

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GABRIEL FARIAS SOUZA

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO INTERLABORATORIAL DE UM PROTOCOLO
APLICADO PARA A DETECÇÃO DE *Toxocara* sp. E *Ascaris* sp. EM MORANGOS

CURITIBA

2025

GABRIEL FARIAS SOUZA

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO INTERLABORATORIAL DE UM PROTOCOLO
APLICADO PARA A DETECÇÃO DE *Toxocara* sp. E *Ascaris* sp. EM MORANGOS

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em
Alimentação e Nutrição, Setor de Ciências da Saúde,
Universidade Federal do Paraná, como requisito à obten-
ção do título de Mestre em Alimentação e Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Diego Averaldo Guiguet Leal

CURITIBA

2025

Souza, Gabriel Farias

Desenvolvimento e validação interlaboratorial de um protocolo aplicado para a detecção de *Toxocara* sp. e *Ascaris* sp. em morangos [recurso eletrônico] / Gabriel Farias Souza. – Curitiba, 2025.

1 recurso online : PDF

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2025.

Orientador: Prof. Dr. Diego Averaldo Guiguet Leal

1. Segurança alimentar. 2. Morango. 3. Helminto. 4. Metodologia. I. Leal, Diego Averaldo Guiguet. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDD 613.2

Josefina A. S. Guedes - CRB 9/870



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ALIMENTAÇÃO E
NUTRIÇÃO - 40001016074P7

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **GABRIEL FARIAS SOUZA**, intitulada: **Desenvolvimento e validação interlaboratorial de um protocolo aplicado para a detecção de *Toxocara sp* e *Ascaris Sp* em morangos**, sob orientação do Prof. Dr. DIEGO AVERALDO GUIGUET LEAL, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 31 de Outubro de 2025.

Assinatura Eletrônica
03/11/2025 20:40:50.0
DIEGO AVERALDO GUIGUET LEAL
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
03/11/2025 09:12:47.0
TAIS RONDELLO BONATTI
Avaliador Externo ()

Assinatura Eletrônica
04/11/2025 11:07:28.0
DEIVIANE APARECIDA CALEGAR
Avaliador Externo ()

AGRADECIMENTOS

Quem tem a oportunidade de cursar uma pós-graduação, com a missão de apresentar um trabalho digno ao final de um longo processo, comprehende que essa é uma jornada árdua e, por vezes, solitária. No entanto, ela só se torna possível graças ao apoio e à colaboração de muitas mãos.

Por isso, gostaria, em primeiro lugar, de reconhecer o excelente trabalho desenvolvido pelos docentes do Programa de Pós-Graduação em Alimentação e Nutrição (PPGAN) da Universidade Federal do Paraná (UFPR), assim como de expressar minha gratidão pela oportunidade de realizar este mestrado — um verdadeiro divisor de águas na vida acadêmica daqueles que ousam abraçar essa possibilidade.

Ao meu orientador, Prof. Diego Averaldo Guiguet Leal, pela dedicação incansável como professor e pesquisador, sempre disponível para auxiliar e discutir sobre a pesquisa, não importa quando ou onde estiver. Pelo cuidado com o trabalho, por me apresentar essa área fascinante ainda na graduação e por proporcionar experiências únicas na pesquisa e extensão. Além disso, agradeço pela compreensão diante das limitações técnicas e logísticas que enfrentei. Dificilmente conseguirei retribuir todo o seu empenho.

Aos professores da minha banca de qualificação – Prof. Andrey José de Andrade e Prof.^a Jucicleide Ramos de Souza, e às integrantes da minha banca de defesa – Deiviane Aparecida Calegar e Taís Rondello Bonatti, pelas valiosas contribuições que enriqueceram a versão final deste trabalho.

Ao Alisson Neri, Israel Cerezo e Jonathan dos Anjos, pela indispensável ajuda durante o processamento das amostras de morango. Sem vocês, não haveria tempo hábil para realizar sequer metade do que foi produzido.

A todos os pesquisadores voluntários que participaram deste trabalho, dos diferentes laboratórios envolvidos na validação interlaboratorial. Um agradecimento especial a Alinne Petris, Alynne da Silva Barbosa, Elaine Cristina de Mattos, Juliane Araújo Greinert Goulart, Júlio César Miné, Maria Aparecida Moraes Marciano e aos demais colegas que, mesmo sem poder conhecê-los pessoalmente, foram essenciais. Sem vocês, um terço desta pesquisa não existiria.

À Ana Gabriela, minha amada esposa, que permitiu que eu sobrevivesse à graduação e pós-graduação com o mínimo de saúde mental. Todo o meu amor e gratidão pela sua presença em minha vida e por ser quem és.

À minha mãe, sempre a observar de longe, enviando seu apoio e carinho, mesmo não entendendo as sandices que seu filho fazia *na escola*.

Aos meus amigos e colegas que torceram por mim e tiveram paciência com minhas muitas ausências neste período de dois anos. Em especial, agradeço à Mônica Anjos, querida amiga que me acolheu durante a graduação e Trabalho de Conclusão de Curso, e me proporcionou uma miríade de reflexões edificantes.

À técnica de laboratório Eliana, me salvando na correria de bancada. Meu mestrado, em partes, foi muito mais fácil graças a você.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), pelo apoio fornecido (Código de Financiamento 001).

*De dia, o galo canta na porteira,
E a passarada vem comer na mão;
E, à sombra de uma jabuticabeira,
Passo a manhã, cantando uma canção.*

[...]

*Por que não ser assim com a Terra inteira?
Por que uns conseguem e outros não?
Eu canto uma toada brasileira,
Pedindo um mundo assim pros meus irmãos.*

(Toada Brasileira, de **Ivor Lancellotti e Paulo César Pinheiro**, 1980).

RESUMO

As doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA) são um desafio global, acarretando custos bilionários ao Sul Global. No entanto, há escassez de dados sobre o tema, especialmente relacionadas às parasitoses. O morango é a fruta vermelha mais consumida no Brasil, com produção superior a 187.000 toneladas em 2023. Essa fruta é geralmente consumida crua e os processos de higienização padrão são ineficientes para eliminar ou inativar ovos de helmintos. Além disso, inexiste método padrão para a identificação desses ovos nessa fruta. O objetivo deste estudo foi padronizar um protocolo e aferir a sensibilidade de detecção de ovos de helmintos em morangos contaminados artificialmente com ovos de *Toxocara canis* e *Ascaris suum*. Complementarmente, objetivamos validar o protocolo interlaboratorialmente, em diferentes estados do Brasil e, aferir a presença de contaminação natural por parasitos em morangos orgânicos comercializados em feiras de Curitiba/PR. Foram utilizadas duas doses de ovos de *T. canis* (33 e 103) e *A. suum* (71 e 139) para a padronização. Para tal, 6 protocolos por modelo/dose foram analisados em triplicata (n=72 ensaios), mais 1 ensaio controle-negativo por protocolo (n=24). Após contaminação, os morangos foram submetidos a duas estratégias de lavagens (agitação manual e pincelamento) e duas variáveis foram analisadas: solução de dissociação (Glicina 1M pH 5,5; Alconox® 0,1% ou Tween® 20 0,1%) e temperatura da solução (ambiente ou 37 °C). Os protocolos tiveram como etapas comuns a sedimentação do líquido, seguido de centrifugação e leitura total por microscopia óptica do sedimento obtido. Sete laboratórios participaram do processo de intervalidação, executando o protocolo padronizado em triplicata com ovos de *T. canis* (dose de 142 ovos). Na etapa de aferição de contaminação natural, foram analisados 267 morangos (2,91kg), representando 50 pool e montante de 6,02kg de morangos obtidos. Para ensaios utilizando ovos de *T. canis*, o Protocolo 3 (solução aquecida de Alconox®) apresentou a melhor taxa de recuperação média de ovos, 79,80% e 81,55%, para as doses 1 e 2, respectivamente. Para a dose 1 de *A. suum*, o Protocolo 3 apresentou a maior taxa de recuperação (46,48%). Entretanto, para a dose 2, o Protocolo 1 (solução aquecida de Glicina) apresentou melhor desempenho (36,69%), apresentando diferença de pouco mais de 1% para o Protocolo 3 (35,49%). O Protocolo 3 foi escolhido para intervalidação e aferição de contaminação natural. Para os ensaios da validação interlaboratorial, as taxas de recuperação de ovos variaram de 15,73% a 76,74%, com média de 52,45%. Com relação à ocorrência natural de parasitos em morangos orgânicos, 4,00% (2/50) dos pool apresentaram contaminação (*Ascaris* sp. e *Toxocara* sp.). A aferição do desempenho da técnica por outros laboratórios, bem como a detecção de contaminação na etapa de comercialização, adicionam robustez ao protocolo padronizado, contribuindo para os setores de vigilância epidemiológica, sanitária e controle de qualidade, visto que inexiste para essa fruta método padronizado para aferição da sanidade parasitológica. Ademais, demonstra risco potencial de aquisição de parasitoses mediante ingestão crua da fruta, enfatizando a necessidade de monitoramento da qualidade higiênico-sanitária e adoção de medidas de controle.

Palavras-chave: *Fragaria*; helminto; padronização de metodologia; segurança dos alimentos.

ABSTRACT

Water- and Foodborne Diseases (WFD) are a global public health issue, resulting in billion-dollar costs for the Global South. However, research on the topic is sparse, especially regarding parasitic diseases. Strawberry is the most consumed berry in Brazil, with over 187.000 tons produced in 2023. This fruit is often consumed raw or with inadequate hygiene methods that may fail to remove or inactivate parasites. Furthermore, there is no standard protocol for the identification of nematode eggs in this fruit. The main goal of the present study was to develop, standardize and validate a protocol for the detection of helminth eggs in strawberries, for further evaluation of this fruit sold in organic open markets in Curitiba, Paraná, Brazil. The standardization via artificial contamination assays were performed with two known doses of *Toxocara canis* eggs (33 and 103) and *Ascaris suum* eggs (71 and 139). To estimate the sensitivity recovery rate, 6 protocols per model/dose were analyzed in triplicate (n=72 essays), plus 1 negative-control essay per protocol (n=24). The contaminated strawberries were subjected to two washing procedures (manual agitation and brushing), and two variables were analyzed: dissociation solution (Glycine 1M pH 5.5, Alconox 0.1%, or Tween 20 0.1%) and solution temperature (room temperature or heated at 37 °C). All protocols included a common step of sedimentation of the liquid from the two washing procedures separately, followed by centrifugation and microscopic examination of the entire pellets obtained. Seven laboratories participated in the intervalidation process, performing the standardized protocol in triplicate with *T. canis* eggs (dose = 142 eggs). In the stage of evaluation of natural contamination, a total of 267 units (± 2.91 kg) of organic strawberries were divided into 50 pool for analysis, representing 6.02 kg total obtained. *Toxocara canis* experiments showed that Protocol 3 (heated Alconox solution) removed 79.80% and 81.55% of spiked eggs for dose 1 and 2, respectively. *Ascaris suum* dose 1 presented Protocol 3 with the highest mean recovery rate (46.48%). However, on dose 2, Protocol 1 (heated Glycine solution) performed better (36.69%), showing a difference of just over 1% for Protocol 3 (35.49%). Protocol 3 was elected to search for helminth contamination at commercialization stage, where 4.00% (2/50) of pool harbored *Ascaris* sp. eggs. Interlaboratorial validation showed recovery rates ranging from 15.73% to 76.74% (mean=52.45%). The measurement of the technique performance by other laboratories, as well as the detection of contamination at the marketing stage, further strengthens the standardized method, showing that the protocol may contribute to the sanitary and epidemiological surveillance and quality control sectors, since there is no standardized method for parasitological assessment in strawberries. Moreover, this study highlights the potential risk of acquiring parasites through the ingestion of this raw fruit, emphasizing the need to monitor hygienic-sanitary quality and adopt control measures.

Keywords: *Fragaria*; helminth; method standardization; food safety.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 – Países onde a detecção de parasitos em <i>berries</i> já foi evidenciada em situações não relacionadas a surtos..... | 45 |
| Figura 2 – Ovos de <i>Toxocara canis</i> e <i>Ascaris suum</i> sob microscópio óptico | 60 |
| Figura 3 – Fluxograma das etapas e variáveis empregadas para a padronização de protocolo de detecção de ovos de helmintos (n=2 doses/parasito) em morangos contaminados artificialmente..... | 62 |
| Figura 4 – Etapas dos ensaios de contaminação artificial das amostras de morangos | 63 |
| Figura 5 – Fluxograma simplificado do Protocolo com soluções aquecidas | 65 |
| Figura 6 – Localização dos laboratórios participantes da etapa de validação de protocolo padronizado de ovos de helmintos em morangos no mapa do Brasil..... | 67 |
| Figura 7 – Caixa de itens enviado via Correios para os laboratórios participantes do processo de validação interlaboratorial do protocolo padronizado | 68 |
| Figura 8 – Localização das feiras produtos orgânicos de Curitiba visitadas..... | 70 |
| Figura 9 – Ovos de <i>Toxocara canis</i> recuperados após ensaios de contaminação artificial de morangos durante etapa de padronização do protocolo..... | 73 |
| Figura 10 – Ovos de <i>Ascaris suum</i> recuperados após ensaios de contaminação artificial de morangos durante etapa de padronização do protocolo..... | 73 |
| Figura 11 – Comparação do número de ovos de <i>Toxocara canis</i> recuperados entre os protocolos | 76 |
| Figura 12 – Comparação da taxa de recuperação de ovos de <i>Toxocara canis</i> entre os protocolos | 77 |
| Figura 13 – Comparação do número de ovos de <i>Ascaris suum</i> recuperados entre os protocolos | 80 |
| Figura 14 – Comparação da taxa de recuperação de ovos de <i>Ascaris suum</i> entre os protocolos. | 81 |
| Figura 15 – Exemplos de artefatos encontrados durante padronização..... | 82 |
| Figura 16 – Comparação da taxa de recuperação de ovos de <i>Toxocara canis</i> entre os laboratórios colaboradores..... | 85 |

LISTA DE QUADROS

| | |
|---|----|
| Quadro 1 – Identificação dos principais parasitos veiculados por alimentos no mundo pela FAO/OMS | 20 |
| Quadro 2 – Estudos que avaliaram ou elaboraram métodos de detecção de parasitos em hortifrúti, mediante contaminação artificial no mundo | 33 |
| Quadro 3 – Estudos que avaliaram a ocorrência natural de parasitos em frutas vermelhas (<i>berries</i>) | 46 |
| Quadro 4 – Laboratórios participantes da etapa de validação de protocolo padronizado para a detecção de ovos de helmintos em morangos..... | 66 |
| Quadro 5 – Lista de itens enviados via Correios para os laboratórios participantes do processo de validação interlaboratorial do protocolo padronizado | 67 |
| Quadro 6 – Panorama demográfico dos municípios que integram a Região Metropolitana de Curitiba (RMC), em 2022, organizados pelo parâmetro de porcentagem de esgotamento sanitário adequado dos domicílios | 69 |
| Quadro 7 – Pontos de obtenção de morangos orgânicos, características do produto na fase de comercialização e achados das análises parasitológicas..... | 86 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 – Avaliação da sensibilidade de detecção de ovos de <i>Toxocara canis</i> em morangos contaminados artificialmente, com aplicação de diferentes soluções eluentes, temperaturas, e duas lavagens. Dose 1: 33 ovos | 74 |
| Tabela 2 – Avaliação da sensibilidade de detecção de ovos de <i>Toxocara canis</i> em morangos contaminados artificialmente, com aplicação de diferentes soluções eluentes, temperaturas, e duas lavagens. Dose 2: 103 ovos | 75 |
| Tabela 3 – Avaliação da sensibilidade de detecção de ovos de <i>Ascaris suum</i> em morangos contaminados artificialmente, com aplicação de diferentes soluções eluentes, temperaturas, e duas lavagens. Dose 1: 71 ovos | 78 |
| Tabela 4 – Avaliação da sensibilidade de detecção de ovos de <i>Ascaris suum</i> em morangos contaminados artificialmente, com aplicação de diferentes soluções eluentes, temperaturas, e duas lavagens. Dose 2: 139 ovos | 79 |
| Tabela 5 – Resultados de recuperação de ovos de <i>Toxocara canis</i> obtidos pelos laboratórios colaboradores após contaminação artificial de amostras de morango, processados mediante eluição com solução aquecida de Alconox® 0,1% a 37 °C (Protocolo 3). Dose: 142 ovos..... | 84 |

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

| | |
|---------------|--|
| ANOVA | - Análise de Variância |
| APM | - Agitações por minuto |
| AU | - African Union |
| CC-qPCR | - Cultura celular e PCR quantitativo |
| CD4 | - Grupamento de diferenciação 4 |
| CDC | - Centers for Disease Control and Prevention |
| COX-1 | - Ciclo-oxigenase-1 |
| DALY | - Disability-Adjusted Life Year |
| DNA | - Ácido desoxirribonucleico |
| DP | - Desvio-padrão |
| DTHA | - Doença de Transmissão Hídrica e Alimentar |
| EB | - Elution buffer |
| ELISA | - Enzyme-linked Immunosorbent Assay |
| ESF | - Estratégia Saúde da Família |
| <i>et al.</i> | - E outros |
| FAO | - Food and Agriculture Organization of the United Nations |
| FDA | - United States Food and Drug Administration |
| HCl | - Ácido clorídrico |
| HCT-8 | - Linhagem celular de adenocarcinoma ileocecal humano |
| HEPES | - Ácido N-(2-hidroxietil)piperazina-N'-2-etanossulfônico |
| HIV | - Vírus da Imunodeficiência humana |
| IBGE | - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| IBRD | - International Bank for Reconstruction and Development |
| IDA | - International Development Association |
| IF | - Imunofluorescência |
| Ig | - Imunoglobulina |
| IL | - Interleucina |
| IMS | - Separação imunomagnética |
| IMS-IFA | - Separação imunomagnética, acoplada à imunofluorescência; |
| ISO | - International Organization for Standardization |
| L1 | - Lavagem 1 |
| L2 | - Lavagem 2 |

| | |
|--------------------|---|
| LMO | - Larva migrans ocular |
| LMV | - Larva migrans visceral |
| LOSAN | - Lei Orgânica de Segurança Alimentar e Nutricional |
| MCA | - Análise de curva de fusão |
| MLST | - Multi Locus Sequence Typing |
| MMC | - Mercado Municipal de Curitiba |
| NaCl | - Cloreto de sódio |
| NaHCO ₃ | - Bicarbonato de sódio |
| NTD | - Neglected Tropical Diseases |
| ODS | - Objetivos de Desenvolvimento Sustentável |
| OMS | - Organização Mundial da Saúde |
| p. ex. | - Por exemplo |
| PAHO | - Pan American Health Organization |
| PBS | - Solução salina tamponada com fosfato |
| PCR | - Reação em Cadeia da Polimerase |
| PNAN | - Política Nacional de Alimentação e Nutrição |
| qPCR | - Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa |
| RMC | - Região Metropolitana de Curitiba |
| RPM | - Rotações por minuto |
| SAN | - Segurança Alimentar e Nutricional |
| SBEE | - Sociedade Brasileira de Estudos Espíritas |
| SDS | - Dodecil sulfato de sódio |
| SMSAN | - Secretaria Municipal de Segurança Alimentar e Nutricional |
| SNC | - Sistema Nervoso Central |
| Th1 | - Linfócito T auxiliar-1 |
| Th2 | - Linfócito T auxiliar-2 |
| U. S. EPA | - United States Environmental Protection Agency |
| UA | - União Africana |
| UBS | - Unidade Básica de Saúde |
| UN | - United Nations |
| WHO | - World Health Organization |
| ZnCl ₂ | - Cloreto de zinco |
| ZnSO ₄ | - Sulfato de zinco |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|-----------------|--|
| % | - Porcentagem |
| < | - Menor que |
| = | - Igual a |
| ≥ | - Maior ou igual a |
| ± | - Mais ou menos |
| × g | - Unidade de medida da força centrífuga relativa, multiplicação pelo valor da aceleração gravitacional na superfície da Terra, |
| × | - Multiplicação |
| ® | - Marca registrada |
| cm | - Centímetro |
| g | - Grama |
| km ² | - Quilômetro quadrado |
| L | - Litro |
| M | - Molaridade |
| m ² | - Metro quadrado |
| mg | - Miligrama |
| mL | - Mililitro |
| mM | - Milimolar |
| MPa | - Megapascal |
| nº | - Número |
| °C | - Grau Celsius |
| pH | - Potencial hidrogeniônico |
| sp./spp. | - Espécie(s). |
| ™ | - Trademark |
| US\$ | - Dólar dos Estados Unidos da América |
| µL | - Microlitro |

SUMÁRIO

| | |
|--|------------|
| 1 INTRODUÇÃO | 17 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA..... | 19 |
| 2.1 ENTEROPARASITOS VEICULADOS POR ALIMENTOS | 19 |
| 2.2 GEO-HELMINTOS | 21 |
| 2.2.1 <i>Toxocara</i> spp., toxocaríase e larva migrans | 22 |
| 2.2.2 <i>Ascaris</i> spp. e a ascariose | 26 |
| 2.3 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETECÇÃO DE PARASITOS EM HORTIFRÚTI. | 32 |
| 2.4 SEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL | 56 |
| 3 OBJETIVOS | 58 |
| 3.1 OBJETIVO GERAL..... | 58 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 58 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS | 59 |
| 4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL | 59 |
| 4.1.1 Etapa 1 – Desenvolvimento e aferição da eficácia de protocolo para detecção de ovos de helmintos em morangos..... | 59 |
| 4.1.1.1 Obtenção e preparo dos inóculos para contaminação artificial | 59 |
| 4.1.1.2 Contaminação artificial das amostras de morangos | 60 |
| 4.1.2 Etapa 2 – Validação interlaboratorial do protocolo para recuperação de ovos de helmintos | 66 |
| 4.1.3 Etapa 3 – Avaliação da contaminação natural por ovos de helmintos em morangos comercializados em Curitiba/PR | 68 |
| 4.1.3.1 Local do estudo..... | 68 |
| 4.1.3.2 Coleta de amostras nas feiras..... | 70 |
| 4.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA | 71 |
| 5 RESULTADOS | 72 |
| 5.1 ETAPA 1 – PADRONIZAÇÃO DO PROTOCOLO | 72 |
| 5.2 ETAPA 2 – VALIDAÇÃO INTERLABORATORIAL DO PROTOCOLO | 83 |
| 5.3 ETAPA 3 – AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO NATURAL POR HELMINTOS EM MORANGOS DE CULTIVO ORGÂNICO | 85 |
| 6 DISCUSSÃO | 87 |
| 7 CONCLUSÃO..... | 99 |
| REFERÊNCIAS | 100 |

**APÊNDICE 1 – MANUAL ILUSTRADO PARA VALIDAÇÃO
INTERLABORATORIAL.....123**

1 INTRODUÇÃO

As Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA) são consideradas um problema de saúde pública mundial, com mais de 250 tipos existentes que acometem humanos (Torgerson *et al.*, 2014; WHO, 2015a; Gérard *et al.*, 2019; Brasil, 2025a). No Brasil, no período de 2000 a 2024, foram notificados 228.819 óbitos por parasitoses classificadas como DTHA (Brasil, 2025b). No âmbito estadual, o Paraná teve 10.084 óbitos, e a capital do estado, Curitiba, reportou 2.102 óbitos, ambos dentro do mesmo parâmetro (Brasil, 2025b).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) e a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura (FAO) enfatizam a necessidade da vigilância e notificação otimizada sobre a situação das DTHA no mundo (FAO/WHO, 2014). Entretanto, algumas DTHA recebem mais atenção que as demais. As parasitoses, por exemplo, apesar de serem o tipo de infecção mais comum no mundo e serem potencialmente fatais, são consideradas doenças negligenciadas, especialmente quanto à segurança dos alimentos, devido ao protagonismo atribuído às infecções bacterianas (PAHO, 2016; OPAS, 2022; Robertson, 2018; Martínez *et al.*, 2023).

É importante considerar a complexidade relacionada ao processo de detecção e isolamento de enteroparasitos em várias fontes de alimentos, juntamente com a disponibilidade de métodos e protocolos validados para essa finalidade, o que gera subnotificação de casos, especialmente em países em desenvolvimento (Caradonna *et al.*, 2017; Tefera *et al.*, 2018; Pineda *et al.*, 2021; Marques *et al.*, 2022).

A contaminação de frutas por parasitos pode ocorrer em qualquer etapa entre o campo e a cozinha do consumidor, por meio da água de irrigação ou de higienização, uso de fertilizantes naturais (esterco), acesso de animais de produção, domésticos e da fauna silvestre nas propriedades, embalagens, equipamentos e manipuladores (Dixon, 2016; Elbehiry *et al.*, 2025; Silveira *et al.*, 2025).

A OMS recomenda o consumo diário de pelo menos 400 gramas de frutas e verduras frescas, desta forma, a demanda por alimentos saudáveis tem contribuído para o aumento do consumo de frutas nas últimas décadas, sobretudo as frutas vermelhas (*berries*), devido à presença de antioxidantes e potencial nutracêutico (WHO/FAO, 2003; Olson *et al.*, 2021; Greco *et al.*, 2021). Dentre as *berries*, o morango (*Fragaria* spp.) é a mais consumida no Brasil, e devido às características morfológicas, exige atenção na higienização (FAO, 2025a; Silva *et al.*, 2014; Dziedzinska *et al.*, 2018). A fruta é suscetível a danos físicos, deterioração, contaminação por patógenos e degradação microbiana durante o processo produtivo (Vu *et al.*, 2011; Van De Velde *et al.*, 2013; Dong; Wang, 2017; Gérard *et al.*, 2019; Elbehiry *et al.*, 2025).

O morango é uma fruta importante no contexto brasileiro, com aquisição per capita anual entre 27 e 542 gramas por habitante/ano, a depender do estrato socioeconômico considerado (IBGE, 2010). Em 2023, o Brasil foi classificado como o 9º maior produtor da fruta no mundo, com produção de aproximadamente 187.795 toneladas, e com 4.836 hectares ocupados com o cultivo, o 15º na classificação global (FAO, 2025a). Ademais, ainda sobre o cultivo, a higienização da fruta na colheita é desincentivada por órgãos internacionais, para minimizar a possibilidade de contaminação devido a etapas adicionais de manipulação, além da possibilidade de danificar a fruta (WHO/FAO, 2003).

Tais questões podem implicar em potenciais riscos à saúde coletiva, por serem ingeridos usualmente frescos, sem tratamento térmico e mediante higienização branda, isto é, sem lavagem vigorosa por remoção mecânica, e com hipoclorito de sódio, solução sem capacidade eluente e ineficiente na inativação de ovos de helmintos (Dziedzinska *et al.*, 2018; Silveira *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2024).

O Brasil possui normatização vigente que versa sobre a segurança sanitária de alimentos e bebidas (Brasil, 2022). A existência desta representa avanço significativo, pois aborda a presença de parasitos, como helmintos e protozoários, exigindo que estejam ausentes em qualquer estágio de desenvolvimento.

Em 2016 foi lançada a norma da *International Organization for Standardization* (ISO) nº 18.744, que aborda a identificação e contagem de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. em vegetais folhosos frescos e *berries*. Essa norma estabelece referencial global para a detecção das fases infectantes, incluindo procedimentos como a concentração, eluição, purificação e visualização desses protozoários (ISO, 2016). No entanto, não há norma ISO ou método validado para a detecção de ovos de helmintos em morangos. Considerando esse contexto, se faz necessária a elaboração desse instrumento analítico, para a garantia do consumo de alimentos seguros.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ENTEROPARASITOS VEICULADOS POR ALIMENTOS

A OMS categoriza doenças parasitárias como doenças negligenciadas, uma vez que, no âmbito da segurança dos alimentos, não recebem a mesma atenção dispensada às doenças originadas por bactérias, vírus, ou outros perigos químicos e biológicos (FAO/WHO, 2014; Rattanapitoon; Rattanapitoon, 2025). Portanto, para que sejam desenvolvidas e implementadas políticas de saúde pública mais eficazes no controle das DTHA, é fundamental que haja um aumento nas notificações sobre a ocorrência dessas doenças, refletindo a realidade da situação (Dixon *et al.*, 2013; Brasil, 2013; Robertson; Torgerson; van der Giessen, 2018; Ortega-Pierres *et al.*, 2018).

Neste contexto, o custo total de perdas econômicas ocasionadas pelos impactos das DTHA nos países em desenvolvimento é estimado entre US\$ 95,2 e 110 bilhões por ano, e o tratamento destas enfermidades onera anualmente US\$ 15 milhões para esses países, mostrando que o impacto econômico mundial dessas doenças não deve ser ignorado (IBRD-IDA, 2018; Jaffee *et al.*, 2019).

Em razão do aumento do número de casos de parasitoses transmitidas por alimentos e considerando o contexto do mundo globalizado, em 2014, a FAO, em colaboração com a OMS, divulgou uma classificação multicritério de riscos, identificando os 24 parasitos mais significativos transmitidos por alimentos a humanos (Quadro 1). *Taenia solium* aparece na primeira posição – complexo teníase-cisticercose, seguido de dois parasitos do gênero *Echinococcus*: *E. granulosus* e *E. multilocularis*. Outros helmintos relevantes no documento são *Ascaris* spp. (9º) e *Toxocara* spp. (20º) (FAO/WHO, 2014).

As DTHA podem resultar da ingestão de alimentos contaminados por estágios resistentes e infectantes dos parasitos, como ovos e larvas de helmintos e, cistos e oocistos de protozoários (Mainardi; Bidoia, 2024). Diferentemente das bactérias, a dose usualmente necessária para iniciar a infecção é baixa: no caso do gênero *Ascaris*, a dose infecciosa mínima é de 1 a 10 ovos (Bitton, 2005; Gérard *et al.*, 2019; Chalmers *et al.*, 2020; Almeria; Robertson; Santin, 2021; Chávez-Ruvalcaba *et al.*, 2021).

Quadro 1 – Identificação dos principais parasitos veiculados por alimentos no mundo pela FAO/OMS

| Classificação | Parasito | Alimentos habitualmente contaminados |
|---------------|------------------------------------|---|
| 1 | <i>Taenia solium</i> | Carne suína; vegetais frescos |
| 2 | <i>Echinococcus granulosus</i> | Vegetais frescos |
| 3 | <i>Echinococcus multilocularis</i> | Vegetais frescos |
| 4 | <i>Toxoplasma gondii</i> | Carne suína, ovina, caprina, bovina e de caça; vegetais frescos |
| 5 | <i>Cryptosporidium</i> spp. | Vegetais frescos; suco de fruta; leite |
| 6 | <i>Entamoeba histolytica</i> | Vegetais frescos |
| 7 | <i>Trichinella spiralis</i> | Carne suína |
| 8 | <i>Opisthorchiidae</i> | Peixes de água doce |
| 9 | <i>Ascaris</i> spp. | Vegetais frescos |
| 10 | <i>Trypanosoma cruzi</i> | Sucos de frutas |
| 11 | <i>Giardia duodenalis</i> | Vegetais frescos |
| 12 | <i>Fasciola</i> spp. | Vegetais frescos (solo alagado) |
| 13 | <i>Cyclospora cayetanensis</i> | Frutas silvestres; vegetais frescos |
| 14 | <i>Paragonimus</i> spp. | Crustáceos de água doce |
| 15 | <i>Trichuris trichiura</i> | Vegetais frescos |
| 16 | <i>Trichinella</i> spp.* | Carne de caça |
| 17 | <i>Anisakidae</i> | Peixes de água salgada, crustáceos e cefalópodes |
| 18 | <i>Balantoides coli</i> | Vegetais frescos |
| 19 | <i>Taenia saginata</i> | Carne bovina |
| 20 | <i>Toxocara</i> spp. | Vegetais frescos |
| 21 | <i>Sarcocystis</i> spp. | Carne bovina e suína |
| 22 | <i>Heterophyidae</i> | Peixes de água doce e salobra |
| 23 | <i>Diphyllobothriidae</i> | Peixes de água doce e salgada |
| 24 | <i>Spirometra</i> spp. | Peixes, répteis e anfíbios |

FONTE: Adaptado de FAO/WHO (2014). * Não inclui *T. spiralis*.

A Conferência Internacional de Segurança de Alimentos, desenvolvida pela OMS, FAO e União Africana (UA) em 2019, enfatizou a importância da segurança dos alimentos na consecução dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU). Além disso, ressaltou a responsabilidade dos governos em incorporar a questão como prioridade em saúde pública nas agendas governamentais. Isso se justifica pelo papel relevante desempenhado pelos órgãos públicos e fiscalizadores na elaboração e implementação de regulamentações (FAO/WHO/AU, 2019; UN, 2025). Assegurar a segurança dos alimentos constitui desafio significativo em escala global visto que surtos relacionados aos alimentos contaminados, têm potencial de gerar sérias crises sanitárias em nível internacional (WHO, 2015a; Almeria; Robertson; Santin, 2021).

2.2 GEO-HELMINTOS

As doenças tropicais negligenciadas (*Neglected Tropical Diseases - NTD*) são um conjunto de doenças tropicais, geralmente crônicas e debilitantes, comuns em populações do Sul Global, que afetam principalmente populações economicamente vulneráveis, acarretando em altos índices de morbimortalidade, com significativo impacto socioeconômico (Molyneux, 2013; Vlas *et al.*, 2016). Dentre as NTD, as geo-helmintoses, infecções parasitárias com grande relevância para a saúde pública, destacam-se como as mais frequentes na América Latina e no mundo, com estimativa de 1,5 bilhão de pessoas infectadas (Pullan; Brooker, 2012; Holland *et al.*, 2022; WHO, 2023; OPAS, 2025). O número de Anos de Vida Ajustados por Incapacidade (*Disability-Adjusted Life Year – DALY*) perdidos devido às geo-helmintoses foi estimado em mais de 4 milhões em 2000, diminuindo para 2,7 milhões em 2010 e com recente estimativa de 1,9 milhão em 2019, redução possivelmente devida à programas nacionais periódicos de desparasitação e desenvolvimento socioeconômico de países do Sul Global (Murray, 1994; Else *et al.*, 2020; Holland *et al.*, 2022; Montresor *et al.*, 2022; WHO, 2023).

Os geo-helmintos são vermes parasitos que dependem do solo para completar parte de seu ciclo biológico. É nesse ambiente que os ovos, ou as larvas eclodidas destes, desenvolvem-se até a fase larvária infectante, sendo usualmente duas mudas efetuadas nestes locais (Rocha *et al.*, 2011). Os helmintos intestinais, em seu hospedeiro vertebrado definitivo, tendem a se instalar preferencialmente nas diferentes regiões do intestino. Já nos hospedeiros intermediários e paratênicos, as larvas L3 entram em estado latente em diversos órgãos, sem completar o desenvolvimento até a fase adulta (Bowman, 2020).

A morbidade varia com o número de vermes albergados. Indivíduos com carga parasitária leve normalmente apresentam infecção subclínica. Infecções moderadas ou maciças podem acarretar sintomatologia e quadros clínicos variados, incluindo anemias (p. ex., ferropriva e megaloblástica), complicações gestacionais, comprometimento do crescimento e desenvolvimento cognitivo infantil, desnutrição, fraqueza, mal-estar geral, manifestações intestinais (diarreia e dor abdominal) e redução da produtividade laboral em adultos (Claus *et al.*, 2018; WHO, 2023; Gemechu *et al.*, 2024; Alemayehu *et al.*, 2025; CDC, 2025a; Ekeleme *et al.*, 2025; Robertson, 2025).

2.2.1 *Toxocara* spp., toxocaríase e larva migrans

Toxocara canis e *Toxocara cati* são nematódeos parasitos gastrointestinais ubíquos de canídeos e felídeos, respectivamente (Holland; Smith, 2006; Finsterer; Auer, 2007; Luna *et al.*, 2018). Cães e gatos, particularmente em regiões rurais e de baixa renda, desempenham papel importante na transmissão por meio da contaminação ambiental (Ma *et al.*, 2018). Embora esses animais sejam os hospedeiros definitivos, as larvas podem infectar diversas espécies de vertebrados, incluindo humanos. Nestes, as larvas chegam a fase adulta, permanecendo vivas nos tecidos, podendo causar doenças (Ma *et al.*, 2018; Nijssse *et al.*, 2020; Healy *et al.*, 2022a).

Ao gerar doença em humanos, esta é costumeiramente referenciada como toxocaríase humana (ou toxocarose), sendo uma helmintose zoonótica relevante, subestimada, com diagnóstico difícil, presente em países em desenvolvimento e desenvolvidos (Chieffi *et al.*, 2009; Lucio-Forster *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2018; Healy *et al.*, 2022a). Estima-se que aproximadamente 1,4 bilhão de pessoas no mundo estão expostas ou infectadas por *Toxocara* spp. (Rostami *et al.*, 2019; Ma *et al.*, 2020; Taghipour *et al.*, 2021). É considera uma doença crônica composta por quadros clínicos polimórficos: (1) síndrome da larva migrans visceral (LMV), (2) síndrome da larva migrans ocular (LMO), (3) neurotoxocaríase (NT – ou larva migrans neural), e (4) toxocaríase subclínica (TS) (Fava, 2017; Jaramillo-Hernández, 2020).

As espécies do gênero *Toxocara* acometem humanos como hospedeiros acidentais (Chen *et al.*, 2018). A infecção ocorre principalmente pela ingestão de ovos embrionados, presentes no solo ou em alimentos contaminados, consumidos crus ou malcozidos, como vegetais e produtos de origem animal (leite e carne – músculos e miúdos, de animais como avestruz, boi, cabra, cachorro, cavalo, cervo, coelho, cordeiro, frango, pato e porco) (Fan *et al.*, 2015; Fan, 2020; Fakhri *et al.*, 2018; Luna *et al.*, 2018; Apolinário, 2020; Dewair; Bessat, 2020; Wu; Bowman, 2020; Okada; Ooi; Taira, 2021; Healy *et al.*, 2022a; OPAS, 2025). Em experimentos com galinhas, as larvas encapsuladas permaneceram latentes nos tecidos (como pulmões, fígado, cérebro e músculos) por extensos períodos, mantendo-se viáveis por pelo menos 42 meses (Oryan; Sadjjadi; Azizi, 2010; Taira; Saitoh; Kapel, 2011; Healy *et al.*, 2022a). Em algumas espécies de *Toxocara*, larvas dormentes nos tecidos de hospedeiros definitivos podem ser reativadas durante a gestação, infectando a próxima geração por via intrauterina (canídeos) ou lactogênica (canídeos, felídeos, bovídeos) (Nijssse *et al.*, 2020). Hábitos como geofagia (pica-malácia), tutorar animais de estimação, e condições precárias de higiene aumentam o risco de infecção. Locais públicos como parques, praças e escolas, frequentados por cães e gatos, podem

ser fontes de contaminação (Magnaval *et al.*, 2001; Mattia *et al.*, 2012; Luna *et al.*, 2018; Hajipour; Valizadeh, 2025; OPAS, 2025).

Cada fêmea adulta de *Toxocara* spp. pode liberar até 200 mil ovos diariamente, eliminados via fezes do hospedeiro definitivo. Esses ovos, altamente adesivos, se desenvolvem para seu estágio infectante no ambiente e/ou na pelagem de animais que albergam os vermes adultos (Glickman; Schantz, 1981; Strube *et al.*, 2013; Holland, 2015; Kleine *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2018; Waindok; Raulf; Strube, 2022). O desenvolvimento larvário até a forma evolutiva infectante ocorre, geralmente, num período de aproximadamente três semanas, dependendo do clima e do tipo de solo (Brown, 1927; Overgaauw; Nederland, 1997; Fava, 2017). Os ovos pertencentes ao gênero *Toxocara* são subglobulares, de cápsula espessa e rugosa, com dupla membrana e medem aproximadamente $85 \times 75 \mu\text{m}$ (*T. canis*), ou com diâmetro de aproximadamente $70 \mu\text{m}$ (*T. cati*) (Fava, 2017).

