecossistema (HALIM et al., 2005; LIU; LIU, 2009).

Em um estudo realizado por Linhares et al. (2015) pode-se perceber que a proximidade com uma área urbana e com movimento pode ajudar na sobrevivência de bactérias termotolerantes. As substâncias poluentes alteram o pH do solo e com isso há maior proliferação de bactérias patogênicas que eliminam as bactérias naturais do solo, alterando a biota do solo, índices de umidade e granulometria, diminuindo o nível de fósforo e fertilidade do solo.

Quando uma área é utilizada para atividades agrícolas e são terrenos vulneráveis à infiltração de contaminantes, é necessária avaliação do perigo em relação a essas atividades (BARBOSA et al., 2011). De acordo com Cordeiro (2014) para informações sobre qualidade e segurança dos produtos é importante a utilização de indicadores microbiológicos.

As plantas que crescem em solo contaminado conseguem parecer normais, mas podem apresentar riscos ao consumo humano e de outros animais. A contaminação do solo, se não controlada corretamente, pode ser irreversível para o ciclo de nutrientes na natureza e para o ciclo da água, prejudicando a produção de alimentos de origem vegetal e animal (CETESB, 2016).

### **2.5.1 Agrotóxicos**

Há várias substâncias sintéticas no meio ambiente, que são introduzidas nele devido ao uso de técnicas modernas nas produções agrícolas para auxílio do controle de pragas, insetos, plantas invasoras e doenças nas lavouras. Os agrotóxicos fazem parte destas substâncias e representam risco ambiental se manejados de forma incorreta (STEFFEN; STEFFEN; ANTONIOLLI, 2011). O uso intensivo ou inadequado de agrotóxicos tem ocasionado à contaminação dos recursos naturais, com efeitos negativos na saúde humana e animal.

A molécula do agrotóxico atinge o solo independente de onde foi aplicada, ela pode seguir diversos caminhos e afetar diferentes ecossistemas e seres vivos (STEFFEN; STEFFEN; ANTONIOLLI, 2011). O uso de produtos químicos pode ajudar na extinção de espécies de animais, insetos e plantas. Ao utilizar defensivos agrícolas para eliminar espécies que afetam negativamente as plantações, espécies benéficas são eliminadas, causando assim, um desequilíbrio no nicho ecológico. Podem causar também a poluição do lençol freático sendo necessária atenção quanto ao manejo dos agrotóxicos nas plantações (MOURA; OLIVEIRA, 2013).

Os sintomas mais comuns apurados nos casos de intoxicações pelos grupos químicos são: neurocomportamentais, doenças relacionadas a reprodução, doenças de pele, oftalmológicas, dos pulmões, do fígado, rins, mutagênicos e cancerígenos (CARVALHO; PIVOTO, 2011).

### **2.5.2 Metais Pesados**

Alguns metais, como zinco e cobre, são importantes para o desenvolvimento dos vegetais, pois tem enzimas e proteínas, mas podem se tornar tóxicos as plantas quando em elevadas concentrações (RODRIGUES et al., 2016).

Os metais pesados podem ser considerados um dos principais contaminantes do solo e ocorrem de forma natural – meteorização de áreas mineralizadas – ou por ação humana – funcionamento de indústrias de extração ou processamento de minério (DIAS et al., 2014). Para Silva, Vitti e Trevizam (2014) os metais pesados podem persistir por muito tempo no solo e ainda haver sua acumulação, prejudicando os processos vitais de micro-organismos e a ciclagem de nutrientes. Acrescentam que quando a planta e o solo tem altas concentrações de metais pesados se tornam tóxicos para culturas e animais.

O lodo de esgoto, utilizado na adubação das agriculturas, possui concentração de metais pesados, essas concentrações são bem maiores do que as naturalmente encontradas no solo, por isso é importante avaliar os riscos quando há a aplicação desse elemento no ambiente (NASCIMENTO et al., 2014).

Segundo Rodrigues et al. (2016) o crescimento, a distribuição e o ciclo biológico das plantas são prejudicados pelo contato com os metais pesados. A fotossíntese das plantas fica comprometida, pois os metais pesados podem reduzir os níveis de clorofila e carotenoides. Mas afirmam que algumas plantas, para tolerar e sobreviver nesses ambientes de alta concentração de metais, apresentam diferentes mecanismos fisiológicos, intra e extracelulares, que permitem o seu bom desenvolvimento.

### **2.5.3 Resíduos sólidos**

Outra causa de contaminação do solo é o acúmulo de lixo sólido. Esse acúmulo produz fluídos tóxicos que infiltram no solo, como exemplo o chorume. A infiltração desses fluídos no solo contaminam o lençol freático e assim, rios e córregos (HEIDERSCHIEDT et al., 2016).

Segundo Freitas (2015) uma das fontes mais perigosas de contaminação do ambiente e dos recursos hídricos são os depósitos de lixo urbanos e industriais,

mesmo os que foram construídos com proteção de suas bases e drenagens dos efluentes.

Além dos riscos a saúde pública, os resíduos sólidos que são despejados inadequadamente poluem o ar, o solo e o subsolo, aumentam os animais que proliferam as doenças e contaminam as águas.

#### **2.5.4 Micro-organismos**

O solo compreende vários microhabitats, tanto físicos como químicos e condições ambientais descontínuas. Os micro-organismos se adaptam aos microhabitats interagindo uns com os outros e com outras partes da biota do solo (CAVINATTO; PAGANINI, 2007).

Os micro-organismos de origem fecal podem ser transmitidos através de manipulação humana sem hábitos de higiene, por insetos e pela água contaminada. A detecção dessas bactérias é utilizada para diagnóstico e confirmação de presença de micro-organismos patogênicos entéricos, ou seja, servem para indicação microbiológica, podendo fornecer informações quanto a segurança dos alimentos e risco de exposição a micro-organismos patogênicos (CORDEIRO, 2014).

A exposição aos raios solares pode fazer com que os micro-organismos sobrevivam por mais tempo no solo do que em culturas. Outros fatores contribuem para a sobrevivência de bactérias patogênicas como: umidade, pH, temperatura, concentração de matéria orgânica e predação por outros micro-organismos (CAVINATTO; PAGANINI, 2007).

Segundo Pourcher et al. (2007) a sobrevivência e a inativação de micro-organismos patogênicos no solo depende de fatores ambientais (precipitação e radiação solar), de fatores físico-químicos (a textura, a estrutura do solo, o fluxo de água, a temperatura, a matéria orgânica e o pH) e fatores biológicos (tipo de micro-organismos e interações antagônicas). A sobrevivência de bactérias patogênicas no solo é dependente do gênero ou da espécie, assim coliformes termotolerantes sobrevivem mais tempo no solo do que *Salmonella* spp., uma vez que eles têm a capacidade de suportar condições ambientais adversas como a radiação solar, variações de temperatura e precipitação (NGOLE; MPUCHANE; TOTOLLO, 2006; FORSTER; RIAU; PEREZ, 2010; GUBER et al., 2015). A temperatura, o teor de água e o pH foram sugeridos como os fatores mais importantes que controlam a

sobrevivência bacteriana. O aumento da quantidade de água causa diminuição nas taxas de morte microbiana no solo, e em solos ácidos há menor sobrevivência de bactérias entéricas (PACHEPSKY et al., 2006). No entanto, um aumento na temperatura pode elevar as taxas de crescimento de *Escherichia coli* na água, porém pode reduzir a duração da sobrevivência (KIEFER et al., 2012).

#### **2.5.4.1 Coliformes Totais**

Os Coliformes Totais são bactérias com formato de bacilos Gram negativos sem esporos, que são capazes de fermentar a lactose, com produção de gás em faixa de temperatura de 35°C, em 24 a 48 horas (SALES; KUCHAK; CAVEIÃO, 2016).

Segundo Silva Neto e Peixoto (2015) a presença de coliformes totais é um parâmetro indicador da presença de micro-organismos. As bactérias da família *Enterobacteriaceae*, quando realizada sua contagem, indicam a qualidade geral dos alimentos e suas condições de higiene durante seu processamento. Números elevados de coliformes totais em alimentos podem apontar processamento inadequado ou contaminação após este, falta de boas práticas de fabricação e até mesmo contaminação dos equipamentos utilizados, mas somente a presença de coliformes não significa contaminação fecal (CORDEIRO, 2014).

#### **2.5.4.2 Coliformes Fecais ou Termotolerantes**

Coliformes fecais são organismos capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 horas a 44,5 - 45,5°C. O grupo de coliformes totais inclui quatro gêneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, dos quais os três últimos não são obrigatoriamente de origem fecal (SOUZA; FIGUEIREDO; SANTANA, 2015). Podem ser chamados de termotolerantes, pois alguns coliformes fecais não conseguem se multiplicar a essa temperatura (CORDEIRO, 2014). Os coliformes termotolerantes estão presentes em grandes números nas fezes, em concentrações aproximadamente de  $10^7$  unidades formadoras de colônias (UFC) por grama de conteúdo intestinal, a espécie *Escherichia coli* é a principal bactéria deste grupo e representa 1% do total de bactérias intestinais (MADIGAN et al., 2016). Estas bactérias são encontradas naturalmente na água, no solo e na vegetação (AKYALA; OLUFEMI; ADEBOLA, 2014).

Para Linhares et al. (2015) os coliformes que podem ser carregados pela chuva, infiltram no solo e contaminam o lençol freático, a agricultura e qualquer atividade que esteja sendo desenvolvida no local da contaminação. A contaminação do solo por coliformes fecais indica que outros micro-organismos patológicos tais como vírus e bactérias podem estar presentes (SOARES et al., 2011).

#### **2.5.4.3 *Escherichiacoli***

*Escherichia Coli* (*E. coli*) é uma bactéria pertencente à família *Enterobacteriaceae*. São caracterizadas pela presença das enzimas  $\beta$ -galactosidase e  $\beta$ -glicuronidase. Cresce em meio complexo a 44-45°C, fermenta lactose e manitol com produção de ácido e gás e produz indol a partir do aminoácido triptofano (BRASIL, 2000).

A *E. coli* faz parte da microbiota normal do trato intestinal do homem e de outros animais de sangue quente. No intestino grosso é um dos micro-organismos mais abundantes e tem função importante no organismo humano como síntese de vitaminas do complexo B e vitamina K. A presença de *E.coli* indica contaminação direta ou indireta de origem fecal, já que seu habitat é o intestino do homem e dos animais, sendo assim, um indicador da presença de patogênicos entéricos nos alimentos (CORDEIRO, 2014).

#### **2.5.4.4 *Salmonella***

*Salmonella* spp estão presentes no intestino humano e em outros mamíferos e répteis e são amplamente distribuídas na natureza. É uma bactéria entérica responsável por graves intoxicações alimentares (KRZYZANOWSKI JÚNIOR, 2014). Pertencem à família *Enterobacteriaceae*, em forma de pequenos bastonetes gram negativos, não esporulados, capazes de crescer em diversos meios de cultura, formando colônias visíveis em incubação a 37°C em 24 horas, fermentando a glucose com produção de gás. A fermentação da lactose não é comum para estes micro-organismos (CORDEIRO, 2014).

A sua presença em alimentos é um relevante problema de saúde pública que não deve ser tolerado. A grande maioria dos sorotipos de salmonelas são patogênicas para o homem, de forma que os sintomas clínicos podem ser divididos em três grupos: A febre tifóide, causada por *S. Typhi*; febre entérica, o agente

etiológico é a *Salmonella paratyphi* A, B e C e; salmoneloses, desenvolvem um quadro de infecção gastrointestinal (KRZYZANOWSKI JÚNIOR, 2014).

Cordeiro (2014) explica que a ingestão da bactéria *Salmonella*, faz com que o indivíduo tenha adquirido a doença salmonelose. Essa ingestão se dá pelo consumo de alimentos contaminados e conseqüentemente a infecção. Afirma que o micro-organismo entra no sistema digestivo multiplicando-se no intestino o que causa a inflamação, resultando em gastroenterite. Cita os sintomas mais comuns que são dores abdominais, diarréias, náuseas, vômitos, febre, podendo também ocorrer desidratação, dor de cabeça e fadiga.

Em um estudo realizado por Cordeiro (2014) a *salmonella* quando detectada em sua fase primária fez com que diminuisse os casos de contaminação. A autora salientou que o controle e a vigilância devem ser feitos também em outras fases, ou seja, na produção, no desenvolvimento e na distribuição.

## **2.6 Resistência a antibióticos**

As bactérias do solo podem conter genes de resistência a antibióticos (ARGs) responsáveis por diferentes mecanismos que lhes permitem superar os antimicrobianos naturais presentes no ambiente. Este conjunto de genes pode ser transferido para a comunidade microbiana, muitas vezes ecológica e taxonomicamente distante. A evidência para essa transferência foi demonstrada pelos genes identificados em bactérias multirresistentes (CANTÓN, 2009; DI CESARE et al., 2013).

O surgimento destas bactérias multirresistentes é consequência da forte pressão seletiva exercida pelos antimicrobianos em ambientes clínicos, agropecuários e ecossistemas naturais contaminados com antibióticos. As forças seletivas que impulsionam o processo evolutivo foram determinantes nas mudanças nas últimas décadas, resultando em ecossistemas naturais com um grande número de genes de resistência (BAQUERO; ALVAREZ-ORTEGA; MARTINEZ, 2009; FERNANDES et al., 2016).

A resistência aos antibióticos representa um problema de saúde pública global, exigindo uma melhor compreensão da ecologia dos genes de resistência a antibióticos, sua seleção e sua propagação no ambiente (MARTI; JOFRE; BALCAZAR, 2013). Embora as pesquisas relacionadas à resistência bacteriana aos

antibióticos foram realizadas em patógenos humanos clinicamente relevantes, demonstrou-se que genes de resistência a antibióticos (ARG) têm origens ambientais, e que a introdução e acúmulo de antimicrobianos no ambiente facilita a sua propagação. Como consequência, ARGs podem ser encontrados em quase todos os ambientes e são considerados poluentes emergentes (ENGEMANN et al., 2008; BAQUERO; ALVAREZ-ORTEGA; MARTINEZ, 2009).

Os patógenos resistentes aos antibióticos são de grande importância para a saúde humana, no entanto os reservatórios ambientais dos determinantes da resistência são pouco conhecidos. Por tanto, as origens de resistência aos antibióticos no meio ambiente são relevantes para a saúde humana, devido à importância crescente de zoonoses, bem como a necessidade de prevenir os agentes patogênicos resistentes emergentes (ALLEN et al., 2010). Estes autores afirmam que a identificação das fontes de genes de resistência, sua distribuição ambiental e como a ação antropogênica afeta na sua propagação, poderia auxiliar no estabelecimento de estratégias para combater a resistência bacteriana aos antibióticos.

## **2.7 Riscos à Saúde**

As doenças causadas por agentes patogênicos, além dos sintomas mais frequentes de gastroenterite podem causar sintomas sistêmicos agudos como febre, aborto, meningite, anemia, insuficiência renal, entre outros (CORDEIRO, 2014). A autora afirma que essas doenças ocorrem diariamente em qualquer lugar, mas o fator contaminante, na maioria dos casos não é explícita, não podendo quantificar a incidência da contaminação gerada por alimentos com esses micro-organismos.

Segundo Cavinatto e Paganini (2007) é preciso delimitar os riscos dos micro-organismos. O risco é dividido em potenciais e reais. Potenciais referem-se a presença de um agente patogênico no solo ou na cultura. Os riscos reais são evidências da presença de doenças na população exposta ou o agravo à saúde. Quando há apenas a detecção de um agente patogênico em solos e cultura, não significa que haverá o desenvolvimento da doença, pois existem outros fatores que contribuem para que ela se manifeste como características dos micro-organismos, características dos hospedeiros e fatores extrínsecos.

Para Bohner, Araújo e Nishijima (2013) práticas de biossegurança e a educação ambiental para agricultores podem auxiliar na prevenção de acidentes e na diminuição da exposição aos riscos. Afirmam que a utilização de equipamentos de proteção pode reduzir os impactos de agroquímicos na saúde pública. Segundo Carvalho e Pivoto (2011) é necessário desenvolver ações técnicas nas áreas da saúde, educação e agricultura, para diminuir impacto que as contaminações vem exercendo na saúde pública e no meio ambiente.

Melo et al. (2015) afirmam que a melhor maneira para minimizar a incidência de doenças e de patógenos e melhorar o manejo produtivo é primordial ter higiene e limpeza durante todo o processo de produção. Afirmam que algumas medidas e programas podem auxiliar se utilizados em todos níveis de produção como: BPP – “Boas Práticas de Produção”, APPCC “Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle”, PAS “Programa de Alimentos Seguros” e PPHO “Procedimento Padrão de Higiene Operacional”.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Descrição da área

O estudo foi realizado no período de 1° de Abril de 2016 à 1° de Agosto de 2016, na cidade de Caraguatatuba, litoral norte do Estado de São Paulo, localizada na mesorregião do Vale do Paraíba Paulista. A cidade ocupa uma área de 485,38 Km<sup>2</sup> e está situada entre as coordenadas 23°37'21"S e 45°24'43"W conforme figura 1.

Segundo o Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas a Agricultura (CEPAGRI, 2015) a classificação climática de Köpen-Geiger é Afcom clima tropical chuvoso, sem estação seca com a precipitação média do mês mais seco superior a 60mm, com média de temperatura de 24,9°C e precipitação acumulada de 1757,9 mm.



**Figura 1.** Localização do município de Caraguatatuba no Estado de São Paulo.

**Fonte:** Próprio autor

#### 3.2 Descrição dos Locais de Estudo

Foram selecionadas seis hortas localizadas na região sul do município, na zona rural. A área de estudo não apresenta nas suas proximidades rios, riachos, lagos e

mata fechada, e não foi observada criação de gado. A cultura predominante é berinjela, no entanto são cultivadas também pimenta cambuci e berinjela japonesa. A localização geográfica das hortas e os tratamentos realizados no solo estão descritos na tabela 1.

**Tabela 1.** Localização e tratamentos realizados no solo de hortas de cultivo de berinjela, Caraguatatuba – SP.

Hortas	Localização	Tratamentos Realizados No Solo			
		Calcário	Fertilizante Químico (NPK)	Esterco de galinha	Irrigação
1	23°42'55"S 45°27'04"W	+	04-12-08	+	+
2	23°43'56"S 45°27'32"W	+	04-14-08	+	+
3	23°42'53"S 45°27'01"W	+	04-12-08	-	+
4	23°41'46"S 45°27'21"W	+	04-14-08	+	+
5	23°42'59"S 45°27'33"W	+	04-14-08	+	+
6	23°41'45"S 45°27'23"W	+	04-14-08	+	+

+: Utilizou

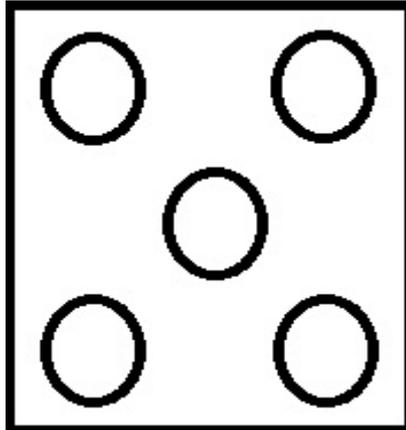
-: Não utilizou

**Fonte:** Próprio autor

### 3.3 Procedimentos da coleta de solo

As áreas de amostragem em cada horta foram delimitadas de forma aleatória e demarcadas com a finalidade de coletar o solo sempre no mesmo lugar, minimizando interferências nos resultados. As amostras de solo foram retiradas na profundidade de 0-10 cm, onde as características sanitárias do solo sofrem maior influência causados pelas atividades agrícolas (PALESE et al., 2009).

As amostras foram obtidas em três períodos, a primeira no plantio de berinjela, a segunda aos 60 dias e a última aos 120 dias, momento da colheita. Cada área de amostragem foi de 1m<sup>2</sup>, dividida em 5 sub amostras de 100g (Figura 2), e misturadas totalizando 500g, realizadas em quadruplicata. As amostras retidas com trado Uhland, desinfetado previamente com álcool 70%, depositadas em recipiente estéril e identificado, foram armazenadas em caixas isotérmicas (temperatura interna 3°C) e transportadas para laboratório para análise microbiológica, realizada no prazo máximo de 24 horas.