Devido à fase obrigatória no solo, os ovos desses helmintos são altamente resistentes às condições ambientais (Laoraksawong; Bunkasem; Pradidthaprecha, 2025). Em condições favoráveis de temperatura amena e umidade, a viabilidade se estende por até quatro anos ou mais (Azam *et al.*, 2012; Nijssse *et al.*, 2020).

Em uma revisão feita por Chen *et al.* (2018), os autores apontam que, em algumas regiões do Brasil, entre 17,40% e 60,30% das amostras de solo examinadas apresentavam contaminação por ovos de *Toxocara* sp. Fatores como o tipo de solo, pH e vegetação influenciam a sobrevivência e a contaminação ambiental. Solos argilosos, por exemplo, afetam negativamente a viabilidade dos ovos (Trejo *et al.*, 2012). Queiroz *et al.* (2009) puderam concluir em seus experimentos que baixas temperaturas, falta de luminosidade e baixos níveis de umidade são prejudiciais ao desenvolvimento dos ovos de *T. canis*, retardando ou impedindo o embrionamento.

A toxocaríase humana apresenta quadro clínico diversificado, com manifestações que variam em gravidade e sintomas, o que dificulta o diagnóstico e a classificação dos casos. A intensidade da infecção, a localização das larvas nos tecidos, a idade e resposta imune do hospedeiro são fatores que influenciam o prognóstico (Strube *et al.*, 2013; Hernández-Castro *et al.*, 2024). Além disso, as infecções assintomáticas contribuem para a complexidade do diagnóstico (Magnaval *et al.*, 2001; Fava, 2017; OPAS, 2025). As principais manifestações já documentadas, segmentadas pelos quadros clínicos, são:

- Larva Migrans Visceral (LMV): abscessos pulmonares e hepáticos; asma, aumento de isoaglutininas anti-A e anti-B, broncoespasmo, distúrbios respiratórios e nervosos, dor abdominal, erupção cutânea, febre, hepatoesplenomegalia, hipereosinofilia,

hipergamaglobulinemia, leucocitose, mal-estar, mialgia, miocardite, necrose de baço e fígado, nefrite, nódulos (cutâneos, hepáticos e/ou pulmonares), palidez, perda de peso e tosse (Smith *et al.*, 2009; Fava, 2017; Healy *et al.*, 2022a; CDC, 2025b);

- Larva Migrans Ocular (LMO): cegueira permanente, cisto no disco óptico, coriorretinite, descolamento da retina, endoftalmite, estrabismo, glaucoma secundário, granuloma, leucocoria, neuroretinite subaguda difusa, neuroretinite unilateral e uveíte. Eosinofilia normalmente ausente (Glickman; Schantz, 1981; Despommier, 2003; Smith; Noordin, 2006; Smith *et al.*, 2009; Healy *et al.*, 2022a; CDC, 2025b);
- Neurotoxocaríase (NT): baixa acuidade visual, cefaleia, confusão mental, demência, depressão, epilepsia, febre, fotossensibilidade, fraqueza, granulomas corticais ou subcorticais, meningoencefalite eosinofílica, mielite eosinofílica, neurite óptica, pirexia, psicose e vasculite cerebral (Finsterer; Auer, 2007; Walsh; Haseeb, 2012; Fan *et al.*, 2015; Luna *et al.*, 2018; Fan, 2020; Taghipour *et al.*, 2021; CDC, 2025b).

Também é possível encontrar outras formas da toxocaríase humana na literatura. Com destaque para a Toxocaríase “Encoberta” (*Covert*) em crianças, que se manifesta com febre, cefaleia, distúrbios comportamentais e do sono, tosse, anorexia, dor abdominal, hepatomegalia, náuseas e vômitos; e a Toxocaríase “Comum” em adultos, se manifestando como fraqueza, prurido, erupções cutâneas, dificuldades respiratórias e dor abdominal (Fan *et al.*, 2015; Fan, 2020). Além disso, a toxocaríase já foi associada a danos cognitivos em crianças e adolescentes, independente de situação socioeconômica e etnia (Walsh; Haseeb, 2012).

Tanto *T. canis* quanto *T. cati* demonstram tropismo pelo sistema nervoso central humano, com predileção por olhos e cérebro. No entanto, *T. cati* exibe uma migração mais lenta em comparação com *T. canis* (Akao *et al.*, 2003).

Assim como na ascaridiose, a infecção por *Toxocara* spp. resulta na indução de tipo dominante de resposta imune *T-helper 2* (Th2), caracterizada pela produção de citocinas como Interleucina 4 (IL-4), IL-5 e IL-13, que ativam mastócitos, eosinófilos e macrófagos e geram aumento dos níveis de imunoglobulina E (IgE) (Pinelli; Aranzamendi, 2012; Fan, 2020).

Dados de soroprevalência em humanos demonstram que a exposição ao *Toxocara* spp. é frequente, com média aproximada de 19,00% (Mughini-Gras *et al.*, 2016; Ma *et al.*, 2020). Esta foi frequentemente relatada em países como Brasil, China, Índia e Irã, além de nações industrializadas como Japão, Reino Unido e Estados Unidos (Ma *et al.*, 2018). No Brasil, a soroprevalência varia entre 21,00% e 36,00% (Chen *et al.*, 2018; Ma *et al.*, 2020).

A maioria dos casos relatados de toxocaríase ocorreram na França, Áustria, Índia, Japão, Coreia, China, Estados Unidos e Brasil (Chen *et al.*, 2018). Na América do Sul, Argentina

e Brasil concentram a maioria dos casos (155 e 96 casos, correspondendo a 59,16% e 36,64% dos 262 casos sul-americanos, respectivamente) (Chen *et al.*, 2018). Outros dados do Brasil mostram que a prevalência varia entre 4,20% e 65,40%, sendo a região norte do país a mais acometida (Fialho; Corrêa, 2016). Contudo, ainda faltam dados para determinar aspectos epidemiológicos fundamentais, como o impacto global e os DALY (Chen *et al.*, 2018).

A identificação das lesões causadas pelas larvas de *Toxocara* spp. em humanos, em especial na LMV e LMO, pode ser realizada por meio de diferentes métodos. Técnicas de imagem, como ultrassom, tomografia computadorizada e ressonância magnética, auxiliam na detecção das lesões e na localização das larvas latentes. A confirmação diagnóstica pode ser obtida através de biópsia e análise histopatológica com técnicas específicas de coloração (Parsons, 1987). No entanto, o método mais utilizado para o diagnóstico da toxocariase é a análise sorológica, com destaque para o Ensaio Imunoabsorvente Ligado à Enzima (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay* – ELISA) e o *Western blot* (Savigny; Voller; Woodruff, 1979; Magnaval *et al.*, 1991). O diagnóstico da NT impõe desafios, devendo incluir, além da sorologia tradicional, a análise do líquido cefalorraquidiano para detecção de anticorpos anti-*Toxocara* spp., e eosinófilos em excesso (Finsterer e Auer, 2007).

O tratamento da toxocariase humana varia de acordo com a manifestação clínica, mas no geral inclui anti-helmínticos (como albendazol, mebendazol e tiabendazol) e anti-inflamatórios (anti-histamínicos e/ou corticosteroides), utilizados tanto para alcançar a remissão clínica quanto para reduzir os danos causados pela migração larval para diversos órgãos, especialmente cérebro e olhos (Abdel-Rahman; El-Menya, 2015; Chen *et al.*, 2018). A depender da gravidade da inflamação intraocular e de comorbidades retinianas, a LMO exige intervenção cirúrgica (Chen *et al.*, 2018). A LMV é usualmente autolimitante, dispensando quimioterapia. Porém, há medicamentos aplicáveis ao caso por via oral, como albendazol, fenbendazol, mebendazol, tiabendazol, ivermectina e dietilcarbamazina (Abdel-Rahman; El-Menya, 2015; Lima, 2022). Recomenda-se também tratamentos específicos a depender da sintomatologia e localização das larvas, como oxigenoterapia e uso de corticosteroides (Abdel-Rahman; El-Menya, 2015; Lima, 2022).

Nos casos de LMO, o tratamento clínico baseia-se no uso de corticosteroides nas fases iniciais das lesões de retina e periferia. Usa-se também fotocoagulação nos granulomas do polo posterior e vitrectomia nos casos de granuloma periférico. Medicamentos anti-helmínticos costumam ser ineficientes, pela baixa penetração destes no globo ocular (Dinning *et al.*, 1988; Abdel-Rahman; El-Menya, 2015; Lima, 2022). Para a NT, faz-se necessário o uso de benzimidazóis (p. ex. albendazol e mebendazol), corticosteroides ou dietilcarbamazina, além do

tratamento da sintomatologia específica, como uso de medicamentos anticonvulsivantes (Fins-terer; Auer, 2007; Jagannath *et al.*, 2009).

Apesar de *T. canis* e *T. cati* serem as espécies mais relevantes relacionadas à infecção de humanos, existem outras espécies potencialmente relevantes para saúde pública, como o *T. vitulorum*, parasito de ruminantes, que excretam larvas através do leite, aumentando o risco de infecção em áreas rurais de diferentes países onde é comum o consumo de leite cru (não pasteurizado), acometendo principalmente crianças (Abdel-Rahman; El-Menyawe, 2015; Joy; Chris; Godwin, 2017; Dewair; Bessat, 2020). Ainda neste cenário, *T. pteropodis* já foi associado a um surto de hepatite granulomatosa na Austrália, possivelmente causado por mangas contaminadas com fezes de morcegos frugívoros. Entretanto, os resultados foram inconclusivos (Prociv; Moorhouse; Wah, 1986; Joy; Chris; Godwin, 2017).

2.2.2 *Ascaris* spp. e a ascaridiose

A ascaridiose (ou ascaridíase), causada pelo nematódeo *Ascaris lumbricoides*, é a geo-helmintose mais comum em humanos, acometendo aproximadamente 800 milhões de pessoas globalmente, em mais de 150 países (Dold; Holland, 2011; Holland *et al.*, 2022; Silva; Massara, 2022; WHO, 2025). Essa parasitose é particularmente problemática em regiões tropicais e subtropicais, com maior prevalência ($> 20,00\%$) na África Subsaariana, América Latina e Caribe, Oceania, e Sul e Sudeste Asiáticos (Dold; Holland, 2011; Silva; Massara, 2022; Phuphisut *et al.*, 2022; Holland *et al.*, 2022; CDC, 2025d). Dados do *Global Burden Disease Study* mostram que as infecções intestinais são responsáveis por aproximadamente 5,2 milhões de DALY, sendo cerca de 1,3 milhão apenas pela ascaridiose (Hotez *et al.*, 2014; WHO, 2025).

Acompanhando a queda no número de DALY perdidos devido às geo-helmintoses, o Brasil mostra decréscimo da ascaridiose, especialmente em crianças das regiões Sul e Sudeste, beneficiadas por melhores condições de saneamento e instalação em locais de risco de Unidades Básicas de Saúde (UBS) com equipes da Estratégia Saúde da Família (ESF), permitindo pronto atendimento e diagnóstico precoce (Silva; Massara, 2022; Montresor *et al.*, 2022).

A transmissão dos ovos de *A. lumbricoides* está geralmente associada à ingestão acidental de solo (Wong; Bundy; Golden, 1991; Scott, 2008), mas a ingestão deliberada desta (geofagia) e a ingestão de água, frutas e verduras contaminadas também são relevantes (Holland *et al.*, 2022; WHO, 2023). A membrana mamilonada dos ovos permite a aderência facilitada em frutas, vegetais, solo e partículas de poeira, brinquedos infantis, cédulas de dinheiro, moscas e baratas (El-Sherbini, 2011; Tatfeng *et al.*, 2005; Getachew *et al.*, 2007; Uneke; Ogbu, 2007;

Kleine *et al.*, 2016; Gérard *et al.*, 2019; Waindok; Raulf; Strube, 2022) facilitando a dispersão pelo ambiente. A ingestão proposital de itens não alimentícios, conhecida como picamalácia, é fator de risco para ascaridiose em crianças (Saathoff *et al.*, 2005; Scott, 2008).

O conjunto de preditores ambientais, sociais e comportamentais associados às elevadas taxas de ascaridiose nem sempre são consistentes entre os estudos. No entanto, fatores como alta densidade populacional, baixa escolaridade das mães, desconhecimento das parasitoses, defecação a céu aberto, oferta inadequada de água, pobreza, unhas compridas, estado nutricional precário, uso de biossólidos humanos como fertilizantes para irrigação, geofagia, má higiene pessoal e criação de suínos são relatados (Scott, 2008; Dixon, 2016; Parija; Chidambaram; Mandal, 2017; Vasconcelos *et al.*, 2020; Andargie; Alelign; Tekeste, 2024; Gemechu *et al.*, 2024; Alemayehu *et al.*, 2025; Hajipour; Valizadeh, 2025).

O período pré-patente da ascaridiose varia entre 10 a 11 semanas, e os vermes adultos vivem de 6 a 18 meses. A fêmea adulta de *A. lumbricoides* pode liberar quantidade maior que 200.000 ovos não embrionados diariamente através das fezes do hospedeiro (Stewart; Hale, 1988; Scott, 2008; Ma *et al.*, 2011; Khuroo *et al.*, 2016; Phuphisut *et al.*, 2022).

Para que os ovos se tornem infectantes, é necessário que passem por embrionamento no ambiente. O processo ocorre no solo, preferencialmente sombreado e úmido. Solo arenoso diminui a viabilidade dos ovos (Brown, 1927; Cooper; Hollingsworth, 2018; Holland *et al.*, 2022; Phuphisut *et al.*, 2022). Nessa fase, o parasito utiliza reservas de energia e apresenta metabolismo anaeróbio. Em temperaturas ideais, entre 25 °C e 30 °C, o embrionamento se completa em cerca de 15 a 18 dias. Durante esse período, a larva rabditoide dentro do ovo passa por mudas, até atingir a forma infectante filarioide (L3). Os ovos de *Ascaris* spp., são extremamente resistentes às intempéries, podendo permanecer viáveis e infectantes no solo por longos períodos, superiores a 10 anos, e por até 2 anos na ausência de oxigênio (O’Lorcain; Holland, 2000; Scott, 2008; Khuroo *et al.*, 2016; Silva; Massara, 2022; Cooper; Hollingsworth, 2018; WHO, 2023; Gemechu *et al.*, 2024; CDC, 2025c). A inativação de ovos de *A. suum* pode ocorrer após 8 dias de incubação a 37,8 °C (Zhang *et al.*, 2024).

Os ovos de *Ascaris* spp., são claros, tornando-se castanhos em contato com a bile (Ismaili-Jaha *et al.*, 2018; Silva; Massara, 2022). São grandes, com tamanho médio de 45 × 60 µm, ovais e possuem cápsula espessa, devido a membrana externa mamilonada, formada por mucopolissacarídeos, que confere ao ovo propriedade adesiva (Khuroo *et al.*, 2016; Silva; Massara, 2022). A esse envoltório seguem-se uma membrana média, constituída por quitina e proteínas, e outra mais interna, hidrofóbica, protegendo o ovo de intempéries e dessecção (Lopes, 2018; Silva; Massara, 2022; Laoraksawong; Bunkasem; Pradidthaprecha, 2025). Ainda,

internamente, o ovo apresenta massa de células germinativas. As fêmeas não fecundadas podem eliminar ovos inférteis, mais alongados (80 a 90 μm de comprimento) e possuem membrana mamilonada delgada, camada albuminosa reduzida e citoplasma granuloso. Podem-se encontrar nas fezes ovos férteis, porém decorticados (Lopes, 2018; Silva; Massara, 2022).

Após a ingestão, os ovos larvados atravessam o trato gastrointestinal do hospedeiro, liberando as larvas filarioïdes no intestino delgado. Além da ação estomacal, a quebra da casca do ovo ocorre mediante sinalização fornecida pelo hospedeiro (pH, temperatura, sais e a concentração de gás carbônico) (Silva; Massara, 2022). Após a eclosão, as larvas seguem para o intestino grosso e penetram através da mucosa, caindo nos vasos linfáticos e na veia mesentérica superior até atingir o fígado (Dold; Holland, 2011; Khuroo *et al.*, 2016; Jourdan *et al.*, 2018). Em seguida, as larvas atravessam as veias hepáticas e, em 2 a 3 dias, chegam ao átrio direito pela veia cava inferior, e após 4 a 5 dias são encontradas nos pulmões (ciclo de Loss) para concluir sua etapa aeróbia de desenvolvimento (Khuroo *et al.*, 2016; Jourdan *et al.*, 2018; Bowman, 2021; Siviero *et al.*, 2024; Gigliotti *et al.*, 2025). Cerca de 8 dias após a infecção, as larvas sofrem muda para L4, rompem os capilares e caem nos alvéolos pulmonares, onde sofrem muda para L5. Passam pela árvore brônquica e traqueia até atingir a faringe, podendo então ser expelidas ou deglutidas. Ao ser deglutidas, atravessam o estômago e atingem o jejun, no intestino delgado, transformando-se em adultos entre 20 e 30 dias após a infecção (Khuroo *et al.*, 2016; Choi; Seo, 2017; Jourdan *et al.*, 2018; Silva; Massara, 2022). Em 50-80 dias de vida, os vermes adultos alcançam a maturidade sexual, copulam e liberam ovos para serem eliminados nas fezes pelo hospedeiro (Jourdan *et al.*, 2018; Lopes, 2018; Silva; Massara, 2022).

A ascaridiose é majoritariamente assintomática, com complicações a depender do número de vermes albergados e/ou da localização destes. A fase migratória do desenvolvimento das larvas do verme é responsável por reações inflamatórias e de hipereosinofilia nos pulmões, conhecida como síndrome de Löeffler. Os sinais e sintomas mais comuns nessa fase incluem tosse, dispneia, febre, hemoptise, pneumonite e focos hemorrágicos (Dold; Holland, 2011; Kaneganti; Makker; Remy, 2013; Jourdan *et al.*, 2018; Siviero *et al.*, 2024).

Ao chegar na fase adulta, as complicações adquirem caráter de doença intestinal crônica, causando diarreia, distensão e dor abdominais, inapetência, intolerância à lactose, náusea e vômito. Ademais, o hospedeiro também padece pela ação espoliadora do verme, que compete pelos macronutrientes e micronutrientes da dieta (especialmente vitaminas A e C) (Scott, 2008; Dold; Holland, 2011; Ismaili-Jaha *et al.*, 2018; Costa *et al.*, 2021; WHO, 2023).

A desnutrição prejudica a resposta imune, o que, por sua vez, pode aumentar a suscetibilidade a infecções oportunistas (Koski; Scott, 2001; Crompton; Nesheim, 2002; WHO,

2023). A má absorção e inapetência induzida pela infecção explicam o déficit cognitivo e de crescimento em crianças com ascaridiose, com notável evidente após desvermifugação (Crompton; Nesheim, 2002; Cleary *et al.*, 2007; Scott, 2008; Dold; Holland, 2011).

Infecções maciças acarretam grande número de vermes adultos simultaneamente no trato gastrointestinal, podendo causar complicações, como apendicite, gangrenamento, perfuração intestinal, constipação e dor abdominal aguda, boa parte decorrentes de obstrução intestinal. Esses casos devem ser tratados com urgência, mediante remoção endoscópica dos vermes, drogas anti-helmínticas via oral ou endoscópica e reposição hidroeletrolítica. Intervenção cirúrgica é reservada quando ações anteriores são ineficazes, com a remoção extra luminal manual dos vermes, remoção ou ressecção de porções do intestino e apendicectomia, pelo risco de evolução à óbito (Scott, 2008; Kanneganti; Makker; Remy, 2013; Choi; Seo, 2017; Ismaili-Jaha *et al.*, 2018; Silva; Massara, 2022; WHO, 2023; Gigliotti *et al.*, 2025).

Um potencial agravante nesses casos é que, nas infecções maciças, febre, anestesia geral, ou uso incorreto de medicamentos, podem gerar mudanças no tropismo do verme, que abandona o jejuno e pode migrar para a cavidade oral, ou até transpassar a ampola hepatopancreática no duodeno, gerando danos ao fígado, pâncreas e/ou vesícula biliar. Nesses casos, a ascaridiose pode se apresentar, mas não se limita, como abscesso hepático, colangite aguda, colecistite acalculosa, colelitíase, dor irradiada intensa, icterícia e pancreatite edematosa aguda (Kanneganti; Makker; Remy, 2013; Choi; Seo, 2017; Ismaili-Jaha *et al.*, 2018; Holland *et al.*, 2022; Abdela *et al.*, 2024; Akashah; Nizar, 2025; Gigliotti *et al.*, 2025).

Como já citado anteriormente, o tratamento quimioterápico preconizado para geo-helminoses pela OMS são dois benzimidazois em dose única: albendazol ou mebendazol, com taxa de cura superior a 95,00%, corroborado por outros autores (Scott, 2008; Lubis; Pasaribu; Lubis, 2012; Kanneganti; Makker; Remy, 2013; Choi; Seo, 2017; Ismaili-Jaha *et al.*, 2018; Jourdan *et al.*, 2018; WHO, 2023). Outrossim, os fármacos piperazina, levamisol, pamoato de pirantel e ivermectina também são abordagens quimioterapêuticas utilizadas (Kanneganti; Makker; Remy, 2013; Jourdan *et al.*, 2018; Silva; Massara, 2022; Gigliotti *et al.*, 2025). Em relação aos benzimidazois citados, ambos têm ação incompleta na eliminação de ovos de geo-helmintos, não impedindo a reinfecção durante a quimioterapia (Lubis; Pasaribu; Lubis, 2012).

A gastrografina (diatrizoato de sódio + diatrizoato de meglumina) também tem sido utilizado com sucesso no manejo conservador de suboclusões e/ou obstruções intestinais por ascaridiose não complicada. Este medicamento administrado via sonda nasogástrica gera aumento de líquido no lúmen intestinal, além de diminuir o atrito dos vermes adultos com as paredes intestinais, facilitando a eliminação (Siviero *et al.*, 2024).

Existe uma relação entre *Ascaris suum* (suínos) e *A. lumbricoides* (humanos), que gera debates sobre possível unificação de espécies. A proximidade entre essas espécies de *Ascaris* não tem sido totalmente explorada, havendo baixa interação entre estudos veterinários e humanos (Quinnell, 2014). Recentemente, infecções experimentais em voluntários mostraram que *A. suum* podem causar sintomas semelhantes aos de *A. lumbricoides* em humanos (Silva *et al.*, 2021). Uma abordagem sensata para avançar consiste em melhor integração desses estudos, adotando abordagem de Uma Só Saúde (*One Health*) (Betson; Stothard, 2016; Brasil, 2025c).

Foi demonstrado que o ciclo biológico de *Ascaris* spp., originários de humanos ou de porcos pode ser completado em ambos os hospedeiros, quando ocorre transmissão cruzada. Eventos de fluxo gênico e hibridização podem ocorrer, existindo genótipos do gênero *Ascaris* comuns a ambos os hospedeiros e que, quando analisados, poucas diferenças em seus nucleotídeos são encontradas (Scott, 2008; Dold; Holland, 2011; Liu *et al.*, 2012; Shao *et al.*, 2014; Betson *et al.*, 2014; Alves; Conceição; Leles, 2016; Lopes, 2018).

No Brasil, não é incomum encontrar genótipos de *Ascaris* spp., típicos de porcos em humanos (Iñiguez *et al.*, 2012). Isso pode ser interpretado como ocorrência de transmissão cruzada nessas regiões e, portanto, a existência do potencial zoonótico entre esses organismos (Criscione *et al.*, 2007). Estudo no município de Guapimirim, Rio de Janeiro, constatou que, entre os indivíduos com ascaridiose, a maioria dos vermes genotipados para o gene COX-1 tinha o genótipo de *A. suum*, conhecido como P3 (Peng *et al.*, 2005).

Ainda, helmintos modulam a resposta imune ao Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) (Fincham; Markus; Adams, 2003). Há evidências de que o estímulo para produção de células CD4 Th2 induzido por *Ascaris* spp., é permissivo para o estabelecimento e proliferação de outras infecções, incluindo a infecção por HIV. Entretanto, nenhuma associação detectável entre ovos de *Ascaris* spp., nas fezes e soropositividade para o HIV foi observada entre 907 adultos na Tanzânia (Nielsen *et al.*, 2006).

Há evidências que a resposta Th2 induzida pela ascaridiose atua positivamente na prevenção e/ou controle de condições atópicas e autoimunes, nas quais ocorre resposta Th1 agressiva (Moller *et al.*, 2007; Jourdan *et al.*, 2018). E como já citado anteriormente, há grande produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-4, IL-5 e IL-13, especialmente na fase crônica da doença (Buijs *et al.*, 1997; Pinelli; Aranzamendi, 2012).

O diagnóstico da ascaridiose é realizado mediante detecção de ovos do verme no exame parasitológico de fezes. Entretanto, ovos de *Ascaris* spp. são liberados do hospedeiro apenas entre 50-80 dias após infecção, podendo dificultar o diagnóstico (Silva; Massara, 2022; Bharti; Bharti; Khurana, 2017; Cooper; Hollingsworth, 2018; Holland *et al.*, 2022). A

neutrofilia e a eosinofilia no hemograma também devem ser consideradas (Ismaili-Jaha *et al.*, 2018; Abdela *et al.*, 2024). Nos casos agudos, nos quais ocorrem obstrução intestinal e tropismo errático do verme, colonoscopia, ultrassonografia abdominal, colangiopancreatografia retrógrada endoscópica ou colangiografia por ressonância magnética podem ser utilizadas complementarmente (Choi; Seo, 2017; Ismaili-Jaha *et al.*, 2018; Abdela *et al.*, 2024; Siviero *et al.*, 2024; Gigliotti *et al.*, 2025).

Os métodos imunológicos podem ser uma alternativa ao diagnóstico parasitológico, como o ELISA, *immunoblotting* e imunofluorescência indireta, apesar dos riscos de reatividade cruzada com outros parasitos (Scott, 2008). Outrossim, métodos moleculares como a Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa (qPCR) podem ser usados, detectando DNA de *Ascaris* spp. em amostras fecais, apesar do alto custo (Werkman *et al.*, 2018; Elbehiry *et al.*, 2025).

As estratégias para controlar a ascaridiose humana se concentram na administração de medicamentos anti-helmínticos, tanto para indivíduos sintomáticos, quanto em campanhas de tratamento em massa em regiões endêmicas, visando manter a intensidade da infecção baixa e evitar reinfecções, reduzindo a morbimortalidade, em especial em infantes (Dold; Holland, 2011; Lubis; Pasaribu; Lubis, 2012; WHO, 2015b; WHO, 2023). Educação em saúde e higiene reduz a transmissão e a reinfecção, assim como o fornecimento de saneamento básico, ação nem sempre possível, por consistir em obras onerosas e de longa duração (Scott, 2008; Dold; Holland, 2011; Jourdan *et al.*, 2018; Conterno *et al.*, 2020; Holland *et al.*, 2022; WHO, 2023). A inexistência de vacina e a possível resistência aos benzimidazois representam desafios para o controle da parasitose (Furtado *et al.*, 2019; Phuphisut *et al.*, 2022).

A remoção de ovos de *Ascaris* spp. dos alimentos apresenta desafios, embora trabalhos tenham demonstrado que a utilização de eluentes, como a glicina (ácido aminoacético, $C_2H_5NO_2$), durante a lavagem de vegetais é promissora (Matosinhos *et al.*, 2016; Pineda *et al.*, 2021). A pesquisa acerca de sanitizantes naturais de hortifruti deve ser estimulada, visto que não são danosos à saúde humana e ao ambiente. Recentemente, a aplicação de uma solução hidroalcoólica de própolis com glicina teve ampla eficácia para a redução em logs da microbiota nativa de fungos e bactérias presentes em alface e, ação de remoção de ovos de *Ascaris suum*, inoculados artificialmente em vegetais folhosos (Silveira *et al.*, 2023).

Além disso, a aplicação de alta pressão hidrostática (276 MPa por 10 a 30 segundos) impedi a embriogênese de ovos de *A. suum* (Rosypal *et al.*, 2007), abrindo possibilidades para eliminar ovos que já contaminaram os alimentos, devido a falhas nas Boas Práticas Agrícolas.

2.3 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETECÇÃO DE PARASITOS EM HORTIFRÚTI

Os métodos analíticos denominados de convencionais são constituídos pelas etapas de extração (eluição), concentração e visualização das formas parasitárias (Collender *et al.*, 2015; Amoah *et al.*, 2017). Para a extração, são utilizadas diversas soluções como água destilada, Alconox®, detergentes lava-louças, dodecil sulfato de sódio (SDS), aminoácidos não essenciais como a glicina (em diversos pH), solução salina tamponada com/sem fosfato, Triton™ X-100, Tween® (polissorbato), entre outros (Cook *et al.*, 2006a; Chandra; Torres; Ortega, 2014; Silva *et al.*, 2014; Matosinhos *et al.*, 2016; Amoah *et al.*, 2017; Razakandrainibe *et al.*, 2020; Silveira *et al.*, 2023). Além disso, são utilizados meios físicos que ajudam na eluição dos ovos, cistos e oocistos como agitação manual, agitador orbital e banho em ultrassom (Gérard *et al.*, 2019).

A fase de concentração pode ser realizada por sedimentação espontânea e/ou por centrifugação. A sedimentação depende da densidade dos ovos e da taxa de sedimentação, já a centrifugação é efetuada em velocidade específica para que os ovos se depositem no fundo do recipiente. Contudo, as velocidades ótimas de centrifugação nas análises variam entre as diferentes matrizes alimentares. Por fim, a visualização sob microscópio é efetuada para a identificação das formas parasitárias (Collender *et al.*, 2015; Amoah *et al.*, 2017).

Atendendo à demanda de métodos padronizados, foi lançada a norma ISO n° 18.744, que aborda a identificação e contagem de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e cistos de *Giardia* spp. em folhosos frescos e *berries* (ISO, 2016). Entretanto, tal norma refere-se apenas à detecção de protozoários, evidenciando a lacuna de norma que englobe outras espécies de enteroparasitos. Ressalta-se ainda que o método para protozoários não contempla análises moleculares para determinação de espécies, genótipos ou grupos genéticos patogênicos a seres humanos.

No Brasil, Matosinhos *et al.* (2016) padronizaram um método para detectar ovos e larvas de helmintos em alface, que posteriormente foi avaliado por Pineda *et al.* (2021), sendo as análises feitas concomitantemente por 10 laboratórios de 5 estados brasileiros, detectando de forma satisfatória ovos de *Ascaris* spp. em alface e rúcula.

De modo geral, os estudos que avaliaram ou desenvolveram métodos de detecção de parasitos em hortifrúti no mundo têm como principais modelos os protozoários (Quadro 2).

Quadro 2 – Estudos que avaliaram ou elaboraram métodos de detecção de parasitos em hortifrutí, mediante contaminação artificial no mundo

| Referência | Objetivo geral | Alimento | Modelo parasitológico | Eluentes | Método da contaminação artificial | Resultados |
|-------------------------|--|--|---|---|---|--|
| Robertson; Gjerde, 2000 | Descrever metodologia melhorada para analisar frutas e vegetais quanto à presença de cistos de <i>Giardia intestinalis</i> , oo-cistos de <i>A. suum</i> de <i>Cryptosporidium parvum</i> e ovos de <i>A. suum</i> . | Alface-americana, alface-crespa, couve-chinesa, morango (100 g); Broto de feijão, salada mista de outono (alface-outono (alface-americana, couve-chinesa, repolho-roxo e cenoura). (50 g). | <i>G. intestinalis</i> (cisto); <i>C. parvum</i> (oocisto); <i>A. suum</i> (ovo). | Contaminação (número de cistos/oo-cistos bastante variável; 120 ovos); Secagem (2-3 horas, temperatura ambiente); Adição de eluente; Rotação (2 x 1 minuto ou 2 x 5 minutos); Banho ultrassônico (3 minutos); Filtragem; Nova lavagem com eluente; Filtragem. | Contaminação (número de cistos/oo-cistos bastante variável; 120 ovos); Secagem (2-3 horas, temperatura ambiente); Adição de eluente; Rotação (2 x 1 minuto ou 2 x 5 minutos); Banho ultrassônico (3 minutos); Filtragem; Nova lavagem com eluente; Filtragem. Centrifugações (1.000 x g, 10 minutos). | Rotação 2 x 1 minuto foi mais eficiente que a rotação 2 x 5 minutos, possível influência de detritos formados. Eficiência de recuperação (exceto broto, 2 x 1 minuto): - <i>Giardia</i> : ± 67%. - <i>Cryptosporidium</i> : ± 42%. - <i>Ascaris</i> : ± 72%. Recuperação (broto de feijão) - Mais variável e menor (em especial para <i>Giardia</i>). É recomendável que frutas e vegetais estejam o mais frescos possível quando analisados. |
| Robertson; Gjerde, 2001 | Descrever parâmetros dentro do método anteriormente publicado, visando melhorar a eficiência do | Alface-americana, broto de feijão (30 g). | <i>G. intestinalis</i> (cisto); <i>C. parvum</i> (oocisto). | Água + tampão de eluição de filtro de membrana (sais, detergentes e antiespumante A). | O procedimento seguiu segundo estudo anterior (Robertson; Gjerde, 2000), com as modificações de parâmetros, sendo eles: - Peso da amostra; - Contribuição do procedimento de eluição para as perdas | A eficiência de recuperação das amostras de alface de 30 g foi significativamente maior do que das amostras de 100 g. A eficiência de recuperação para parasitos inoculados em lavagens concentradas de broto de feijão foi |

| | | |
|---|--|---|
| <p>isolamento de parasitos de produtos vegetais, visando padronização.</p> | <p>- Kit de IMS usado - Força do ímã durante o IMS.</p> <p>Nenhuma diferença significativa foi detectada entre o isolamento de oocistos de <i>Cryptosporidium</i> usando o kit Dynal anti-<i>Cryptosporidium</i> ou o kit Immucell Cryptoscan, para amostras de alface ou broto de feijão.</p> <p>O ímã mais forte não proporcionou melhora significativa na eficiência de recuperação.</p> | <p>maior do que para inoculação diretamente nas amostras de broto.</p> |
| <p>Otimizar métodos para detectar <i>C. parvum</i> em alface e framboesas.</p> <p>Reino Unido</p> | <p>Contaminação $5 \times 10 \mu\text{L}$ (total: 100 oocistos); Secagem (2 horas); adição de eluente; Stomach®/pulsação/agitação orbital (alface); agitação orbital/rolamento (framboesa);</p> <p>Centrifugação ($2.500 \times g$, 10 minutos, 15°C para alface e à 4°C para framboesa); IMS Cryptoscan®.</p> <p>0,1 M HEPES, pH 5,5; 1,0 M NaHCO₃, pH 6,0; 1,0 M Glicina, pH 5,5; 1,0 M Bicína, pH 5,6; 1,0% Lauril sulfato; EB;</p> <p>0,1 M Tricina, pH 5,4; PBS, pH 7,2.</p> | <p>Melhor recuperação:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Alface: Glicina, pH 5,5. Foi usado Stomacher®; $59,0 \pm 12,0\%$. - Framboesa: Glicina, pH 3,5/4,5. Foi usado rolameto, pH 5,5; $41,0 \pm 13,0\%$. <p>Método feito <i>in house</i>, 2 laboratórios. Intervalidação em outro artigo (Cook <i>et al.</i>, 2006b).</p> |

| | | | | | | | |
|--|---|---|---|--|---|--|--|
| <p>Oocistos de <i>C. parvum</i> marcados com fluoresceína tiossemicarbônica.</p> <p>Contaminação:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Experimentos normais: folhosos e framboesa; 3-5 milhões de oocistos de <i>C. parvum</i>; 2.484 oocistos de <i>C. cayetanensis</i> na salada mista. | <p>Alface-crespa-roxa, alface-lisa, centro, espinafre, manjericão (25 g);</p> <p>Framboesa</p> <p>Estados Unidos da América</p> | <p>Água deionizada;</p> <p>2.484 oocistos de <i>C. cayetanensis</i> em 11 g de framboesa e em 0,43 g de centro. 2.820 oocistos de <i>C. cayetanensis</i> em 1,2 g de alface-roxa-crespa e 1,1 g de alface-lisa.</p> | <p><i>Cyclospora cayetanensis</i> (oocisto);</p> <p><i>C. parvum</i> (oocisto).</p> | <p>1,0 M Glicina, pH 5,5; 0,563 mM pirofosfato dissódico + 42,8 mM NaCl;</p> <p>1,0% Laureth-12; 1,0% Triton X-100; 0,1% Alconox®.</p> | <p>1 milhão de oocistos de <i>C. parvum</i> em 20 g de framboesa. 1.742 oocistos de <i>C. cayetanensis</i> ou 1.123 oocistos de <i>C. parvum</i> em 20-30 mg de manjericão.</p> | <p>Secagem (24 horas);</p> <p>Adição de eluente; Agitação (15 minutos); Centrifugação (2.000 × g, 20 minutos).</p> | <p>Taxa de recuperação (água):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Espinafre: 38,4% - Framboesa: 34,9% <p>Nenhuma diferença significativa entre glicina e solução com pirofosfato.</p> <p>Recuperação de oocistos com Alconox® em manjericão: 72,6%.</p> <p>O uso de Alconox® melhora significativamente a recuperação de oocistos.</p> |
|--|---|---|---|--|---|--|--|

| | | | |
|---|---|---|--|
| <p>Chandra; Torres; Ortega, 2014</p> <p>Estados Unidos da América</p> | <p>Avaliar eficácia de remoção de parasitos de soluções de lavagem em manjericão.</p> <p>Manjericão (25 g).</p> | <p><i>C. cayetanensis</i> (oocisto); <i>C. parvum</i> (oocisto); <i>Toxoplasma gondii</i> (oocisto).</p> <p>Água E-Pure™; 3% Ácido levulínico + 3% SDS 1,0 M Glicina, pH 5,5; 0,1 M PBS, pH 7,0; 0,1% Alconox®; 1,0% HCl, pH 2,0 + 6,4% pepsina.</p> | <p>Contaminação (<i>C. cayetanensis</i> e <i>C. parvum</i>: 100 ou 1.000 oocistos. <i>T. gondii</i>: 100 oocistos). Secagem (1 hora à temperatura ambiente, ou 24 horas à 4°C); Adição de eluente; Agitação manual. Sedimentação; Centrifugação 2× (2.060 × g, 15 minutos); Extração de DNA (FastDNA™ Spin for Soil); PCR; Purificação de DNA e sequenciamento QIAquick PCR Purification. Microscopia de amostras PCR-positivas.</p> <p>Contaminação (0, 300 e 700 oocistos), secagem <i>overnight</i>. Adição de eluente; agitador orbital. Filtragem. Centrifugação (4.000 × g, 15 minutos, 4 °C). Junção dos sedimentos, adição de pectinase, centrifugação (5.000 × g, 30 minutos, 4 °C).</p> <p>Transferência para microtubo, centrifugação (10.000 × g, 10 minutos).</p> |
| | | <p>Obter aptâmeros de DNA que se ligam à parede do oocisto de <i>C. parvum</i> e usá-los para detectar a presença deste em alimentos.</p> | <p>O limite de detecção foi de aproximadamente 100 oocistos. Indica eficácia de aptâmeros, como alternativas aos anticorpos monoclonais e à microscopia de IF, para a detecção de oocistos de <i>Cryptosporidium</i> em produtos frescos.</p> <p>Método carece de validação.</p> |