**Figura 2.** Modelo da área de amostragem de 1m<sup>2</sup> indicando a disposição do local de colheita das 5 sub amostras.

**Fonte:** Próprio autor

### 3.4 Procedimentos da coleta de berinjela

Com o objetivo de avaliar a provável contaminação cruzada solo/frutos de berinjela se colheram amostras, que coincidiram com o último dia de amostragem do solo. Os frutos foram retirados das plantas de forma aleatória, utilizando tesouras esterilizadas. Cada fruto foi embalado individualmente em sacos plásticos esterilizados e identificados e armazenados em caixas isotérmicas (temperatura interna 3°C), em seguida transportadas para laboratório para análise microbiológica.

### 3.5 Análises microbiológicas do solo

Para as análises microbiológicas dez gramas do solo peneirado foram pesados e dissolvidos em frascos de vidro com 90 ml de solução salina, completando um volume de 100 mL (constituindo a diluição  $10^{-1}$ ), em seguida foram colocados em agitador mecânico durante 15 minutos para promover o desprendimento das bactérias das partículas do solo. De cada amostra com diluição de  $10^{-1}$  foi retirado 1 mL e transferido para tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada tamponada (0,1%) estéril, estabelecendo uma diluição  $10^{-2}$ . Este último procedimento foi repetido para estabelecer uma sequência de diluições até  $10^{-6}$  (OBI, 2014).

Para a detecção de coliformes totais e termotolerantes, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. foi empregada a metodologia preconizada pela American Public Health Association (APHA, 2005). Alíquotas de 0,1 mL das amostras diluídas em série (de  $10^{-3}$  a  $10^{-6}$ ) foram espalhadas em ágar MacConkey (Oxoid®), *Salmonella*-

*Shigella* ágar (Oxoid®), EMB Levine ágar (Oxoid®) e ágar nutriente (Himedia®). As placas foram incubadas a 35°C durante 24-48 horas para o crescimento bacteriano, quando se procedeu a contagem das colônias. Resultados foram expressos em unidades formadoras de colônias (UFC), exceto *Salmonella* spp. que foi avaliada pela presença ou ausência. Os isolados foram identificados por métodos bioquímicos meio do sistema API 20E (Analytical Profile Index, BioMérieux) para identificação de enterobactérias. Uma vez identificadas os isolados foram cultivados em tubos contendo ágar nutriente e armazenados em refrigerador (5°C) para realização dos testes de susceptibilidade aos antibióticos.

O grau de contaminação microbiana do solo foi determinada pelo método adaptado, descrito por Trawińska et al. (2016): a) solo limpo de 0,0-1,0 (0 log UFC g<sup>-1</sup>); b) solo ligeiramente contaminado de 1,0-100,0 (0-2 log UFC g<sup>-1</sup>); c) solo moderadamente contaminado de 100,0-1.000,0 (2-3 log UFC g<sup>-1</sup>); d) solo fortemente contaminado >1.000, 0 (>3 log CFU g<sup>-1</sup>).

### **3.6 Análises microbiológicas dos frutos de berinjela**

As análises microbiológicas realizadas seguiram os protocolos propostos por American Public Health Association (APHA, 2004) e Silva, Junqueira e Silveira (2010). Vinte e cinco gramas do fruto de berinjela foram pesados, triturados e dissolvidos em frascos de vidro com 225 ml de solução água peptonada, completando um volume de 250 mL (constituindo a diluição 10<sup>-1</sup>), em seguida foram homogeneizados. De cada amostra com diluição de 10<sup>-1</sup> foi retirado 1 mL e transferido para tubo de ensaio contendo 9 mL de água peptonada tamponada (0,1%) estéril, estabelecendo uma diluição 10<sup>-2</sup>. Este último procedimento foi repetido para obtenção da diluição de 10<sup>-3</sup>. Para determinação dos coliformes, 1 mL das diluições foram inoculadas em triplicata em Caldo Bile Verde Brilhante 2% Lactose (Oxoid®). Após incubação durante 24-48 h a 37°C, as culturas positivas (determinada pela turbidez e a produção de gás) foram utilizadas para determinar o NMP g<sup>-1</sup>. As culturas positivas foram plaqueadas em meio seletivo EMB Levine ágar, para isolar colônias únicas, as quais foram identificadas por correlação a aparência colonial, coloração de Gram, reação oxidase, e reações bioquímicas utilizando sistema API 20E (BioMérieux).

*Salmonella* spp. foi detectada em caldo Rappaport-Vassiliadis (Oxoid®). Depois semeadas em ágar sulfito de bismuto e *Salmonella-Shigella* ágar (Oxoid®). Após incubação durante 24-48 h a 37°C, as culturas positivas foram identificadas pela utilização do sistema API 20E (BioMérieux).

As colônias foram quantificadas e os resultados apresentados pelas UFC g<sup>-1</sup>, exceto para *Salmonella* spp. cujos resultados foram determinados pela presença ou ausência desta bactéria (SILVA; JUNQUEIRA; SILVEIRA, 2010).

### **3.7 Susceptibilidade bacteriana aos antimicrobianos**

Para avaliação da susceptibilidade antimicrobiana in vitro, se utilizou o método de Kirby Bauer modificado, em placas de ágar Mueller-Hinton, tal como recomendado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2009). Foram avaliados os antimicrobianos amicacina (30µg), Ampicilina (10µg), Aztreonam (15µg), Cefaclor (30µg), Cefazolina (30µg), Cefalexina (30µg), Cefalotina (30µg), Cefotaxime (30µg), Cefepime (30µg), Cefotaxime (30µg), Cefotaxime (30µg), Ceftazidima (30µg), Ceftriaxona (30µg), Ciprofloxacina (5µg), Clindamicina (2µg), Cloranfenicol (30µg) e Tetraciclina (30µg). Os resultados foram interpretados de acordo com os protocolos estabelecidos pela MILLER. Após 18 h de incubação, os isolados foram classificados como suscetíveis ou resistentes, de acordo com diâmetro dos halos formados ao redor dos discos.

O índice de resistência múltipla aos antimicrobianos (IRMA) foi calculado conforme a metodologia descrita por Krumperman (1983). O IRMA foi calculado pela razão entre o número de antibióticos aos quais o isolado foi resistente e o número de antibióticos ao qual o isolado foi exposto. Quando o IRMA é superior a 0,2 caracteriza multirresistência.

### **3.8 Avaliação estatística dos resultados**

A análise estatística foi realizada usando SPSS (2011), executando testes de normalidade e análises de variância (ANOVA) para determinar se existem diferenças significativas na concentração de indicadores microbianos de contaminação nos solos das hortas e nos frutos de berinjela. Foi utilizado um nível de significância de 0,05.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Condições Climáticas

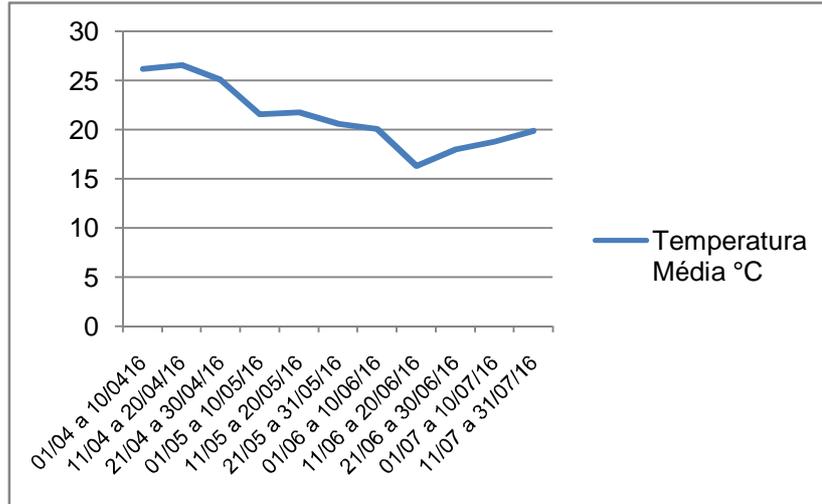
De acordo com os dados encontrados no Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas (CIIAGRO, 2016) o clima da região durante o experimento foi caracterizado por temperatura média de 21°C, precipitação de média 27,6 mm e acumulada de 304 mm (Tabela 2 e Figuras 3 e 4).

**Tabela 2.** Temperatura média e Precipitação durante o período do experimento no município de Caraguatatuba-SP.

Período	Temp. M	P	ETP	P-ETP	Arm.	Alt.	ETR	Def.	Exc.
	°C								
01/04 a 10/04/16	26,2	0,5	43,3	-42,8	65,2	-34,8	35,3	8	0
11/04 a 20/04/16	26,6	11,2	41,1	-29,9	48,3	-16,8	28	13,1	0
21/04 a 30/04/16	25,1	4,6	36,1	-31,5	35,3	-13,1	17,6	18,4	0
01/05 a 10/05/16	21,6	3,8	17,9	-14,1	30,6	-4,6	8,4	9,5	0
11/05 a 20/05/16	21,8	54,6	25,8	28,8	59,4	28,8	25,8	0	0
21/05 a 31/05/16	20,6	50,3	24,9	25,4	84,8	25,4	24,9	0	0
01/06 a 10/06/16	20,1	152,6	21,4	131,2	100	15,2	21,4	0	116,1
11/06 a 20/06/16	16,3	0,5	17,1	-16,6	84,7	-15,3	15,8	1,3	0
21/06 a 30/06/16	18	21,1	18,9	2,2	86,9	2,2	18,9	0	0
01/07 a 10/07/16	18,8	0,2	20	-19,8	71,3	-15,6	15,8	4,2	0
11/07 a 31/07/16	19,9	4,6	34	-29,4	53,2	-18,2	22,8	11,2	0
<b>MÉDIA</b>	<b>21,4</b>	<b>27,6</b>	<b>27,3</b>	<b>2</b>	<b>65,4</b>	<b>-4,3</b>	<b>21,3</b>	<b>6</b>	<b>10,6</b>

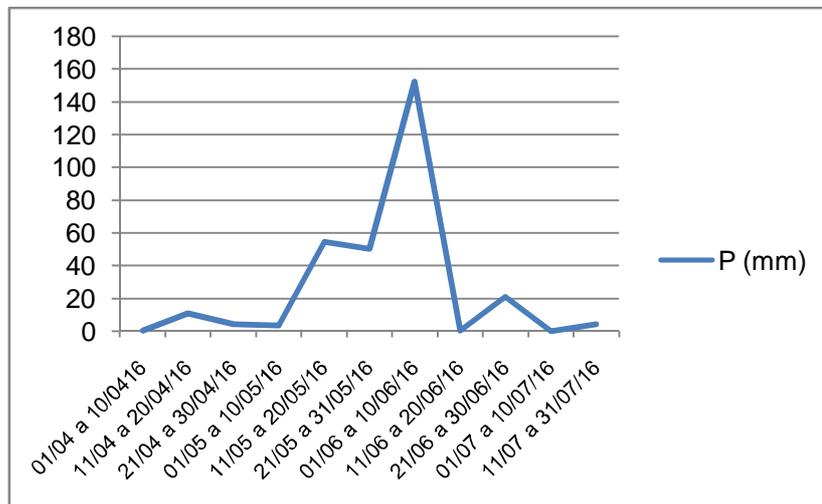
Temp.M: Temperatura Média; P: Precipitação; ETP: Evapo-transpiração Potencial; Arm: Armazenamento; Alt: Alteração; ETR: Evapotranspiração Real; Def: Deficiência; Exc: Excedente; mm: mililitro; °C: graus Celsius.

**Fonte:**CIIAGRO (Adaptado)



**Figura 3.** Temperatura Média (°C) durante o experimento em Caraguatatuba-SP.

Fonte: Próprio autor



**Figura 4.** Precipitação (mm) durante o experimento em Caraguatatuba-SP.

Fonte: Próprio autor

## 4.2 Contaminação bacteriana do solo e dos frutos

O uso de esterco galinha compostado indevidamente como adubo orgânico na agricultura, pode causar contaminação do solo e por consequência das frutas e hortaliças cultivadas no mesmo, que quando consumidas cruas podem causar doenças transmitidas por alimentos (DTA). O esterco é um bom substrato para a manutenção e desenvolvimento de uma população microbiana elevada e diversificada. Alguns desses micro-organismos se tornaram uma preocupação para a saúde pública e na qualidade ambiental, pois podem contaminar as fontes de água e solo e infectar os seres humanos e outros animais pelo contato da pele e do consumo de alimentos ou água contaminados (AMIN et al., 2013; KOSTADINOVA et

al., 2014; PUÑO-SARMIENTO et al., 2014; BASHIRI; AHMADI; KHEZRI, 2015; TRAWIŃSKA et al., 2016). Portanto, é necessário avaliar este fator de risco para identificar os possíveis efeitos de contaminação em áreas de produção. Na presente pesquisa foram monitorados solos de seis hortas produtoras de berinjela, e verificou-se contaminação por coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. (Tabela 3, Figuras 5 e 6).

Os coliformes totais são abundantes nos ambientes naturais, encontrados com frequência no solo, enquanto que na água a sua presença não é habitual. Os coliformes incluem os gêneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Yersinia*, *Serratia*, *Hafnia*, entre outros. *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella* podem ser encontrados no solo, vegetação ou águas superficiais, onde a sua presença não é necessariamente relacionada com a contaminação fecal. Coliformes termotolerantes (fecais) é um subgrupo dos coliformes totais (APHA, 2005; MADIGAN et al., 2016). As bactérias coliformes termotolerantes (*Escherichia coli*), normalmente se originam nos intestinos de mamíferos, possuem uma vida útil curta em comparação com outras bactérias coliformes. A sua ocorrência está relacionada com a disposição inadequada de resíduos sanitários (GUHEI et al., 2009; SEMENOV; VAN OVERBEEK; VAN BRUGGEN, 2009; AL-JABOOBI et al., 2014; AKYALA; OLUFEMI; ADEBOLA, 2014; BALKHAIR, 2016). No entanto, Puño-Sarmiento et al. (2014) afirmaram que os patógenos podem estar presentes em fertilizantes orgânicos após a fase termófila da compostagem, esta informação fornece dados importantes no que diz respeito aos aspectos epidemiológicos de infecções causadas por *E. Coli*.

No preparo do solo, antes do transplante das mudas de berinjela, foi empregado esterco de galinha compostado, exceto na horta 3 que recebeu somente fertilizantes químicos e calcário (Tabela 1). Verificou-se concentrações elevadas de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. (Tabela 3), e apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nas três amostragens (abril, junho e agosto). A presença destes micro-organismos provavelmente está associada ao uso de esterco de galinha compostado de forma inadequada. Os principais micro-organismos patogênicos encontrados no esterco de frango são *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium avium*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Clostridium botulinum* e vários sorotipos de *Salmonella* e *Escherichia coli* (PUÑO-SARMIENTO et al., 2014; OBI, 2014; TRAWIŃSKA et al., 2016). Miller et al.

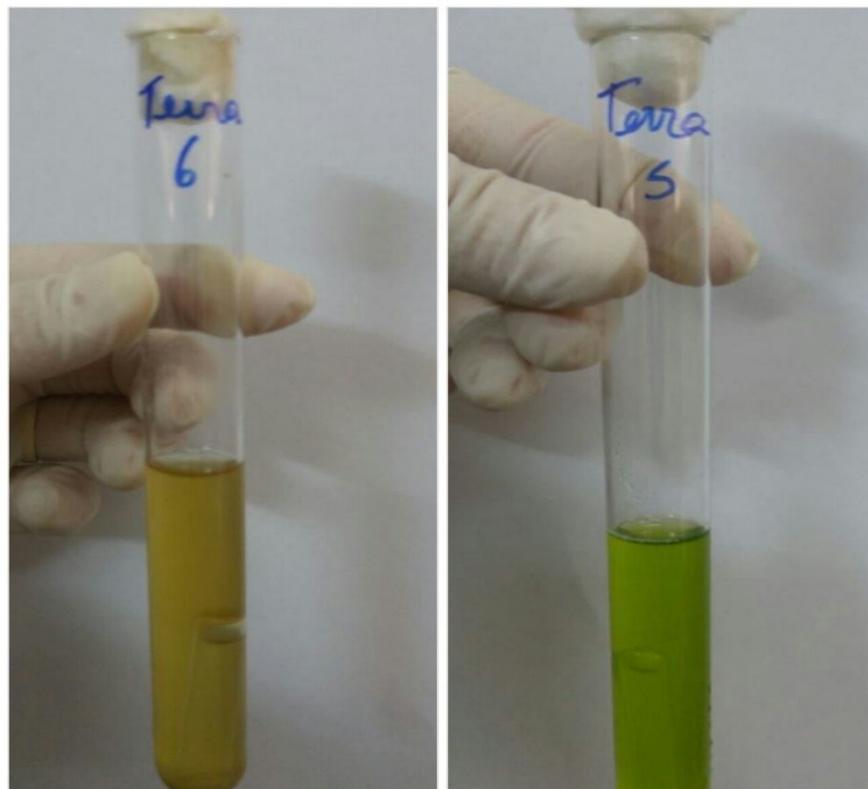
(2013) mostraram que 30% das amostras de adubo orgânico continham *E. coli*, indicando que, sob condições ótimas, o processo de compostagem pode não ser suficiente para eliminar todas as bactérias patogênicas.

**Tabela 3.** Concentração de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. em solo de hortas tratado com esterco de galinha. Caraguatatuba – SP.

Micro-organismos	Hortas	Meses de análise		
		Abril	Junho	Agosto
Coliformes Totais (UFC g <sup>-1</sup> )	1	4,4 x 10 <sup>6</sup>	4,3 x 10 <sup>6</sup>	4,0 x 10 <sup>6</sup>
	2	3,2 x 10 <sup>6</sup>	3,0 x 10 <sup>6</sup>	3,5 x 10 <sup>6</sup>
	3	5,3 x 10 <sup>2</sup>	5,5 x 10 <sup>2</sup>	5,3 x 10 <sup>2</sup>
	4	1,5 x 10 <sup>7</sup>	1,3 x 10 <sup>7</sup>	1,0 x 10 <sup>7</sup>
	5	1,2 x 10 <sup>7</sup>	1,2 x 10 <sup>7</sup>	1,4 x 10 <sup>7</sup>
	6	1,5 x 10 <sup>7</sup>	1,3 x 10 <sup>7</sup>	1,0 x 10 <sup>7</sup>
Coliformes termotolerantes (UFC g <sup>-1</sup> )	1	1,6 x 10 <sup>5</sup>	1,2 x 10 <sup>5</sup>	1,5 x 10 <sup>6</sup>
	2	0,6 x 10 <sup>6</sup>	0,3 x 10 <sup>6</sup>	0,3 x 10 <sup>6</sup>
	3	3,0 x 10 <sup>2</sup>	3,5 x 10	2,0 x 10
	4	2,4 x 10 <sup>6</sup>	2,0 x 10 <sup>6</sup>	2,5 x 10 <sup>6</sup>
	5	2,2 x 10 <sup>6</sup>	2,4 x 10 <sup>6</sup>	3,3 x 10 <sup>6</sup>
	6	1,6 x 10 <sup>6</sup>	1,6 x 10 <sup>6</sup>	1,1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Escherichia coli</i> (UFC g <sup>-1</sup> )	1	0,9 x 10 <sup>5</sup>	1,0 x 10 <sup>5</sup>	1,0 x 10 <sup>6</sup>
	2	6,6 x 10 <sup>5</sup>	6,3 x 10 <sup>5</sup>	6,6 x 10 <sup>5</sup>
	3	1,0 x 10 <sup>2</sup>	1,3 x 10 <sup>2</sup>	1,0 x 10 <sup>2</sup>
	4	0,3 x 10 <sup>6</sup>	0,4 x 10 <sup>6</sup>	0,6 x 10 <sup>6</sup>
	5	1,0 x 10 <sup>6</sup>	1,3 x 10 <sup>6</sup>	1,3 x 10 <sup>6</sup>
	6	0,3 x 10 <sup>6</sup>	0,3 x 10 <sup>6</sup>	0,1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Salmonella</i> spp. (UFC g <sup>-1</sup> )	1	2,4 x 10	2,0 x 10	1,8 x 10
	2	0,3 x 10 <sup>2</sup>	0,1 x 10 <sup>2</sup>	0,2 x 10 <sup>2</sup>
	3	0	0	0
	4	3,4 x 10 <sup>2</sup>	1,8 x 10 <sup>2</sup>	0,9 x 10 <sup>2</sup>
	5	4,5 x 10 <sup>2</sup>	0,7 x 10 <sup>2</sup>	0,7 x 10 <sup>2</sup>
	6	0,9 x 10 <sup>2</sup>	1,0 x 10 <sup>2</sup>	1,0 x 10 <sup>2</sup>