| | | | | |
|--|--|--|--|--|
| | | | | <p>Os ensaios resultaram em níveis aceitáveis de recuperação.</p> <p>Taxa de recuperação média:</p> <ul style="list-style-type: none"> - <i>Cryptosporidium</i>: 53%; - <i>Giardia</i>: 33%. <p>Resultados ruins foram associados a problemas no envio de reagentes.</p> <p>Método modificado fornece opção mais barata para projetos com orçamentos limitados ou para laboratórios que realizam análises em situações ou países onde a aplicação do Método Padrão ISO é muito cara.</p> <p>Intervalidação: 10 laboratórios.</p> |
| | | | | <p>Variação do método ISO 18.744.</p> <p>Contaminação (50 oocistos ou cistos);</p> <p>Secagem (5 horas à <i>overnight</i>)</p> <p>Adição de eluente;</p> <p>Agitação Stomacher® (1 minuto)</p> <p>Centrifugação (1.550 × g, 10 minutos).</p> <p>IMS.</p> <p>Alterações: Volume menor de grânulos magnéticos na IMS e tampões que são complementares aos fornecidos no kit IMS.</p> |
| | | | | <p>Contaminação (5.000 oocistos),</p> <p>secagem <i>overnight</i> (temperatura ambiente ou 4 °C). Adição de eluente; <i>berries</i>: Agitador orbital (1 ou 60 minutos). Outros alimentos: agitador orbital horizontal, saco tipo Stomacher® (30 minutos/lado). Centrifugação; Flutuação. Extração de DNA (QIAamp® DNA Mini Kit). qPCR-MCA.</p> |

| | | |
|---|---|--|
| <p>Matosinhos <i>et al.</i>, 2016</p> <p>Brasil</p> <p>Padronizar método para detectar ovos e larvas de helmintos e estimar porcentagem de recuperação.</p> | <p>Água destilada; <i>Ancylostoma ceylanicum</i> (larva e ovo); <i>A. suum</i> (ovo)</p> <p>Alface (30 g); Rúcula (30 g).</p> <p>Glicina: melhor recuperação de ovos, 72,3% para <i>A. ceylanicum</i> e 99,3% para <i>A. suum</i>.</p> <p>Sem diferença estatística entre todos de agitação e entre métodos de sedimentação.</p> <p>Não houve diferença na recuperação entre os valores quanto à dose de ovos, exceto no menor valor (5, 6 e 3), com menor % de recuperação de larvas de ancilostonádeos.</p> <p>Média de recuperação (50 experimentos):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ovo <i>A. suum</i>: 62,6% (\pm 20,2); - Ovo <i>A. ceylanicum</i>: 51,9% \pm 20,0; - Larva <i>A. ceylanicum</i>: 50,0% \pm 27,3. <p>Intervalidação: 3 laboratórios.</p> | |
|---|---|--|

| | | | | |
|--|---|---|---|---|
| <p>Murphy; Lee; Silva, 2017</p> <p>Estados Unidos da América</p> | <p>Avaliar um método melhorado para a detecção de <i>C. cayetanensis</i> em coentro e framboesas.</p> | <p>Coentro (25 g); Framboesa (50 g).</p> <p><i>C. cayetanensis</i> (oocisto)</p> <p>0,1% Alconox®</p> | <p>Contaminação: 0, 5, 10, 200 oocistos;</p> <p>Secagem (por 2 horas, temperatura ambiente); Armazenamento <i>overnight</i> à 4 °C. Adição de eluente; Agitador orbital (coentro: 15 minutos cada lado, 85 APM; Framboesa: 30 minutos, 12 APM).</p> <p>Centrifugação (2.000 × g, 20 minutos); Adição de eluente; Centrifugação (idem, 2 ×); Centrifugação (14.000 × g, 4 minutos);</p> <p>Extração de DNA (FastDNA™ SPIN Kit for Soil;</p> <p>PCR aninhada e duplex qPCR.</p> | <p>Detecção em coentro (qPCR): 200 oocistos: 100%; 10 oocistos: 87,5%; 5 oocistos: 50,0%.</p> <p>Detecção em coentro (animado): 200 oocistos: 100%; 10 oocistos: 94,8%; 5 oocistos: 43,7%.</p> <p>Detecção em framboesa (qPCR): 200 oocistos: 100%; 10 oocistos: 75,0%; 5 oocistos: 25,0%.</p> <p>Detecção em framboesa (animado): 200 oocistos: 100%; 10 oocistos: 68,8%; 5 oocistos: 18,8%.</p> <p>Reprodutibilidade entre laboratórios alta, o método é ferramenta analítica eficaz.</p> |
| <p>Murphy <i>et al.</i>, 2018</p> <p>Estados Unidos da América</p> | <p>Avaliar o desempenho de novo método desenvolvido pela FDA para a detecção de <i>C. cayetanensis</i> em coentro e framboesas.</p> | <p>Coentro (25 g); Framboesa (50 g)</p> <p><i>C. cayetanensis</i> (oocisto).</p> <p>0,1% Alconox®</p> | <p>Contaminação: (0, 5, 10, 200 oocistos);</p> <p>Secagem (por 2 horas, temperatura ambiente); Armazenamento <i>overnight</i> à 4 °C. Adição de eluente; Agitador orbital (coentro: 15 minutos cada lado, 85 APM; Framboesa: 30 minutos, 12 APM).</p> | <p>Detecção em coentro: 200 oocistos: 100%; 10 oocistos: 80%; 5 oocistos: 31%.</p> <p>Detecção em framboesa: 200 oocistos: 100%; 10 oocistos: 90%; 5 oocistos: 50%.</p> |

| | |
|---|--|
| <p>Malkamäki <i>et al.</i>, 2019^a Finlândia</p> <p>Examinar o potencial de <i>berries</i> como um veículo de transmissão para ovos de <i>Taenia</i>.</p> | <p>Centrifugação (2.000 × g, 20 minutos); Adição de eluente; Centrifugação (idem, 2 ×); Centrifugação (14.000 × g, 4 minutos); Extração de DNA (FastDNATM SPIN Kit for Soil; PCR aminhada e duplex qPCR.</p> <p>Contaminação (área da plantação: 1 m², 30.000 ou 60.000 ovos). Colheita após 24 horas; Armazenamento – 20 °C até análise. Adição de eluente; Agitador automático (30 minutos, 50 APM); Peneiragem;</p> <p>Centrifugação (670 × g, 10 minutos); Centrifugação (9.000 × g, 15 minutos); Coloração Calcofluor White; Microscopia óptica de fluorescência e tradicional.</p> <p>Extração de DNA (Tissue and Hair Extraction Kit).</p> <p>qPCR-MCA.</p> |
|---|--|

| | | | | |
|---|--|--|---|--|
| <p>Malkamäki <i>et al.</i>, 2019b Finlândia</p> <p>Desenvolver ensaio de PCR semiquantitativo em tempo real baseado no corante SYBR Green para detecção de DNA de <i>Echinococcus</i> em berries.</p> | <p><i>E. multilocularis</i> (ovo); <i>E. canadensis</i> G10 (ovo).</p> | <p>Mirtilo (250 g). 0,04% Tween® 20.</p> | <p>Contaminação de mirtilo comercial (0, 1, 5, 10, 50 ovos). O procedimento seguiu segundo estudo anterior (Malkamäki <i>et al.</i>, 2019a)</p> | <p>Sensibilidade analítica do método completo: 100% com 50 ovos/250 g fruta.</p> |
| | | | | |

| | | | | |
|--|---|--|---|---|
| | | | Extração de DNA (FastDNA TM SPIN Kit for Soil; QIAamp [®] DNA Stool Mini Kit). qPCR-MCA; Sequenciamento (Sanger). | detecção para ambos foi de 2 ovos. FastDNA TM foi o escolhido para o protocolo final. |
| Razak and rainibe <i>et al.</i> , 2020 França | Avaliar um método modificado para a detecção de oocistos de <i>Cryptosporidium</i> em folhas de espinafre. | Espinafre (30 g). <i>C. parvum</i> (oocisto). | 1,0 M Glicina-NaOH, pH 7,2; 8,0; 8,5; 9,0 e 10,0. | Contaminação (100 oocistos). Secagem (1 hora, temperatura ambiente e, em seguida, <i>overnight</i> , 4 °C). Adição de eluente; Agitação manual vigorosa; Centrifugações (1.550 × g, 10 minutos, 4 °C). IMS. |
| Pineda <i>et al.</i> , 2021 Brasil | Avaliar a efetividade de metodologia previamente descrita para a recuperação de ovos de <i>Ascaris suum</i> em hortaliças folhosas. | <i>A. suum</i> (ovo). Alface-soltacrespa, rúcula (30 g). <i>Ascaris suum</i> em hortaliças folhosas. | 1,0 M Glicina, pH 5,5. | Contaminação (350 ovos); Secagem (2 horas); Adição de eluente; Agitação manual (3 minutos); Sedimentação (2 horas) Centrifugação (1.120 × g, 5 minutos); Microscopia óptica. Avaliação da eficiência de recuperação do método de Matosinhos <i>et al.</i> , 2016. |

| | | | | |
|--|--|--|--|--|
| | | | <p>Propor método de processamento para detectar oocistos de <i>C. parvum</i> recuperados de alface-de-côrdeiro, combi-nando cultura celular e PCR quantitativo (CC-qPCR).</p> <p>Kubina <i>et al.</i>, 2021</p> <p>Francia</p> | <p>Contaminação (100 oocistos). Secagem (1 hora, temperatura ambiente e, em seguida, <i>overnight</i>, 4 °C).</p> <p>1,0 M Glicina, pH 3,0. C. <i>parvum</i> (oo-cisto). Tween® 80 + 0,001% antiespumante Y</p> <p>Alface-de-côrdeiro (30 g).</p> <p>1% SDS + 0,1% Limite de detecção:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Em HCT-8: 10 oocistos. - Sem HCT-8: 100 oocistos. <p>Sensibilidade CC-qPCR igual aos oocistos purificados, 100% dos 100 oocistos inoculados em alface-de-côrdeiro.</p> <p>Detecção de 1 oocisto inoculado em alface-de-côrdeiro em 25% das réplicas de poços de HCT-8, e 0% nos poços sem HCT-8.</p> <p>Os ensaios devem ser feitos pelo menos em quadruplicata para detectar até 1 oocisto infectioso de <i>Cryptosporidium</i>.</p> <p>Centrifugações (1.550 × g, 10 minutos, 4 °C).</p> <p>IMS.</p> |
|--|--|--|--|--|

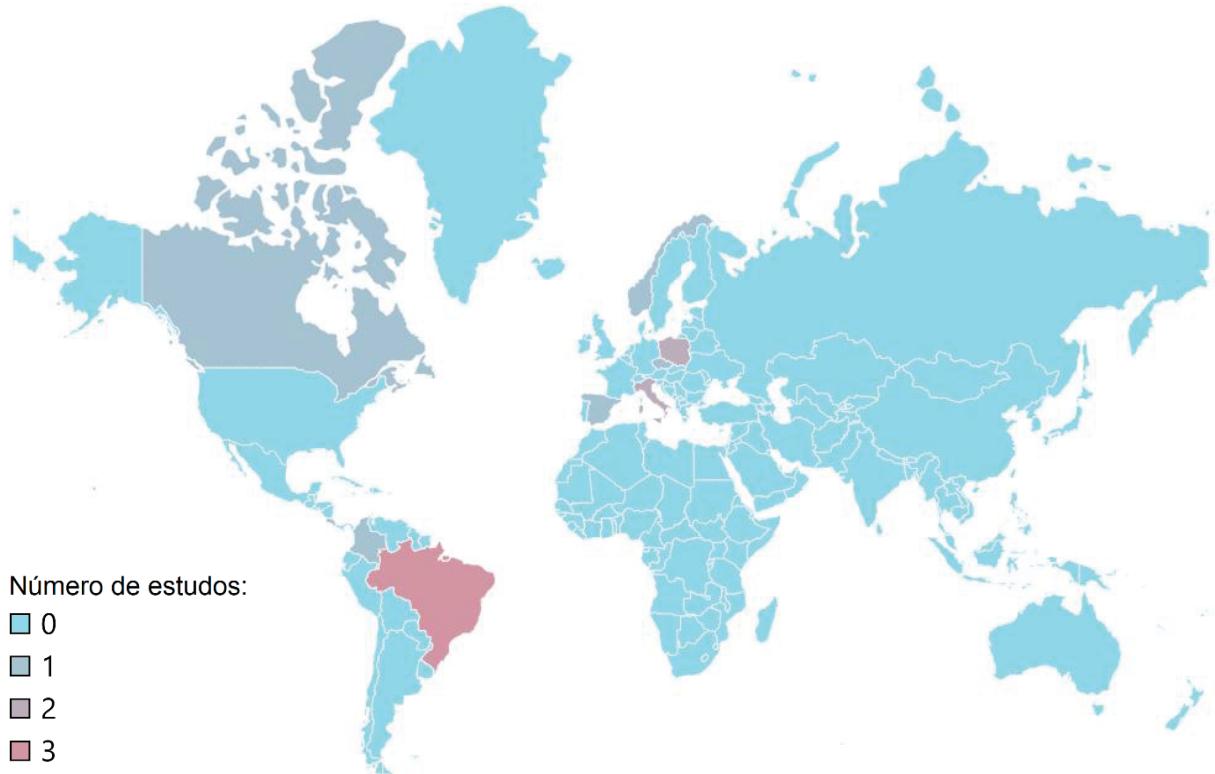
| | | | | | |
|---|--|------------------------------------|-------------------------------|--|--|
| | | | | <p>Vegetal desde a semente: Estágio de 2 folhas em estufa: Contaminação (10^5 oocistos). Vegetal se desenvolve até estágio 8 folhas (2 meses). Colheitas de vegetais ao longo de 57 dias. Análise da persistência e sobrevida dos oocistos.</p> | <p>Os oocistos persistiram durante o crescimento da alface (-0,89 Log de oocistos). Sobrevida diminuiu a partir de 1 semana (-0,61 Log).</p> |
| <p>Avaliar a persistência e a sobrevida de oocistos</p> <p>Kubina <i>et al.</i>, 2023</p> | <p>Alface-de-cordéiro (30 g).</p> <p><i>Cryptosporidium</i> em alface-de-cordéiro.</p> | <p><i>C. parvum</i> (oocisto).</p> | <p>1,0 M Glicina, pH 3,0.</p> | <p>Contaminação (10^4 oocistos). Seccagem (3 dias, 4 °C). Agitação (Água Ultrapura com ou sem 60 mg/L de Cloro, 30 segundos); Enxágue; Centrifugação (20 rotações, 10 segundos de pausa, 10 rotações); Análise.</p> | <p>Lavagem pouco influenciou a carga parasitária (< 0,5 Log), gerou nenhum efeito sobre a sobrevida;</p> <p>Cloração da água de lavagem não melhorou a eficiência (remoção e inativação) do processo.</p> |

FONTE: O autor (2025). LEGENDA: APM: Agitações por minuto; EB: Tampão recomendado no método 1.623 U.S. EPA para a extração de oocistos de filtros de cápsula, composto por: 0,01 M Tris (trismetamina) pH 7,4, 0,1% de lauril sulfato, 0,005 M de EDTA e 150 ppm de antiespumante A; FDA: U. S. Food and Drug Administration; HCl: Ácido clorídrico; HCT-8: Linhagem celular de adenocarcinoma ileocecal humano; HEPES: Ácido N-(2-hidroxietil)piperazina-N'-2-etanossulfônico; IF: imunofluorescência; IMS: Separação Imunomagnética; MCA: Análise de curva de fusão; NaCl: Cloreto de sódio; NaHCO₃: Bicarbonato de sódio. PBS: Solução salina tamponada com fosfato; PCR: Reação em Cadeia da Polimerase; qPCR: Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa; SDS: Dodecil sulfato de sódio. Artigos selecionados das bases de dados de periódicos científicos: Scopus, Portal de Periódicos da CAPES e Pubmed, utilizando os seguintes descritores: *Standardization, Contamination, Detection method, Food, Vegetable, Fruit, Protozoa e Helminth*, combinados de diferentes formas, com operador booleano “AND”, sem restrição de temporalidade.

No Brasil e no mundo, a contaminação por parasitos em hortifrúti tem sido objeto de estudo (Quadro 3; Figura 1). Há, entretanto, notável falta de pesquisas sobre a contaminação em produtos orgânicos que, apesar de serem considerados mais saudáveis segundo alguns estudos, podem apresentar maior risco de contaminação microbiológica e parasitológica devido às práticas de cultivo, como o uso de esterco animal no adubamento e a restrição no uso de fertilizantes industrializados e agrotóxicos (Hurtado-Barroso *et al.*, 2017; Moreno-Mesonero *et al.*, 2023).

Observa-se que os trabalhos apresentados nos Quadro 2 e Quadro 3 utilizam miríade de métodos, sendo necessária a padronização e validação de uma técnica para helmintos e demais parasitos intestinais, o que permitiria comparação das taxas de contaminação de alimentos por parasitos (Matosinhos *et al.*, 2016; Pineda *et al.*, 2021).

Figura 1 – Países onde a detecção de parasitos em *berries* já foi evidenciada em situações não relacionadas a surtos.



FONTE: O autor (2025). Busca de artigos científicos sem restrição de temporalidade.

Quadro 3 – Estudos que avaliaram a ocorrência natural de parasitos em frutas vermelhas (berries)

| Referência/ Local | Objetivo geral | Alimento | Parasitos encontrados | Eluentes | Método | Resultados |
|---|--|--|--|---|--|--|
| Calvo <i>et al.</i> , 2004 Costa Rica | Determinar preva- lência de <i>Cyclos- pora</i> sp., <i>Cryptos- poridium</i> sp., mi- crosporídios e coli- formes fecais em frutas e vegetais frescos consumidos em Costa Rica. | Alface, aipo, coen- tro, morango, amora (10 amos- tras/cada). | Coliformes fecais; <i>Cyclospora</i> sp. (oocisto); <i>Cryptos- poridium</i> sp. (oo- cisto); Microsporídios (es- poros). | 50 amostras (10 de cada produto) | Lavagem com eluente; Centrifugação (900 × g, 15 minutos); Sedimentação. 3 técnicas parasitológicas: Técnica de Koster modificada para <i>Cryptospori- dium</i> ; Ziehl-Neelsen modificado para <i>Cyclospora</i> ; Weber para microsporí- dios. | Todas as hortaliças positivaram para coliformes fecais. Moran- gos e amoras negativaram para coliformes fecais. Todos os produtos apresentaram pelo menos uma vez algum dos parasitos. |
| Erdogrul; Şe- ner, 2005 Turquia | Avaliar nível de contaminação de várias frutas e vege- tais com parasitos em Kahramanma- raş, Turquia. | Alface, salsa, agrião, espinafre, morango (100 g). | <i>E. vermicularis</i> (ovo); <i>Ascaris</i> spp. (ovo); <i>E. histolytica</i> (cisto); <i>Giardia</i> spp. (cisto). | 55 amostras de vegetais, 50 amostras de morango. | Positivos Morango: 40 amostras para <i>E. vermicularis</i> ; 20 amo- stras para <i>Ascaris</i> spp.; 12 amo- stras para <i>E. histolytica</i> ; 18 amo- stras para <i>Giardia</i> spp. | |

| | | | | | |
|---|--------------------------------|---|---|--|--|
| | | | Coleta de água (4 amostras de 10 litros) e solo (4 amostras de 100 g). Procedimento idêntico ao citado acima. | Solo: 2 amostras positivas para <i>E. vermicularis</i> ; Água de irrigação: 1 amostra positiva para <i>E. vermicularis</i> . | |
| Obter informações sobre ocorrência e níveis de bactérias patogênicas e prevalência de patógenos transmitidos por alimentos em itens selecionados de produtos agrícolas disponíveis em Alberta, Canadá | Bohaychuk <i>et al.</i> , 2009 | Alface, espinafre, tomate, cenoura, cebolinha, morango (25 g) | Alface (128 amostras); Espinafre (59 amostras); Tomate (120 amostras); Cenoura (206 amostras); Cebolinha (129 amostras); Morango (31 amostras). | Alface (128 amostras); Espinafre (59 amostras); Tomate (120 amostras); Cenoura (206 amostras); Cebolinha (129 amostras); Morango (31 amostras). Análises parasitológicas: Variação do procedimento descrito no Manual Analítico Bacteriológico, Capítulo 19a, da U.S. EPA. Adição de eluente; Pulsificação (15 segundos, duas vezes) ou Agitação (30 minutos); Centrifugação (2.000 x g, 20 minutos); Filtração; Centrifugação (7.500 x g, 30 minutos, 4 °C). Extração de DNA: Magnesil KF, Genomic System Kit. PCR aninhado. | |
| Kłapeć; Borecka, 2012 | Polônia | Avaliar a contaminação de vegetais, frutas e solo com ovos de parasitos | Morango (20 unidades), alho-poró, cebola, cenoura, abobrinha, | Alimento: <i>Ascaris</i> spp. (ovo); <i>Trichuris</i> spp. (ovo); <i>Toxocara</i> spp. (ovo). Água de torneira. Solo: | Alimentos: Lavagem; Sedimentação (24 horas); Filtragem; Coloração com lugol e leitura em microscópio do papel-filtro. 187 amostras de vegetais, frutas e solo. Número de amostras de alimentos positivas: Fazendas |

| | | | |
|--|---|---|---|
| <p>zoonóticos no sul deste da Polônia.</p> <p>beterraba, salsa, batatas, aipo, rúbarbo, alface, repolho, brócolis, abóbora, folhas de beterraba, couve-flor, feijão-vagem, nabo, feijão-doce e azedinha.</p> | <p>0,0025% Tween® 80 NaCl (flutuação)</p> <p>Coleta de solo (\pm 3 cm profundidade, 5 amostras por local, \pm 500 g cada); Adição de eluente; Agitação (60 segundos); Filtração; Centrifugação (2.600 \times g, 10 minutos); Adição de eluente; Centrifugação (2.600 \times g, 10 minutos); Adição de solução de NaCl; Centrifugação (2.600 \times g, 10 minutos); Adição de solução de NaCl; Flutuação (30 minutos); Microscopia.</p> | <p>Sedimento passou por método de flutuação modificado. Microscopia.</p> <p>Solo:</p> <p>Número de amostras de solo positivas: Fazendas convencionais: 88,5%; Fazendas orgânicas: 32,8%.</p> <p>Das 15 amostras positivas para ovos de geo-helmintos, foram encontradas em vegetais: 9 ovos de <i>Toxocara</i>; 4 ovos de <i>Ascaris</i>; 2 ovos de <i>Trichuris</i>. Nenhum ovo de geo-helminto foi observado nas amostras de morango.</p> | <p>convencionais: 34,7%; Fazendas orgânicas: 18,9%.</p> <p>Número de amostras de solo positivas: Fazendas convencionais: 88,5%; Fazendas orgânicas: 32,8%.</p> <p>Das 15 amostras positivas para ovos de geo-helmintos, foram encontradas em vegetais: 9 ovos de <i>Toxocara</i>; 4 ovos de <i>Ascaris</i>; 2 ovos de <i>Trichuris</i>. Nenhum ovo de geo-helminto foi observado nas amostras de morango.</p> |
| <p>Silva <i>et al.</i>, 2014 Brasil</p> <p>Avaliar a presença de parasitos humanos patogênicos em morangos (não hidropônicos) do Distrito Federal, Brasil.</p> | <p>Morango: <i>Schistosoma mansoni</i> (ovo); <i>A. lumbricoides/suum</i> (ovo); <i>Balantiooides coli</i> (trofozoito); <i>Entamoeba coli</i>, <i>E. hartmanni</i>, <i>E. nana</i></p> <p>Água destilada Detergente neutro (UseLimp™)</p> | <p>Amostra: 20-22 morangos (\pm 200 g), em triplicata, de cada propriedade (16 propriedades no total).</p> <p>Morangos – duas lavagens possíveis: 1º pincéis, pinças e água destilada. Sedimentação (24 horas)</p> <p>2º O mesmo da 1º, com etapas adicionais: saco com água destilada e detergente neutro. Repouso. Agitação leve a cada 20 minutos, por 1 hora,</p> | <p>Morango: 9 das 16 propriedades apresentaram contaminantes (56%).</p> <p>O 1º método foi insuficiente para remover parasitos; <i>A. lumbricoides</i> e <i>E. nana</i> foram detectados após 2ª lavagem.</p> <p>Solo: 13 das 16 propriedades apresentaram contaminantes (81%).</p> |

| | | | |
|--|--|---|--|
| <p>Lass <i>et al.</i>, 2015 Polônia</p> <p>Estimar a presença de DNA de <i>E. multilocularis</i> em frutas, vegetais e cogumelos em áreas rurais da Polônia.</p> | <p>e <i>Entamoeba</i> spp. (cistos).</p> <p>Microscopia.</p> <p>Coleta de solo (± 3 cm profundidade), triplicada, de cada propriedade. Análise com 2 métodos parasitológicos.</p> | <p>temperatura ambiente. Sedimentação por 24 horas.</p> <p>2^a lavagem com mais eluente; Agitação (120 APM; 5 minutos);</p> <p>Junção das lavagens;</p> <p>Armazenamento (<i>overnight</i>; 4 °C);</p> <p>Remoção do sobrenadante; Filtragens; Centrifugação (200 $\times g$, 15 minutos) Congelamento (-70 °C);</p> <p>Adição do ZnCl₂; Centrifugação (200 $\times g$, 3 minutos); Adição do ZnCl₂; Centrifugação (200 $\times g$, 3 minutos); Adição do ZnCl₂; Flutuação (15 minutos);</p> <p>Lavagem das lâminas; Centrifugação (200 $\times g$, 1 minuto).</p> <p>Extração de DNA: Sherlock AX Kit. PCR. Sequenciamento.</p> | <p>Tanto o solo quanto os morangos de oito propriedades positivaram para helmintos, protozoários ou ácaros.</p> <p>Este é o primeiro relato de <i>Ascaris</i> spp. em morangos no Brasil.</p> <p>Detectação mínima: 100 ovos.</p> <p>23,3% das amostras ambientais estavam contaminadas com DNA de <i>E. multilocularis</i>.</p> |
|--|--|---|--|

| | | | | |
|---|---|---|--|--|
| <p>Dziedzinska <i>et al.</i>, 2018 Tchéquia</p> <p>Examinar a presença de patógenos bacterianos, vírais e protozários em morangos.</p> <p>Morangos (100 g).</p> | <p>Bactérias; Vírus <i>Giardia intestinalis</i> (cisto); <i>Cryptosporidium</i> sp. (oocisto).</p> <p>Glicina com base em Tris extrato de carne bovina pH 9,5 + pectinase</p> | <p>Contaminação artificial (vírus); Adição de eluente; Agitação (20 minutos); Centrifugação (8.000 × g, 20 minutos, 4 °C).</p> <p>Sedimento: Isolamento de DNA bacteriano e de parasitos (Power-Soil® DNA Isolation Kit).</p> <p>Sobrenadante: Análise viral. qPCR em tempo real.</p> | <p>Morangos colhidos: 156 amostras Morangos de mercado: 70 amostras.</p> <p>Análise ambiental (swabs e água de irrigação)</p> <p>A prevalência de outros patógenos (<i>Listeria monocytogenes</i>, <i>G. intestinalis</i>, <i>Cryptosporidium</i> sp. e Norovirus) em morangos foi ≤ 4,5%;</p> <p>Estimada a presença entre 1-7 oocistos ou cistos/g morango.</p> <p>Ambiente: Positividade inferior a 2,1% para todos os micro-organismos, exceto <i>E. coli</i>.</p> | <p>Prevalência <i>E. coli</i>: até 48,6%.</p> <p>Prevalência <i>Cronobacter</i> sp.: 0,6-9%</p> |
| <p>Pineda; Temesgen; Robertson, 2020 Colômbia</p> <p>Investigar contaminação de morangos comprados em Bogotá, Colômbia.</p> <p>Morango (250 g).</p> | <p><i>T. gondii</i> (oocisto); <i>C. cayetanensis</i> (oocisto); <i>E. multilocularis</i> (ovo) (não encontrado)</p> | <p>0,1% Alconox®</p> | <p>Contaminação: 5% <i>T. gondii</i>; 0,83% <i>C. cayetanensis</i>; não foi encontrado <i>E. multilocularis</i>. Este estudo indica contaminação fecal dos morangos (fezes de gatos e humanos).</p> | <p>De cada amostra de 250 g, 30 g (2-5 morangos) em triplicata.</p> <p>Adição de eluente; Agitador orbital (600 APM, 10 minutos).</p> <p>Centrifugação (1.690 × g, 10 minutos); Nova centrifugação (3.803 × g, 10 minutos). Nova centrifugação (13.000 × g, 5 minutos).</p> <p>Extração de DNA: DNeasy PowerSoil Kit.</p> <p>qPCR multiplex.</p> |

| | | | | |
|--|--|---|--|---|
| <p>Greco <i>et al.</i>, 2021 Brasil</p> <p>Identificar a presença de diferentes formas de enteroparasitos em amostras de morango e tomate comercializadas em Pelotas, Rio Grande do Sul.</p> | <p><i>Torocara</i> spp. (ovo); <i>Ascaris</i> spp. (ovo); <i>Torascaris</i> spp. (ovo); <i>Ancilostomatídeo</i> (200 g); Tomate (200 g).</p> | <p>Água destilada.</p> <p>Lavagem com eluente; Filtragem; Sedimentação (24 horas); Centrifugação (2.500 RPM, 1 minuto);</p> <p>Microscopia.</p> <p><i>Strongyloidea</i> (larva);</p> <p><i>Strongyloidea</i> (larva).</p> | <p>Maior presença de ovos de <i>Torocara</i> spp. em morangos (84 ovos).</p> <p>Maior presença de larvas de ancelostomatídeos em tomates (25 larvas).</p> <p>Supermercados apresentaram maior nº de amostras contaminadas (50%), seguido por frutírias (31,3%) e feiras (18,7%).</p> | <p>32 amostras (15,2%) positivas: 19 morangos (59,4%); 13 tomates (40,6%).</p> <p>Maior presença de ovos de <i>Torocara</i> spp. em morangos (84 ovos).</p> <p>Maior presença de larvas de ancelostomatídeos em tomates (25 larvas).</p> <p>Supermercados apresentaram maior nº de amostras contaminadas (50%), seguido por frutírias (31,3%) e feiras (18,7%).</p> <p>40 amostras (78,4%) positivas, entre essas, 25 amostras (62,5%)</p> <p>apenas para protozoários, 8 amostras (20,0%) apenas para nematódeos, e 7 amostras (17,5%) para ambos.</p> <p>Nenhum positivo: formal éter e Ziehl-Neelsen modificado.</p> <p>51 amostras (25 de supermercados, 26 de comércio livre)</p> <p>Adição de eluente; Agitação manual; Filtragem;</p> <p>4 técnicas: Centrifugo-flutuação por Sulfato de zinco 33%; por formal éter; Sedimentação (24 horas); Coloração Ziehl-Neelsen modificado.</p> <p>648 amostras de produtos frescos. Sendo 324 pacotes de salada mista pronto para consumo e 324 pacotes de berries.</p> |
| <p>Monteiro; Cardoso, 2021 Brasil</p> <p>Pesquisar enteroparasitos em morangos frescos comercializados <i>in natura</i> no município de Goiânia, Goiás.</p> | <p>Morango (200 g);</p> | <p>Água destilada.</p> <p><i>A. lumbricooides</i> (ovo); <i>E. coli</i>, <i>E. histolytica</i>, <i>E. nana</i>, <i>G. lamblia</i> (cistos).</p> | <p><i>A. lumbricooides</i> (ovo); <i>E. coli</i>, <i>E. histolytica</i>, <i>E. nana</i>, <i>G. lamblia</i> (cistos).</p> | <p>26 de comércio livre)</p> <p>Adição de eluente; Agitação manual;</p> <p>Filtragem;</p> <p>4 técnicas: Centrifugo-flutuação por Sulfato de zinco 33%; por formal éter; Sedimentação (24 horas); Coloração Ziehl-Neelsen modificado.</p> |
| <p>Barlaam <i>et al.</i>, 2021 Itália</p> <p>investigar a contaminação de saladas prontas para consumo e berries</p> | <p>Chicória, endívia, rúcula, cenoura, re-pollo roxo, salada frisée e alho-poró.</p> | <p><i>C. cayetanensis</i> (ocisto); <i>T. gondii</i> (ocisto) (não encontrado);</p> | <p>1,0% Alconox® <i>ZnSO₄</i> (flutuação)</p> | <p>Microscopia: 1 oocisto similar à <i>Cyclospora</i> spp. foi detectado em 1 pool de mirtilo. 1 ovo de berries.</p> |

| | | |
|---|---|---|
| <p>frescas com parasitos de importância para a saúde pública.</p> <p>Mirtilo (Peru), amora (México) ou framboesa (Itália) (pool: 900 g)</p> <p><i>Echinococcus</i> spp.</p> <p>(ovo).</p> | <p>9 pacotes de cada um dos 6 tipos de produtos (3 saladas, 3 berries) foram misturadas para formar um <i>pool</i> de 900 g. 9 pacotes com 100 g cada + Alconox; agitação (150 APM, 30 minutos). Varias centrifugações não especificadas.</p> <p>Junção de sedimentos; Centrifugação (14.000 × g, 4 minutos). Cada <i>pool</i> gerou 9 sedimentos, 2 para Microscopia e 7 para extração de DNA.</p> <p>Os 72 sedimentos dos <i>pool</i> passaram por flutuação ($ZnSO_4$). Microscopia.</p> <p>Extração de DNA: DNeasy PowerSoil® extraction Kit</p> | <p>9 pacotes de cada um dos 6 tipos de produtos (3 saladas, 3 berries) foram misturadas para formar um <i>pool</i> de 900 g. 9 pacotes com 100 g cada + Alconox; agitação (150 APM, 30 minutos). Varias centrifugações não especificadas.</p> <p>Junção de sedimentos; Centrifugação (14.000 × g, 4 minutos). Cada <i>pool</i> gerou 9 sedimentos, 2 para Microscopia e 7 para extração de DNA.</p> <p>Os 72 sedimentos dos <i>pool</i> passaram por flutuação ($ZnSO_4$). Microscopia.</p> <p>Extração de DNA: DNeasy PowerSoil® extraction Kit</p> <p>qPCR simplex: <i>C. Cayetanensis</i>.</p> <p>qPCR multiplex: <i>C. Cayetanensis</i>; <i>T. gondii</i> e <i>E. multilocularis</i></p> <p>PCR aninhado convencional: <i>C. cayetanensis</i>.</p> |
|---|---|---|

| | |
|---|---|
| <p>Barlaam <i>et al.</i>, 2022 Itália</p> <p>Detectar presença e investigar prevalência de <i>Cryptosporidium</i> spp. e <i>G. duodenalis</i> em pacotes de salada mista pronto para consumo e em <i>berries</i> importadas e locais.</p> | <p>Salada mista pronta para consumo; Mirtilo; Amora; Framboesa (pool: 900 g)</p> <p><i>Cryptosporidium</i> spp. (oocistos); <i>G. duodenalis</i> (cisto); <i>Entamoeba</i> spp.;</p> <p>Método segundo Barlaam <i>et al.</i>, 2021. Extração de DNA: DNeasy PowerSoil® extraction Kit; PCR aninhada convencional: <i>Cryptosporidium</i> spp., <i>Giardia duodenalis</i> e <i>Entamoeba</i> spp.;</p> <p>Microscopia: Cistos similares à <i>Giardia</i> spp. foram encontrados em 2 <i>pool</i> de framboesas; Cistos similares à <i>Entamoeba</i> spp. foram encontrados em 4 <i>pool</i> de <i>berries</i> e em 2 <i>pool</i> de salada.</p> <p>Em 27 <i>pool</i>, <i>Cryptosporidium</i> spp. foi detectado, sendo 15 de salada e 12 de <i>berries</i>. Espécies <i>C. ryanae</i>, <i>C. bovis</i>, <i>C. xiaoi</i> e <i>C. ubiquitum</i>.</p> <p>Em 25 <i>pool</i>, <i>Giardia duodenalis</i> foi detectada, sendo 13 de salada e 12 de <i>berries</i>. 6 delas eram da assembleia A, 18 da assembleia B e 1 da assembleia E.</p> <p>1 <i>pool</i> apresentou DNA de <i>Entamoeba</i> spp. (mirtilo peruano).</p> <p>11 <i>pool</i> estavam contaminados com mais de 1 espécie de protozoário.</p> <p>Primeira detecção de <i>C. ryanae</i>, <i>C. bovis</i> e <i>C. xiaoi</i> nessas matrizes.</p> |
|---|---|

| | | | |
|---|--|--|--|
| <p>Tenesgen; Stigum; Ro- bertson, 2022 Noruega</p> <p>Sinalizar a lacuna de conhecimento sobre o estado de contami- nação parasitária das <i>berries</i> vendidas no mercado norue- guês.</p> | <p><i>E. multilocularis</i> (ovo) (não encon- trado); <i>T. gondii</i> (oocisto); <i>C. cayetanensis</i> (oo- cisto); <i>Cryptospori- dium</i> spp. (oocisto).</p> <p>Mirtílo, morango, framboesa (30 g)</p> | <p>820 amostras de <i>berries</i>, 274 de mir- telo, 276 de framboesa, 270 de mo- rango. Apenas 86 amostras de <i>berries</i> eram norueguesas.</p> <p>Adição de eluente; Agitação (600 APM para mirtílo e morango; 300 APM para framboesa, 10 minutos). Centrifugação (1.690 × <i>g</i>, 10 minu- tos). Juncção de sedimentos. Centrifu- gação (3.803 × <i>g</i>, 10 minutos). Centri- fugação (13.000 × <i>g</i>, 5 minutos).</p> <p>Extracção de DNA: DNeasy PowerSoil Kit.</p> <p>qPCR multiplex.</p> <p>Tipagem por MLST.</p> | <p><i>E. multilocularis</i> não foi detec- tado.</p> <p><i>T. gondii</i>: 24 (2,9%); <i>C. cayetanensis</i>: 52 (6,6%); <i>Cryptospori- dium</i> spp.: 68 (8,3%).</p> <p>As framboesas foram as <i>berries</i> mais contaminadas. <i>T. gondii</i> e <i>C. cayetanensis</i> foram mais en- contrados nela.</p> <p><i>Cryptosporidium</i> spp. foi mais encontrado em morangos.</p> <p>Freqüência da distribuição de pa- rasitos em <i>berries</i>:</p> <p>Morango: <i>T. gondii</i>: 8 (2,9%); <i>C. cayetanensis</i>: 13 (4,8%); <i>Cryptosporidium</i> spp.: 33 (12,2%).</p> |
|---|--|--|--|

| | | | | |
|--|---|--|----------------------|---|
| <p>Moreno-Messonero <i>et al.</i>, 2023</p> <p>Espanha</p> | <p>Procurados:</p> <p><i>Acanthamoeba</i> spp. (cisto); <i>Blastocystis</i> sp. (cisto); <i>C. cayetanensis</i> (oocisto); <i>E. histolytica</i> (cisto); <i>T. gondii</i> (oocisto); <i>Vermamoeba vermiciformis</i> (cisto); <i>Cryptosporidium</i> spp. (oocisto) e <i>Giardia</i> spp. (cisto)</p> <p>Determinar a ocorrência de protozoários relevantes transmitidos por alimentos em folhosos orgânicos e morangos.</p> | <p>Amostras de morango: 100 g cada Saco com solução detergente; Agitação com homogeneizador (1 minuto); Centrifugação (2.500 × g, 15 minutos); Centrifugação (3.000 × g, 15 minutos); Sedimento ressuspêndido com 2 mL de solução detergente e separado em 2 tubos; Nova centrifugação (10.000 × g, 10 minutos); 1 tubo para IMS-IFA, outro para molecular (PCR, qPCR).</p> <p>1,0 M Glicina, pH 3,5</p> <p>18.744:2016; Agitação suave por 1 minuto; igual aos folhosos a partir daqui.</p> <p>IMS: Dynabeads GC-Combo kit Extração de DNA: FastDNA™ SPIN Kit for Soil.</p> | <p>110 amostras.</p> | <p>qPCR: 65,5% positivo para <i>Acanthamoeba</i> spp.; 1,8% <i>Blastocystis</i> sp.; 12,7% <i>C. cayetanensis</i>; 37,2% <i>T. gondii</i>; 17,3% <i>V. vermiciformis</i>;</p> <p>Negativo para <i>E. histolytica</i>.</p> <p>IMS-IFA: 6,8% para <i>Cryptosporidium</i> spp.; 1,7% para <i>Giardia</i> spp.</p> <p>Alface e espinafre: <i>Acanthamoeba</i> spp., <i>Blastocystis</i> sp., <i>T. gondii</i>, e <i>V. vermiciformis</i>.</p> <p>Repolhos: <i>Acanthamoeba</i> spp., <i>C. cayetanensis</i>, <i>T. gondii</i>, <i>V. vermiciformis</i>, <i>Cryptosporidium</i> spp., e <i>Giardia</i> sp.</p> <p>Morangos: <i>Acanthamoeba</i> spp., <i>C. cayetanensis</i> e <i>T. gondii</i>.</p> |
|--|---|--|----------------------|---|

FONTE: O autor (2025). LEGENDA: APM: Agitações por minuto; IMS: Separação imunomagnética; IMS-IFA: Separação imunomagnética, acoplada à imunofluorescência; MLST: *Multi Locus Sequence Typing*; NaCl: Cloreto de sódio; PCR: Reação em Cadeia da Polimerase; qPCR: Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa; RPM: Rotações por minuto; SDS: Dodecil sulfato de sódio; U. S. EPA: *United States Environmental Protection Agency*; ZnCl₂: Cloreto de zinco; ZnSO₄: Sulfato de zinco. Artigos selecionados das bases de dados de periódicos científicos: Scopus, Portal de Periódicos da CAPES e Pubmed, utilizando os seguintes descriptores: *Contamination, Detection, Berries, Protozoa e Helminth*, combinados de diferentes formas, com operador booleano “AND”, sem restrição de temporalidade.