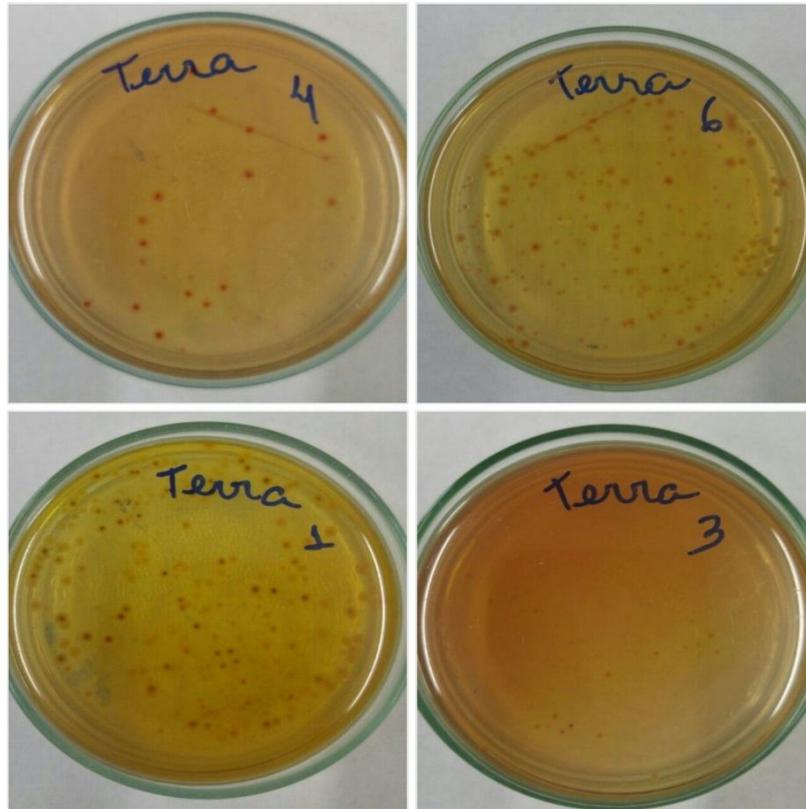
Fonte: Próprio autor

Em pesquisa realizada por Al-Jaboobi et al. (2014) para determinar a qualidade do solo, quando irrigado usando águas residuais tratadas em comparação com o solo irrigado com água subterrânea, constataram carga microbiana mais elevada em todas as amostras de solo irrigado com águas residuais com médias que variaram de  $6,4 \times 10^3$  a  $4,6 \times 10^7$ , enquanto que no solo irrigado com as águas subterrâneas foram  $0,8 \times 10^2$  a  $3,5 \times 10^6$ . Foram isolados em ambos os solos coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium*, leveduras e bolores. Na presente pesquisa foi constatada a presença de coliformes termotolerantes em concentrações que variaram de  $5,3 \times 10^2$  a  $1,5 \times 10^7$  e *E. coli* entre  $2,0 \times 10$  e  $3,3 \times 10^6$  (Tabela 3), diferindo significativamente quando os solos das hortas foram comparados ( $p < 0,05$ ). Enquanto que a presença de coliformes e de *E. coli* no solo da horta 3, que não recebeu esterco poderia estar associada a presença de aves e animais silvestres na área de cultivo (HERNANDEZ et al., 2012).



**Figura 5.** Turbidez e produção de gás para detecção de coliformes em amostras de solo, 3ª coleta – agosto 2016.

**Fonte:** Próprio autor



**Figura 6.** Placas de Petri inoculadas com solo de horta, contendo culturas positivas de *Salmonella* spp., 3ª coleta – agosto 2016.

**Fonte:** Próprio autor

A aplicação de esterco nos campos agrícolas é uma prática comum para o uso eficiente e eliminação de estrume em muitas fazendas, no entanto a sobrevivência de bactérias patogênicas nestes adubos orgânicos há a probabilidade de contaminação das águas que induzem à re-infecção do solo com o esterco fresco produzido na fazenda (BASHIRI; AHMADI; KHEZRI, 2015). De acordo com Kostadinova et al. (2014) o esterco fresco e a cama de frango são as principais fontes de poluição do ar e do solo nas áreas de exploração avícola, visto que estes materiais contêm uma alta carga de micro-organismos, incluindo bactérias coliformes, razão pela qual estão sujeitos às exigências de controle sanitário. Dos solos das hortas 1, 2, 4, 5 e 6, tratados com esterco de galinha, foi isolada *Salmonella* spp. (tabela 2).

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 3) e utilizando a metodologia de classificação do grau de contaminação, descrita por Trawińska et al. (2016), os solos das hortas 1, 2, 4, 5 e 6 foram caracterizados como: solos fortemente contaminados por apresentarem contagem microbiana  $>1.000,0 \text{ UFC g}^{-1}$  ( $>3 \text{ log CFU g}^{-1}$ ), enquanto que na horta 3 o solo estava moderadamente contaminado com  $100,0-$

1.000,0 UFC g<sup>-1</sup> (2-3 log UFC g<sup>-1</sup>). Estes resultados evidenciam que, mesmo que o esterco seja frequentemente aplicado para a fertilização do solo, esta prática agrícola requer a observância do intervalo de segurança adequado. Caso contrário, uma grande carga de bactérias patogênicas e vírus podem ser introduzidos ao perfil do solo, o que representa uma grande ameaça epidemiológica e ambiental (AMIN et al.,2013).

O uso de esterco compostado indevidamente como adubo orgânico para cultivo de hortaliças e frutas pode ser uma fonte de contaminação microbiana. Por tanto a relação existente entre legumes frescos e surtos de doenças transmitidas por alimentos levaram a preocupações sobre contaminação de hortaliças com bactérias patogênicas, provenientes do uso esterco no ambiente agrícola. Fontes potenciais de contaminação incluem fezes ou esterco, aplicação de água residual na irrigação, entre outros. No entanto, sabe-se que a bactéria *E. coli* provenientes de várias fontes podem persistir no solo ao longo de vários anos. A sobrevivência de agentes patogênicos em solos agrícolas depende de uma série de fatores ambientais que variam de acordo com a fonte de contaminação. Por esta razão são necessárias normas para garantir o uso seguro de compostos orgânicos e de águas residuais, evitando assim riscos biológicos para a população humana (KIEFER et al. 2012; GUBER et al., 2015; DELPLA;RODRIGUEZ 2016).

A poluição microbiana do solo, além de ter graves efeitos negativos sobre a contaminação das águas superficiais e subterrâneas, pode afetar a qualidade e a quantidade da produção agrícola, constituindo-se em uma séria ameaça para a meio ambiente e ecossistema (HALIM et al., 2005). A superfície externa de hortaliças e de frutas frescas normalmente carregam micro-organismos não patogênicos naturais, no entanto durante o crescimento, colheita, transporte e manuseio posterior, o produto pode ser contaminado com patógenos de animais e fontes humanas. Visto que muitos destes vegetais são consumidos sem transformação, o seu conteúdo microbiano pode representar um fator de risco para a saúde do consumidor e, portanto, um problema de segurança alimentar (OBI, 2014; BALKHAIR, 2016).

Na tabela 4 são apresentados os valores médios da concentração de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. em frutos de berinjela cultivados em solo tratado com esterco de galinha. Os resultados obtidos evidenciaram diferenças significativas na carga microbiana ( $p > 0,05$ ), demonstrando que os frutos colhidos em todas as hortas estavam contaminados

com coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, enquanto os das hortas 1, 4 e 5 apresentaram também *Salmonella* spp. De acordo com a resolução RDC nº 12, de 02/01/2001 (BRASIL, 2001), que estabelece os padrões microbiológicos para alimentos e o limite máximo de  $10^2$  NMP.g<sup>-1</sup>, para coliformes termotolerantes e ausência de *Salmonella* em 25 g de alimento, por tanto os frutos produzidos nas hortas 1, 2, 4, 5 e 6 apresentaram carga microbiana superior a estabelecida pela legislação.

**Tabela 4.** Concentração de coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. em frutos de berinjela cultivados em solo tratado com esterco de galinha. Caraguatatuba – SP.

Hortas	Micro-organismos (UFC g <sup>-1</sup> )			
	Coliformes totais	Coliformes termotolerantes	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> spp.
1	$6,3 \times 10^3$	$0,9 \times 10^3$	$0,3 \times 10^3$	Presença
2	$1,2 \times 10^4$	$1,0 \times 10^3$	$0,1 \times 10^3$	Ausência
3	$6,0 \times 10$	$5,0 \times 10$	$0,4 \times 10$	Ausência
4	$4,5 \times 10^5$	$1,3 \times 10^4$	$1,9 \times 10^3$	Presença
5	$0,9 \times 10^5$	$1,6 \times 10^4$	$1,1 \times 10^3$	Presença
6	$6,9 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$	$2,5 \times 10^3$	Ausência

Fonte: Próprio autor

Obi (2014) avaliou a qualidade sanitária de hortaliças (abóbora, pepino e tomate) produzidas em solos tratados com esterco animal. Pelas análises microbiológicas foram recuperados do solo e vegetais *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp., *Bacillus* spp., *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. A contagem bacteriana total das amostras de solo variou de  $5,9 \times 10^4$  a  $1,75 \times 10^9$  CFU g<sup>-1</sup>, enquanto a contagem bacteriana total para as amostras de vegetais variou de  $1,50 \times 10^5$  a  $2,65 \times 10^9$  CFU g<sup>-1</sup>. A contagem de coliformes totais das amostras de solo foi estimada entre  $1,65 \times 10^7$  e  $6,9 \times 10^4$  CFU g<sup>-1</sup>, enquanto que as amostras de vegetais apresentaram de  $1,20 \times 10^8$  a  $7,2 \times 10^5$  CFU g<sup>-1</sup>, corroborando os resultados obtidos nesta pesquisa (Tabelas 3 e 4), e evidenciando que há um alto nível de contaminação microbiana associado ao cultivo de vegetais em solos que foram tratados com esterco e que o consumo destes alimentos sem transformação apresenta grande risco para os consumidores.

A presença de *Salmonella* spp. nos frutos produzidos nas hortas 1, 4 e 5 (Tabela 4) inviabiliza a sua utilização para consumo humano e animal. Segundo Hernandez et al. (2012), cepas de *Salmonella enterica*, subespécie entérica sorovar

*Typhimurium*, são capazes de contaminar vegetais e solo, podendo ser adquiridas diretamente das fezes de aves e de outros animais ou de produtos de origem animal, constituindo-se em um fator de risco para intoxicação ou infecção alimentar humana. Aparentemente, estas cepas de *Salmonella* estão adaptadas ao hospedeiro e circulam entre aves selvagens durante longos períodos, constituindo-se em fator de risco para saúde humana e para o meio ambiente.

#### **4.3 Resistência bacteriana aos antibióticos**

A maioria das espécies bacterianas que contaminam solos, hortaliças e frutos apresentam genes de resistência aos antibióticos (ARGs), podendo contribuir para a disseminação horizontal de resistências entre as populações bacterianas muitas vezes ecologicamente e taxonomicamente distantes (CANTÓN, 2009; DI CESARE et al., 2013). Segundo Martinez (2009), os antibióticos estão entre as drogas mais bem sucedidas utilizados para terapia humana, no entanto são extensivamente usados para animais e para fins agrícolas. Visto que podem desafiar as populações microbianas, eles devem ser considerados como poluentes importantes. Resíduos de ambientes humanos e de fazendas podem conter antibióticos e ARGs que podem contaminar ambientes naturais. A consequência mais clara da liberação de antibiótico em ambientes naturais é a seleção de bactérias resistentes. Os mesmos genes de resistência encontrados em ambientes clínicos estão atualmente disseminados nos ecossistemas intocados, sem qualquer registro de contaminação de antibióticos. Por tanto, se deduz que o efeito dos antibióticos sobre a biosfera é imensurável e pode afetar a estrutura e a atividade da flora microbiana do ambiente (FERNANDES et al., 2016).

Os resultados obtidos na presente pesquisa evidenciam a incidência de bactérias resistentes aos antibióticos, nos solos tratados com esterco de galinha assim como nos frutos de berinjela produzidos nos mesmos (Tabelas 5 e 6). De acordo com Krumperman (1983), bactérias que apresentam índices de resistência múltipla aos antibióticos (IRMA) superiores a 0,2 são consideradas multirresistentes. Na presente pesquisa verificou-se que *E.coli* isoladas dos solos das seis hortas apresentaram IRMA superior a 0,2, caracterizando estas bactérias portadoras de multirresistência.

**Tabela 5.** Susceptibilidade (S), susceptibilidade intermediária (I), resistência (R) e índice de resistência múltipla (IRMA) a diferentes classes de antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. isoladas de solos de hortas tratados com esterco Caraguatatuba – SP.

<i>Escherichia coli</i>																	
Hortas	Antimicrobianos															IRMA	
	A	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	E	T		
	M	T	M	F	F	F	F	F	A	P	R	I	L	L	R		E
	I	M	P	C	Z	L	X	O	Z	M	O	P	I	O	I	T	
1	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	R	0,31
2	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	I	S	R	0,25
3	S	S	S	R	S	R	R	S	S	I	I	S	S	S	S	R	0,25
4	R	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	0,25
5	S	S	S	S	R	S	I	R	I	S	S	S	R	R	R	R	0,37
6	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S	0,37
<i>Salmonella</i> spp.																	
1	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	0,18
2	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	I	S	R	0,25
3	S	S	S	R	S	R	S	S	S	I	I	S	R	S	S	S	0,25
4	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	I	S	R	S	I	0,12
5	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	R	R	0,25
6	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	0,18

AMI=amicacina, ATM = aztreonam, AMP = ampicilina, CFC= cefaclor, CFZ= cefazolina, CFL = cefalotina, CFX= cefotaxime, CFO= cefoxitina, CAZ= ceftazidima, COM = cefepime, CRO= ceftriaxona, CIP = ciprofloxacina, CLI = clindamicina, CLO= cloranfenicol, ERI = eritromicina, TET= tetraciclina.

**Fonte:** Próprio autor

A maioria dos isolados de *E.coli* foi resistente à cefaclor (95%), a cefotaxime (90%) e a tetraciclina (83,5%). A porcentagem de isolados resistentes a outros agentes foi menor, sendo de 50% para amicacina, aztreonam, ceftriaxona e Cloranfenicol, enquanto que para os demais antibióticos testados variou entre 37,5% a 40%.

O comportamento de resistência dos isolados de *salmonella* foi diferente ao observado em *E.coli*, uma vez que *salmonella* foi detectada somente em cinco hortas, das quais três apresentaram multirresistência aos antibióticos enquanto para *E. coli* isolada nas seis hortas foi obtido IRMA superior a 0,2 (Tabela 5). Todos os

isolados de *salmonella* spp. apresentaram resistência à cefaclor, para os demais antibióticos verificaram-se padrões de resistência variáveis.

**Tabela 6.** Susceptibilidade (S), susceptibilidade intermediária (I), resistência (R) e índice de resistência múltipla (IRMA) a diferentes classes de antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* e *Salmonella* spp. isoladas de frutos de berinjela cultivadas em solos tratados com esterco de galinha. Caraguatatuba - SP.

		<i>Escherichia coli</i>																
		Antimicrobianos																
		A	A	A	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	E	T		
		M	T	M	F	F	F	F	A	P	R	I	L	L	R	E		
Hortas		I	M	P	C	Z	L	X	O	Z	M	O	P	I	O	I	T	IRMA
1		S	R	S	S	R	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S	R	0,37
2		S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	0,31
3		S	S	S	R	S	R	R	S	S	I	R	S	S	S	S	R	0,31
4		R	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	0,25
5		S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	0,50
6		R	R	S	R	R	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	0,43
		<i>Salmonella</i> spp.																
1		S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	0,18	
4		S	S	S	R	S	R	S	S	S	I	I	S	R	S	S	S	0,25
5		S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	I	0,18	

AML=amicacina, ATM = aztreonam, AMP = ampicilina, CFC= cefaclor, CFZ= cefazolina, CFL = cefalotina, CFX = cefotaxime, CFO= cefoxitina, CAZ= ceftazidima, COM = cefepime, CRO= ceftriaxona, CIP = ciprofloxacina, CLI = clindamicina, CLO= cloranfenicol, ERI = eritromicina, TET= tetraciclina.

**Fonte:** Próprio autor

Pelos resultados obtidos quanto à resistência aos antibióticos de *E. coli* e *salmonella* spp. isoladas de berinjela (Tabela 6), verificou-se que houve correspondência com aqueles encontrados nos solos das hortas. As bactérias resistentes a antibióticos ou seus determinantes de resistência correspondentes (ARGs) são conhecidos por se espalharem para seres humanos por meio da cadeia alimentar. Vegetais frescos que são consumidos crus podem contribuir para este fenômeno, em vista que as bactérias epífitas podem desenvolver resistência a antibióticos, como consequência da grande quantidade de antibióticos utilizados na agricultura, e também pelo tratamento do solo com adubos orgânicos, como lodo de esgoto, esterco e água de irrigação contaminados, podendo levar a contaminação

vegetal com bactérias resistentes de fontes origem animal e / ou humanas (CANTÓN, 2009;BAQUERO; ALVAREZ-ORTEGA; MARTINEZ, 2009; DI CESARE et al., 2013; FERNANDES et al., 2016).

As bactérias isoladas de vegetais frescos incluem vários patógenos humanos oportunistas, que podem causar uma variedade de doenças infecciosas no hospedeiro imunocomprometido e, além disso, a resistência à antibióticos pode ser transferida horizontalmente, após a ingestão por parte do consumidor, a outras bactérias comensais ou patogênicas que compõem a microbiota intestinal. Estes produtos podem, também, representar uma fonte adicional de contaminação bacteriana de alimentos durante a manipulação. Portanto, o consumo de vegetais frescos pode representar um fator de risco potencial para a saúde do consumidor, particularmente em indivíduos debilitados ou imunocomprometidos (KIEFER et al. 2012; OBI, 2014; GUBER et al., 2015; BALKHAIR, 2016; DELPLA;RODRIGUEZ, 2016).

Deve-se ressaltar que os antibióticos são usados na produção animal tanto para a promoção do crescimento e melhoria da eficiência alimentar, bem como para o tratamento terapêutico de doenças. Estes procedimentos constituem fatores de seleção de genes de resistência a antibióticos. Junto às bactérias do conteúdo gastrointestinal, são excretados também, antibióticos que não são absorvidos pelos animais. Portanto, a aplicação no solo de resíduos animais (esterco), método de disposição comum usado no Brasil e em outros países, incluindo Estados Unidos, é um meio para a entrada de antibióticos e dos determinantes genéticos de resistência (ARGs) no ambiente (ENGEMANN et al., 2008; BAQUERO; ALVAREZ-ORTEGA; MARTINEZ, 2009; FERNANDES et al., 2016).Portanto, as questões relacionadas com a contaminação ambiental e transmissão de bactérias resistentes aos antimicrobianos pelo esterco animal devem ser totalmente resolvidas, havendo necessidade de melhorar normas ambientais relativas à prática da gestão de resíduos de origem animal.