2.4 SEGURANÇA ALIMENTAR E NUTRICIONAL

A Segurança Alimentar e Nutricional (SAN) é direito humano fundamental, definido pela Lei Orgânica de Segurança Alimentar e Nutricional (LOSAN) como o acesso regular e permanente a alimentos de qualidade e em quantidade suficiente, sem comprometer outras necessidades essenciais (Brasil, 2006). Para garantir a SAN, é necessário assegurar a segurança sanitária dos alimentos. Helmintos são exemplos de risco relevante à segurança sanitária, embora negligenciados (FAO/WHO, 2014; PAHO, 2016).

A contaminação por helmintos é particularmente preocupante em frutas como os morangos, que não possuem casca e geralmente são consumidos crus (Vu *et al.*, 2011; Van De Velde *et al.*, 2013; Dong; Wang, 2017). A presença desses vermes parasitos pode causar infecções intestinais graves, tornando o controle sanitário medida essencial para garantir a segurança dos alimentos e prevenir esse tipo de contaminação, um dos desafios das políticas de SAN, que visam garantir alimentos inócuos, como preconizado pela Política Nacional de Alimentação e Nutrição (PNAN) (Brasil, 2013, FAO/WHO, 2014; PAHO, 2016).

Além da legislação nacional, garantir alimentos livres de parasitos atende aos princípios estabelecidos pela Agenda 2030 dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS). O segundo ODS, por exemplo, visa erradicar a fome e garantir o acesso a alimentos seguros e nutritivos para todos (ONU, 2015; UN, 2025). A OMS também estabeleceu seis metas específicas para as geo-helmintoses (WHO, 2020), sendo elas: (1) alcançar e manter a eliminação da morbidade por geo-helmintos em crianças em idade pré-escolar e escolar; (2) reduzir o número de comprimidos necessários na quimioterapia preventiva para geo-helmintos; (3) aumentar o apoio financeiro doméstico à quimioterapia preventiva para geo-helmintos; (4) estabelecer programa eficiente de controle de geo-helmintos em adolescentes, gestantes e lactantes; (5) estabelecer um programa eficiente de controle da estrongiloidíase em crianças em idade escolar; e (6) garantir acesso universal a pelo menos saneamento básico e higiene até 2030 em áreas endêmicas de geo-helmintos. Ao garantir que os morangos estejam livres de contaminação por helmintos, o protocolo proposto atua na promoção da saúde e de alimentação segura, em consonância com as metas da PNAN e da Agenda 2030 (Brasil, 2013).

Os morangos deste estudo foram obtidos, majoritariamente, em feiras livres de Curitiba, tipo de rede alimentar alternativa (*alternative food networks*) que promove, mas não se limita, a cooperação social e parcerias entre produtores e consumidores, com circulação de produtos de qualidade (Goodman; Dupuis; Goodman, 2012). As feiras livres são exemplos de Cadeia Curta de Comercialização, modelo cujos diferentes participantes da cadeia produtiva de

alimentos, desde o produtor até o consumidor, se relacionam de forma mais direta, com número mínimo de elos intermediários (p. ex. cooperativa, associação, restaurante), que contrasta com Cadeias Longas, como supermercados (Renting; Schermer; Rossi, 2012; Darolt *et al.*, 2016).

A produção de conhecimento e o incentivo à pesquisa, inovação e tecnologia na área de alimentação e nutrição são essenciais para a obtenção de dados e ferramentas que permitam a aplicação efetiva da PNAN (Brasil, 2013). Dessa forma, a pesquisa não apenas contribui para a vigilância sanitária, mas também reforça o papel da ciência no enfrentamento dos desafios relacionados à segurança dos alimentos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Padronizar um protocolo e aferir a sensibilidade de detecção de ovos de helmintos em morangos contaminados artificialmente com ovos de *Toxocara canis* e *Ascaris suum*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Criar material audiovisual para auxiliar na qualificação de laboratórios que venham a reproduzir o protocolo desenvolvido.
- Realizar estudo de validação interlaboratorial do protocolo que apresentar a melhor performance de detecção de ovos de helmintos em diferentes estados do Brasil.
- Investigar se morangos comercializados em feiras livres de produtos orgânicos e supermercados de Curitiba/PR apresentam contaminação natural por ovos de helmintos parasitos, mediante adoção do protocolo padronizado.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O estudo foi dividido em três etapas: (1) padronização de um protocolo de detecção de ovos de helmintos em morangos, (2) validação de forma interlaboratorial do método anteriormente padronizado, e (3) pesquisa de ocorrência natural de parasitos em morangos.

4.1.1 Etapa 1 – Desenvolvimento e aferição da eficácia de protocolo para detecção de ovos de helmintos em morangos

Padronizou-se o método de detecção de ovos de helmintos mediante ensaios de contaminação artificial de morangos obtidos comercialmente, de cultivo tipo convencional (não orgânico ou agroecológico).

4.1.1.1 Obtenção e preparo dos inóculos para contaminação artificial

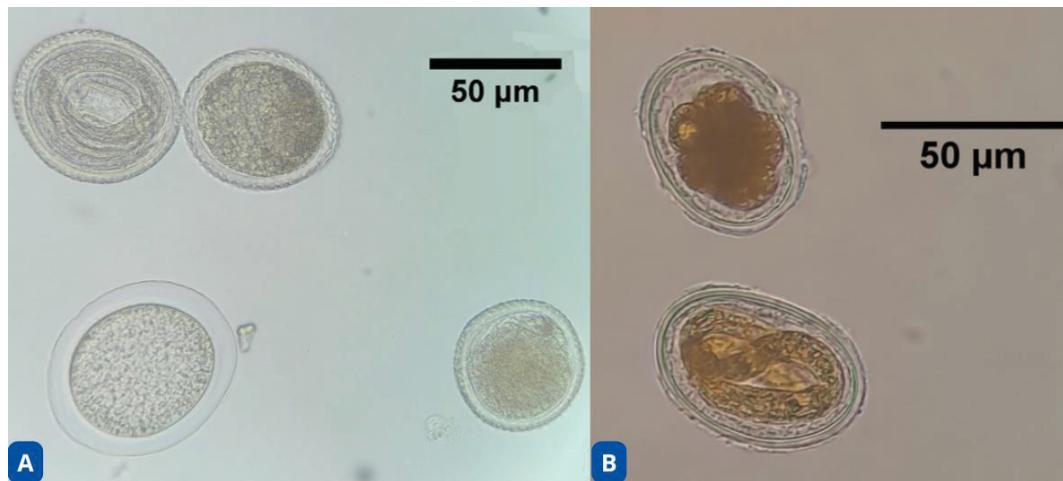
Para os ensaios de contaminação artificial em morangos, foram utilizados ovos de *T. canis* e *A. suum*. As fêmeas adultas de *A. suum* foram obtidas de suínos parasitados provenientes da cidade de Pomerode, Santa Catarina, região endêmica para ascaridiose suína. Quanto aos ovos de *T. canis*, estes foram gentilmente cedidos pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL), oriundos da Universidade de São Paulo (USP), utilizados para estudos de imunologia, cinética de anticorpos, migração e comportamento em modelos murinos, ratos Wistar e camundongos BALB/c. O procedimento de obtenção dos ovos ocorreu segundo descrito por Pineda *et al.* (2021).

Foram removidos fragmentos dos úteros dos vermes adultos fêmeas de *T. canis* e *A. suum*, separadamente, do terço final da bifurcação uterina, local onde se encontra a maior parte dos ovos férteis. As suspensões de ovos (ainda a serem diluídas para uso) foram lavadas e homogeneizadas com solução de Tween® 80 (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., São Paulo, Brasil) a 0,1%, para diminuir o risco de formação de grumos. Em seguida, a suspensão foi peneirada e centrifugada (Solab, São Paulo, Brasil) em tubos cônicos de centrifugação a $1.250 \times g$ por 5 minutos. Os sobrenadantes foram devidamente retirados, e os sedimentos concentrados foram transferidos para microtubos e refrigerados até utilização.

Após a homogeneização dos inóculos concentrados em agitador de tubos, inverteu-se os microtubos 3 vezes, com retirada de 200 μ L, reservando os volumes em novos microtubos. A ponteira da micropipeta utilizada na produção de cada inóculo foi lavada com 400 μ L de água destilada, e por fim adicionou-se 900 μ L de água destilada com uma ponteira de micropipeta limpa. Os inóculos foram armazenados em geladeira, onde ficou sob temperaturas inferiores a 6 °C até utilização. Para cada modelo, foram produzidas duas doses com concentrações diferentes de ovos a serem utilizadas nos ensaios de contaminação artificial.

Para a enumeração dos ovos de *T. canis* e *A. suum* presentes na suspensão diluída, o número de ovos presentes em 10 alíquotas de 10 μ L da solução foi enumerado em microscópio óptico (Figura 2), conforme Pineda *et al.* (2021). Previamente à contagem, a suspensão foi agitada por 3 minutos em agitador de tubos, com posterior inversão do tubo 3 vezes, homogeneizando a distribuição dos ovos. Posteriormente, calculou-se a média e o desvio-padrão de cada inóculo.

Figura 2 – Ovos de *Toxocara canis* e *Ascaris suum* sob microscópio óptico



FONTE: O autor (2025). LEGENDA: A – *T. canis*, em diversos estágios de embrionamento. B – *A. suum*, ovo larvado e não larvado

Para *A. suum*, a dose 1 apresenta média de 71 ovos ($\pm 8,9$) e (2) 139 ovos ($\pm 12,8$); para os ovos de *T. canis*, as médias (1) 33 ovos ($\pm 6,5$) e (2) 103 ovos ($\pm 5,1$).

4.1.1.2 Contaminação artificial das amostras de morangos

Os ensaios desenvolvidos ocorreram com 2 dosagens padronizadas de ovos, 3 líquidos eluentes, em 2 temperaturas, para os 2 tipos de ovos disponíveis. Os líquidos eluentes utilizados nesta pesquisa foram: (1) solução de glicina (Labsynth Ltda., São Paulo, Brasil) 1 M, pH 5,5;

(2) solução de Alconox® (Alconox Inc., New York, EUA) a 0,1%; e (3) solução de Tween® 20 (Dinâmica Química Contemporânea Ltda., São Paulo, Brasil) a 0,1%. As temperaturas utilizadas foram (1) temperatura ambiente (entre 20 e 25 °C); e (2) aquecido a 37 °C. A escolha da temperatura de aquecimento das soluções eluentes se deu mediante experimentos-piloto prévios ao estudo (dado não mostrado).

No total, seis Protocolos (P) foram analisados por dose (12 por parasito), feitos em triplicata (3 ensaios), totalizando 72 ensaios de contaminação artificial (Figura 3). Para cada triplicata de P, analisou-se concomitante um ensaio branco (controle negativo), do mesmo lote de morangos, para atestar a negatividade da amostra para os ovos utilizados como modelos em situação natural de contaminação, totalizando 24 ensaios-branco (Figura 3).

Os materiais utilizados durante as etapas de produção de inóculo, contaminação, processamento e leitura (p. ex. cálices de sedimentação, pincéis, ponteiras de micropipeta, tubos e microtubos) foram previamente eluídos com solução de Tween® 80 a 0,10%, visando reduzir a aderência de ovos nos itens descritos.

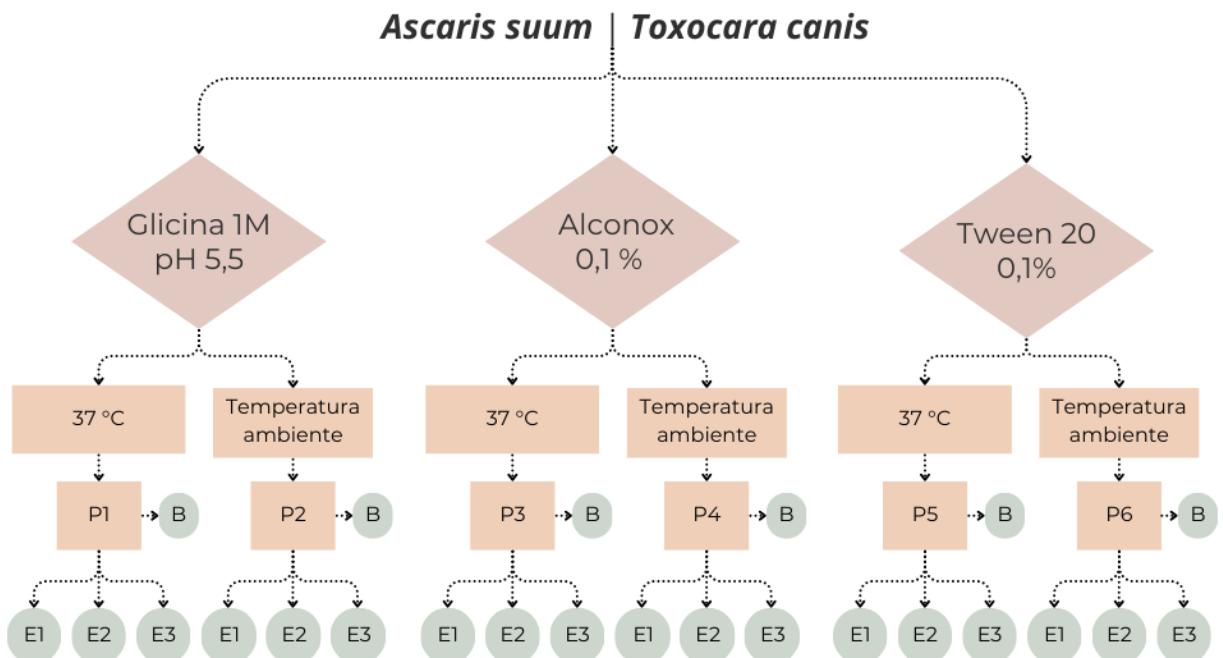
Para os experimentos de contaminação artificial, homogeneizou-se um dos inóculos diluídos da mesma forma que foi feita a enumeração. Em seguida, foi transferido 10 µL para novo microtubo de 0,2 mL, e por fim, adicionado 90 µL de água destilada, totalizando o volume de 100 µL. Gotas de lugol posteriormente foram adicionadas ao inóculo para facilitar a leitura ao microscópio óptico.

Cada ensaio da triplicata representava amostra entre 55 e 60 gramas de morangos inteiros, não higienizados, previamente adquiridos em supermercado ou frutaria, de cultivo convencional, de Curitiba ou município da região metropolitana.

Os morangos analisados foram dispostos em recipiente plano, feito de folha de alumínio dobrada. O inóculo foi homogeneizado e depositado em áreas diferentes da superfície das frutas, da forma mais uniforme possível. Mais 100 µL de água destilada foi adicionado ao microtubo objetivando lavá-lo, e assim recuperar possíveis ovos que ainda permaneceram no microtubo e/ou na ponteira da micropipeta. Esse volume de água extra também foi dispersado sobre os morangos (Figura 4A).

As frutas permaneceram em temperatura ambiente por duas horas para que o líquido inoculado secasse.

Figura 3 – Fluxograma das etapas e variáveis empregadas para a padronização de protocolo de detecção de ovos de helmintos (n=2 doses/parasito) em morangos contaminados artificialmente



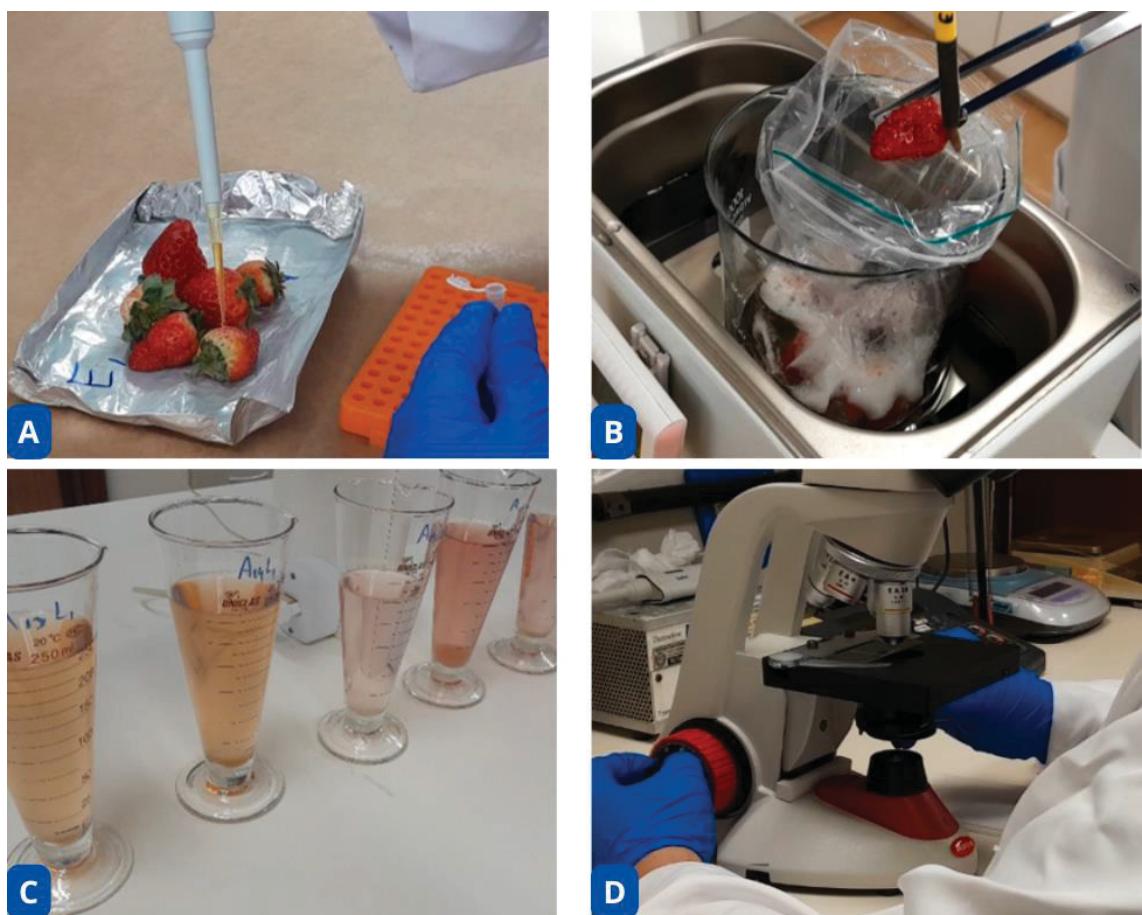
FONTE: O autor (2025). LEGENDA: P: Protocolo; E: Ensaio; B: branco (ensaio-controle negativo); Temperatura ambiente considerada na faixa entre 20-25 °C.

Após a secagem dos morangos, as amostras foram processadas utilizando as soluções eluentes aquecidas a 37 °C – P1, 3 e 5; ou mediante aplicação de cada solução em temperatura ambiente (entre 20 e 25 °C) – P2, 4 e 6.

Nos ensaios com solução aquecida, um Becker com 450 mL de solução foi colocado em banho-maria digital (SolidSteel, São Paulo, Brasil) até atingir 37 °C. Após atingir a temperatura ideal, reservou-se 250 mL em uma proveta, restando 200 mL no Becker. O volume de 200 mL do Becker foi transferido para um saco plástico tipo zip, junto com os morangos previamente contaminados. Os 250 mL de solução na proveta retornaram ao Becker, agora vazio, seguindo novamente para o banho-maria, para não perder temperatura. O saco plástico cheio foi levemente agitado antes de ser colocado em um Becker, que foi ao banho-maria para repouso de 15 minutos, com leves agitações nos minutos 5 e 10. Após 15 minutos, o saco plástico sofreu agitação manual vigorosa por 3 minutos, para posterior drenagem do líquido em cálice de sedimentação, passando por peneira plástica. O saco plástico foi lavado com mais 50 mL da solução eluente morna por 1 minuto para remover possíveis ovos que restaram.

Cada amostra passou por uma segunda lavagem com 200 mL do eluente, ainda em uso do mesmo saco plástico, dentro do banho-maria, usando pincel para facilitar a extração de possíveis ovos que ainda estavam aderidos ao alimento (Figura 4B). O líquido obtido pela nova lavagem foi adicionado a outro cálice de sedimentação, sendo ambos os cálices mantidos em repouso por duas horas (Figura 4C). Após o período, os sobrenadantes dos cálices foram retirados até restarem 10 mL de sedimento, que foram separadamente transferidos para tubos cônicos de centrifugação de 15 mL, com auxílio de pipeta Pasteur de vidro eluída e tetina. Após a retirada do sedimento, cada cálice foi lavado com mais 5 mL de água destilada, totalizando 15 mL em cada tubo de centrifugação. Os tubos foram centrifugados a $1.500 \times g$ por 5 minutos – com 60 segundos de aceleração, e 120 segundos para frenagem – com subsequente retirada dos sobrenadantes até a marca de 1,5 mL. A leitura do sedimento ocorreu mediante microscopia óptica até se esgotar o sedimento de cada tubo (Figura 4D). Nenhum material utilizado durante a padronização foi reutilizado em ensaios subsequentes.

Figura 4 – Etapas dos ensaios de contaminação artificial das amostras de morangos



FONTE: O autor (2025). Legenda: A – Contaminação artificial em morangos. B – Remoção dos ovos inoculados em morangos. C – Sedimentação do líquido de lavagem dos morangos. D – Busca de ovos de parasitos em microscópio óptico.

Nos ensaios com solução à temperatura ambiente, destaca-se que, pela ausência do banho-maria digital, há a necessidade de assegurar que a solução esteja na temperatura correta. Podemos garantir a adequação da temperatura com a produção das soluções eluentes no momento do uso, utilizando água destilada à temperatura ambiente, ou, no caso de a solução já estar preparada e armazenada em geladeira, retiramos o frasco de solução com antecedência da refrigeração horas antes para que a temperatura pudesse se estabilizar. A temperatura foi controlada com termômetro ou alterada com o uso de micro-ondas. Os processos de lavagens, sedimentação, centrifugação e leitura ocorreram como descrito anteriormente, apenas excluindo o banho-maria do processo.

A Figura 5 apresenta ilustração simplificada de um dos protocolos submetidos ao aquecimento. Fluxogramas e descrições detalhadas sobre o protocolo podem ser encontradas no apêndice deste trabalho.

Após os ensaios, para calcular a taxa de recuperação dos ovos nas amostras, empregamos a seguinte equação (Adaptado de Pineda *et al.*, 2021):

$$\%R = \frac{N_{rec} - N_{nat}}{T} \times 100$$

Considerando que:

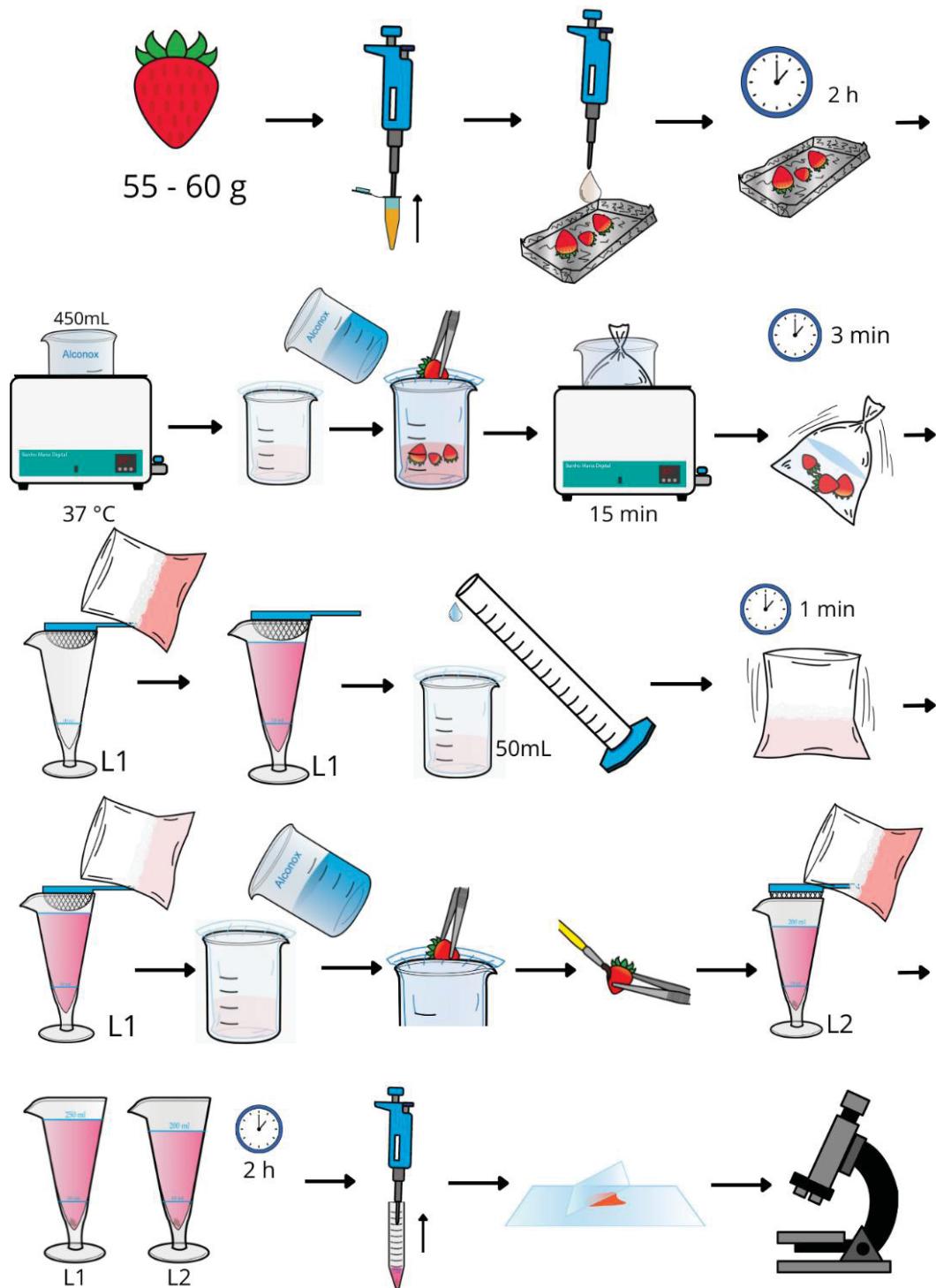
$\%R$ = Taxa de recuperação de ovos, em porcentagem.

N_{rec} = Número de ovos removidos/recuperados, em unidades.

N_{nat} = Número de ovos encontrados no ensaio controle-negativo (contaminação natural), em unidades.

T = Total de ovos inoculados artificialmente, em unidades

Figura 5 – Fluxograma simplificado do Protocolo com soluções aquecidas



FONTE: O autor (2025). Para detalhes, confira o manual ilustrado em apêndice.

4.1.2 Etapa 2 – Validação interlaboratorial do protocolo para recuperação de ovos de helmintos

O protocolo selecionado para essa etapa foi o que obteve melhores resultados de taxa de recuperação. Participaram do experimento seis laboratórios convidados (Quadro 4; Figura 6), que receberam instruções metodológicas – vídeo demonstrativo comentado do protocolo e manual ilustrado impresso; inóculos dos ovos e materiais específicos do protocolo deste estudo via Correios (Quadro 5; Figura 7). Assim, antes de iniciar os experimentos, puderam se familiarizar com o mesmo, sanando possíveis dúvidas quanto à metodologia. Não houve restrição ao tipo de morango utilizado pelos laboratórios convidados. O critério de seleção para os laboratórios convidados incluía experiência prévia em análises parasitológicas de alimentos e detecção de parasitos via microscopia óptica.

Para os laboratórios participantes, o número de ovos presentes no inóculo era desconhecido, excetuando o laboratório que o produziu. A cada um deles foi atribuído um número aleatório e exclusivo, o qual permaneceu constante ao longo do estudo. O laboratório central do estudo recebeu o número 1. O laboratório central, além de produzir e enumerar os inóculos – seguindo os mesmos moldes aplicados durante a padronização do método, já anteriormente citado –, também participou do processo de validação interlaboratorial. O inóculo enviado aos laboratórios continha $142 \pm 7,3$ ovos /10 µL.

Quadro 4 – Laboratórios participantes da etapa de validação de protocolo padronizado para a detecção de ovos de helmintos em morangos

| Identificação | Cidade | Estado |
|---------------|---------------|----------------|
| 1* | Curitiba | Paraná |
| 2 | São Paulo | São Paulo |
| 3 | Santo André | São Paulo |
| 4 | Ponta Grossa | Paraná |
| 5 | Florianópolis | Santa Catarina |
| 6 | Blumenau | Santa Catarina |
| 7 | Niterói | Rio de Janeiro |

FONTE: O autor (2025). * Laboratório central do estudo.

Após os laboratórios executarem os experimentos, estes enviaram resultados para o laboratório 1 para análise dos dados. Os dados fornecidos permitiram comparar a eficiência da análise do laboratório central com relação aos laboratórios convidados.

Durante a execução dos ensaios de contaminação artificial, os pesquisadores foram instruídos a reportar eventuais problemas durante o processamento das amostras, bem como reportar os achados nos ensaios de controle negativo (branco).

Figura 6 – Localização dos laboratórios participantes da etapa de validação de protocolo padronizado de ovos de helmintos em morangos no mapa do Brasil



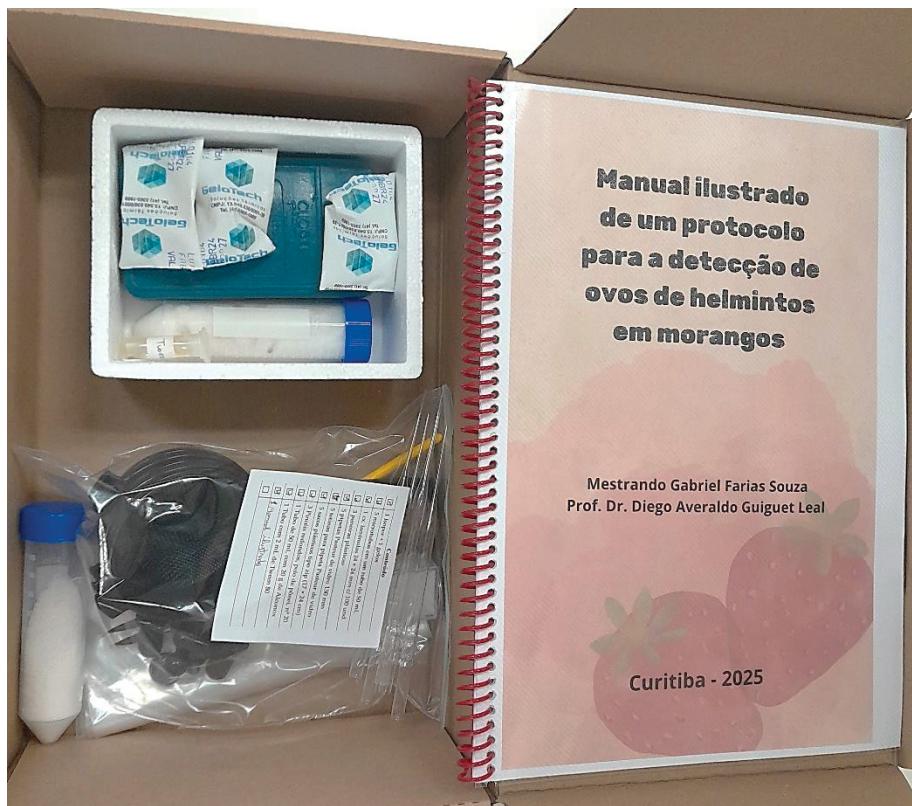
FONTE: O autor (2025). 1: laboratório central do estudo, Curitiba/PR; 2: São Paulo/SP; 3: Santo André/SP; 4: Ponta Grossa/PR; 5: Florianópolis/SC; 6: Blumenau/SC; 7: Niterói/RJ.

Quadro 5 – Lista de itens enviados via Correios para os laboratórios participantes do processo de validação interlaboratorial do protocolo padronizado

| Quantidade | Item |
|------------|---|
| 1 | Isopor |
| 1 | Gelo gel artificial reutilizável rígido |
| 1 | Tubo cônico de centrifugação de 50 mL com algodão, para transportar os microtubos |
| 5 | Microtubo com inóculo pronto para uso |
| 1 | Caixa de lamínulas 24 × 24 mm com 100 unidades |
| 3 | Peneira plástica |
| 5 | Pipeta tipo Pasteur de vidro, 150 mm |
| 5 | Tetina para pipeta Pasteur |
| 5 | Saco plástico tipo zip (17 × 24 cm) |
| 3 | Pincel redondo, pelo de pônei, nº 20 |
| 1 | Tubo cônico de centrifugação de 50 mL com 20 g de Alconox® em pó |
| 1 | Tubo 2 mL com Tween® 80 concentrado |
| 1 | Manual ilustrado do Protocolo |

FONTE: O autor (2025).

Figura 7 – Caixa de itens enviado via Correios para os laboratórios participantes do processo de validação interlaboratorial do protocolo padronizado



FONTE: O autor (2025).

4.1.3 Etapa 3 – Avaliação da contaminação natural por ovos de helmintos em morangos comercializados em Curitiba/PR

4.1.3.1 Local do estudo

O município de Curitiba, capital do estado do Paraná, possui área total de 434,89 km², sendo a totalidade considerada perímetro urbano desde 2000. Encontra-se localizada a 945 metros acima do nível do mar. Atualmente, Curitiba possui uma população estimada de 1.773.718 habitantes, distribuídas em 10 regionais e 75 bairros (Curitiba, 2000; IBGE, 2022; 2025).

A cidade também conta com vasta Região Metropolitana (RMC), composta por 29 municípios (incluindo Curitiba), com população estimada de 3.561.258 habitantes, ocupando área de 16.577,70 km² (Quadro 6). O abastecimento de água e produção de alimentos da capital é majoritariamente fornecido por municípios da RMC (Curitiba, 2017; IBGE, 2025).

Quadro 6 – Panorama demográfico dos municípios que integram a Região Metropolitana de Curitiba (RMC), em 2022, organizados pelo parâmetro de porcentagem de esgotamento sanitário adequado dos domicílios

| Posição | Município | Esgotamento sanitário adequado (%) | População | Extensão territorial (km ²) |
|---------|-----------------------|------------------------------------|------------------|---|
| 1 | Pinhais | 97,82 | 127.019 | 60,87 |
| 2 | Curitiba | 91,17 | 1.773.718 | 434,89 |
| 3 | Fazenda Rio Grande | 91,00 | 148.873 | 116,68 |
| 4 | Piraquara | 89,96 | 118.730 | 227,04 |
| 5 | Colombo | 85,10 | 232.212 | 197,58 |
| 6 | São José dos Pinhais | 79,82 | 329.628 | 946,43 |
| 7 | Campina Grande do Sul | 79,82 | 47.825 | 539,25 |
| 8 | Araucária | 79,57 | 151.666 | 469,24 |
| 9 | Quatro Barras | 76,56 | 24.191 | 180,47 |
| 10 | Campo Largo | 70,62 | 136.327 | 1.243,55 |
| 11 | Almirante Tamandaré | 69,66 | 119.825 | 194,23 |
| 12 | Itaperuçu | 58,56 | 31.217 | 322,99 |
| 13 | Lapa | 56,57 | 45.003 | 2.093,86 |
| 14 | Rio Negro | 54,78 | 32.324 | 604,14 |
| 15 | Contenda | 51,87 | 19.128 | 299,04 |
| 16 | Campo Magro | 50,36 | 30.160 | 275,35 |
| 17 | Rio Branco do Sul | 48,21 | 37.558 | 811,42 |
| 18 | Bocaiúva do Sul | 39,14 | 13.299 | 825,66 |
| 19 | Adrianópolis | 32,51 | 6.256 | 1.349,31 |
| 20 | Cerro Azul | 31,87 | 16.134 | 1.341,19 |
| 21 | Campo do Tenente | 30,61 | 7.508 | 304,49 |
| 22 | Tunas do Paraná | 22,20 | 6.219 | 668,48 |
| 23 | Balsa Nova | 21,97 | 13.395 | 348,93 |
| 24 | Mandirituba | 20,55 | 27.439 | 379,18 |
| 25 | Agudos do Sul | 19,98 | 10.233 | 192,26 |
| 26 | Doutor Ulysses | 16,30 | 5.697 | 777,48 |
| 27 | Quitandinha | 8,13 | 18.398 | 447,02 |
| 28 | Piêñ | 3,08 | 13.655 | 254,79 |
| 29 | Tijucas do Sul | 2,20 | 17.621 | 671,89 |
| - | Total | - | 3.561.258 | 16.577,70 |

FONTE: adaptado de IBGE, 2022; AMEP, 2025.

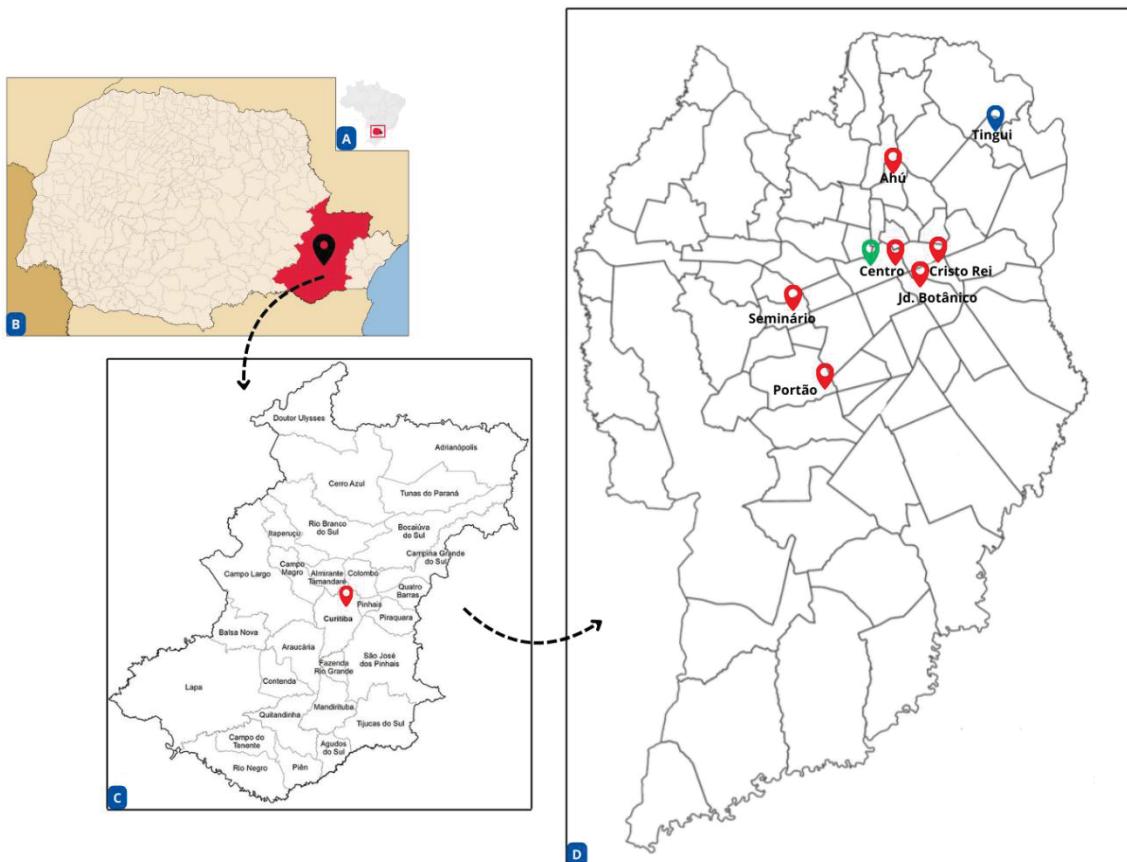
Os morangos avaliados foram obtidos em feiras livres de produtos orgânicos de Curitiba. Existem 14 delas no município, coordenadas pela Secretaria Municipal de Segurança Alimentar e Nutricional de Curitiba (SMSAN). Além dessas feiras, também há morangos

orgânicos em feiras privadas, hortifrutigranjeiros e supermercados espalhados pela cidade (Curitiba, 2025).

4.1.3.2 Coleta de amostras nas feiras

O período de coleta das amostras ocorreu entre novembro/2024 e maio/2025. As amostras foram coletadas prioritariamente em feiras livres de produtos orgânicos de Curitiba. Na indisponibilidade da ocorrência da feira ou de morangos, buscou-se feiras orgânicas privadas, supermercados e o Mercado Municipal (Figura 8). Sempre que possível, indagamos sobre a origem geográfica da fruta, para eventual rastreio do produtor, que pode comercializar o mesmo produto em diversos locais simultaneamente.

Figura 8 – Localização das feiras produtos orgânicos de Curitiba visitadas



FONTE: O autor (2025). LEGENDA: A — Estado do Paraná em relação ao Brasil; B — Região Metropolitana de Curitiba em relação ao Paraná; C — Curitiba em relação à Região Metropolitana de Curitiba; D — Mapa de Curitiba indicando os bairros das feiras visitadas, com codificação de cores, sendo: Vermelha – feiras livres de produtos orgânicos coordenadas pela prefeitura de Curitiba; Verde – Mercado Municipal de Curitiba; Azul – Feira privada.

Os morangos foram transportados nas embalagens originais, acondicionadas em caixas térmicas com géis de refrigeração, para o Laboratório de Parasitologia Ambiental da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Setor de Ciências Biológicas, Campus Centro Politécnico, para processamento, onde foram processados mediante protocolo validado em etapa anterior.

Foram analisados 267 morangos, totalizando 2,91 kg, representando 50 *pool* e um montante de 6,02 kg de morangos obtidos para análise, provenientes de 7 feiras livres, 1 feira privada e o 1 estabelecimento localizado no Mercado Municipal de Curitiba (Figura 8). Os morangos eram oriundos de oito municípios: Almirante Tamandaré, Antonina, Campo Largo, Colombo, Lapa, Mandirituba, São José dos Pinhais e Tijucas do Sul.

Todas as feiras livres de produtos orgânicos foram visitadas ao menos uma vez. Entretanto, nem todas possuíam feirantes que comercializavam morangos, ou já estavam com seus estoques da fruta esgotados.

4.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Medidas de tendência central (média) e dispersão (desvio-padrão) foram utilizadas para a descrição do número e percentual de ovos recuperados. A normalidade dos dados foi analisada utilizando o teste de Shapiro-Wilk. A homogeneidade de variância foi testada por meio do teste de Brown-Forsythe e a análise de normalidade dos resíduos foi realizada para todas as análises de variância realizadas. Nenhuma das análises infringiu os pressupostos de normalidade, homogeneidade de variância e normalidade de resíduos.

As comparações entre o número de ovos recuperados entre os protocolos para cada parasito e cada dose foram realizadas por meio de análise de variância de um fator (ANOVA). A ANOVA para dois fatores foi utilizada para a comparação do percentual de ovos recuperados entre os protocolos e entre as doses. A ANOVA de um fator também foi utilizada para as comparações do número e o percentual de ovos recuperados entre cada laboratório durante a validação interlaboratorial.

Os posts-hocs de Bonferroni foram utilizados para a realização das comparações múltiplas entre os protocolos. O d de Cohen (*d*) foi utilizado como indicativo de tamanho de efeito nas comparações múltiplas. O valor de *p* < 0,05 foi adotado como nível de significância estatística para testes bicaudais. Todas as análises e representações gráficas foram realizadas no software GraphPad Prism 8 (versão 8.2.1).

5 RESULTADOS

5.1 ETAPA 1 – PADRONIZAÇÃO DO PROTOCOLO

Todas as soluções empregadas foram capazes de recuperar ovos em concentrações variáveis, tanto para a dose 1 como 2, para ambos os modelos (Figura 9 e Figura 10). De modo geral, para quase todos os ensaios, as maiores eficiências de recuperação de ovos foram observadas ao se utilizar as soluções aquecidas na etapa de eluição.

Para os ensaios utilizando como modelo ovos de *T. canis*, as taxas de recuperação variaram entre 40,40% e 79,80% para dose 1 (33 ovos), e 39,16% e 81,55% para dose 2 (103 ovos) (Tabela 1 e Tabela 2).

Para os ensaios utilizando como modelo ovos de *T. canis*, as melhores eficiências de recuperação foram alcançadas mediante aplicação do Protocolo 3 (eluição com solução aquecida de Alconox®), tanto para a dose 1, como para a dose 2, com médias de 79,80% e 81,55%, respectivamente.

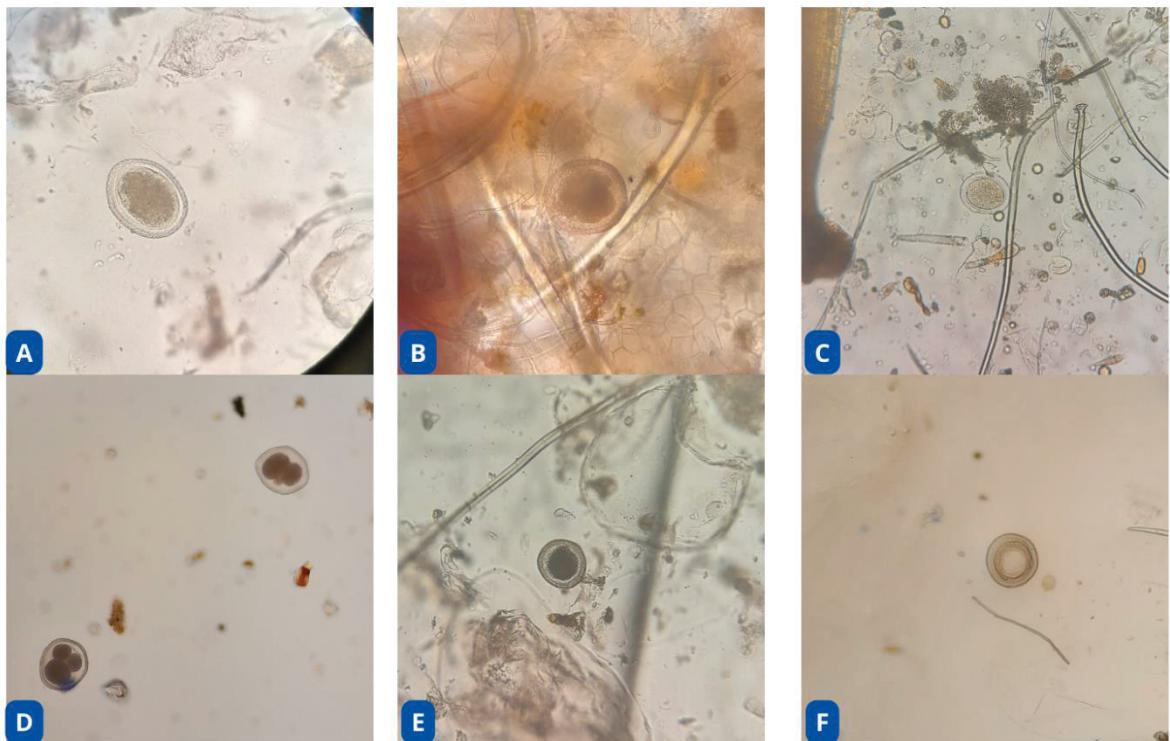
A utilização do surfactante Tween® 20 apresentou resultados de recuperação inferiores às soluções compostas pelo detergente Alconox® ou com o aminoácido Glicina, com aquecimento ou não (Tabela 1 e Tabela 2).

A Figura 11 apresenta a comparação do número de ovos recuperados entre os protocolos para cada dose de *T. canis*. Verificou-se diferenças significativas no número de ovos entre os protocolos tanto para dose 1 ($F_{(5,12)} = 5,584$, $p = 0,007$) quanto para dose 2 ($F_{(5,12)} = 12,07$, $p = 0,0002$).

Para a dose 1 verificou-se que o Protocolo (P) 3 (média = 26,33 ovos) apresentou maior média de ovos recuperados quando comparado ao P5 com diferença significativa (média = 13,33 ovos; $p = 0,015$, $d = 5,17$).

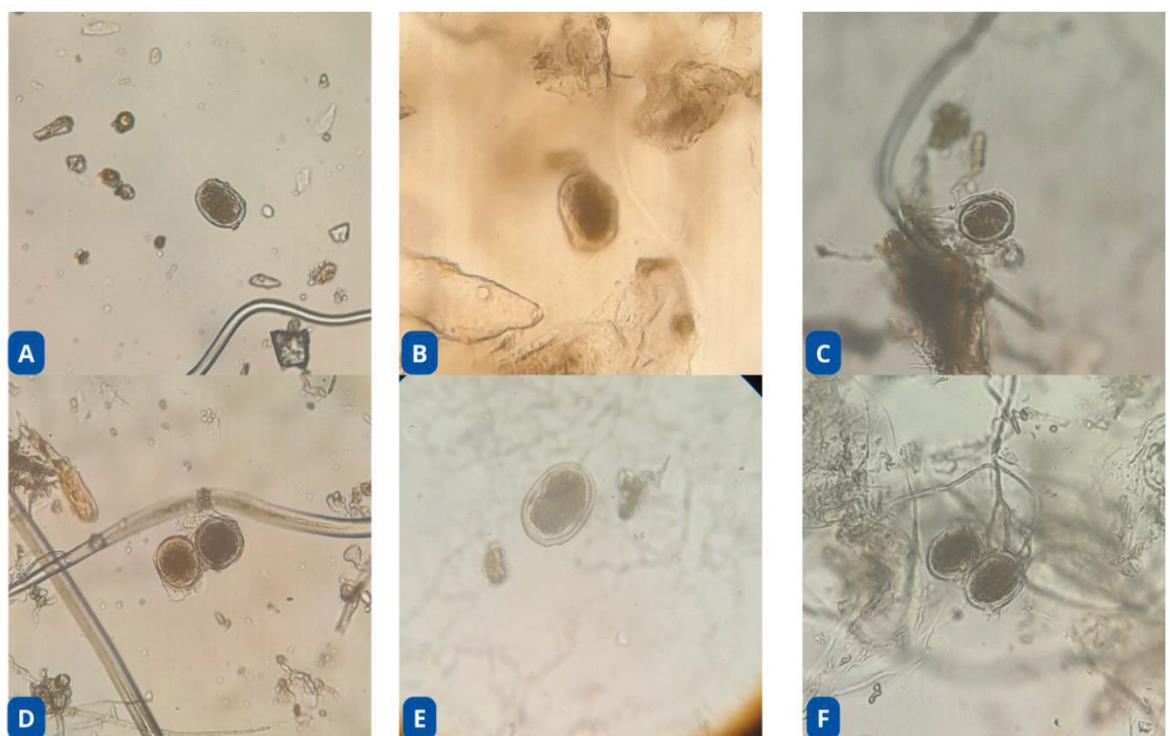
Para a dose 2 verificou-se que o P1 (média = 83,33 ovos) apresentou maiores valores de ovos recuperados quando comparado ao P5 (média = 44,00 ovos; $p = 0,046$, $d = 6,88$) e P6 (média = 40,33 ovos; $p = 0,024$, $d = 5,24$). O P3 (média = 84,00 ovos) apresentou maiores médias de ovos recuperados quando comparado ao P5 ($p = 0,041$, $d = 0,39$) e P6 ($p = 0,022$, $d = 5,20$).

Figura 9 – Ovos de *Toxocara canis* recuperados após ensaios de contaminação artificial de morangos durante etapa de padronização do protocolo.



FONTE: O autor (2025). LEGENDA: A e B – Glicina 1M pH 5,5; C e D – Alconox® 0,1 %; E e F – Tween® 20 0,1 %.

Figura 10 – Ovos de *Ascaris suum* recuperados após ensaios de contaminação artificial de morangos durante etapa de padronização do protocolo.



FONTE: O autor (2025). LEGENDA: A e B – Glicina 1M pH 5,5; C e D – Alconox® 0,1 %; E e F – Tween® 20 0,1 %.

Tabela 1 – Avaliação da sensibilidade de detecção de ovos de *Toxocara canis* em morangos contaminados artificialmente, com aplicação de diferentes soluções eluentes, temperaturas, e duas lavagens. Dose 1: 33 ovos

| Protocolo | Ensaios 1 | | | Ensaios 2 | | | Ensaios 3 | | | Média de ovos recuperados | Taxa média de recuperação (%) | Desvio-padrão (%) |
|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|---------------------------|-------------------------------|-------------------|
| | L1 | L2 | Total | L1 | L2 | Total | L1 | L2 | Total | | | |
| 1 | 20 | 1 | 21 | 27 | 0 | 27 | 24 | 1 | 25 | 24,33 | 73,74 | 9,26 |
| 2 | 20 | 1 | 21 | 25 | 0 | 25 | 15 | 2 | 17 | 21,00 | 63,64 | 12,12 |
| 3 | 26 | 4 | 30 | 19 | 4 | 23 | 26 | 0 | 26 | 26,33 | 79,80 | 10,64 |
| 4 | 27 | 1 | 28 | 25 | 1 | 26 | 17 | 2 | 19 | 24,33 | 73,74 | 14,32 |
| 5 | 11 | 2 | 13 | 13 | 1 | 14 | 12 | 1 | 13 | 13,33 | 40,40 | 1,75 |
| 6 | 10 | 3 | 13 | 14 | 1 | 15 | 21 | 1 | 22 | 16,66 | 50,51 | 14,32 |

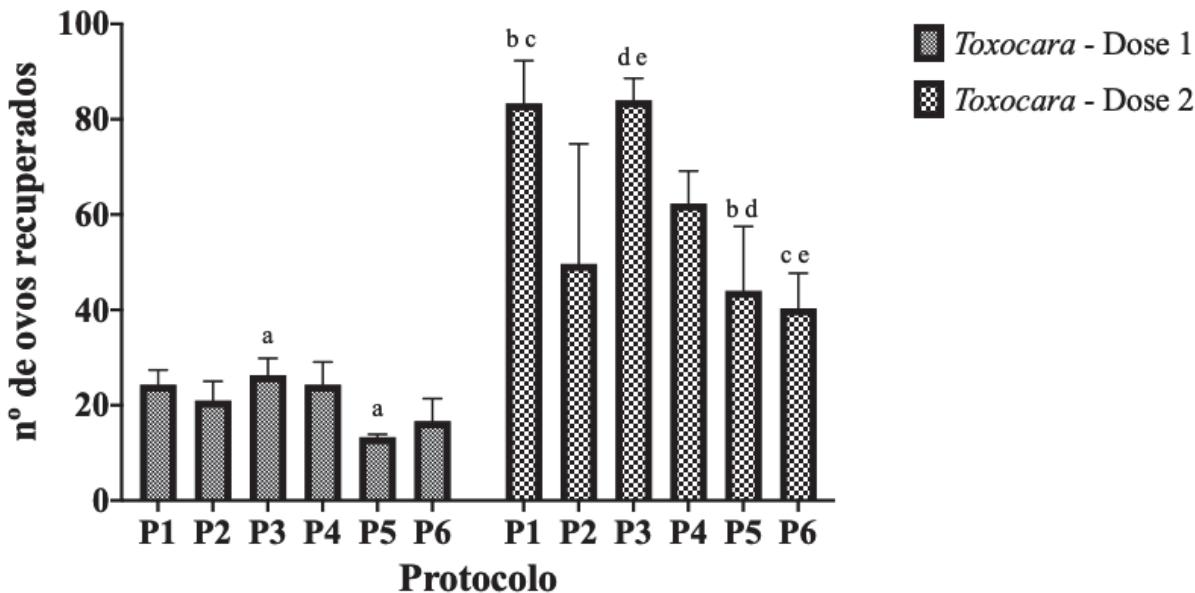
FONTE: O autor (2025). LEGENDA: 1: Glicina aquecida a 37 °C; 2: Glicina não aquecida; 3: Alconox® aquecido a 37 °C; 4: Alconox® não aquecido; 5: Tween® 20 aquecido a 37 °C; 6: Tween® 20 não aquecido. L1: Lavagem 1; L2: Lavagem 2 (pincelamento).

Tabela 2 – Avaliação da sensibilidade de detecção de ovos de *Toxocara canis* em morangos contaminados artificialmente, com aplicação de diferentes soluções eluentes, temperaturas, e duas lavagens. Dose 2: 103 ovos

| Protocolo | Ensaios 1 | | | Ensaios 2 | | | Ensaios 3 | | | Média de ovos recuperados | Taxa média de recuperação (%) | Desvio-padrão (%) |
|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|---------------------------|-------------------------------|-------------------|
| | L1 | L2 | Total | L1 | L2 | Total | L1 | L2 | Total | | | |
| 1 | 83 | 5 | 88 | 89 | 0 | 89 | 72 | 1 | 73 | 83,33 | 80,91 | 8,70 |
| 2 | 49 | 4 | 53 | 46 | 5 | 51 | 53 | 1 | 54 | 52,66 | 51,13 | 1,48 |
| 3 | 77 | 2 | 79 | 83 | 5 | 88 | 84 | 1 | 85 | 84,00 | 81,55 | 4,45 |
| 4 | 70 | 0 | 70 | 50 | 10 | 60 | 55 | 2 | 57 | 62,33 | 60,52 | 6,61 |
| 5 | 29 | 2 | 31 | 50 | 8 | 58 | 35 | 8 | 43 | 44,00 | 42,72 | 13,13 |
| 6 | 32 | 0 | 32 | 42 | 4 | 46 | 38 | 5 | 43 | 40,33 | 39,16 | 7,15 |

FONTE: O autor (2025). LEGENDA: 1: Glicina aquecida a 37 °C; 2: Glicina não aquecida; 3: Alconox® aquecido a 37 °C; 4: Alconox® não aquecido; 5: Tween® 20 aquecido a 37 °C; 6: Tween® 20 não aquecido. L1: Lavagem 1; L2: Lavagem 2 (pincelamento).

Figura 11 – Comparação do número de ovos de *Toxocara canis* recuperados entre os protocolos



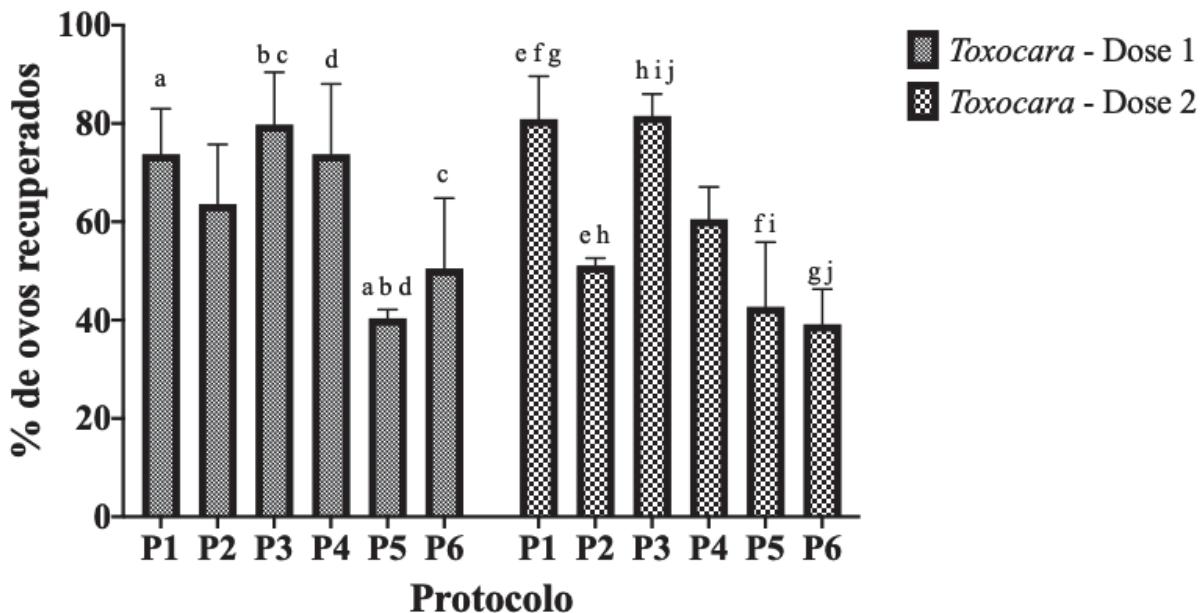
FONTE: O autor (2025). Caracteres iguais representam diferenças significativas entre os protocolos ($p < 0,05$). Dose 1 = 33 ovos; Dose 2 = 103 ovos.

A Figura 12 apresenta a comparação da taxa de recuperação de ovos entre os protocolos para cada dose de *T. canis*. Verificou-se diferenças significativas na taxa de recuperação de ovos entre os protocolos ($F_{(5,24)} = 17,19$, $p < 0,001$) e nenhuma diferença significativa foi observada na taxa de recuperação de ovos entre as doses (média dose 1 = $63,65\% \pm 15,35$ vs. média dose 2 = $59,33\% \pm 18,50$; $F_{(1,24)} = 1,506$; $p = 0,196$, $d = 0,25$).

Para a dose 1, verificou-se que o P1 (média = 73,74%) apresentou maior taxa de recuperação de ovos quando comparado ao P5 (média = 40,40%; $p = 0,004$, $d = 5,00$). O P3 (média = 79,80%) apresentou maior taxa de recuperação de ovos quando comparado ao P5 ($p = 0,0006$, $d = 5,16$) e P6 (média = 50,51%; $p = 0,016$, $d = 2,32$). O P4 (média = 73,74%) apresentou maior taxa de recuperação de ovos quando comparado ao P5 ($p = 0,004$, $d = 3,27$).

Para a dose 2, verificou-se que o P1 (média = 80,91%) apresentou maior taxa de recuperação de ovos quando comparado ao P2 (média = 51,13%; $p = 0,002$, $d = 4,73$), P5 (média = 42,72%; $p < 0,001$, $d = 3,42$) e P6 (média = 39,16%; $p < 0,001$, $d = 5,24$). O P3 (média = 81,55%) apresentou maior taxa de recuperação de ovos quando comparado ao P2 ($p = 0,005$, $d = 8,90$), P5 ($p < 0,001$, $d = 3,96$) e P6 ($p < 0,001$, $d = 7,11$).

Figura 12 – Comparação da taxa de recuperação de ovos de *Toxocara canis* entre os protocolos



FONTE: O autor (2025). Caracteres iguais representam diferenças significativas entre os protocolos ($p < 0,05$). Dose 1 = 33 ovos; Dose 2 = 103 ovos.

Com relação às taxas de recuperação utilizando um segundo modelo para os ensaios de contaminação artificial – *A. suum*, os valores variaram entre 17,84% e 46,48% para dose 1 (71 ovos), e 9,11% e 36,69% para dose 2 (139 ovos) (Tabela 3 e Tabela 4).

De forma geral, ao compararmos com os resultados obtidos nos testes com *T. canis*, menores taxas de recuperação foram obtidas com *A. suum*. Para a dose 1, o P3 (solução aquecida de Alconox®) apresentou a maior média de recuperação de ovos (46,48%), entretanto, para a dose 2, o P1 (solução aquecida de Glicina) apresentou melhor desempenho (36,69%). Ressalta-se, contudo, que para essa dose, o emprego do P3 apresentou taxa de recuperação de somente 1,20% a menos do que o P1, também apresentando desvio-padrão menor, não diferindo estatisticamente (Tabela 4; Figura 13).

A utilização do surfactante Tween® 20 apresentou resultados de recuperação inferiores às soluções compostas pelo detergente Alconox® ou com o aminoácido Glicina, com aquecimento ou não (Tabela 3 e Tabela 4).

Tabela 3 – Avaliação da sensibilidade de detecção de ovos de *Ascaris suum* em morangos contaminados artificialmente, com aplicação de diferentes soluções eluentes, temperaturas, e duas lavagens. Dose 1: 71 ovos

| Protocolo | Ensaios 1 | | | Ensaios 2 | | | Ensaios 3 | | | Média de ovos recuperados | Taxa média de recuperação (%) | Desvio-padrão (%) |
|-----------|-----------|----|-------|-----------|----|-------|-----------|----|-------|---------------------------|-------------------------------|-------------------|
| | L1 | L2 | Total | L1 | L2 | Total | L1 | L2 | Total | | | |
| 1 | 15 | 1 | 16 | 16 | 2 | 18 | 21 | 0 | 21 | 18,33 | 25,82 | 3,54 |
| 2 | 14 | 3 | 17 | 16 | 0 | 16 | 19 | 0 | 19 | 17,33 | 24,41 | 2,15 |
| 3 | 27 | 0 | 27 | 37 | 1 | 38 | 34 | 0 | 34 | 33,00 | 46,48 | 7,84 |
| 4 | 28 | 2 | 30 | 28 | 0 | 28 | 23 | 2 | 25 | 27,67 | 38,97 | 3,54 |
| 5 | 10 | 5 | 15 | 15 | 1 | 16 | 7 | 0 | 7 | 12,67 | 17,84 | 6,95 |
| 6 | 8 | 3 | 11 | 13 | 1 | 14 | 14 | 0 | 14 | 13,00 | 18,31 | 2,44 |

FONTE: O autor (2025). LEGENDA: 1: Glicina aquecida a 37 °C; 2: Glicina não aquecida; 3: Alconox® aquecido a 37 °C; 4: Alconox® não aquecido; 5: Tween® 20 aquecido a 37 °C; 6: Tween® 20 não aquecido. L1: Lavagem 1; L2: Lavagem 2 (pincelamento).

Tabela 4 – Avaliação da sensibilidade de detecção de ovos de *Ascaris suum* em morangos contaminados artificialmente, com aplicação de diferentes soluções eluentes, temperaturas, e duas lavagens. Dose 2: 139 ovos

| Protocolo | Ensaios 1 | | | Ensaios 2 | | | Ensaios 3 | | | Média de ovos recuperados | Taxa média de recuperação (%) | Desvio-padrão (%) |
|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|-----------|---------------------------|-------------------------------|-------------------|
| | L1 | L2 | Total | L1 | L2 | Total | L1 | L2 | Total | | | |
| 1 | 66 | 1 | 67 | 33 | 1 | 34 | 49 | 3 | 52 | 51,00 | 36,69 | 11,89 |
| 2 | 51 | 0 | 51 | 31 | 5 | 36 | 28 | 3 | 31 | 39,33 | 28,30 | 7,49 |
| 3 | 53 | 3 | 56 | 48 | 2 | 50 | 41 | 1 | 42 | 49,33 | 35,49 | 5,05 |
| 4 | 34 | 2 | 36 | 38 | 1 | 39 | 32 | 0 | 32 | 35,67 | 25,66 | 2,53 |
| 5 | 13 | 1 | 14 | 13 | 1 | 14 | 10 | 0 | 10 | 12,67 | 9,11 | 1,66 |
| 6 | 43 | 2 | 45 | 1,5 | 0 | 15 | 15 | 2 | 17 | 25,67 | 18,46 | 12,05 |

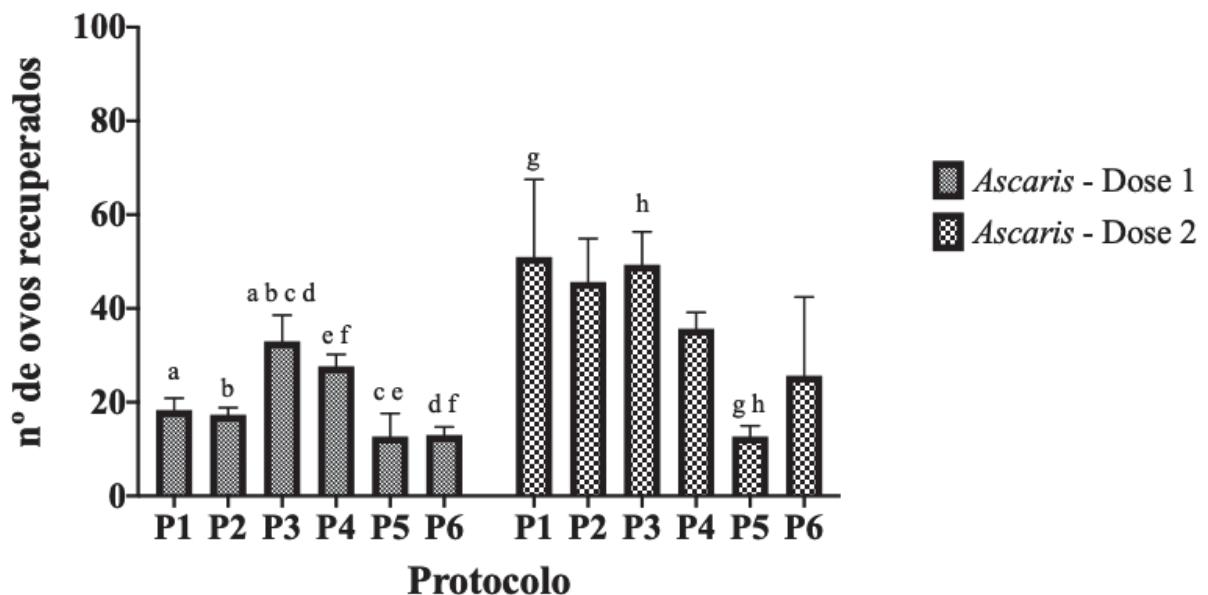
FONTE: O autor (2025). LEGENDA: 1: Glicina aquecida a 37 °C; 2: Glicina não aquecida; 3: Alconox® aquecido a 37 °C; 4: Alconox® não aquecido; 5: Tween® 20 aquecido a 37 °C; 6: Tween® 20 não aquecido. L1: Lavagem 1; L2: Lavagem 2 (pincelamento).

A Figura 13 apresenta a comparação do número de ovos recuperados entre os protocolos para cada dose de *A. suum*. Verificou-se diferenças significativas no número de ovos entre os protocolos tanto para dose 1 ($F_{(5,12)} = 16,68$, $p < 0,001$) quanto para dose 2 ($F_{(5,12)} = 5,251$, $p = 0,009$).

Para a dose 1, verificou-se que o P3 (média = 33,00 ovos) apresentou maior média de ovos recuperados quando comparado aos protocolos P1 (média = 18,33 ovos; $p = 0,003$, $d = 5,89$), P2 (média = 17,33 ovos; $p = 0,002$, $d = 6,66$), P5 (média = 12,67 ovos; $p = 0,0002$, $d = 6,70$) e P6 (média = 13,00 ovos; $p = 0,0002$, $d = 8,41$). O P4 (média = 27,67 ovos) apresentou maior média de ovos recuperados quando comparado aos protocolos P5 ($p = 0,003$, $d = 5,63$) e P6 ($p = 0,004$, $d = 11,78$).

Para a dose 2, verificou-se que o P1 (média = 51,00 ovos) apresentou maior valor de ovos recuperados quando comparado ao P5 (média = 12,67 ovos; $p = 0,016$, $d = 3,28$). O P3 (média = 49,33 ovos) apresentou maior valor de ovos recuperados quando comparado ao P5 ($p = 0,012$, $d = 7,01$).

Figura 13 – Comparaçao do número de ovos de *Ascaris suum* recuperados entre os protocolos



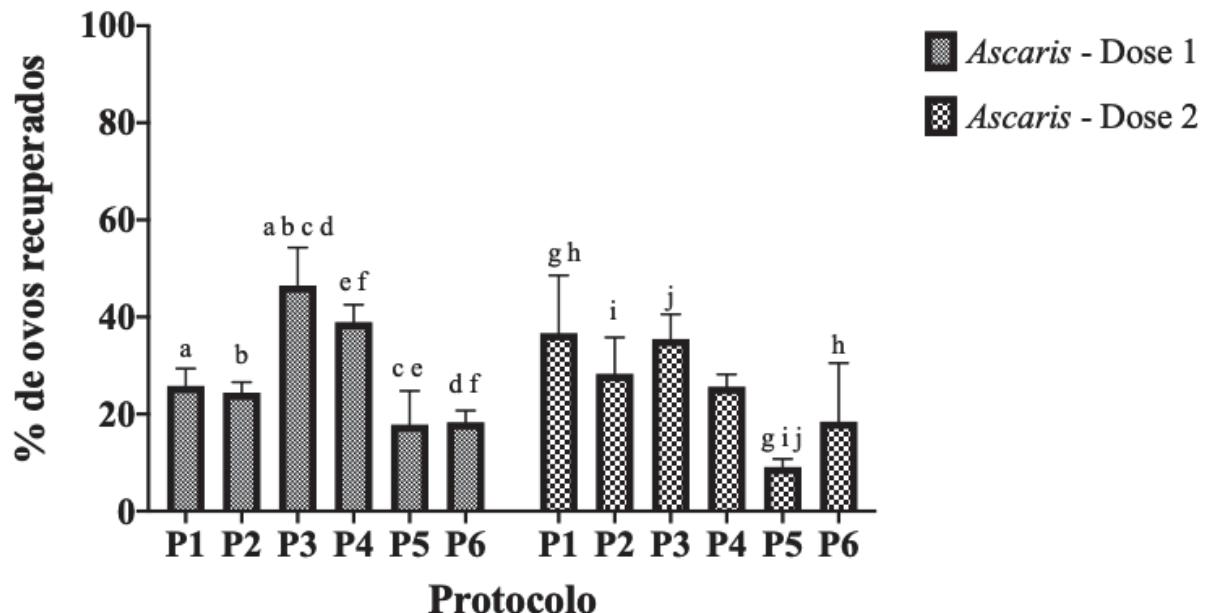
FONTE: O autor (2025). Caracteres iguais representam diferenças significativas entre os protocolos ($p < 0,05$). Dose 1 = 71 ovos; Dose 2 = 139 ovos.

A Figura 14 apresenta a taxa de recuperação de ovos de *A. suum* entre os protocolos para cada dose. Verificou-se diferenças significativas na taxa de recuperação de ovos entre os protocolos ($F_{(5,24)} = 13,75$, $p < 0,001$) e nenhuma diferença significativa foi observada na taxa de recuperação de ovos entre as doses (média dose 1 = $28,64\% \pm 11,61$ vs. média dose 2 = $25,62\% \pm 10,50$; $F_{(1,24)} = 1,884$; $p = 0,182$, $d = 0,27$).

Para a dose 1, verificou-se que o P3 (média = 46,48%) apresentou maior taxa de recuperação de ovos quando comparado aos protocolos P1 (média = 25,82%; $p = 0,012$, $d = 3,39$), P2 (média = 24,41%; $p = 0,006$, $d = 3,83$), P5 (média = 17,84%; $p = 0,0003$, $d = 3,86$) e P6 (média = 18,31%; $p = 0,0004$, $d = 4,85$). O P4 (média = 38,97%) apresentou maior taxa de recuperação de ovos quando comparado aos protocolos P5 ($p = 0,010$, $d = 3,85$) e P6 ($p = 0,012$, $d = 6,79$).

Para a dose 2, verificou-se que o P1 (média = $36,69\% \pm 11,88$) apresentou maior a taxa de recuperação de ovos quando comparado ao P5 (média = 9,11%; $p = 0,005$, $d = 3,25$) e P6 (média = 18,46%; $p = 0,037$, $d = 1,52$). O P2 (média = 28,30%) apresentou maior taxa de recuperação de ovos quando comparado ao P5 ($p = 0,024$, $d = 3,54$). O P3 (média = 35,49%) apresentou maior taxa de recuperação de ovos quando comparado ao P5 ($p = 0,0008$, $d = 7,02$).

Figura 14 – Comparaçāo da taxa de recuperaçāo de ovos de *Ascaris suum* entre os protocolos.



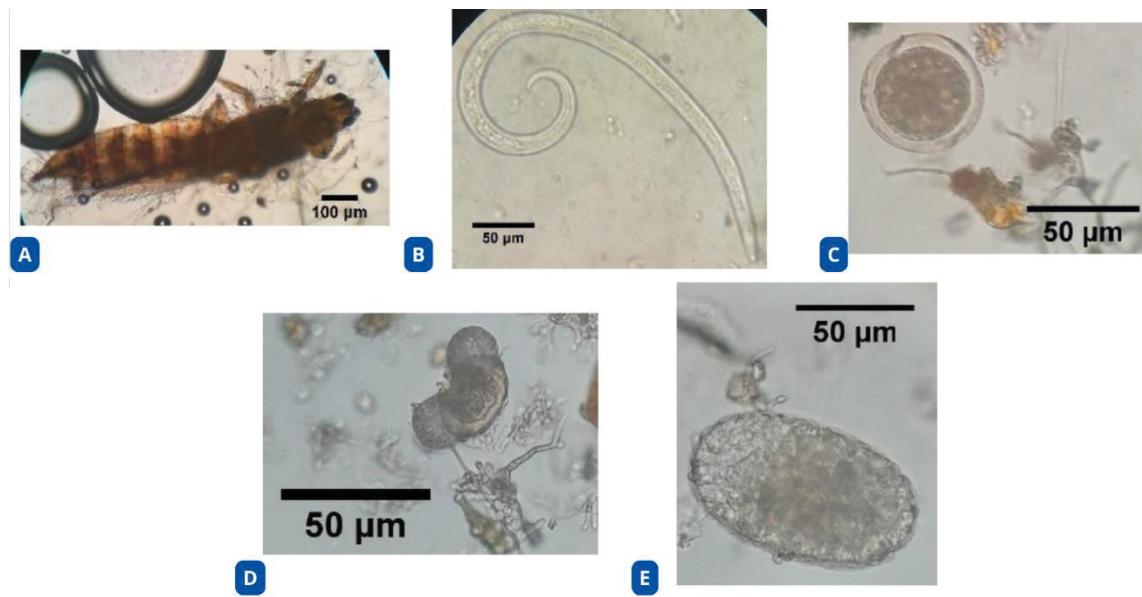
FONTE: O autor (2025). Caracteres iguais representam diferenças significativas entre os protocolos ($p < 0,05$). Dose 1 = 71 ovos; Dose 2 = 139 ovos.