## 5. CONCLUSÕES

Pela metodologia utilizada e pelos resultados obtidos é possível concluir que:

- Os solos de hortas tratados e não tratados com esterco de galinha apresentaram contaminação com coliformes termotolerantes em concentrações que variaram de  $5,3 \times 10^2$  a  $1,5 \times 10^7$  UFC g<sup>-1</sup> e *Escherichia coli* entre  $2,0 \times 10$  e  $3,3 \times 10^6$  UFC g<sup>-1</sup>;
- Contagens entre  $1,8 \times 10$  e  $4,5 \times 10^2$  UFC g<sup>-1</sup> de *Salmonella* spp. foi encontrada em solos tratados com esterco;
- *E. coli* foi isolada de frutos de berinjela cultivadas em solos tratados e não tratados com esterco de galinha, enquanto que *Salmonella* spp. em frutos de três hortas que receberam tratamento;
- Todos os isolados de *E. coli* obtidos dos solos tratados e não tratados assim como de frutos de berinjela apresentaram multirresistência aos antibióticos;
- *Salmonella* spp. isoladas de três solos e frutos de berinjela cultivada em uma horta foram multirresistentes aos antibióticos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, I.M.O.; JUNQUEIRA, A.M.R.; PEIXOTO, J.S.; et al. Qualidade microbiológica e produtividade de alface sob adubação química e orgânica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 30(1): 108-118, 2010.

AKYALA, I. A.; OLUFEMI, A.; ADEBOLA, O. Implication of coliforms as a major public health problem in Nigeria. **Journal of Public Health and Epidemiology**, 6(1): 1-7, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5897/JPHE2013.0581>>. Acesso em 16 mai. 2016.

AL-JABOABI M.; TIJANE M.; EL-ARIQI S.; et al. Assessment of the impact of wastewater use on soil properties. **Journal of Material Environmental Science**. 5(3): 747-752, 2014.

ALLEN, H.K.; DONATO, J.; WANG, H.H.; et al. Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. **Nature Reviews Microbiology**. 8: 251–259, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2312>>. Acesso em 23 mar. 2016.

AMIN, M. M. G.; FORSLUND, A.; BUI, X. T.; et al. Persistence and leaching potential of microorganisms and mineral N in animal manure applied to intact soil columns. **Applied and Environmental Microbiology**. 79: 535-542, 2013. Disponível em: <[doi: http://dx.doi.org/10.1128/AEM.02506-12](http://dx.doi.org/10.1128/AEM.02506-12)>. Acesso em 12 dez. 2015.

AMINOV, R.I.; MACKIE, R.I. Evolution and ecology of antibiotic resistance genes. **FEMS Microbiology Letters**. 271: 147–161, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00757.x>>. Acesso em 17 mai. 2016.

APHA - American Public Health Association. **Standard methods for the microbiological examination of foods**. Washington: American Public Health Association; 2004.

APHA - American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 21° ed. Washington, D.C. 2005.

ARAÚJO, M.A.; PEDROSO, A.V.; AMARAL, D.C.; et al. Paragênese mineral de solos desenvolvidos de diferentes litologias na região sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. 38: 11-25, 2014.

BALKHAIR, K. S. Microbial contamination of vegetable crop and soil profile in arid regions under controlled application of domestic wastewater. **Saudi Journal of Biological Sciences**. 23(1), 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.10.029>>. Acesso em 16 mai. 2016.

BAQUERO, F.; ALVAREZ-ORTEGA, C.; MARTINEZ, J. L. *Ecology and evolution of antibiotic resistance*. **Environmental Microbiology Reports**. 1(6): 469-476, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1758-2229.2009.00053.x>>. Acesso em 23 mar. 2016.

BARBOSA, M.C.; CARVALHO, A.M.; IKEMATSU, P.; et al. Avaliação do perigo de contaminação do sistema aquífero guarani em sua área de afloramento do estado de São Paulo decorrente das atividades agrícolas. **Águas Subterrâneas**. 25(1): 1-14, 2011.

BASHIRI, F.; AHMADI, R.; KHEZRI, S. M. Remove soil contaminants by heat treatment. **International Journal of Fundamental Arts and Architecture**, 1(1): 8-12, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.14331/ijfaa.2015.330002>>. Acesso em 17 jul. 2016.

BRASIL. Conama – Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 274 de 29 de Novembro de 2000. Revoga os artigos 26 a 34 da Resolução nº 20/86 (revogada pela Resolução no 357/05) e define os critérios de balneabilidade em águas brasileiras. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, v. 18, seção 1, p. 70-71, 25 jan. 2001.

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

BRASIL. Resolução nº 420 de 28 de dezembro de 2009. Dispõe sobre critérios e valores orientadores de qualidade do solo quanto à presença de substâncias químicas e estabelece diretrizes para o gerenciamento ambiental de áreas contaminadas por essas substâncias em decorrência de atividades antrópicas. **Diário Oficial da União**, Brasília, p. 81-84, 30 dez. 2009.

BOHNER, T.O.L.; ARAÚJO, L.E.B.; NISHIJIMA, T. A biossegurança no uso de defensivos agrícolas na percepção dos agricultores do município de Chapecó, SC. **Revista Eletrônica do Curso de Direito da UFSM**. 8: 690-699, 2013.

CAVINATTO, A.S.; PAGANINI, W.S. Os microrganismos nas atividades de disposição de esgotos no solo - estudo de caso. **Engenharia Sanitária Ambiental**. 12(1):42-51, 2007.

CANTÓN, R. Antibiotic resistance genes from the environment: a perspective through newly identified antibiotic resistance mechanisms in the clinical setting. **Clinical Microbiology and Infection**. 15(s1): 20-25, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02679.x>>. Acesso em 24 mar. 2016.

CARVALHO N.L.; PIVOTO, T.S. Ecotoxicologia: conceitos, abrangência e importância agrônoma. **Revista Eletrônica do PPGEAmb-CCR/UFSM**. 2(2): 176-192, 2011.

CEPAGRI. **Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas Aplicadas à Agricultura**. Disponível em: <<http://www.cepagri.unicamp.br/outras-informacoes/clima-dos-municipios-paulistas.html>>. Acesso em 15 mai. 2016.

CETESB. **Companhia Ambiental do Estado de São Paulo**. Disponível em: <<http://solo.cetesb.sp.gov.br/>>. Acesso em 06 ago. 2016.

CIIAGRO. **Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas**. Disponível em: <<http://www.ciiagro.sp.gov.br/>>. Acesso em 12 ago. 2016.

CORDEIRO, M.S.C. **Avaliação da correlação entre a presença de *E. coli*, coliformes fecais e totais e *salmonella* spp. nos alimentos**. 2014. 63p. dissertação (Mestrado Segurança Alimentar e Saúde Pública) - Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Almada Portugal.

CLSI - Clinical Laboratory Standard Institute. **Performance for antimicrobial susceptibility**. 10th edition. v. 29, p. 1-3, 2009.

DELPLA, I.; RODRIGUEZ, M.J. Experimental disinfection by-product formation potential following rainfall events. **Water Research**. 104: 340-348, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2016.08.031>>. Acesso em 17 jul. 2016.

DIAS, N.; FONSECA, R.; MARTINS, L.; et al. Avaliação da contaminação e proposta de remediação de solos em clima tropical, na envolvente de uma unidade de processamento de metais pesados, Minas Gerais, Brasil. **Comunicações Geológicas**. 101: 981-985, 2014.

DI CESARE, A.; LUNA, G. M.; VIGNAROLI, C.; et al. Aquaculture can promote the presence and spread of antibiotic-resistant enterococci in marine sediments. **Plos One**. 8: e62838. 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0062838>>. Acesso em 13 dez. 2015.

ENGEMANN, C.A.; KEEN, P.L.; KNAPP, C.W.; et al. Fate of tetracycline resistance genes in aquatic systems: Migration from the water column to peripheral biofilms. **Environmental Science & Technology**. 42: 5131–5136, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/es800238>>. Acesso em 05 fev. 2016.

FERNANDES, A.L.T.; SANTINATO, F., FERREIRA, R.T.; et al. adubação orgânica com uso do esterco de galinha em substituição à adubação mineral. **Coffee Science**. 8(4): 486-499, 2013.

FERNANDES, M.R.; MOURA, Q.; SARTORI, L.; et al. Silent dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli* in South America could contribute to the global spread of the *mcr-1* gene. **Euro Surveill**. 21(17):pii=30214, 2016. Disponível em <<http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.17.30214>>. Acesso em 07 ago. 2016.

FORSTER, T.; RIAU, V.; PEREZ, M. Mesophilic anaerobic digestion of sewage sludge to obtain class B biosolids: Microbiological methods development. **Biomass and Bioenergy**. 34: 1805-1812, 2010.

FREITAS, C.M. Levantamento da disposição final de resíduos sólidos urbanos em 32 municípios do Estado de Goiás. **Revista de Biologia Neotropical**. 12(2): 120-124, 2015.

GUBER, A. K.; FRY, J.; IVES, R. L.; et al. Escherichia coli survival in, and release from, white-tailed deer feces. **Applied Environmental and Microbiology**. 81(3): 1-9, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1128/AEM.03295-14>>. Acesso em 15 jul. 2016.

GUHEI, A. K.; PACHEPSLCT, Y. A.; SHELTON, D. R.; et al. Association of Fecal Coliforms With Soil Aggregates: Effect of Water Content and Bovine Manure Application. **Soil Science**. 174(10), 2009. Disponível em: <<http://handle.nal.usda.gov/10113/37298>>. Acesso em 08 ago. 2016.

HALIM, C. E.; SCOTT, J. A.; AMAL, R.; et al. Evaluating the applicability of regulatory leaching tests for assessing the hazards of Pb-contaminated soils. **Journal of hazardous materials**. 120(1): 101-111, 2005. Disponível em: <[doi:10.1016/j.jhazmat.2004.12.039](http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2004.12.039)>. Acesso em 07 ago. 2016.

HEIDERSCHEIDT, D.; PEREIRA, J.; BURGHARDT, J.E.; et al. Conceitos aplicados à poluição do solo decorrente do derrame de petróleo e seus derivados. **Revista Maiêutica**. 4(1): 7-14, 2016.

HERNANDEZ, S. M.; KEEL, K.; SANCHEZ, S.; et al. Epidemiology of Salmonella enterica subsp. entérica serovar Typhimurium strain associated with a songbird outbreak. **Applied and Environmental Microbiology**. 78(20): 7290-7298, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01408-12>>. Acesso em 24 mar. 2016.