As amostras utilizadas para a padronização do protocolo apresentaram resultados negativos nos ensaios-branco, ou seja, ovos de *T. canis* ou *A. suum* não foram identificados nos ensaios de contaminação artificial com esses modelos em situação natural de contaminação dos morangos. Entretanto, a contaminação natural por ovo de *Ascaris* sp. (n = 1), foi detectada durante a aferição da sensibilidade de detecção de ovos de *T. canis*, ao executar o P5 (solução aquecida de Tween® 20).

Com base nos resultados obtidos, o P3 (Alconox® aquecido a 37 °C), foi selecionado para a etapa de validação interlaboratorial e como metodologia para a pesquisa de ovos de helmintos em morangos na etapa de comercialização.

Por fim, em todos os ensaios de padronização da metodologia, foram identificados artrópodes inteiros ou fragmentos, assim como ovos de ácaro, larvas, pólen e animais do filo Rotífera (Figura 15).

Figura 15 – Exemplos de artefatos encontrados durante padronização



FONTE: O autor (2025). LEGENDA: A – Artrópode inteiro; B – Larva de nematódeo não identificado; C e D – Pólen. E – Ovo de ácaro.

5.2 ETAPA 2 – VALIDAÇÃO INTERLABORATORIAL DO PROTOCOLO

Para os ensaios da validação interlaboratorial, foram encontradas médias de recuperação de ovos variando entre 22,33 e 109,00 ovos, com taxas de recuperação média entre 15,73% e 76,74% (Tabela 5). Nenhum laboratório deste estudo relatou positividade para *T. canis* nos ensaios controle-negativos. Entretanto, relataram a presença de fungos filamentosos e cistos de *Entamoeba coli*. Considerando os 7 laboratórios, com total de 21 ensaios, a taxa média de recuperação de ovos de *T. canis* foi de $52,45\% \pm 8,44$.

Comentários sobre o protocolo padronizado foram mistos, alguns laboratórios não relataram nenhuma intercorrência, enquanto outros sugeriram alterações ao método. Um dos laboratórios relatou que a centrífuga de tubos disponível não possuía calibração de aceleração e frenagem, o que poderia comprometer a integridade do sedimento formado. Alguns laboratórios criticaram o uso do saco plástico do tipo zip, devido ao acúmulo de líquido e espuma na canaleta de fechamento, sugerindo incluir uma etapa de enxágue da canaleta, ou a substituição por saco plástico sem esse tipo de fechamento. Um laboratório relatou micro furos no saco plástico disponibilizado, oferecendo risco potencial de perda de ovos. Durante a padronização, o mesmo aconteceu em apenas um ensaio, que foi devidamente descartado e repetido. A presença de órgãos botânicos (p. ex., aquênios), além de alta viscosidade do sedimento foram referidas como dificuldades comuns entre os laboratórios na etapa de leitura ao microscópio óptico.

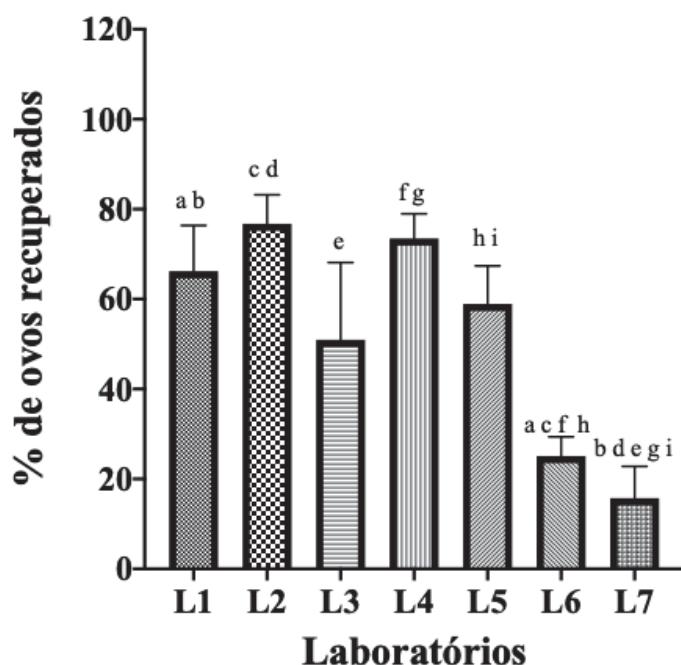
Tabela 5 – Resultados de recuperação de ovos de *Toxocara canis* obtidos pelos laboratórios colaboradores após contaminação artificial de amostras de morango, processados mediante eluição com solução aquecida de Alconox® 0,1% a 37 °C (Protocolo 3). Dose: 142 ovos

| Laboratório | Ensaios 1 | | | | Ensaios 2 | | | | Ensaios 3 | | | | Taxa média de recuperação (%) | Desvio-padrão (%) |
|-------------|-----------|----|-------|-----|-----------|-------|-----|----|-----------|--------|-------|-------|-------------------------------|-------------------|
| | L1 | | L2 | | Total | | L1 | | L2 | | Total | | Média de ovos recuperados | |
| | L1 | L2 | Total | L1 | L2 | Total | L1 | L2 | Total | L1 | L2 | Total | L1 | L2 |
| 1 | 106 | 4 | 110 | 86 | 4 | 90 | 79 | 3 | 82 | 94,00 | | 66,20 | | 10,16 |
| 2 | 105 | 2 | 107 | 99 | 2 | 101 | 116 | 3 | 119 | 109,00 | | 76,74 | | 6,46 |
| 3 | 43 | 2 | 45 | 76 | 4 | 80 | 91 | 1 | 92 | 72,33 | | 50,94 | | 17,20 |
| 4 | 100 | 2 | 102 | 112 | 1 | 113 | 97 | 1 | 98 | 104,33 | | 73,47 | | 5,47 |
| 5 | 63 | 9 | 72 | 88 | 8 | 96 | 80 | 3 | 83 | 83,67 | | 58,92 | | 8,46 |
| 6 | 30 | 5 | 35 | 30 | 0 | 30 | 37 | 5 | 42 | 35,67 | | 25,12 | | 4,25 |
| 7 | 21 | 0 | 21 | 13 | 0 | 13 | 32 | 1 | 33 | 22,33 | | 15,73 | | 7,09 |

FONTE: O autor (2025). LEGENDA: 1: laboratório central do estudo, Curitiba/PR; 2: São Paulo/SP; 3: Santo André/SP; 4: Ponta Grossa/PR; 5: Florianópolis/SC; 6: Blumenau/SC; 7: Niterói/RJ; L1: lavagem 1; L2: lavagem 2 (pincelamento).

A Figura 16 apresenta a comparação da taxa de recuperação de ovos de *T. canis* recuperados entre cada laboratório. Verificou-se diferenças significativas na taxa de recuperação de ovos entre os laboratórios ($F_{(6,14)} = 19,27$, $p < 0,001$). Foram observadas diferenças entre o Laboratório (L) 1 com relação ao L6 ($p = 0,002$, $d = 5,27$) e L7 ($p = 0,0002$, $d = 5,76$); assim como entre o L2 e L6 ($p = 0,0002$, $d = 9,44$) e L7 ($p < 0,0001$, $d = 8,99$); entre o L3 e L7 ($p = 0,012$, $d = 2,68$); entre o L4 e L6 ($p = 0,004$, $d = 9,87$) e L7 ($p < 0,0001$, $d = 9,11$); entre o L5 e L6 ($p = 0,012$, $d = 5,05$) e L7 ($p = 0,001$, $d = 5,53$).

Figura 16 – Comparação da taxa de recuperação de ovos de *Toxocara canis* entre os laboratórios colaboradores



FONTE: O autor (2025). Caracteres iguais representam diferenças significativas entre os protocolos ($p < 0,05$).

5.3 ETAPA 3 – AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO NATURAL POR HELMINTOS EM MORANGOS DE CULTIVO ORGÂNICO

A frequência de parasitos nos morangos orgânicos analisados neste estudo está descrita no Quadro 7. A análise demonstrou que 4,00% (2/50) dos *pool* testados foram positivos para ovos de helmintos, sendo 2,00% (1/50) para *Ascaris* sp., e 2,00% para *Toxocara* sp., ambas em morangos oriundos de Campo Largo, mas de diferentes *pool*. As amostras analisadas apresentaram artrópodes (inteiros e/ou fragmentos), ovos de artrópodes e larvas de nematódeos não identificadas.

Quadro 7 – Pontos de obtenção de morangos orgânicos, características do produto na fase de comercialização e achados das análises parasitológicas

| Pool | Local | Município | Nº de frutas | Achados | Comentários |
|-------|-------------------------|----------------------|--------------|--|---|
| 1-2 | SBEE | São José dos Pinhais | 8 | Artrópodes; Ovos de artrópodes; Larvas. | Embalado – isopor, filme plástico |
| 3-5 | Jardim Botânico | Campo Largo | 10 | Artrópodes; Ovos de artrópodes; Larvas. | A granel, ao ar livre - garoa; insetos pousando |
| 6 | SBEE | São José dos Pinhais | 3 | Artrópodes; Ovos de artrópodes; Larvas. | Embalado – isopor, filme plástico |
| 7-9 | Seminário | Campo Largo | 12 | Artrópodes; Ovos de artrópodes; Larvas. | A granel, à sombra; insetos pousando |
| 10-12 | Jardim Botânico | Campo Largo | 17 | Artrópodes; Ovos de artrópodes; Larvas. 10L1: 1 ovo <i>Ascaris</i> sp. | Embalado – embalagem plástica, à sombra |
| 13-14 | Jardim Botânico | Campo Largo | 11 | Artrópodes; Ovos de artrópodes; Larvas. | A granel, ao ar livre; insetos pousando. |
| 15-16 | Jardim Botânico | Campo Largo | 9 | Artrópodes; Ovos de artrópodes; Larvas. 16L1: 1 ovo <i>Toxocara</i> sp. | Embalado – embalagem plástica, à sombra |
| 17-18 | Crísto Rei | Lapa | 12 | Larvas. | Embalado – embalagem plástica, à sombra |
| 19-20 | Crísto Rei | Mandirituba | 18 | Artrópodes; Ovos de artrópodes; Larvas. | Embalado – embalagem plástica, à sombra |
| 21-22 | Crísto Rei | Mandirituba | 20 | Artrópodes; Ovos de artrópodes; Larvas. | Embalado – embalagem plástica, à sombra |
| 23-26 | Praca do Expedicionário | Almirante Tamandaré | 23 | Artrópodes; Ovos de artrópodes; Larvas. | Embalado – embalagem plástica, à sombra |
| 27-28 | Crísto Rei | Tijucas do Sul | 5 | Larvas. | Embalado – embalagem plástica, à sombra |
| 29-30 | MMC | Colombo | 12 | Artrópodes; Ovos de artrópodes; Larvas. | Embalado – embalagem plástica, refrigerado. |
| 31-34 | Portão | São José dos Pinhais | 14 | Artrópodes; Ovos de artrópodes. | Embalado – embalagem plástica, à sombra |
| 35-38 | Passeio Público | Antonina | 32 | Artrópodes; Ovos de artrópodes; Larvas. | Embalado – embalagem plástica, à sombra |
| 39-42 | Portão | Campo Largo | 17 | Artrópodes; Ovos de artrópodes; Larvas. | Embalado – embalagem plástica, à sombra |
| 43-46 | Passeio Público | Almirante Tamandaré | 23 | Artrópodes; Ovos de artrópodes; Larvas. | Embalado – embalagem plástica, à sombra |
| 47-50 | Ahú | Campo Largo | 21 | Artrópodes; Ovos de artrópodes; Larvas. | Embalado – embalagem plástica, à sombra |

FONTE: O autor (2025). LEGENDA: SBEE: Sociedade Brasileira de Estudos Espíritas; MMC: Mercado Municipal de Curitiba; L1: lavagem 1.

6 DISCUSSÃO

A contaminação de alimentos por parasitos é subestimada na maior parte do mundo, apesar de sua letalidade potencial em populações de risco, e impactos duradouros mesmo em indivíduos sadios (Robertson, 2018; Martínez *et al.*, 2023). Com relação ao Brasil, nem a toxocaríase humana, nem a ascaridiose estão na Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças e agravos, o que colabora com a subnotificação dessas parasitoses (Brasil, 2016; Martins-melo *et al.*, 2017). Contudo, a conscientização sobre às parasitoses no Brasil está passando por modificações. Ressalta-se a recente fundação, em janeiro de 2025, da Rede Brasileira de Parasitoses Intestinais (ReBraPI), que já teve como conquista o reconhecimento oficial de atividades educativas voltadas à prevenção e controle das parasitoses intestinais, incluindo geo-helmintoses e doenças diarreicas agudas (Brasil, 2025d).

Apesar do surgimento constante de novas técnicas sensíveis para a detecção destes organismos em matrizes ambientais, como técnicas de biologia molecular (p. ex., PCR e suas variações), carecemos de metodologias de fácil isolamento, execução ou de baixo custo para identificação de helmintos em alimentos. Sem isso, a inovação em métodos analíticos deve considerar não apenas a precisão, mas também a acessibilidade. Técnicas que empregam materiais básicos e de baixos custos, comuns em laboratórios de análises parasitológicas, são cruciais para a reproduzibilidade de métodos em países que enfrentam desafios logísticos e financeiros frequentes, como países do Sul Global, ou da América Latina no geral. O custo de um método analítico não deve ser barreira para a correta vigilância epidemiológica de doenças, pois senão tornar-se-ia uma espécie de elitismo tecnológico da saúde.

A existência de um protocolo de pesquisa parasitológica padronizado e validado é importante, sendo de particular interesse das agências de vigilância sanitária das três esferas (federal, estadual e municipal), além de setores de controle de qualidade de agroindústrias e cooperativa de produtores de alimentos. A constante vigilância da contaminação de frutas pode ser uma ferramenta para a resolução de casos de surto de helmintoses, e de detecção precoce desses parasitos antes da distribuição dos alimentos *in natura* no varejo, contribuindo para diminuição da transmissão e subnotificação de parasitoses (Souza; Leal, 2025).

Os ovos de geo-helmintos como os dos gêneros *Ascaris* e *Toxocara* foram selecionados como modelo parasitológico devido sua relevância na contaminação de alimentos frescos, sendo os dois gêneros de helmintos mais prevalentes na contaminação de frutas e hortaliças (Fallah *et al.*, 2012; Greco *et al.*, 2021; Monteiro; Cardoso, 2021; Eslahi *et al.*, 2022; Waindok,

Raulf; Strube, 2022). Além disso, parasitos do gênero *Toxocara* podem apresentar risco zoonótico significativo (Healy *et al.*, 2022a).

Geo-helmintos são resistentes às intempéries, característica essencial para garantir a sobrevivência dos ovos no ambiente durante a fase de embrionamento (Laoraksawong; Bunkasem; Pradidthaprecha, 2025). Em condições ambientais ótimas, os ovos permanecem viáveis para acarretar infecção por pelo menos quatro anos (Azam *et al.*, 2012; Nijssse *et al.*, 2020). Em condições experimentais, Lescano *et al.* (1998), demonstraram que ovos de *Toxocara canis* mantêm sua capacidade infectante por pelo menos 11 meses, em temperatura de 28 °C e solução de formalina a 2,00%. Além disso, Chung *et al.* (2004) observaram maior taxa de sobrevivência quando os ovos foram mantidos a 4 °C. Temperaturas iguais ou superiores a 34 °C com baixa umidade diminuem a taxa de embrionamento e, por longos períodos (acima de 35 dias), podem causar a degradação do ovo (Gamboa, 2005).

Os geo-helmintos dos gêneros *Ascaris* e *Toxocara* ocupam, respectivamente, a 9^a e a 20^a posições na classificação multicritério da FAO e OMS, que elencou os 24 parasitos de maior relevância transmitidos por alimentos a nível global (FAO/WHO, 2014). Embora não figurem entre os primeiros colocados, a significância epidemiológica é substancial quando consideradas as variações regionais e as particularidades das populações, sobretudo no Sul Global. As geo-helmintoses apresentam alta prevalência no mundo todo, com uma estimativa de 1,5 bilhão de pessoas infectadas (OPAS, 2025). No Brasil, dos 3.626 óbitos decorrentes de helmintoses de transmissão hídrica e alimentar entre 2000 e 2024, 723 (19,94%) foram devidos à ascaridiose (Brasil, 2025b). Portanto, a investigação desses parasitos justifica-se pelo seu impacto local específico, que pode divergir da hierarquia de risco estabelecida em uma escala global de fontes internacionais.

Com relação especialmente ao gênero *Toxocara*, o quadro clínico diversificado de difícil diagnóstico mostra a importância de ferramentas de vigilância, como a detecção de ovos em alimentos contaminados (Healy *et al.*, 2022a). Outro aspecto crítico são as consequências para a saúde humana, incluindo complicações graves como pneumonite, obstrução intestinal aguda e toxemia na ascaridiose; e cegueira, hepatite e lesões neurológicas para a toxocaríase humana (Chen *et al.*, 2018; Siviero *et al.*, 2024).

A avaliação da sensibilidade analítica do protocolo utilizado é uma rara etapa nos trabalhos científicos, e o processo de validação interlaboratorial se mostra ainda mais escasso (Quadros 2 e 3). Neste contexto, o presente estudo buscou conferir robustez ao método em desenvolvimento por meio de estratégias específicas, como a padronização utilizando duas

espécies de helmintos distintas, submetidas a diferentes dosagens de contaminação, visando simular cenários com graus diferentes de contaminação e a assegurar a eficácia do protocolo de isolamento frente a cargas parasitárias variáveis. Além disso, a validação interlaboratorial conduzida corrobora a confiabilidade e a reproduzibilidade da técnica, elementos fundamentais para a sua aplicação em monitoramento parasitológico e na garantia da segurança dos alimentos.

Ainda sobre esses integrantes da família *Ascarididae*, os ovos são conhecidos por terem forte aderência a materiais plásticos, como os sacos plásticos, peneiras e tubos de centrifugação utilizados no presente estudo (Kleine *et al.*, 2016). Devido a isso, se fez necessário o uso de soluções eluentes para diminuir a atração eletrostática/força adesiva sobre as superfícies, sendo elas plástico ou vidro. O Tween® 80 é um eluente conhecidamente competente nessa função, tanto em análises parasitológicas, quanto na criação de filmes, revestimentos e embalagens (Joosten; Nuñez, 1995; Lass *et al.*, 2015; Matosinhos *et al.*, 2016; Gough *et al.*, 2017; Deng *et al.*, 2023; Dordevic *et al.*, 2023; Giosafatto; Porta, 2023; Moreno-Mesonero *et al.*, 2023; Silveira *et al.*, 2025). Contudo, Kleine *et al.* (2016) demonstram que o Tween® 80 age diferentemente em espécies do gênero *Toxocara*. Os autores pontuaram que *T. cati* foi mais facilmente removido de amostras de solo do que *T. canis*. A despeito desta característica, o desempenho do Protocolo padronizado foi melhor nos ensaios de *T. canis* do que nos ensaios com *A. suum*.

Outros trabalhos utilizando Tween® foram bem sucedidos em recuperar formas infec-
tantes de helmintos cestódeos e protozoários de forma satisfatória (Bohaychuk *et al.*, 2009; Uga *et al.*, 2009; Malkamäki *et al.*, 2019a, 2019b). Contudo, nossos resultados explicitam o Tween® 20 como tendo a pior performance entre os eluentes testados. A geração de espuma durante a agitação mecânica não pode ser utilizada como possível explicação, pois o detergente Alconox® também gerou bastante espuma e, mesmo assim, obteve resultados satisfatórios nas análises. Aventava-se a possibilidade de o Tween® 20 não possuir grande capacidade eluente quando se trata de helmintos nematódeos, restringindo-se aos cestódeos, além dos protozoários, combinado ou não à PBS (Bohaychuk *et al.*, 2009; Uga *et al.*, 2009). O uso da forma Tween® 80 é mais facilmente observável na literatura científica, de forma isolada ou combinada (Kłapeć; Borecka, 2012; Matosinhos *et al.*, 2016; Iqbal *et al.*, 2015; Lass *et al.*, 2015; Kubina *et al.*, 2021; Moreno-Mesonero *et al.*, 2023; Silveira *et al.*, 2025). Novos estudos podem aplicar o Protocolo padronizado neste estudo com utilização de outros eluentes disponíveis no mercado.

De forma similar, a solução de Glicina 1M pH 5,5 também obteve boa performance nos ensaios de padronização. Trabalhos como o de Silveira *et al.* (2023) propõem uma

associação entre Glicina e solução hidroalcoólica de própolis, criando uma solução sanitizante que promove redução da carga microbiana e simultaneamente remoção de diferentes contaminantes de vegetais, incluindo parasitos. Assim como anteriormente citado, estudos são necessários para avaliar a aplicabilidade prática e aceitação sensorial dos produtos após sanitização.

O caráter agressivo da agitação manual empregada aos morangos em todos os protocolos e o pH ácido da solução de Glicina (Protocolos 1 e 2), como já elucidado por Cook *et al.* (2006a), colaboraram para produzir sedimento turvo e viscoso – até gelatinoso em alguns casos. Tal viscosidade provavelmente se deve à liberação de pectinas da fruta, fibras solúveis que podem representar até metade do teor de fibras alimentares da fruta (Françoso *et al.*, 2008; TBCA, 2023). Testes preliminares com a Glicina geraram rompimentos no saco plástico mais fino (saco plástico de polietileno para congelamento de alimentos), em especial na “costura” do saco plástico, também tendo como causa provável o pH acídico.

Pectinas são polissacarídeos complexos, com diversas funções em plantas, como compressividade celular, elasticidade, capacidade de retenção hídrica e porosidade (Cosgrove, 2018; Costa *et al.*, 2024). Podem ser usadas para aumentar a viscosidade, além de agir como coloide estabilizante na indústria de alimentos (Bueno *et al.*, 2024). Percebemos durante os experimentos que, dependendo do ponto de maturação do morango utilizado, havia aumento na liberação de fibras e aumento da viscosidade do sedimento. Ao menos dois artigos fizeram uso da enzima pectinase para mitigar a interferência das pectinas, sendo apenas um deles utilizando morango como alimento de análise (Iqbal *et al.*, 2015; Dziedzinska *et al.*, 2018). Vale ressaltar que, mesmo com a presença desse interferente, os protocolos utilizando Alconox® e Glicina obtiveram resultados satisfatórios, independentemente do modelo parasitário utilizado.

A solução de Alconox®, indiferentemente quanto às temperaturas testadas, obteve resultados satisfatórios na remoção de ovos de geo-helmintos parasitos dos morangos. O nível de diluição da solução utilizada neste estudo está entre 10 e 20 vezes menor do que a empresa fabricante recomenda para as funções de detergente e agente de limpeza (Alconox INC, 2023). Outros estudos também escolheram utilizar uma diluição maior do produto do que a recomendada, com resultados positivos da remoção de parasitos (Shields; Lee; Murphy, 2012; Chandra; Torres; Ortega, 2014; Murphy; Lee; Silva, 2017; Murphy *et al.*, 2018; Frey *et al.*, 2019; Pineda; Temesgen; Robertson, 2020; Temesgen; Stigum; Robertson, 2022). Conduto, estudos que fizeram uso da solução à 1,00% também foram eficazes para remover parasitos (Barlaam *et al.*, 2021; Barlaam *et al.*, 2022). Em especial nessas baixas dosagens, a solução de Alconox® permite manipulação segura, e baixa toxicidade, sendo um potencial candidato à produto

doméstico sanitizante. Contudo, mais estudos são necessários para avaliar o volume residual do detergente em alimentos, assim como a análise sensorial dos produtos pós-lavagem.

As soluções eluentes aquecidas utilizadas no presente estudo obtiveram, na maior parte dos ensaios, resultados superiores aos feitos com soluções à temperatura ambiente. A possibilidade de o aquecimento das soluções eluentes melhorarem as suas performances foi aventada por Branco (2018). Na circunstância, foi feito o aquecimento da solução de Tween® 80 0,10% a 37 – 45 °C, para poder fazer a raspagem de membrana de filtração de amostras hídricas, a fim de detectar *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis* em mananciais de abastecimento urbano. Uma possibilidade para a maior eficiência seria a ação do eluente aquecido nas cargas superficiais dos cistos e oocistos dos protozoários em questão, aumentando o destacamento destas da membrana. Após garantir que a temperatura de 37 °C não destruiria os ovos de helmintos (Else *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2024), aplicamos raciocínio similar. Excetuando os ensaios com Tween® 20, todos os ensaios obtiveram melhores resultados fazendo uso da solução eluente aquecida, chegando a um aprimoramento de até 29,78%, fator que pode ser crucial na investigação de surtos alimentares.

Poucos trabalhos foram encontrados que fizeram uso de pinças no processo de remoção de ovos de parasitos, apesar do sucesso da ferramenta nessa função (Oliveira; Germano, 1992; Silva *et al.*, 2014). Os resultados deste estudo mostram que, de fato, pinças são um recurso útil para a remoção de ovos de parasitos, em especial, quando combinada com outros procedimentos. Entretanto, a recuperação do processo de pincelamento foi, de forma geral, inferior à primeira lavagem, o que não surpreende, visto que a maior parte dos ovos é recuperada durante uma lavagem vigorosa inicial. Em seu ápice, tivemos nos ensaios de *T. canis* – dose 2, protocolo 4, ensaio 2 – uma recuperação total de 60 ovos, sendo 10 deles (16,67%) apenas da lavagem 2. Silva *et al.* (2014) concluíram que o processo de pincelamento de morangos com água destilada é insuficiente para remover parasitos da fruta. Nos aproximamos mais da abordagem de Oliveira e Germano (1992), que fizeram uso de detergente para produzir a solução eluente.

Durante ensaios-piloto, testamos a utilização de escova do tipo escova de dente para o procedimento de segunda lavagem. Contudo, pudemos observar uma grande liberação de pectinas, tornando o sedimento sempre mais viscoso que o da primeira lavagem. Sendo assim, a leitura e identificação dos ovos seria dificultada, incorrendo em perdas de recuperação de ovos. Desta forma, uma nova abordagem foi avaliada para remover possíveis ovos presentes na superfície da fruta, aderindo então ao uso de pincel.

Um número reduzido de trabalhos científicos inclui uma segunda lavagem no processo de detecção de parasitos em alimentos, e, os que o fazem, não avaliam a eficiência de recuperação desta etapa, quando comparada à primeira lavagem. Esta etapa pode demonstrar relevância em caso de investigação de surtos de parasitoses. De forma geral, os ovos de helmintos parasitos em amostras ambientais se apresentam em pequenas concentrações. Ter em mãos uma maneira de extrair da matriz alimentar ovos de forma mais cuidadosa, em especial no caso de uma fruta que pode ocultar ovos juntos aos aquênios, é de grande valia nesse tipo de investigação epidemiológica. Para tal, durante a etapa 1, foi avaliada a inoculação de pequenas doses de ovos (p. ex. para *Toxocara canis*, a dose 1 equivaleu a aproximadamente 0,6 ovos/g de morango), e ainda assim foram detectados ovos durante a segunda lavagem com pincelamento, fortalecendo a ideia da utilização do método dentro da vigilância sanitária.

Ao longo das análises deste estudo, larvas de nematódeos foram observadas. Apenas na etapa de busca por contaminação natural nas feiras, 92,00% (46/50) dos *pool* apresentaram pelo menos uma unidade dessas larvas. Apesar de, por si só, larvas de nematódeos de vida livre não acarretarem parasitoses em humanos, estes têm capacidade de carrear bactérias patogênicas em seu interior. Microrganismos como *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, e *Pseudomonas aeruginosa* já foram encontrados nos nematódeos bacteriófagos *Caenorhabditis elegans* e *Cephalobus cubensis* (Kenney *et al.*, 2006; Pujol; Ewbank, 2021; Venzon *et al.*, 2022; Sriruttan-Nel *et al.*, 2025). Esses nematódeos podem proteger as bactérias em seu interior da ação de sanitizantes, liberando-os posteriormente, seja pela defecação, ou após sua morte e subsequente decomposição, o que mostra o potencial risco à segurança dos alimentos que esse tipo de nematódeo acarreta (Caldwell *et al.*, 2003; Kenney *et al.*, 2006). De forma similar, grande variedade de artrópodes foram detectados nas análises (fragmentados, inteiros, às vezes vivos).

Ressalta-se a proximidade dos percentuais mínimos e máximos de recuperação dos ensaios com ovos de *T. canis*, independentemente da dose. A dose menor (33 ovos) resultou em uma taxa de recuperação entre 40,40% e 79,80%, enquanto a dose maior (103 ovos) apresentou uma variação de 39,16% a 81,55%. Essa similaridade nos intervalos de eficiência de recuperação, mesmo com uma diferença de aproximadamente três vezes na quantidade de ovos utilizada, sugere que a eficácia do método não foi comprometida pela diminuição da dosagem. A consistência na recuperação percentual em diferentes concentrações indica robustez da técnica empregada, apontando para sua confiabilidade em variadas condições experimentais.

Os ensaios de padronização com ovos de *A. suum*, apesar de serem realizados com doses maiores que os ensaios de *T. canis*, obtiveram médias inferiores. As taxas de recuperação médias da dose menor (71 ovos) variaram entre 17,84% e 46,48%, enquanto a variação da dose maior (139 ovos) foi entre 9,11% e 36,69%.

O processo de validação interlaboratorial permitiu obter uma taxa de recuperação de ovos de helmintos mais realista, pois os laboratórios não possuíam experiência prévia com o método. A validação assegura que o método desenvolvido seja eficiente em diferentes condições geográficas e laboratoriais (Pineda *et al.*, 2021). Não há método recomendado pelo Ministério da Saúde para a pesquisa de helmintos parasitos em amostras de alimentos nos casos de surtos de DTHA (Brasil, 2010). Devido a isso, o uso de um Protocolo padronizado e validado se faz necessário para a correta vigilância sanitária, investigação de surtos, elucidar a real sensibilidade de detecção e isolamento do Protocolo, colaborando com o combate à subnotificação de parasitoses.

Pela falta de diretrizes brasileiras mais específicas, para avaliarmos o desempenho de recuperação de ovos dos laboratórios que participaram da validação interlaboratorial, adotamos o mesmo critério de Utaaker, Huang e Robertson (2015) e Pineda *et al.* (2021), sendo uma recuperação de ovos $\geq 30,00\%$ considerada adequada. Nenhum treinamento do Protocolo foi fornecido presencialmente aos laboratórios colaboradores, apenas a disponibilização de manual ilustrado (em apêndice) e vídeo instrutivo, mesmo assim, as taxas de recuperação média obtidas por 5 dos 7 laboratórios foram consideradas adequadas. Ademais, a análise total de 21 ensaios dos 7 laboratórios revelou taxa média de recuperação de ovos de 52,45%, resultado igualmente satisfatório. As médias obtidas sugerem que o Protocolo padronizado é adequado para aplicação imediata em laboratórios com experiência mínima em análises parasitológicas de alimentos.

Os laboratórios participantes relataram a presença de fungos, esporos de fungos, células leveduriformes, larvas de nematódeos, e cistos de *Entamoeba coli* ao longo das análises. Isso mostra o potencial deste Protocolo para a remoção de outros tipos de microrganismos, protozoários e estádios evolutivos de animais invertebrados de vida livre ou parasitária, podendo ser explorados em estudos futuros. O uso frequente do Protocolo, além de mais treinamentos, tende a aumentar a sensibilidade do método, potencialmente isolando ainda mais tipos de contaminantes com potencial patogênico (Cook *et al.*, 2006b).

Ao observar os resultados absolutos dos laboratórios, nota-se que dois dos laboratórios convidados obtiveram resultados superiores ao do laboratório central, apesar de não diferirem estatisticamente. São diversos os fatores que podem influenciar na qualidade da recuperação de

ovos, como os diferentes tipos de equipamentos de laboratório (p. ex. centrífuga de tubos), marca e lote de insumos e reagentes de laboratório, a experiência do laboratorista na execução do protocolo em questão, e a experiência do microscopista em reconhecer corretamente ovos de geo-helmintos. Visando mitigar essas interferências, disponibilizamos aos laboratórios convidados grande quantidade de materiais e insumos. Entretanto, questões relacionadas aos equipamentos de laboratório, como a impossibilidade de calibração da aceleração e frenagem da centrífuga de tubos, por um dos laboratórios parceiros, são cenários que se apresentam durante estudos de padronização e validação de métodos analíticos (Matosinhos *et al.*, 2016; Pineda *et al.*, 2021).

Dos 72 ensaios de contaminação artificial performados na etapa de padronização do Protocolo, apenas 1 deles apresentou contaminação natural por geo-helmintos parasitos. Nenhuma das amostras utilizadas nesta etapa eram de cultivo orgânico. Nos 50 *pool* analisados na etapa de busca por contaminação natural nas feiras, apenas 2 apresentaram contaminação por geo-helmintos parasitos. Ratifica-se que, apesar de termos padronizado o protocolo com dois modelos parasitológicos, a busca de parasitos mediante microscopia óptica não se limitou a esses parasitos. Monteiro e Cardoso (2021) encontraram que, das 51 amostras de morango obtidas em Goiânia analisadas, 40 (78,43%) com contaminação por parasitos, sendo 15 delas (37,50%) com ovos de nematódeos. Greco *et al.* (2021) encontraram 59,37% das amostras de morangos analisadas contaminadas por parasitos, sendo ovos de *Toxocara* spp. o contaminante mais presente nos morangos (84 ovos). Levando em consideração que os processos de padronização e validação interlaboratorial demonstraram a adequação do protocolo deste estudo para detecção de ovos de geo-helmintos em morangos, podemos inferir que a carga parasitológica contida nos morangos orgânicos comercializados em Curitiba no período deste estudo foi baixa – apesar de oriundos de municípios com adequação sanitária tão discrepantes, variando entre 2,20% e 85,10% (Quadro 6). O protocolo padronizado figura como ferramenta adequada para o monitoramento à longo prazo da sanidade parasitológica de morangos – em especial quanto a presença de ovos de nematódeos, colaborando com a devida vigilância epidemiológica e sanitária quanto ao fornecimento no varejo de alimentos seguros à população.

Kłapeć e Borecka (2012) encontraram que, apesar de nenhum ovo de geo-helminto ter sido observado nas amostras de morango, o menor número de positividade tanto em relação aos alimentos quanto o solo foi em fazendas orgânicas, quando comparadas com fazendas convencionais. No trabalho de Greco *et al.* (2021), os supermercados apresentaram maior número de amostras de morangos e tomates contaminados (50,00%), seguido por frutarias (31,25%) e

feiras livres (18,75%). No recente estudo de Silveira *et al.* (2025), de 80 amostras de alfaches de feiras livres orgânicas de Curitiba analisadas, 13 delas (16,25%) apresentaram contaminação parasitária, com detecção de três geo-helmintos diferentes (ovos de *Ascaris* sp., *Trichuris* sp. e ancilostomatídeos. Os resultados obtidos pelo presente estudo, assim como os supracitados, são um recorte temporal da sanidade parasitológica das frutas analisadas, servindo assim como incentivo ao constante monitoramento dos espaços de produção e comercialização de alimentos.

Alimentos frescos, como frutas e verduras, são suscetíveis a contaminação por patógenos e degradação microbiana durante todo o processo produtivo, incluindo, por exemplo, cultivo – com potencial contato com terra contaminada, acesso de animais domésticos e silvestres às áreas de cultivo, uso de biossólidos e água de irrigação contaminados; processamento – com ferramentas e equipamentos contaminados; armazenamento – em instalações carecendo de manutenção e limpeza, ou em temperatura inadequada; e manipulação – com inadequado asseio pessoal e prática de lavagem de mãos, além dos portadores de DTHA assintomáticos em constante contato com os alimentos (Van Pelt *et al.*, 2018; Mainardi; Bidoia, 2024; Healy *et al.*, 2025).

As feiras livres são Equipamentos Públicos de SAN com potencial de diminuir o intervalo de tempo entre a colheita e a aquisição do alimento. Em suposta contaminação por ovos de geo-helmintos, como os da família *Ascarididae*, que exigem etapa de embrionamento no ambiente (7-30 dias), um menor intervalo entre o momento de contaminação e ingestão hipoteticamente diminuiria o risco de desenvolvimento da helmintose, além de possível proliferação microbiana (Silva; Massara, 2022; CDC, 2025b; Elbehiry *et al.*, 2025). Essa correlação nunca foi documentada, podendo ser explorada em futuros estudos.

A análise de alimentos produzidos em um município pode elucidar a situação epidemiológica de uma determinada região, por mais que as frutas possam ter sido contaminadas apenas na etapa de comercialização. Ambas amostras de morangos que continham ovos de helmintos, durante a avaliação da contaminação natural em feiras orgânicas, eram oriundas de Campo Largo, município que faz parte simultaneamente da RMC e do Núcleo Urbano Central de Curitiba. Segundo o mais recente censo do IBGE (2022), o nível de esgotamento sanitário adequado do município é de 70,62%, classificando-se como o 10º melhor neste parâmetro dentre os 29 municípios da RMC, e com valores próximos ao do estado do Paraná, com adequação de 70,25%. Contudo, a área em que foram cultivados os morangos não necessariamente estavam circunscritos na região com saneamento adequado, o que pode indicar circulação de formas infectantes de parasitos no município.

Todos os municípios brasileiros dos estudos que avaliaram a ocorrência natural de parasitos em morangos – Brasília, Goiânia, Pelotas – possuem atualmente mais que 78% de esgotamento sanitário adequado (Silva *et al.*, 2014; Greco *et al.*, 2021; Monteiro; Cardoso, 2021; IBGE, 2022). Esse perfil se aproxima ao de Campo Largo, município cujos morangos apresentaram contaminação durante a busca por contaminação natural nas feiras (n = 2), com 70,62% de esgotamento sanitário adequado (IBGE, 2022).

Monteiro e Cardoso (2021) fizeram uso de água destilada com agitação mecânica para remover ovos de enteroparasitos de morangos, para subsequente filtragem e concentração, encontrando que 15 das 51 amostras analisadas (29,41%) positivaram para ovos de *Ascaris lumbricoides*. De forma similar, com uso de água destilada na lavagem, Greco *et al.* (2021) analisaram 105 amostras de morangos, com 19 amostras (18,09%) positivas para enteroparasitos, com ovos de *Toxocara* spp. sendo o contaminante mais prevalente (84 ovos). Contudo, a água destilada não tem propriedades tensoativas para eluir adequadamente ovos de helmintos de alimentos em análises parasitológicas (Silva *et al.*, 2014; Silveira *et al.*, 2023). Silva *et al.* (2014) apenas encontraram helmintos nos morangos analisados após inclusão de segunda lavagem com detergente comercial, encontrando ovos do gênero *Ascaris* e ovos de nematódeos que não foram identificados. Sendo assim, a carga de contaminação dos morangos lavados somente com água destilada provavelmente foi subestimada.