KIEFER, L.A.; SHELTON, D.R.; PACHEPSKY, Y.; et al. Persistence of Escherichia coli introduced into streambed sediments with goose, deer and bovine animal waste. **Letters in Applied Microbiology**. 55: 345–353, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765X.2012.03296.x>>. Acesso em 16 jul. 2016.

KOSTADINOVA, G.; PETROV, G.; DENEV, S.; et al. Microbial pollution of manure, litter, air and soil in a poultry farm. Bulgarian. **Journal of Agricultural Science**. 20(1): 56-65, 2014.

KRUMPERMAN; P.H. Multiple antibiotic resistance indexing of Escherichia coli to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. **Applied Environmental Microbiology**. 46(1): 165-170, 1983.

KRZYZANOWSKI JÚNIOR, F. **Avaliação de risco de infecção por Salmonella spp. associado ao uso agrícola de lodo de esgoto: risco de consumo de hortaliças e ao trabalhador**. 2014, 177p. Tese (doutorado em Ciências – Saúde Pública) – Universidade de São Paulo, São Paulo.

KUMAR, G.; MEENA, B.L.; KAR, R.; et al. Morphological diversity in brinjal (Solanum melongena L.) germplasm accessions. **Plant Genetic Resources**. 6: 232-236. 2008.

LIMA, L.A.; OLIVEIRA, F.A.; ALVES, R.C.; et al. Tolerância da berinjela à salinidade da água de irrigação. **Revista Agro@ambiente On-line**. 9(1): 27-34, 2015.

LINHARES, I.M.M.; SOUZA, B.B.; RAMOS, E.C.; et al. Comparação do perfil físico-químico e microbiológico entre solo contaminado por esgoto doméstico e

adjacências do Instituto Federal de Rondônia, campus Porto Velho Calama. **SOUTH AMERICAN Journal of Basic Education, Technical and Technological**. 2 (2): 25-33, 2015.

LIU, J.; LIU, W. Distribution of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDDs/Fs) and dioxin-like polychlorinated biphenyls (dioxin-like PCBs) in the soil in a typical area of eastern China. **Journal of hazardous materials**. 163(2): 959-966, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.07.080>> Acesso em 12 dez. 2015.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; et al. **Microbiologia de Brock**. 14<sup>a</sup> ed. Artmed, Porto Alegre, RS, 2016, 1006p.

MARTI, E.; JOFRE, J.; BALCAZAR, J.L. Prevalence of Antibiotic Resistance Genes and Bacterial Community Composition in a River Influenced by a Wastewater Treatment Plant. **Plos One**. 8(10): e78906, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0078906>>. Acesso em 23 nov. 2015.

MARTINEZ, J.L. Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. **Environmental Pollution**. 157(11): 2893-2902, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2009.05.051>>. Acesso em 05 fev. 2016.

MELO, J.M.M.C.; NASCIMENTO, K.O.; BARBOSA JÚNIOR, J.L.; et al. Diagnóstico e qualidade microbiológica de ovos caipiras produzidos por agricultores familiares. **Revista brasileira de Ciência Veterinária**. 22(1): 48-53, 2015.

MILLER, C.; HERINGA, S.; KIM, J.; et al. Analyzing indicator microorganisms, antibiotic resistant *Escherichia coli*, and regrowth potential of foodborne pathogens in various organic fertilizers. **Foodborne Pathogens and Disease**. 10(6): 520–527, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1089/fpd.2012.1403>>. Acesso em 12 jul. 2016.

MONACO, K.A. **Desenvolvimento, pós-colheita e composição química de berinjela cv ciça cultivada sob fertirrigação potássica**. 2012. 44p. Dissertação (Mestrado Agronomia – Produção Vegetal) – Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul.

MORAIS, M.A.; FERREIRA NETO, M.; SILVA, G.F.; et al. Contaminação microbiológica no perfil do solo por águas residuárias. **Holos**. 3: 76-83, 2016.

MOURA, D.C.M.; CARVALHO, J.A. Efeitos de diferentes lâminas e teores de sais na água de irrigação sobre o desenvolvimento e produção da berinjela. **Irriga**. 19(1): 35-45, 2014.

MOURA, M.C.F.; OLIVEIRA, L.C.S. Atividade agrícola: produção, impacto e sustentabilidade. **Revista Ibero - Americana de Ciências Ambientais**. 4(1): 8-14, 2013.

NASCIMENTO, A.L.; SAMPAIO, R.A.; ZUBA JUNIO, G.R.; et al. Teores de metais pesados no solo e em girassol adubado com lodo de esgoto. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. 18(3): 294–300, 2014.

NGOLE, V.; MPUCHANE, S.; TOTOLLO, O. Survival of faecal coliforms in four different types of sludge-amended soils in Botswana. **European Journal of Soil Biology**, v. 42, n. 4, p. 208–218, 2006.

OBI, C. N. Bacteriological Assesment of Vegetables Cultivated in Soils Treated with Poultry Manure and the Manure-Treated Soil Samples. **American Journal of Microbiological Research**. 2(6): 189-200, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.12691/ajmr-2-6-5>>. Acesso em 29 nov. 2015.

PACHEPSKY, Y. A.; SADEGHI, A. M. BRADFORD, S. A.; et al. Transport and fate of manure-home pathogens: Modeling perspective. **Agricultural Water Management**. 66: 81-92, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2006.06.010>>. Acesso em 19 out. 2015.

PALESE, A.M.; PASQUALE, V.; CELANO, G.; et al. Irrigation of olive groves in Southern Italy with treated municipal wastewater: effects on microbiological quality of soil and fruits. **Agricultural Water Management**. 129: 43–51, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2008.07.003>>. Acesso em 16 jul. 2016.

PEREIRA, C.M.; FLECK, L.; FREIRY, J.; et al. **Contaminação do solo através da agricultura**. Universidade do Vale do Rio dos Sinos, 2009. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAAa94AB/contaminacao-solo-pela-agricultura>>. Acesso em 10 ago. 2016.

POURCHER, A.; BONNAUD, P.; OISE, F.; et al. Survival of faecal indicators and enteroviruses in soil after land-spreading of municipal sewage sludge. **Applied Soil Ecology**. 35: 473-479, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2006.10.005>>. Acesso em 19 out. 2015.

PUÑO-SARMIENTO, J.; GAZAL, L. E.; MEDEIROS, L. P.; et al. Identification of diarrheagenic Escherichia coli strains from avian organic fertilizers. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. 11: 8924-8939, 2014. Disponível em: <[doi:10.3390/ijerph110908924](https://doi.org/10.3390/ijerph110908924)>. Acesso em 13 dez. 2015.

RODRIGUES, A.C.D.; SANTOS, A.M.; PEREIRA, A.C.C.; et al. Mecanismos de Respostas das Plantas à Poluição por Metais Pesados: Possibilidade de Uso de Macrófitas para Remediação de Ambientes Aquáticos Contaminados. **Revista Virtual de Química**. 8 (1): 262-276, 2016.

RODRIGUES, C.S. **Contaminação microbiológica em alface e couve comercializadas no varejo de Brasília-DF**. (trabalho de conclusão de curso). Universidade de Brasília, Brasília. 2007, 29p.

SALES, W.B.; KUCHAR, K.C.; CAVEIÃO, C. Determinação de coliformes totais e termotolerantes em hambúrgueres vendidos em fast foods na cidade de Curitiba – Paraná. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**. 14(2): 412-420, 2016.

SEMENOV, A.V.; VAN OVERBEEK, L.; VAN BRUGGEN, A.H.C. Percolation and survival of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella enterica Serovar Typhimurium in soil amended with contaminated dairy manure or slurry. **Applied and Environmental Microbiology**. 75(10): 3206-3215, 2009. Disponível em: <doi: 10.1128/AEM.01791-08>. Acesso em 12 jul. 2016.

SILVA, M.L.S.; VITTI, G.C.; TREVIZAM, A.R. Heavy metal toxicity in rice and soybean plants cultivated in contaminated soil. **Revista Ceres**. 61(2): 248-254, 2014.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 4ª Edição. São Paulo: Editora Varela, 2010.

SILVA NETO, L.K.; PEIXOTO, R.H.P.B; Qualidade microbiológica da água para consumo humano no campus da Unitins no município de Palmas (TO). **Environmental Sciences**. 2(1): 32-37, 2015.

SOARES, A.A.; SOUZA, J.A.A.; BATISTA, R.O.; et al. Contaminação microbiológica do perfil do solo com esgoto sanitário. **Acta Scientiarum. Technology**. 33(1): 5-8, 2011.

SOUZA, J.R.; FIGUEIREDO, R.M.; SANTANA, C.M.P. Qualidade microbiológica da farinha de mandioca comercializada na região sudoeste da Bahia. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**. 17(2): 117-123, 2015.

SPSS - Statistical Package for the Social Sciences. Guia para el análisis de datos. McGraw-Hill. Madrid. 2011.

STEFFEN, G.P.K.; STEFFEN, R.B.; ANTONIOLLI, Z.I. Contaminação do solo e da água pelo uso de agrotóxicos **Tecno-Lógica**. 15(1): 15-21, 2011.

TESSARO, D.; SAMPAIO, S.C.; CASTALDELLI, A.P.A. Wastewater use in agriculture and potential effects on meso and macrofauna soil. **Ciência Rural**. 46(6): 976-983, 2016.

TRANI, P.E.; TERRA, M.M.; TECCHIO, M.A.; et al. **Adubação Orgânica de Hortaliças e Frutíferas**. Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas, São Paulo, 2013. Disponível em: <[http://www.iac.sp.gov.br/imagem\\_informacoestecnologicas/83.pdf](http://www.iac.sp.gov.br/imagem_informacoestecnologicas/83.pdf)>. Acesso em 15 ago. 2016.

TRAWIŃSKA, B.; CHMIELOWIEC-KORZENIOWSKA, A.; NOWAKOWICZ-DEBEK, B; et al. Evaluation of microbial contamination of feces and soil on a laying-hen farm depending on sampling site and season. **Revista Brasileira de Zootecnia**. 45(4): 190-194, 2016.

VENANCIO, L.P.; LOPES, J.C.; THOMAZINI, A.; et al. Efeito do condicionador de solo fertium na germinação e no desenvolvimento de plântulas de pimentão. **Nucleus**, 9(2): 241-246, 2012.