As principais pragas que destroem o morangueiro são ácaros, insetos, nematódeos, lesmas e caracóis, que também podem agir como vetores mecânicos de micro-organismos (Ferla; Marchetti; Gonçalves, 2007; EMBRAPA, 2014; Duarte Filho; Antunes, 2023). Agrotóxicos como a abamectina, acetaprimido, clorfenapir e tiameksam são comumente utilizados para controlar ecto e endoparasitos em morangueiros (EMBRAPA, 2014; Brasil, 2023; Duarte Filho; Antunes, 2023). Ao longo da padronização, apesar de serem utilizados apenas morangos de cultivo convencional, encontramos grande diversidade de insetos, ácaros e seus ovos, e integrantes do filo Rotifera. Dentre as possíveis razões para isso ocorrer, estão a utilização de agrotóxicos (individualmente ou combinados) que não contemplam todas essas pragas, e também a possibilidade de estas estarem criando resistência aos pesticidas (Oshita; Jardim, 2014).

Em 46 dos 50 *pool* (92,00%) de morangos orgânicos analisados apresentaram artrópodes – sejam inteiros, fragmentos, e/ou seus ovos. Esse fato pode ser explicado pelas particularidades morfológicas do morango, que facilitam a fixação de insetos em sua superfície. A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 623, de 9 de março de 2022, estabelece os teores máximos permitidos de artrópodes e fragmentos em processados de frutas, como geleias, polpas

e extratos (Brasil, 2022). No entanto, como a norma não especifica parâmetros para frutas frescas, os resultados obtidos não podem ser comparados com as regulamentações brasileiras atuais. Entretanto, é necessário monitorar com cuidado a grande quantidade de insetos presentes em frutas, pois esses artrópodes podem atuar como vetores mecânicos de parasitos. Ao se alimentarem de cadáveres de animais e fezes, eles carreiam formas infectantes que podem permanecer fixadas em suas estruturas e pelos corporais (El-Sherbini, 2011; Gałęcki; Sokół, 2019).

Segundo o Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), das 84 amostras de morangos analisadas em 2022, 58 amostras (69,05%) foram consideradas insatisfatórias, sendo 2 com concentrações de resíduos de agrotóxicos acima do Limite Máximo de Resíduo (LMR), 31 apresentaram agrotóxicos não permitidos para a cultura de morango, e outras 24 amostras apresentaram ambas as situações. Foram detectadas durante as análises 48 tipos diferentes de agrotóxicos (Brasil, 2023). Os resultados do presente estudo demonstram que o cultivo convencional de morangos, mesmo utilizando tecnologias mais modernas – como a hidroponia, fertilizantes químicos e agrotóxicos sintéticos artificiais – não gera maior proteção do ponto de vista parasitológico do que o cultivo orgânico, visto que, tanto em amostras durante as Etapas 1 e 2 quanto em amostras orgânicas na Etapa 3, não foram obtidas altas taxas de detecção de ovos de helmintos durante os ensaios (Giampieri *et al.*, 2022). Isso demonstra que o uso de agrotóxicos nesse tipo de cultivo é apenas uma forma adicional de expor o consumidor – além dos agricultores que fazem a pulverização e a biodiversidade que cerca as plantações – a um perigo químico desnecessário.

É fundamental melhorar as condições sanitárias nas áreas de cultivo e consumo de alimentos. São necessárias medidas de educação em saúde, para reforçar a importância da adequada lavagem – para remoção de sujidades e parasitos, e desinfecção – para eliminar vírus, fungos e bactérias, de frutas e vegetais pré-consumo (Chen *et al.*, 2018; Healy *et al.*, 2022b). Intervenções educacionais ensinando a importância de se lavar as mãos após contato com animais de estimação ou exposição a locais potencialmente contaminados podem ser implementadas (Chen *et al.*, 2018). Além disso, a remoção de fezes de hospedeiros definitivos do ambiente e controle de infecções patentes nesses animais podem auxiliar na redução da dispersão dos ovos de helmintos (Nijssse *et al.*, 2020). Do ponto de vista governamental, é essencial implementar o tratamento correto de esgoto urbano e rural utilizado na irrigação de vegetais (Fallah *et al.*, 2012; Bowman, 2021; Silveira *et al.*, 2025). No campo, evitar o uso de esterco animal não tratado como fertilizante natural em lavouras e hortas impactaria positivamente na prevenção (Fallah *et al.*, 2012). Outrossim, coletar e analisar amostras de vegetais pode se tornar uma

alternativa prática à vigilância tradicional em populações humanas, embora careça de estudos que correlacionem a contaminação vegetal com a prevalência local. Integrar essas práticas direciona a conduta em saúde pública para a visão de Uma Só Saúde (Bowman, 2021; FAO, 2025b; Rattanapitoon; Rattanapitoon, 2025).

O presente estudo evidenciou a grande diversidade de métodos analíticos parasitológicos à disposição na literatura científica (Quadros 2 e 3). E, apesar destes se apresentarem como eficientes, essa variedade de procedimentos dificulta a comparação entre os estudos, tanto do ponto de vista de eficiência de recuperação quanto de diagnóstico epidemiológico. O processo de padronização e validação de técnicas analíticas visa uniformizar a metodologia para futuros estudos, contribuindo para a maior acurácia da detecção de helmintos em frutas vermelhas.

7 CONCLUSÃO

1. A padronização e validação interlaboratorial de um protocolo para identificar diferentes espécies de helmintos da família *Ascarididae* em morangos apresentou alta eficácia, quando considerada as médias de recuperação das etapas 1 e 2 do presente estudo mediante ensaios de contaminação artificial.
2. O desenvolvimento e utilização da testagem do protocolo por diferentes laboratórios do país reitera sua aplicabilidade tanto para os setores público quanto privado, como agências de vigilância sanitária e departamentos de controle de qualidade de agroindústrias e cooperativas.
3. Complementarmente, o material audiovisual original, criado para auxiliar na aplicação do protocolo padronizado, foi relevante para a qualificação de laboratórios durante a validação interlaboratorial, com a obtenção de taxa de recuperação média de 52,45%. Os resultados corroboram a confiabilidade e reproduzibilidade da técnica, ratificando a potencial aplicação em situações reais de elucidação de surtos bem como para o monitoramento prévio e conhecimento dos eventuais riscos inerentes ao consumo da fruta crua.
4. A detecção de contaminação parasitológica na fase de comercialização denota a relevância da utilização e aplicabilidade do protocolo padronizado e validado, destacando o risco potencial de aquisição de parasitos. A análise de amostras de alimentos, em especial em espaços com insumos provenientes de múltiplas origens, como as feiras livres abordadas neste estudo, permite um olhar abrangente sobre a dispersão de parasitos no ambiente, destacando a importância do monitoramento contínuo na cadeia produtiva – não se limitando a etapa de distribuição – para garantir a segurança sanitária dos alimentos, cláusula indiscutível do direito humano à Segurança Alimentar e Nutricional.

REFERÊNCIAS

- ABDELA, A. F.; ABERA, M. T.; SALAH, F. O.; TESFAYE, Y. M.; EBSA, Y. G.; KEBEDE, A. G. Ascending cholangitis in a child: A rare case of biliary Ascariasis visualized by ultrasound. **Radiology Case Reports**, v. 19, n. 9, p. 3942–3945, 2024.
- ABDEL-RAHMAN, M. A. M.; EL-MENYAWE, S. A Review of Toxocariasis in man and animal. **Egyptian Journal of Chemistry and Environmental Health**, v. 1, n. 1, p. 315–330, 2015.
- AKAO, N.; TOMODA, M.; HAYASHI, E.; SUZUKI, R.; SHIMIZU-SUGANUMA, M.; SHICHINOHE, K.; FUJITA, K. Cerebellar ataxia due to Toxocara infection in Mongolian gerbils, *Meriones unguiculatus*. **Veterinary Parasitology**, v. 113, n. 3-4, p. 229–237, 2003.
- AKASHAH, M. H.; NIZAR, A. H. H. A. Case report: Incidental finding of *Ascaris lumbricoides* in oral cavity. Atypical presentation. **Visual Journal of Emergency Medicine**, v. 38, 102197, 2025.
- ALCONOX INC. **Alconox Safety Data Sheet (SDS)**. Alconox, 2023. Disponível em: <https://alconox.com/wp-content/uploads/2024/06/Alconox-SDS-USCAEnglish.pdf>. Acesso em: 3 jun. 2025.
- ALEMAYEHU, B.; GEYIT, M.; HAILE, K.; MEKONNEN, B. Helminthic infection, its determinants and implication to academic achievements among school-age children in southwest Ethiopia. **Scientific African**, v. 27, e02508, 2025.
- ALMERIA, S.; ROBERTSON, L.; SANTIN, M. Why foodborne and waterborne parasites are important for veterinarians. **Research in Veterinary Science**, v. 136, p. 198–199, 2021.
- ALVES, E. B. S.; CONCEIÇÃO, M. J.; LELES, D. *Ascaris lumbricoides*, *Ascaris suum* or “*Ascaris lumbrisuum*”? **Journal of Infectious Diseases**, v. 213, p. 1355, 2016.
- AMEP – AGÊNCIA DE ASSUNTOS METROPOLITANOS DO PARANÁ. **Municípios da Região Metropolitana de Curitiba**. 2025. Disponível em: <https://www.amep.pr.gov.br/FAQ/Municipios-da-Regiao-Metropolitana-de-Curitiba>. Acesso em: 20 mai. 25.
- AMOAH, I. D.; SINGH, G.; STENSTROM, T. A.; REDDY, P. Detection and quantification of soil-transmitted helminths in environmental samples: A review of current state-of-the-art and future perspectives. **Acta Tropica**, v. 169, p. 187–201, 2017.
- ANDARGIE, Y.; ALELIGN, A.; TEKESTE, Z. Prevalence and associated risk factors of soil-transmitted helminth infections among schoolchildren in Mekan Eyesus town, northwestern Ethiopia. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 27, e00379, 2024.
- APOLINÁRIO, J. M. S. S. Larva migrans cutânea e seu acompanhamento farmacoterapêutico. In: FREITAS, G. B. L (ed.). **Parasitologia Humana e Veterinária**. 1. ed. Irati: Pasteur, 2020. p. 525–530.

AZAM, D.; UKPAI, O. M.; SAID, A.; ABD-ALLAH, G. A.; MORGAN, E. R. Temperature and the development and survival of infective *Toxocara canis* larvae. **Parasitology Research**, v. 110, n. 2, p. 649–656, 2011.

BARLAAM, A.; TEMESGEN, T. T.; TYSNES, K. R.; RINALDI, L.; FERRARI, N.; SAN-NELLA, A. R.; NORMANNO, G.; CACCIÒ, S. M.; ROBERTSON, L. J.; GIANGASPERO, A. Contamination of fresh produce sold on the Italian market with *Cyclospora cayetanensis* and *Echinococcus multilocularis*. **Food Microbiology**, v. 98, 103792, 2021.

BARLAAM, A.; SANSELLA, A. R.; FERRARI, N.; TEMESGEN, T. T.; RINALDI, L.; NORMANNO, G.; CACCIÒ, S. M.; ROBERTSON, L. J.; GIANGASPERO, A. Ready-to-eat salads and berry fruits purchased in Italy contaminated by *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis*, and *Entamoeba histolytica*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 370, 109634, 2022.

BETSON, M.; NEJSUM, P.; BENDALL, R. P.; DEB, R. M.; STOTHARD, J. R. Molecular Epidemiology of Ascariasis: A Global Perspective on the Transmission Dynamics of *Ascaris* in People and Pigs. **Journal of Infectious Diseases**, v. 210, n. 6, 932–941, 2014.

BETSON, M.; STOTHARD, J. R. *Ascaris lumbricoides* or *Ascaris suum*: What's in a Name? **Journal of Infectious Diseases**, v. 213, n. 8, 1355–1356, 2016.

BHARTI, B.; BHARTI, S.; KHURANA, S. Worm Infestation: Diagnosis, Treatment and Prevention. **Indian Journal of Pediatrics**, v. 85, n. 11, p. 1017–1024, 2018.

BITTON, G. Pathogens and parasites in domestic wastewater. In: BITTON, G. **Wastewater Microbiology**. 3. ed. Hoboken: Wiley-Liss, 2005. p. 111.

BOHAYCHUK, V. M.; BRADBURY, R. W.; DIMOCK, R.; FEHR, M.; GENSLER, G. E.; KING, R. K.; RIEVE, R.; ROMERO BARRIOS, P. A Microbiological survey of selected Alberta-grown fresh produce from farmers' markets in Alberta, Canada. **Journal of Food Protection**, v. 72, n. 2, p. 415–420, 2009.

BOWMAN, D. D. History of *Toxocara* and the associated larva migrans. **Advances in Parasitology**, v. 109, p. 17–38, 2020.

BOWMAN, D. D. Ascaris and *Toxocara* as foodborne and waterborne pathogens. **Research in Veterinary Science**, v. 135, p. 1–7, 2021.

BRANCO, N. **Caracterização molecular de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis* nos mananciais utilizados para o abastecimento urbano de Campinas, São Paulo, Brasil e comparação de dois métodos de filtração para detecção desses protozoários**. Orientadora: Regina Maura Bueno Franco. 2018. 113 f. Tese (Doutorado em Biologia Animal) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, 2018. Disponível em: <https://hdl.handle.net/20.500.12733/1635185>. Acesso em: 29 ago. 2025.

BRASIL. Lei nº 11.346, de 15 de setembro de 2006. Cria o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional – SISAN com vistas em assegurar o direito humano à alimentação adequada e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2006.

BRASIL. **Sistema nacional de vigilância em saúde: relatório de situação: Paraná.** 2. ed., Brasília: Ministério da Saúde, 2006. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relatorio_snvs_pr_2ed.pdf. Acesso em: 24 jan. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual Integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos.** Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Alimentação e Nutrição.** Brasília: Ministério da Saúde, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 204, de 17 de fevereiro de 2016. Define a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional, nos termos do anexo, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 623, de 9 de março de 2022. Dispõe sobre os limites de tolerância para matérias estranhas em alimentos, os princípios gerais para o seu estabelecimento e os métodos de análise para fins de avaliação de conformidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2022.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA): Relatório dos resultados das análises de amostras monitoradas nos ciclos 2018-2019 e 2022 – Plano Plurianual 2017-2022.** Brasília, DF: Anvisa, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/agrotoxicos/programa-de-analise-de-residuos-em-alimentos/arquivos/relatorio-2018-2019-2022>. Acesso em: 01 jun. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA).** 2025a. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha>. Acesso em: 21 ago. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Coordenação-Geral de Informações e Análises Epidemiológicas. **Sistema de Informações sobre Mortalidade – SIM.** 2025b. Disponível em: <https://datasus.saude.gov.br/mortalidade-desde-1996-pela-cid-10>. Acesso em: 16 nov. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Uma Só Saúde.** 2025c. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/u/uma-so-saude>. Acesso em: 24 jan. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Especializada à Saúde. Portaria SAES/MS nº 2.812, de 10 de junho de 2025. Inclui, na Tabela de Procedimentos, Medicamentos, Órteses, Próteses e Materiais Especiais do SUS, procedimentos relativos à Atividades Educativas em Vigilância em Saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2025d.

BROWN, H. W. Studies on the rate of development and viability of the eggs of *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* under field conditions. **Journal of Parasitology**. v. 14, p. 1–15, 1927.

BUENO, T. M.; QUEIROZ, F.; SANTOS, J. C. C.; FURTADO, M. L. B.; SCHIASSI, M. C. E. V.; BORGES, S. V.; FIGUEIREDO, J. A. Sequential extraction of anthocyanins and pectin from jabuticaba (*Plinia cauliflora*) peel: Peel pretreatment effect and ultrasound-assisted extraction. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 96, n. 1, e20230174, 2024.

BUIJS, J.; BORSBOOM, G.; RENTING, M.; HILGERSOM, W. J. A.; VAN WIERINGEN, J. C.; JANSEN, G.; NEIJENS, J. Relationship between allergic manifestations and *Toxocara* seropositivity: a cross-sectional study among elementary school children. **European Respiratory Journal**, v. 10, p. 1467–75, 1997.

CALDWELL, K. N.; ADLER, B. B.; ANDERSON, G. L.; WILLIAMS, P. L.; BEUCHAT, L. R. Ingestion of *Salmonella enterica* serotype Poona by a free-living nematode, *Caenorhabditis elegans*, and protection against inactivation by produce sanitizers. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 7, p. 4103–4110, 2003.

CALVO, M.; CARAZO, M.; ARIAS, M. L.; CHAVES, C.; MONGE, R.; CHINCHILLA, M. Prevalencia de *Cyclospora* sp., *Cryptosporidium* sp., microsporidos y determinación de coliformes fecales en frutas y vegetales frescos de consumo crudo en Costa Rica. **Archivos Latinoamericanos De Nutricion**, v. 54, n. 4, p. 428–432, 2004.

CARADONNA, T.; MARANGI, M.; DEL CHIERICO, F.; FERRARI, N.; REDDEL, S.; BRACAGLIA, G.; NORMANNO, G.; PUTIGNANI, L.; GIANGASPERO, A. Detection and prevalence of protozoan parasites in ready-to-eat packaged salads on sale in Italy. **Food Microbiology**, v. 67, p. 67–75, 2017.

CDC – U.S. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Transmission of Parasitic Diseases**. 2025a. Disponível em: <https://www.cdc.gov/parasites/causes/>. Acesso em: 21 ago. 2025.

CDC – U.S. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Toxocariasis**. 2025b. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/toxocariasis/index.html>. Acesso em: 21 ago. 2025.

CDC – U.S. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Ascariasis**. 2025c. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/ascariasis/index.html>. Acesso em: 21 ago. 2025.

CDC – U.S. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **About Ascariasis**. 2025d. Disponível em: <https://www.cdc.gov/sth/about/ascariasis.html>. Acesso em: 21 ago. 2025.

CHALMERS, R. M.; ROBERTSON, L. J.; DORNY, P.; JORDAN, S.; KÄRSSIN, A.; KATZER, F.; LA CARBONA, S.; LALLE, M.; LASSEN, B.; MLADINEO, I.; ROZYCKI, M.; BILSKA-ZAJAC, E.; SCHARES, G.; MAYER-SCHOLL, A.; TREVISAN, C.; TYSNES, K.; VASILEV, S.; KLOTZ, C. Parasite detection in food: Current status and future needs for validation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 99, p. 337–350, 2020.

CHANDRA, V.; TORRES, M.; ORTEGA, Y. R. Efficacy of wash solutions in recovering *Cyclospora cayetanensis*, *Cryptosporidium parvum*, and *Toxoplasma gondii* from basil. **Journal of Food Protection**, v. 77, n. 8, p. 1348–1354, 2014.

CHÁVEZ-RUVALCABA, F.; CHÁVEZ-RUVALCABA, M. I.; MORAN, K.; MUÑOZ-CARRILLO, J. L.; LEÓN, A.; REYNA, R. Foodborne Parasitic Diseases in the Neotropics – a review. **Helminthologia**, v. 58, n. 2, p. 119-133, 2021.

CHEN, J.; LIU, Q.; LIU, G. H.; ZHENG, W. B.; HONG, S. J.; SUGIYAMA, H.; ZHU, X. Q.; ELSHEIKHA, H. M. Toxocariasis: a silent threat with a progressive public health impact. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 7, n. 1, 2018.

CHIEFFI, P. P.; VIEIRA DOS SANTOS, S.; LEITE DE QUEIROZ, M.; ZEVALLOS LESCANO, S. Human toxocariasis: contribution by Brazilian researchers. **Revista Do Instituto De Medicina Tropical De São Paulo**, v. 51, n.6, p. 301–308, 2009.

CHOI, J. H.; SEO, M. A case of biliary ascariasis in Korea. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 55, p. 659–660, 2017.

CHUNG, L. Y.; FANG, B. H.; CHANG, J. H.; CHYE, S. M.; YEN, C. M. The infectivity and antigenicity of *Toxocara canis* eggs can be retained after long-term preservation. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 98, n. 3, p. 251–260, 2004.

CLAUS, P.; CEUPPENS, A.; COOL, M.; ALLIET, G. *Ascaris lumbricoides*: challenges in diagnosis, treatment and prevention strategies in a European refugee camp. **Acta Clinica Belgica**, v. 19, p. 1–4, 2018.

CLEARY, J. D.; GRAHAM, D.; LUSHBAUGH, W. B.; NOLAN, R. L.; CHAPMAN, S. W. Single low-dose mebendazole administered quarterly for Ascaris treatment. **American Journal of the Medical Sciences**, v. 333, p. 340–345, 2007.

COLLENDER, P. A.; KIRBY, A. E.; ADDISS, D. G.; FREEMAN, M. C.; REMAIS, J. V. Methods for Quantification of Soil-Transmitted Helminths in Environmental Media: Current Techniques and Recent Advances. **Trends in parasitology**, v. 31, n. 12, p. 625–639, 2015.

CONTERNO, L. O.; TURCHI, M. D.; CORRÊA, I.; MONTEIRO DE BARROS ALMEIDA, R. A. Anthelmintic drugs for treating ascariasis. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 4, 2020.

COOK, N.; PATON, C. A.; WILKINSON, N.; NICHOLS, R. A. B.; BARKER, K.; SMITH, H. V. Towards standard methods for the detection of *Cryptosporidium parvum* on lettuce and raspberries. Part 1: Development and optimization of methods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 109, n. 3, p. 215–221, 2006a.

COOK, N.; PATON, C. A.; WILKINSON, N.; NICHOLS, R. A. B.; BARKER, K.; SMITH, H. V. Towards standard methods for the detection of *Cryptosporidium parvum* on lettuce and raspberries. Part 2: validation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 109, n. 3, p. 222-228, 2006b.

COOPER, A. J.; HOLLINGSWORTH, T. D. The impact of seasonality on the dynamics and control of *Ascaris lumbricoides* infections. **Journal of Theoretical Biology**, v. 453, p. 96–107, 2018.

COSGROVE, D. J. Nanoscale structure, mechanics and growth of epidermal cell walls. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 46, p. 77–86, 2018.

COSTA, C. D. S.; DE OLIVEIRA, K. A.; DIAS, L. M.; DOS SANTOS, P. R.; NASCIMENTO, R. C. F. Antiparasitário e a vitamina A: sua atuação no combate ao parasitismo por ascaridíase. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 5, 2021.

COSTA, A. L. T.; OLIVEIRA, D. C.; FERREIRA, B. G.; MOREIRA, A. S. F. P. Tissue investments related to water absorption and retention in Bromeliaceae: exploring variations in CAM metabolism expressing between dry and rainy seasons. **Rodriguésia**, v. 75, e01722023, 2024.

CRISCIONE, C. D.; ANDERSON, J. D.; SUDIMACK, D.; PENG, W.; JHA, B.; WILLIAMS-BLANGERO, S.; ANDERSON, T. J. C. Disentangling hybridization and host colonization in parasitic roundworms of humans and pigs. **Proceedings of the Royal Society - Biological Sciences**, v. 274, p. 2669–2677, 2007.

CROMPTON, D. W. T.; NESHEIM, M. C. Nutritional impact of intestinal helminthiasis during the human life cycle. **Annual Review of Nutrition**, v. 22, p. 35–59, 2002.

CURITIBA. Lei Municipal nº 9.800, de 03 de janeiro de 2000. Dispõe sobre o Zoneamento, Uso e Ocupação do Solo no Município de Curitiba e dá outras providências. **Diário Oficial do Município de Curitiba**, Curitiba, 2000.

CURITIBA. Secretaria Municipal do Meio Ambiente. Secretaria municipal da Saúde. **Plano Municipal de Saneamento Básico**. 2017. Disponível em: <<https://www.curitiba.pr.gov.br/conteudo/plano-municipal-de-saneamento-basico/2958>>. Acesso em: 04 fev. 2025.

CURITIBA. **Feiras livres de Curitiba**. 2025. Disponível em: <https://www.curitiba.pr.gov.br/servicos/feiras-livres-de-curitiba/752>. Acesso em: 24 jan. 2025.

DAROLT, M. R.; LAMINE, C.; BRANDENBURG, A.; ALENCAR, M. C. F.; ABREU, L. S. Redes alimentares alternativas e novas relações produção-consumo na França e no Brasil. **Ambiente & Sociedade**, v. XIX, n. 2, p. 1–22, 2016.

DENG, W.; ZHENG, H.; ZHU, Z.; DENG, Y.; SHI, Y.; WANG, D.; ZHONG, Y. Effect of surfactant formula on the film forming capacity, wettability, and preservation properties of electrically sprayed sodium alginate coats. **Foods**, v. 12, n. 11, 2197, 2023.

DESPOMMIER, D. Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology and molecular aspects. **Clinical Microbiology Review**, v. 16, p. 265–272, 2003.

DEWAIR, A.; BESSAT, M. Molecular and microscopic detection of natural and experimental infections of *Toxocara vitulorum* in bovine milk. **PLoS ONE**, v. 15, e0233453, 2020.

DINNING, W. J.; GILLESPIE, S. H.; COOLING, R. I.; MAIZELS, R. M. Toxocariasis: a practical approach to management of ocular disease. **Eye**, v. 2, p. 580-582, 1988.

DIXON, B. R. Parasitic illnesses associated with the consumption of fresh produce — an emerging issue in developed countries. **Current Opinion in Food Science**, v. 8, p. 104–109, 2016.

DIXON, B.; PARRINGTON, L.; COOK, A.; POLLARI, F.; FARBER, J. Detection of *Cyclospora*, *Cryptosporidium*, and *Giardia* in Ready-to-Eat Packaged Leafy Greens in Ontario, Canada. **Journal Of Food Protection**, v. 76, n. 2, p. 307–313, 2013.

DOLD, C.; HOLLAND, C. V. Ascaris and ascariasis. **Microbes and Infection**, v. 13, p. 632–637, 2011.

DONG, F.; WANG, X. Effects of carboxymethyl cellulose incorporated with garlic essential oil composite coatings for improving quality of strawberries. International **Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 821–826, 2017.

DORDEVIC, S.; DORDEVIC, D.; TESIKOVA, K.; TREMLOVA, B. Effect of trehalose/OEO/Tween 80/Tween 20 addition on physical stability of edible packaging during storage in different humidity conditions. **Foods**, v. 12, n. 15, 2903, 2023.

DUARTE FILHO, J.; ANTUNES, L. E. C. **Sistema de produção do morango**. Versão eletrônica. Pelotas: Embrapa, jul. 2023. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/744878/1/Sistema-de-Producao-do-Morango.pdf>. Acesso em: 1 jun. 2025.

DZIEDZINSKA, R.; VASICKOVA, P.; HRDY, J.; SLANY, M.; BABAK, V.; MORAJKOVA, M. Foodborne Bacterial, Viral, and Protozoan Pathogens in Field and Market Strawberries and Environment of Strawberry Farms. **Journal of Food Science**, v. 83, n. 12, p. 3069–3075, 2018.

EKELEME, U. G.; CHUKWUOCHA, U. M.; OKEREKE, C. C. A.; AKANAZU, C. O.; ONUOHA, Q. C.; CHUKWUEMEKA, I. G.; OGUJIUBA, C. C.; UKACHUKWU, C. C.; OPARA, C. L.; NWOKORO, A. B. Nutritional status and intestinal parasitism determinants of cognitive performance among secondary school students in South-East Nigeria. **Clinical Nutrition Open Science**, v. 61, p. 200–216, 2025.

ELBEHIRY, A.; MARZOUK, E.; ALZABEN, F.; ALMUAITHER, A.; ABEAD, B.; ALAMRI, M.; ALMUZAINI, A. M.; ABU-OKAIL, A. Emerging Technologies and Integrated Strategies for Microbial Detection and Control in Fresh Produce. **Microorganisms**, v. 13, n. 7, 1447, 2025.

ELSE, K. J.; KEISER, J.; HOLLAND, C. V.; GRENCIS, R. K.; SATTELLE, D. B.; FUJIWARA, R. T.; BUENO, L. L.; ASAOLU, S. O.; SOWEMIMO, O. A.; COOPER, P. J. Whipworm and roundworm infections. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 6, p. 1–23, 2020.

EL-SHERBINI, G. T. The role of insects in mechanical transmission of human parasites. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 13, n. 9, p. 678–679, 2011.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistema de produção de morango**. 2014. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/#morango>. Acesso em: 1 jun. 2025.

ERDOĞRUL, O.; ŞENER, H. The contamination of various fruit and vegetable with *Enterobius vermicularis*, *Ascaris* eggs, *Entamoeba histolytica* cysts and *Giardia* cysts. **Food Control**, v. 16, n. 6, p. 559–562, 2005.

ESLAHI, A. V.; OLFATIFAR, M.; KARIM, M. R.; ABUODEH, R.; MODIRIAN, E.; HOUSHMAND, E.; ABDOLI, A.; SAMIMI, R.; SOTOODEH, S.; MAHMOUDI, R.; HAJIALILO, E.; HASHEMIPOUR, S.; BADRI, M. Global incidence of helminthic contamination of vegetables, cucurbits and fruits: A systematic review and meta-analysis. **Food Control**, v. 133, 108582, 2022.

FAKHRI, Y.; GASSER, R. B.; ROSTAMI, A.; FAN, C. K.; GHASEMI, S. M.; JAVANIAN, M.; BAYANI, M.; ARMOON, B.; MORADI, B. *Toxocara* eggs in public places worldwide - A systematic review and meta-analysis. **Environmental pollution**, v. 242, p. 1467–1475, 2018.

FALLAH, A. A.; PIRALI-KHEIRABADI, K.; SHIRVANI, F.; SAEI-DEHKORDI, S. S. Prevalence of parasitic contamination in vegetables used for raw consumption in Shahrekord, Iran: Influence of season and washing procedure. **Food Control**, v. 25, n. 2, p. 617–620, 2012.

FAN, C.-K. Pathogenesis of cerebral toxocariasis and neurodegenerative diseases. **Advances in Parasitology**, v. 109, p. 233–259, 2020.

FAN, C.-K.; HOLLAND, C. V.; LOXTON, K.; BARGHOUTH, U. Cerebral toxocariasis: silent progression to neurodegenerative disorders? **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, p. 663–686, 2015.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **UN Food and Agricultural Organization Statistical Databases**. 2025a. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>. Acesso em: 24 ago. 2025.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Four ways One Health helps in ranking food safety risks**. 2025b. Disponível em: <https://www.fao.org/one-health/highlights/four-ways-one-health-helps-in-ranking-food-safety-risks/>. Acesso em: 21 ago. 2025.

FAO/WHO – Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. **Multicriteria-based ranking for risk management of foodborne parasites**. Microbiological Risk Assessment Series No. 23. Rome. 2014. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i3649e.pdf>. Acesso em: 21 ago. 2025.

FAO/WHO/AU – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS/WORLD HEALTH ORGANIZATION/AFRICAN UNION. **The future of food safety – Transforming knowledge into action for people, economies and the environment**. 2019. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/events/international-food-safety-conference>. Acesso em: 21 ago. 2025.

FAVA, N. M. N. **Relações filogenéticas de *Toxocara* spp. e *Toxascaris* sp. provenientes de diferentes regiões do mundo.** Orientadora: Márcia Cristina Cury. 2017. 114 f. Tese (Doutorado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas). Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Ciências Biomédicas, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, Uberlândia, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/21306>. Acesso em: 29 ago. 2025.

FERLA, N. J.; MARCHETTI, M. M.; GONÇALVES, D. Ácaros predadores (*Acari*) associados à cultura do morango (*Fragaria* sp., Rosaceae) e plantas próximas no Estado do Rio Grande do Sul. **Biota Neotropica**, v. 7, n. 2, p. 1–8, 2007.

FIALHO, P. M. M.; CORRÊA, C. R. S. A systematic review of Toxocariasis: A neglected but high-prevalence disease in Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 94, p. 1193–1199, 2016.

FINCHAM, J. E.; MARKUS, M. B.; ADAMS, V. J. Could control of soil-transmitted helminthic infection influence the HIV/AIDS pandemic. **Acta Tropica**, v. 86, p. 315–333, 2003.

FINSTERER, J.; AUER, H. Neurotoxocarosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, p. 279–287, 2007.

FRANÇOSO, I. L. T.; COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G.; ARTHUR, V. Alterações físico-químicas em morangos (*Fragaria anassa* Duch.) irradiados e armazenados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 614-619, 2008.

FREY, C. F.; OAKLEY, J. R.; LOBANOV, V. A.; MARREROS, N.; SCHURER, J. M.; LALONDE, L. F. A novel protocol to isolate, detect and differentiate taeniid eggs in leafy greens and berries using real-time PCR with melting curve analysis. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 1, p. 590, 2019.

FURTADO, L. F. V.; MEDEIROS, C. DA S.; ZUCCHERATO, L. W.; ALVES, W. P.; DE OLIVEIRA, V. N. G. M.; DA SILVA, V. J.; MIRANDA, G. S.; FUJIWARA, R. T.; RABELO, E. M. L. First identification of the benzimidazole resistance-associated F200Y SNP in the beta-tubulin gene in *Ascaris lumbricoides*. **PLoS ONE**, v. 14, n. 10, e0224108, 2019.

GAŁĘCKI, R.; SOKÓŁ, R. A parasitological evaluation of edible insects and their role in the transmission of parasitic diseases to humans and animals. **PLoS ONE**, v. 14, n. 7, e0219303, 2019.

GAMBOA, M. I. Effects of temperature and humidity on the development of eggs of *Toxocara canis* under laboratory conditions. **Journal of helminthology**, v. 79, n. 4, p. 327–331, 2005.

GEMECHU, T.; DEDECHA, W.; ALIYO, A.; DISANI, A.; DIRIBA, F. Soil-transmitted helminthes prevalence, intensity, and associated factors among school-aged children in the communities of west Guji Zone, South Ethiopia. **Clinical Epidemiology and Global Health**, v. 30, 101833, 2024.

GÉRARD, C.; FRANSSEN, F.; LA CARBONA, S.; MONTEIRO, S.; COZMA-PETRUT, A.; UTAAKER, K. S.; JAMBRAK, A. R.; ROWAN, N.; RODRÍGUEZ-LAZARO, D.; NAS-SER, A.; TYSNES, K., ROBERTSON, L. J. Inactivation of parasite transmission stages: Efficacy of treatments on foods of non-animal origin. **Trends in Food Science & Technology**, v. 91, p. 12–23, 2019.

GETACHEW, S.; GEBRE-MICHAEL, T., ERKO, B.; BALKEW, M.; MEDHIN, G. Non-biting cyclorrhaphan flies (Diptera) as carriers of intestinal human parasites in slum areas of Addis Ababa, Ethiopia. **Acta Tropica**, v. 103, p. 186–194, 2007.

GIAMPIERI, F.; MAZZONI, L.; CIANCIOSI, D.; ALVAREZ-SUAREZ, J. M.; REGOLO, L.; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, C.; CAPOCASA, F.; XIAO, J.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. Organic vs conventional plant-based foods: A review. **Food Chemistry**, v. 383, 132352, 2022.

GIGLIOTTI, S.; MANCUSO, E.; PANTANELLA, M.; MANNO, M.; COSCO, C.; COREA, A.; RASO, N. N.; CAMPOLO, M.; DIVENUTO, F.; GIANCOTTI, A.; MARASCIO, N.; DOLDO, P.; QUIRINO, A.; MATERA, G. An *Ascaris lumbricoides* infection diagnosed by colonoscopy: A case report and a brief literature review. **Parasitology International**, v. 106, 103032, 2025.

GIOSAFATTO, C. V. L.; PORTA, R. Advanced biomaterials for food edible coatings. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 12, 9929, 2023.

GLICKMAN, L. T.; SCHANTZ, P. M. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. **Epidemiologic Reviews**, v. 3, p. 230–250, 1981.

GOODMAN, D.; DUPUIS, M.; GOODMAN, M. **Alternative Food Networks**: Knowledge, Practice, and Politics. New York: Routledge, 2012.

GOUGH, R.; O'CONNOR, P. M.; REA, M. C.; GÓMEZ-SALA, B.; MIAO, S.; HILL, C.; BRODKORB, A. Simulated gastrointestinal digestion of nisin and interaction between nisin and bile. **LWT - Food Science and Technology**, v. 86, p. 530–537, 2017.

GRECO, M.; GRALA, A.; SOUZA, C. DE; COSTA, L. DE; VILLELA, M. Ocorrência de parasitos em morangos e tomates comercializados em Pelotas, RS, Brasil. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 35001–35014, 2021.

HAJPOUR, N.; VALIZADEH, H. Investigating intestinal parasitic infections and risk factors in fingernails: Public health insights from Tabriz East Azerbaijan Province, Iran. **IJID Regions**, v. 15, 100663, 2025.

HEALY, S. R.; MORGAN, E. R.; PRADA, J. M.; BETSON, M. Brain food: rethinking food-borne toxocariasis. **Parasitology**, v. 149, n. 1, p. 1–9, 2022a.

HEALY, S. R.; MORGAN, E. R.; PRADA, J. M.; BETSON, M. First report demonstrating the presence of *Toxocara* spp. eggs on vegetables grown in community gardens in Europe. **Food and waterborne parasitology**, v. 27, e00158, 2022b.

HEALY, S.; MORGAN, E.; BETSON, M.; PRADA, J. M. Modelling the risk of food-borne transmission of *Toxocara* spp. to humans. **Epidemiology and Infection**, v. 153, e69, p. 1–7, 2025.

HERNÁNDEZ-CASTRO, C.; AGUDELO-LÓPEZ, S. DEL P.; MEDINA-LOZANO, A. P.; LÓPEZ-GARCÍA, D.; GARCÍA-TUBERQUIA, L. A.; BOTERO-GARCÉS, J. H.; OROZCO-PELÁEZ, M. C.; BOLAÑOS-MUÑOZ, M.; BEJARANO-VILLAFAÑE, D. A.; CARMENA, D. The burden of intestinal parasitic infections in Antioquia, Colombia: Impact in childhood growth development and nutritional status. **Acta Tropica**, v. 251, 107119, 2024.

HOLLAND, C. V. Knowledge gaps in the epidemiology of *Toxocara*: the enigma remains. **Parasitology**, v. 144, p. 81–94, 2015.

HOLLAND, C. V.; SMITH, H. V. (ed.). **Toxocara: The Enigmatic Parasite**, Oxfordshire, p. ix, 2006.

HOLLAND, C.; SEPIDARKISH, M.; DESLYPER, G.; ABDOLLAHI, A.; VALIZADEH, S.; MOLLALO, A.; MAHJOUR, S.; GHODSIAN, S.; ARDEKANI, A.; BEHNIAFAR, H.; GASSER, R. B.; ROSTAMI, A. Global prevalence of *Ascaris* infection in humans (2010–2021): a systematic review and meta-analysis. **Infectious diseases of poverty**, v. 11, n. 1, 113, 2022.

HOTEZ, P. J.; ALVARADO, M.; BASÁÑEZ, M. G.; BOLLIGER, I.; BOURNE, R.; BOUS-SINESQ, M.; BROOKER, S. J.; BROWN, A. S.; BUCKLE, G.; BUDKE, C. M.; CARABIN, H.; COFFENG, L. E.; FÈVRE, E. M.; FÜRST, T.; HALASA, Y. A.; JASRASARIA, R.; JOHNS, N. E.; KEISER, J.; KING, C. H.; LOZANO, R.; MURDOCH, M. E.; O'HANLON, S.; PION, S. D. S.; PULLAN, R. L.; RAMAIAH, K. D.; ROBERTS, T.; SHEPARD, D. S.; SMITH, J. L.; STOLK, W. A.; UNDURRAGA, E. A.; UTZINGER, J.; WANG, M.; MURRAY, C. J. L.; NAGHAVI, M. The global burden of disease study 2010: interpretation and implications for the neglected tropical diseases. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, p. e2865, 2014.

HURTADO-BARROSO, S.; TRESSERRA-RIMBAU, A.; VALLVERDÚ-QUERALT, A.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Organic food and the impact on human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2017.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos Familiares: 2008-2009: Aquisição alimentar domiciliar *per capita***. Rio de Janeiro: IBGE, 2010. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=247307>. Acesso em: 15 nov. 2025.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Censo Demográfico 2022**. Rio de Janeiro: IBGE. 2022.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Cidades**. Brasil, 2025. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/>. Acesso em: 24 ago. 2025.

IBRD-IDA – INTERNATIONAL BANK FOR RECONSTRUCTION AND DEVELOPMENT-INTERNATIONAL DEVELOPMENT ASSOCIATION. **Food-borne Illnesses Cost US\$ 110 Billion Per Year in Low- and Middle-Income Countries**. 2018. Disponível em:

<https://www.worldbank.org/en/news/press-release/2018/10/23/food-borne-illnesses-cost-us-110-billion-per-year-in-low-and-middle-income-countries>. Acesso em: 21 ago. 2025.

IÑIGUEZ, A. M.; LELES, D.; JAEGER, L. H.; CARVALHO-COSTA, F. A.; ARAÚJO, A.; AMAZONAS RESEARCH GROUP. Genetic characterisation and molecular epidemiology of *Ascaris* spp. from humans and pigs in Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 10, p. 604–612, 2012.

IQBAL, A.; LABIB, M.; MUHAREMAGIC, D.; SATTAR, S.; DIXON, B. R.; BEREZOVSKI, M. V. Detection of *Cryptosporidium parvum* Oocysts on Fresh Produce Using DNA Aptamers. **PLoS ONE**, v. 10, n. 9, e0137455, 2015.

ISO – INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO 18744:2016 Microbiology of the Food Chain - Detection and Enumeration of *Cryptosporidium* and *Giardia* in Fresh Leafy Green Vegetables and Berry Fruits**. 2016. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/63252.html>. Acesso em: 22 ago. 2025.

ISMAILI-JAHA, V.; TORO, H.; SPAHIU, L.; AAZEMI, M.; HOXHA-KAMBERI, T.; AVDIU, M.; SPAHIU-KONJUSHA, S.; JAHA, L. Gallbladder ascariasis in Kosovo - focus on ultrasound and conservative therapy: a case series. **Journal of Medical Case Reports**, v. 12, p. 8–12, 2018.

JAFFEE, S.; HENSON, S.; UNNEVEHR, L.; GRACE, D.; CASSOU, E. **The safe food imperative: accelerating progress in low- and middle-income countries**. Washington DC: International Bank for Reconstruction and Development and The World Bank, 2019. Disponível em: <https://openknowledge.worldbank.org/handle/10986/30568>. Acesso em: 21 ago. 2025.

JAGANNATH, P. M.; VENKATARAMANA, N. K.; RAO, S. A.; NAIK, A. L.; SHIVAKUMAR, S. K.; SAKTEPAR, A.; GOPALAKRISHNAN, R.; SHANKAR, S. K. Recurrent cerebral larva migrans: A case report and review of literature. **Journal of Pediatric Neurosciences**, v. 4, n. 1, p. 36–40, 2009.

JARAMILLO-HERNÁNDEZ, D.; SALAZAR-GARCÉS, L.; BAQUERO-PARRA, M.; SILVA-PINHEIRO, C. DA; ALCÁNTARA-NEVES, N. Toxocariasis and *Toxocara* vaccine: A review. **Orinoquia**, v. 24, n. 2, p. 79–95, 2020.

JOOSTEN, H. M. L. J.; NUÑEZ, M. Adsorption of nisin and enterocin 4 to polypropylene and glass surfaces and its prevention by Tween 80. **Letters in Applied Microbiology**, v. 21, p. 389–392, 1995.

JOURDAN, P. M.; LAMBERTON, P. H.; FENWICK, A.; ADDISS, D. G. Soil-transmitted helminth infections. **Lancet**, v. 391, p. 252–265, 2018.

JOY, A. T.; CHRIS, O. I.; GODWIN, N. C. Toxocariasis and Public Health: An Epidemiological Review. **Global Journal of Infectious Diseases and Clinical Research**, v. 3, n. 1, p. 028–039, 2017.

KANNEGANTI, K.; MAKKER, J. S.; REMY, P. *Ascaris lumbricoides*: to expect the unexpected during a routine colonoscopy. **Case Reports in Medicine**, v. 2013, p. 4, 2013.

KENNEY, S. J.; ANDERSON, G. L.; WILLIAMS, P. L.; MILLNER, P. D.; BEUCHAT, L. R. Migration of *Caenorhabditis elegans* to manure and manure compost and potential for transport of *Salmonella* Newport to fruits and vegetables. **International Journal of Food Microbiology**, v. 106, p. 61–68, 2006.

KHUROO, M. S.; RATHER, A. A.; KHUROO, N. S.; KHUROO, M. S. Hepatobiliary and pancreatic ascariasis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 22, p. 7507–7517, 2016.

KŁAPEĆ, T.; BORECKA, A. Contamination of vegetables, fruits and soil with geohelmint eggs on organic farms in Poland. **Annals of agricultural and environmental medicine**, v. 19, n. 3, p. 421–425, 2012.

KLEINE, A.; JANECEK, E.; WAINDOK, P.; STRUBE, C. Flotation and adherence characteristics of *Toxocara canis* and *T. cati* and a reliable method for recovering *Toxocara* eggs from soil. **Veterinary Parasitology**, v. 227, p. 35–41, 2016.

KOSKI, K. G.; SCOTT, M. E. Gastrointestinal nematodes, nutrition and immunity: breaking the negative spiral. **Annual Review of Nutrition**, v. 21, p. 297–321, 2001.

KUBINA, S.; COSTA, D.; FAVENNEC, L.; GARGALA, G.; ROUSSEAU, A.; VILLENA, I.; LA CARBONA, S.; RAZAKANDRAINIBE, R. Detection of infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts from lamb's lettuce: CC-qPCR's intake. **Microorganisms**, v. 9, n. 2, p. 215, 2021.

KUBINA, S.; COSTA, D.; CAZEAUX, C.; VILLENA, I.; FAVENNEC, L.; RAZAKANDRAINIBE, R.; LA CARBONA, S. Persistence and survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts on lamb's lettuce leaves during plant growth and in washing conditions of minimally-processed salads. **International Journal of Food Microbiology**, v. 388, 110085, 2023.

LALONDE, L.; GAJADHAR, A. A. Optimization and validation of methods for isolation and real-time PCR identification of protozoan oocysts on leafy green vegetables and berry fruits. **Food and Waterborne Parasitology**, v. 2, p. 1–7, 2016

LANCELLOTTI, I.; PINHEIRO, P. C. **Toada brasileira**. Intérpretes: Paulo César Pinheiro e Ivor Lancellotti. In: PINHEIRO, P. C. PAULO CÉSAR PINHEIRO. Rio de Janeiro: EMI-Odeon, 1980. 1 LP. Faixa 7. Catálogo 31C 064 422867D. Disponível em: <https://www.youtube.com/watch?v=tk7j6jq6tJc>. Acesso em: 22 ago. 2025.

LAORAKSAWONG, P.; BUNKASEM, U.; PRADIDTHAPRECHA, A. Prevalence of intestinal parasitic contamination in fresh vegetables in Bangkok, Thailand, and surrounding areas: A cross-sectional survey. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 29, e00416, 2025.

LASS, A.; SZOSTAKOWSKA, B.; MYJAK, P.; KORZENIEWSKI, K. The first detection of *Echinococcus multilocularis* DNA in environmental fruit, vegetable, and mushroom samples using nested PCR. **Parasitology Research**, v. 114, n. 11, p. 4023–4029, 2015.

LESCANO, S. A.; CHIEFFI, P. P.; PERES, B. A.; DE MELLO, E. O.; VELARDE, C. N.; SALINAS, A. A. ROJAS, C. E. Soil contamination and human infection by *Toxocara* sp. in

the urban area of Lima, Peru. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, p. 733–734, 1998.

LIMA, W. S. Larva migrans. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. W. A. **Parasitologia humana**. 14. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2022. p. 309–312.

LIU, G. H.; WU, C. Y.; SONG, H. Q. WEI, S. J.; XU, M. J.; LIN, R. Q.; ZHAO, G. H.; HUANG, S. Y.; ZHU, X. Q. Comparative analyses of the complete mitochondrial genomes of *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum* from humans and pigs. **Gene**, v. 492, p. 110–116, 2012.

LOPES, C. A. **Imunodiagnóstico da ascaridíase humana: uma nova abordagem sorológica utilizando a tecnologia IgY**. Orientadora: Julia Maria Costa Cruz. 2018. 70 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas). Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Ciências Biomédicas, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, Uberlândia, 2018. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/22365>. Acesso em: 29 ago. 2025.

LUBIS, I. N.; PASARIBU, S.; LUBIS, C. P. Current status of the efficacy and effectiveness of albendazole and mebendazole for the treatment of *Ascaris lumbricoides* in North-Western Indonesia. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.5, n. 8, p. 605–609, 2012.

LUCIO-FORSTER, A.; MIZHQUIRI, J. F.; MOHAMMED, H. O.; KORNREICH, B. G. BOWMAN, D. D. Comparison of the prevalence of *Toxocara* egg shedding by pet cats and dogs in the U.S.A., 2011-2014. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 5, p. 1–13, 2016.

LUNA, J.; CICERO, C. E.; RATEAU, G.; QUATTROCCHI, G.; MARIN, B.; BRUNO, E.; DALMAY, F.; DRUET-CABANAC, M.; NICOLETTI, A.; PREUX, P. Updated evidence of the association between toxocariasis and epilepsy: systematic review and meta-analysis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, e0006665, 2018.

MA, X.; ZHU, Y.; LI, C.; SHANG, Y.; MENG, F.; CHEN, S.; MIAO, L. Comparative transcriptome sequencing of germline and somatic tissues of the *Ascaris suum* gonad. **BMC Genomics**, v. 12, 481, 2011.

MA, G.; HOLLAND, C. V.; WANG, T.; HOFMANN, A.; FAN, C. K.; MAIZELS, R. M.; HOTEZ, P. J.; GASSER, R. B. Human toxocariasis. **Lancet Infectious Diseases**, v. 18, p. e14–e24, 2018.

MA, G.; ROSTAMI, A.; WANG, T.; HOFMANN, A.; HOTEZ, P. J.; GASSER, R. B. Global and regional seroprevalence estimates for human toxocariasis: a call for action. **Advances in Parasitology**, v. 109, p. 275–290, 2020.

MAGNAVAL, J.-F.; FABRE, R.; MAURIÈRES, P.; CHARLET, J.P.; LARRARD, B DE. Application of the western blotting procedure for the immunodiagnosis of human toxocariasis. **Parasitology Research**, v. 77, p. 697–702, 1991.

MAGNAVAL, J.-F.; GLICKMAN, L. T.; DORCHIES, P.; MORASSIN, B. Highlights of human toxocariasis. **Korean Journal of Parasitology**, v. 39, p. 1–11, 2001.

MAINARDI, P.; BIDOIA, E. Food Safety Management: Preventive Strategies and Control of Pathogenic Microorganisms in Food. **European Journal of Biological Research**, v. 14, p. 13–32, 2024.

MALKAMÄKI, S.; NÄREAHO, A.; OKSANEN, A.; SUKURA, A. Berries as a potential transmission vehicle for taeniid eggs. **Parasitology International**, v. 70, p. 58–63, 2019a.

MALKAMÄKI, S.; NÄREAHO, A.; LAVIKAINEN, A.; OKSANEN, A.; SUKURA, A. A new SYBR green real-time PCR assay for semi-quantitative detection of *Echinococcus multilocularis* and *Echinococcus canadensis* DNA on bilberries (*Vaccinium myrtillus*). **Food and Waterborne Parasitology**, v. 17, e00068, 2019b.

MARQUES, C. S.; SOUSA, S.; CASTRO, A.; FERREIRA, V.; TEIXEIRA, P.; COSTA, J. M. C. da. Protozoa as the “Underdogs” for Microbiological Quality Evaluation of Fresh Vegetables. **Applied Sciences**, v. 12, 7145, 2022.

MARTÍNEZ, J. M.; ABAD, V.; QUÍLEZ, J.; RASO, J.; CEBRIÁN, G.; ÁLVAREZ-LANZAROTE, I. Pulsed Electric Fields (PEF) applications in the inactivation of parasites in food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 138, p. 470–479, 2023.

MARTINS-MELO, F. R.; RAMOS, A. N.; ALENCAR, C. H.; LIMA, M. S.; HEUKELBACH, J. Epidemiology of soil-transmitted helminthiases-related mortality in Brazil. **Parasitology**, v. 144, n. 5, p. 669–679, 2017.

MATOSINHOS, F. C.; VALENZUELA, V. C.; SILVEIRA, J. A.; RABELO, E. M. Standardization of a method for the detection of helminth eggs and larvae in lettuce. **Parasitology Research**, v. 115, n. 5, p. 1827–1834, 2016.

MATTIA, S.; COLLI, C. M.; ADAMI, C. M.; GUILHERME, G. F.; NISHI, L.; RUBINSKY-ELEFANT, G.; MARCHIORO, A. A.; GOMES, M. L.; FALAVIGNA-GUILHERME, A. L. Seroprevalence of *Toxocara* infection in children and environmental contamination of urban areas in Paraná State, Brazil. **Journal of Helminthology**, v. 86, n.4, p. 440–445, 2012.

MOLLER, M.; GRAVENOR, M. B.; ROBERTS, S. E.; SUN, D.; GAO, P.; HOPKIN, J. M. Genetic haplotypes of Th-2 immune signalling link allergy to enhanced protection to parasitic worms. **Human Molecular Genetics**, v. 16, p. 1828–1836, 2007.

MOLYNEUX, D. Neglected tropical diseases. **Community Eye Health**. v. 26, n. 82, p. 21–24, 2013.

MONTEIRO, A. C.; CARDOSO, A. M. Pesquisa de enteroparasitas em morangos frescos comercializados in natura em Goiânia, Goiás. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 53, n. 1, p. 80–84, 2021.

MONTRESOR, A.; MWINZI, P.; MUPFASONI, D.; GARBA, A. Reduction in DALYs lost due to soil-transmitted helminthiases and schistosomiasis from 2000 to 2019 is parallel to the increase in coverage of the global control programmes. **PLOS Neglected Tropical Diseases** v. 16, n. 7, e0010575, 2022.

MORENO-MESONERO, L.; SOLER, L.; AMORÓS, I.; MORENO, Y.; FERRÚS, M. A.; ALONSO, J. L. Protozoan parasites and free-living amoebae contamination in organic leafy green vegetables and strawberries from Spain. **Food and Waterborne Parasitology**, v. 32, e00200, 2023.

MUGHINI-GRAS, L.; HARMS, M.; VAN PELT, W.; PINELLI, E.; KORTBEEK, T. Seroepidemiology of human *Toxocara* and *Ascaris* infections in the Netherlands. **Parasitology Research**, v. 115, n. 10, p. 3779–3794, 2016.

MURPHY, H. R.; LEE, S.; SILVA, A. J. DA. Evaluation of an improved U.S. Food and Drug administration method for the detection of *Cyclospora cayetanensis* in produce using real-time PCR. **Journal of Food Protection**, v. 80, n. 7, p. 1133–1144, 2017.

MURPHY, H. R.; CINAR, H. N.; GOPINATH, G.; NOE, K. E.; CHATMAN, L. D.; MIRANDA, N. E.; WETHERINGTON, J. H.; NEAL-MCKINNEY, J.; PIRES, G. S.; SACHS, E.; STANYA, K. J.; JOHNSON, C. L.; NASCIMENTO, F. S.; SANTIN, M.; MOLOKIN, A.; SAMADPOUR, M.; JANAGAMA, H.; KAHLER, A.; MILLER, C.; SILVA, A. J. DA. Interlaboratory validation of an improved method for detection of *Cyclospora cayetanensis* in produce using a real-time PCR assay. **Food Microbiology**, v. 69, p. 170–178, 2018.

MURRAY, C. J. Quantifying the burden of disease: the technical basis for disability-adjusted life years. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 72, n. 3, p. 429–445, 1994.

NIELSEN, N. O.; SIMONSEN, P. E.; MAGNUSEN, P.; MAGESA, S.; FRIIS, H. Cross-sectional relationship between HIV, lymphatic filariasis and other parasitic infections in adults in coastal north-eastern Tanzania. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 100, p. 543–550, 2006.

NIJSSE, R.; OVERGAAUW, P.; PLOEGER, H.; MUGHINI-GRAS, L. Sources of environmental contamination with *Toxocara* spp.: an omnipresent parasite. **Advances in Parasitology**, v. 109, p. 585–614, 2020.

O'LORCAIN, P.; HOLLAND, C. V. The public health importance of *Ascaris lumbricoides*. **Parasitology**, v. 121, p. S51–S71, 2000.

OKADA, N.; OOI, H.; TAIRA, K. Detection of larvae of *Toxocara cati* and *T. tanuki* from the muscles of free-ranging layer farm chickens. **Parasitology Research**, v. 120, p. 1737–1741, 2021.

OLIVEIRA, C. A. F.; GERMANO, P. M. L. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil, I - Pesquisa de helmintos. **Revista de Saúde Pública**, v. 26, n. 4, p. 283–289, 1992.

OLSON, K. R.; GAO, Y.; BRIGGS, A.; DEVIREDDY, M.; IOVINO, N. A.; LICURSI, M.; SKORA, N. C.; WHELAN, J.; VILLA, B. P.; STRAUB, K. D. ‘Antioxidant’ berries, anthocyanins, resveratrol and rosmarinic acid oxidize hydrogen sulfide to polysulfides and thiosulfate: A novel mechanism underlying their biological actions. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 165, p. 67–78, 2021.

ONU – ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. **Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável.** 2015. Disponível em: <https://brasil.un.org/sites/default/files/2020-09/agenda2030-pt-br.pdf>. Acesso em: 24 jan. 2025.

OPAS – ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Doenças tropicais negligenciadas: OPAS pede fim dos atrasos no tratamento nas Américas.** OPAS Brasil, Brasília, 2022. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/28-1-2022-doencas-tropicais-negligenciadas-opas-pede-fim-dos-atrasos-no-tratamento-nas>. Acesso em: 12 ago. 2025.

OPAS – ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Soil Transmitted Helminthiasis.** 2025. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/node/4948>. Acesso em: 22 ago. 2025.

ORTEGA-PIERRES, M. G.; JEX, A. R.; ANSELL, B. R. E., SVÄRD, S. G. Recent advances in the genomic and molecular biology of *Giardia*. **Acta Tropica**, v. 184, p. 67–72, 2018.

ORYAN, A.; SADJJADI, S.-M.; AZIZI, S. Longevity of *Toxocara cati* Larvae and Pathology in Tissues of Experimentally Infected Chickens. **Korean Journal of Parasitology**, v. 48, n. 1, p. 79–80, 2010.

OSHITA, D.; JARDIM, I. C. F. S. Strawberry: an alimentary, environmental and sanitary concern, monitored by modern liquid chromatography. **Scientia Chromatographica**, v. 4, p. 46–70, 2012.

OVERGAAUW, P. A.; NEDERLAND, V. Aspects of *Toxocara* epidemiology: toxocarosis in dogs and cats. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 23, p. 233–251, 1997.

PAHO – PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Plan of Action for the Elimination of Neglected Infectious Diseases and Post-Elimination Actions 2016–2022.** 2016. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/31434>. Acesso em: 21 ago. 2025.

PARIJA, S.; CHIDAMBARAM, M.; MANDAL, J. Epidemiology and clinical features of soil-transmitted helminths. **Tropical Parasitology**, v. 7, p. 81–85, 2017.

PARSONS, J. C. Ascarid infections of cats and dogs. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**, v. 17, p. 1307–1339, 1987.

PENG, W.; YUAN, K.; HU, M.; ZHOU, X.; GASSER, R. B. Mutation scanning-coupled analysis of haplotypic variability in mitochondrial DNA regions reveals low gene flow between human and porcine *Ascaris* in endemic regions of China. **Electrophoresis**, v. 26, p. 4317–4326, 2005.

PHUPHISUT, O.; POODEEPIYASAWAT, A.; YOONUAN, T.; WATTHANAKUL-PANICH, D.; CHOTSIRI, P.; REAMTONG, O.; MOUSLEY, A.; GOBERT, G. N.; ADI-SAKWATTANA, P. Transcriptome profiling of male and female *Ascaris lumbricoides* reproductive tissues. **Parasites & vectors**, v. 15, n. 1, p. 477, 2022.

PINEDA, C. O.; TEMESGEN, T. T.; ROBERTSON, L. J. Multiplex quantitative PCR analysis of strawberries from Bogotá, Colombia, for contamination with three parasites. **J. Food Protect**, v. 83, n. 10, p. 1679–1684, 2020.

PINEDA, C. O.; LEAL, D. A. G.; LIMA, R. de; RIBEIRO, P. P.; RODRIGUES, A.; MARTINI, M. H.; STANCARI, R. C. A.; MATOSINHOS, F. C. L.; MINÉ, J. C.; GREINERT-GOULART, J. A.; GROTT, S. C.; DIEFENBACH, L. M. G.; ARAÚJO, B.; FRANCO, R. M. B. Parasites in Fresh Produce: a Brazilian inter-laboratory evaluation of a standardized methodology for the detection of *Ascaris* sp. In leafy vegetables. **Food Analytical Methods**, v. 14, n. 5, p. 989–996, 2021.

PINELLI, E.; ARANZAMENDI, C. *Toxocara* infection and its association with allergic manifestations. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets**, v. 12, p. 33–44, 2012.

PROCIV, P.; MOORHOUSE, D. E.; WAH, M. J. Toxocariasis - an unlikely cause of Palm Island mystery disease. **Medical Journal of Australia**, v. 145, n. 1, p. 14–15, 1986.

PUJOL, N.; EWBANK, J. J. *C. elegans*: out on an evolutionary limb. **Immunogenetics**, 2021.

PULLAN, R. L.; BROOKER, S. J. The global limits and population at risk of soil-transmitted helminth infections in 2010. **Parasites & Vectors**, v. 5, p. 81–95, 2012.

QUEIROZ, M. L.; MEHLMANN, F. M. G.; PASCHOALOTTI, M. A.; LESCANO, S. A. Z.; CHIEFFI, P. P. Efeitos de variáveis ambientais na evolução de ovos de *Toxocara canis* em condições experimentais. **Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**, v. 54, p. 6–8, 2009.

QUINNELL, R. Review of “*Ascaris*: the neglected parasite” by Celia Holland (ed.). **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 33, p. 1–2, 2014.

RATTANAPITOON, N. K.; RATTANAPITOON, S. K. Letter to the Editor: “Modelling the risk of foodborne transmission of *Toxocara* spp. to humans” by Healy et al. (2025). **Epidemiology and Infection**, v. 153, e101, p. 1–2, 2025.

RAZAKANDRAINIBE, R.; KUBINA, S.; COSTA, D.; ROBINSON, G.; LA CARBONA, S.; AUBERT, D.; DAVID, A.; GARGALA, G.; VILLENA, I.; FAVENNEC, L.; CHALMERS, R. M. Evaluation of a modified method for the detection of *Cryptosporidium* oocysts on spinach leaves. **Food and Waterborne Parasitology**, v. 21, e00097, 2020.

RENTING, A.; SCHERMER, M.; ROSSI, A. Building Food Democracy: Exploring Civic Food Networks and Newly Emerging Forms of Food Citizenship. **International Journal of Sociology of Agriculture and Food**, v. 19, n. 3, p. 289–307, 2012.

ROBERTSON, L. J.; GJERDE, B. Isolation and Enumeration of *Giardia* Cysts, *Cryptosporidium* Oocysts, and *Ascaris* Eggs from Fruits and Vegetables. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 6, p. 775–778, 2000.

ROBERTSON, L. J.; GJERDE, B. Factors Affecting Recovery Efficiency in Isolation of *Cryptosporidium* Oocysts and *Giardia* Cysts from Vegetables for Standard Method Development. **Journal of Food Protection**, v. 64, n. 11, p. 1799–1805, 2001.

ROBERTSON, L. J.; TORGERSON, P. R.; VAN DER GIESSEN, J. Foodborne Parasitic Diseases in Europe: Social Cost-Benefit Analyses of Interventions. **Trends in Parasitology**, v. 34, n. 11, p. 919–923, 2018.

ROBERTSON, L. J. Parasites in food: from a neglected position to an emerging issue. **Advances in Food and Nutrition Research**. v. 86, p. 71–113, 2018.

ROBERTSON, L. J. Transmission of parasites to people via food: how can we determine their impact and why do we need to know? **Food and Waterborne Parasitology**, v. 39, e00258, 2025.

ROCHA, S.; PINTO, R. M. F.; FLORIANO, A. P.; TEIXEIRA, L. H.; BASSILI, B.; MARTINEZ, A.; DA COSTA, S. O. P.; CASEIRO, M. M. Environmental analyses of the parasitic profile found in the sandy soil from the Santos municipality beaches, SP, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 53, n. 5, p. 277–281, 2011.

ROSTAMI, A.; RIAHI, S. M.; HOLLAND, C. V.; TAGHIPOUR, A.; KHALILI-FOMESHI, M.; FAKHRI, Y.; OMRANI, V. F.; HOTEZ, P. J.; GASSER, R. B. Seroprevalence estimates for toxocariasis in people worldwide: A systematic review and meta-analysis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 13, n. 12, e0007809, 2019.

ROSYPAL, A. C.; BOWMAN, D. D.; HOLLIMAN, D.; FLICK, G. J.; LINDSAY, D. S. Effects of high hydrostatic pressure on embryonation of *Ascaris suum* eggs. **Veterinary Parasitology**, v. 145, p. 86–89, 2007.

SAATHOFF, E.; OLSEN, A.; KVALSVIG, J. D.; APPLETON, C. C.; SHARP, B.; KLEIN-SCHMIDT, I. Ecological covariates of *Ascaris lumbricoides* infection in schoolchildren from rural KwaZulu-Natal, South Africa. **Tropical Medicine & International Health**, v. 10, p. 412–422, 2005.

SAVIGNY, D. H. DE; VOLLE, A.; WOODRUFF, A. W. Toxocariasis: serological diagnosis by enzyme immunoassay. **Journal of Clinical Pathology**, v. 32, p. 284–288, 1979.

SCOTT, M. E. *Ascaris lumbricoides*: A Review of Its Epidemiology and Relationship to Other Infections. **Annales Nestlé (English Ed.)**, v. 66, n. 1, p. 7–22, 2008.

SHAO, C.-C.; XU, M.-J.; ALASAAD, S.; SONG, H.-Q.; PENG, L.; TAO, J.-P.; ZHU, X.-Q. Comparative analysis of microRNA profiles between adult *Ascaris lumbricoides* and *Ascaris suum*. **BMC Veterinary Research**, v. 10, 99, 2014.

SHIELDS, J. M.; LEE, M. M.; MURPHY, H. R. Use of a common laboratory glassware detergent improves recovery of *Cryptosporidium parvum* and *Cyclospora cayetanensis* from lettuce, herbs and raspberries. **International Journal of Food Microbiology**, v. 153, n. 1–2, p. 123–128, 2012.

SILVA, S. R. M. DA; MALDONADE, I. R.; GINANI, V. C.; LIMA, S. A.; MENDES, V. S.; AZEVEDO, M. L. X.; GURGEL-GONÇALVES, R.; MACHADO, E. R. Detection of intestinal parasites on field-grown strawberries in the Federal District of Brazil. **Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 6, p. 801–805, 2014.

- SILVA, T. E. DA; BARBOSA, F. S.; MAGALHÃES, L. M. D.; GAZZINELLI-GUIMARÃES, P. H.; SANTOS, A. C. DOS; NOGUEIRA, D. S.; RESENDE, N. M.; AMORIM, C. C.; GAZZINELLI-GUIMARÃES, A. C.; VIANA, A. G.; GEIGER, S. M.; BARTHOLOMEU, D. C.; FUJIWARA, R. T.; BUENO, L. L. Unraveling *Ascaris suum* experimental infection in humans. **Microbes and Infection**, v. 23, 104836, 2021.
- SILVA, A. V. M. DA; MASSARA, C. L. *Ascaris lumbricoides*. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. W. A. **Parasitologia humana**. 14. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2022. p. 295–301.
- SILVEIRA, J.; ALFREDO, N. A. C.; BEUX, M. R.; FERREIRA, S. M. R.; LEAL, D. A. G. Evaluation of a propolis hydroalcoholic solution with glycine in the joint reduction of micro-organisms and helminth eggs from leafy green vegetables. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 26, e2023042, 2023.
- SILVEIRA, J.; ANJOS, J. V.; KARBIAK, L.; SOUZA, G. F.; PROX, L. B.; CEREZO, I. A. R.; PETRIS, A.; SCHERER, G. S.; LEAL, D. A. G. Do cultivo à comercialização: avaliação da qualidade sanitária de diferentes estágios da cadeia produtiva de vegetais orgânicos no sul do Brasil. **Vigilância Sanitária em Debate**, 2025.
- SIVIERO, I.; ALMEIDA, U. V. B.; PENNA, C. R. R.; DI PUGLIA, E. B. M.; BERTRAND SIMÕES, B. C. Abdominal complications of ascariasis in childhood. **Jornal de Pediatria**, v. 100, n. 5, p. 460–467, 2024.
- SMITH, H.; HOLLAND, C.; TAYLOR, M.; MAGNAVAL, J.-F.; SCHANTZ, P.; MAIZELS, R. How common is human toxocariasis? Towards standardizing our knowledge. **Trends in Parasitology**, v. 25, p. 182–188, 2009.
- SMITH, H.; NOORDIN, R. Diagnostic Limitations and Future Trends in the Serodiagnosis of Human Toxocariasis. In: HOLLAND, C. V.; SMITH, H. V. (ed.). **Toxocara: The Enigmatic Parasite**, Oxfordshire, 2006. p. 89–112.
- SOUZA, G. F.; LEAL, D. A. G. **Manual ilustrado de um protocolo para detecção de ovos de helmintos em morangos**. 2025. Disponível em: <https://hdl.handle.net/1884/98115>. Acesso em: 12 ago. 2025.
- SRIRUTTAN-NEL, C.; CAIRNS, C.; BOUGHAN, S.; MOODLEY, B.; SUN, L. M.; CHAN, W. Y.; ISMAIL, A.; MWAZHA, A.; BENNIMAHADEO, P.; MANICKCHUND, N.; MOYO, M.; NKWANYANA, T.; MSIMANG, M. Z.; ESSA, A.; FREAN, J.; MOOSA, M.-Y. Central Nervous System Infection by Free-Living Nematode *Cephalobus cubensis* in a Human Host in Africa. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 10, 37, 2025.
- STEWART, T. B.; HALE, O. M. Losses to Internal Parasites in Swine Production. **Journal of Animal Science**, v. 66, n. 6, p. 1548–1554, 1988.
- STRUUBE, C.; HEUER, L.; JANECEK, E. *Toxocara* spp. infections in paratenic hosts. **Veterinary Parasitology**, v. 193, p. 375–389, 2013.

TAGHIPOUR, A.; HABIBPOUR, H.; MIRZAPOUR, A.; ROSTAMI, A. *Toxocara* infection/exposure and the risk of schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 115, p. 1114–1121, 2021.

TAIRA, K.; SAITO, Y.; KAPEL, C. M. O. *Toxocara cati* larvae persist and retain high infectivity in muscles of experimentally infected chickens. **Veterinary Parasitology**, v. 180, p. 287–291, 2011.

TATFENG, Y. M.; USUANLELE, M. U.; ORUKPE, A.; DIGBAN, A. K.; OKODUA, M.; OVIASOGIE, F.; TURAY, A. A. Mechanical transmission of pathogenic organisms: the role of cockroaches. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 42, p. 129–134, 2005.

TBCA - TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS. Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 7.2. São Paulo, 2023. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca>. Acesso em: 24 jan. 2025.

TEFERA, T.; TYSNES, K. R.; UTAAKER, K. S.; ROBERTSON, L. J. Parasite contamination of berries: Risk, occurrence, and approaches for mitigation. **Food and Waterborne Parasitology**, v. 10, p. 23–38, 2018.

TEMESGEN, T. T.; STIGUM, V. M.; ROBERTSON, L. J. Surveillance of berries sold on the Norwegian market for parasite contamination using molecular methods. **Food Microbiology**, v. 104, 103980, 2022.

TORGERSON, P. R.; SILVA, N. R.; FÈVRE, E. M.; KASUGA, F.; ROKNI, M. B.; ZHOU, X. N.; SRIPA, B.; GARGOURI, N.; WILLINGHAM, A. L.; STEIN, C. The global burden of foodborne parasitic diseases: an update. **Trends in Parasitology**, v. 30, p. 20–26, 2014.

TREJO, C. A. C.; ROMERO NÚÑEZ, C.; GARCÍA CONTRERAS, A. DEL C.; MENDOZA BARRERA, G. E. Soil contamination by *Toxocara* spp. eggs in a University in Mexico City. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 3, p. 298–300, 2012.

UGA, S.; HOA, N. T. V.; NODA, S. MOJI, K; CONG, L.; AOKI, Y.; RAI, S. K.; FUJIMAKI, Y. Parasite egg contamination of vegetables from a suburban market in Hanoi, Vietnam. **Nepal Medical College Journal**, v. 11, p. 75–78, 2009.

UN – UNITED NATIONS. **2030 Agenda for Sustainable Development**. Disponível em: <https://sdgs.un.org/2030agenda>. 2025. Acesso em: 21 ago. 2025.

UNEKE, C. J.; OGBU, O. Potential for parasite and bacteria transmission by paper currency in Nigeria. **Journal of Environmental Health**, v. 69, p. 54–60, 2007.

UTAAKER, K. S.; HUANG, Q.; ROBERTSON, L. J. A reduced-cost approach for analyzing fresh produce for contamination with *Cryptosporidium* oocysts and/or *Giardia* cysts. **Food Research International**, v. 77, n. 3, p. 326–332, 2015.

VAN DE VELDE, F.; TAROLA, A.; GÜEMES, D.; PIROVANI, M. Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Camarosa and Selva Strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). **Foods**, v. 2, n. 2, p. 120–131, 2013.

VAN PELT, A. E.; QUIÑONES, B.; LOFGREN, H. L.; BARTZ, F. E.; NEWMAN, K. L.; LEON, J. S. Low prevalence of human pathogens on fresh produce on farms and in packing facilities: A systematic review. **Frontiers in Public Health**, v. 6, 40, 2018.

VASCONCELOS, S. S.; MOREIRA, D. J. S.; FONSECA, J. B.; ROSSI, K.; OLIVEIRA, V. F. L.; FRANCISCO, V. C. C. Ascaridíase: uma revisão de literatura. In: FREITAS, G. B. L [editor]. **Parasitologia Humana e Veterinária**. 1. ed. - Irati: Pasteur, 2020. p. 410–421

VENZON, M.; DAS, R.; LUCIANO, D. J.; BURNETT, J.; PARK, H. S.; DEVLIN, J. C.; KOOL, E. T.; BELASCO, J. G.; HUBBARD, E. J. A.; CADWELL, K. Microbial byproducts determine reproductive fitness of free-living and parasitic nematodes. **Cell Host Microbe**, v. 30, n. 6, p. 786–797.e8, 2022.

VLAS, S. J. DE; STOLK, W. A.; LE RUTTE, E. A.; HONTELEZ, J. A. C.; BAKKER, R.; BLOK, D. J.; CAI, R.; HOUWELING, T. A. J.; KULIK, M. C.; LENK, E. J.; LUYENDIJK, M.; MATHIJSSSE, S. M.; REDEKOP, W. K.; WAGENAAR, I.; JACOBSON, J.; NAGELKERKE, N. J. D.; RICHARDUS, J. H. Concerted efforts to control or eliminate neglected tropical diseases: how much health will be gained? **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 2, e0004386, 2016.

VU, K. D.; HOLLINGSWORTH, R. G.; LEROUX, E.; SALMIERI, S.; LACROIX, M. Development of edible bioactive coating based on modified chitosan for increasing the shelf life of strawberries. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 198–203, 2011.

WAINDOK, P.; RAULF, M.-K.; STRUBE, C. Potentials and challenges in the isolation and detection of ascarid eggs in complex environmental matrices. **Food and Waterborne Parasitology**, v. 28, e00174, 2022.

WALSH, M. G.; HASEEB, M. A. Reduced cognitive function in children with toxocariasis in a nationally representative sample of the United States. **International Journal for Parasitology**, v. 42, p. 1159–1163, 2012.

WERKMAN, M.; WRIGHT, J. E.; TRUSCOTT, J. E.; EASTON, A. V.; OLIVEIRA, R. G.; TOOR, J.; OWER, A.; ÁSBJÖRNSDÓTTIR, K. H.; MEANS, A. R.; FARRELL, S. H.; WALSON, J. L.; ANDERSON, R. M. Testing for soil-transmitted helminth transmission elimination: Analysing the impact of the sensitivity of different diagnostic tools. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 1, e0006114, 2018.

WHO – World Health Organization. WHO Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases. **Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group 2007–2015**; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2015a. Disponível em: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165_eng.pdf?sequence=1. Acesso em: 21 ago. 2025.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Investing to overcome the global impact of neglected tropical diseases**. Third WHO report on neglected tropical diseases. Geneva: World Health Organization, 2015b.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **2030 targets for soil-transmitted helminthiases control programmes**. Geneva: World Health Organization, 2020. Disponível em: <https://iris.who.int/handle/10665/330611>. Acesso em: 24 jan. 2025.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Soil-transmitted helminth infections.** 2023. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/soil-transmitted-helminth-infections>. Acesso em: 24 jan. 2025.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. The Global Health Observatory (GHO). **Indicators.** 2025. Disponível em: <https://www.who.int/data/gho/data/indicators>. Acesso em: 24 jan. 2025.

WHO/FAO – WORLD HEALTH ORGANIZATION/FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. **WHO Technical Report Series, No. 916.** Geneva: World Health Organization; 2003. Disponível em: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/42665/WHO_TRS_916.pdf?sequence=1. Acesso em: 21 ago. 2025.

WONG, M. S.; BUNDY, D. A. P.; GOLDEN, M. H. N. The rate of ingestion of *Ascaris lumbricoides* and *Trichuris trichiura* eggs in soil and its relationship to infection in two children's homes in Jamaica. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, p. 89–91, 1991.

WU, T.; BOWMAN, D. D. Visceral larval migrans of *Toxocara canis* and *Toxocara cati* in non-canid and non-felid hosts. **Advances in Parasitology**, v. 109, p. 63–88, 2020.

ZHANG, R.; LU, M.; YU, H.; LIU, T.; CUI, Z.; YANG, Y.; ZHOU, M.; LU, Y.; TIAN, H.; TIAN, L.; HAN, L.; HOU, Z. Evaluation of the efficacy of disinfectants and disinfection methods against *Ascaris suum* eggs. **Veterinary Parasitology**, v. 332, 110333, 2024.

APÊNDICE 1 – MANUAL ILUSTRADO PARA VALIDAÇÃO INTERLABORATORIAL

**Manual ilustrado
de um protocolo
para a detecção de
ovos de helmintos
em morangos**

**Mestrando Gabriel Farias Souza
Prof. Dr. Diego Averaldo Guiguet Leal**

Curitiba - 2025

Gabriel Farias Souza

Diego Averaldo Guiguet Leal

MANUAL ILUSTRADO DE UM PROTOCOLO PARA DETECÇÃO DE OVOS
DE HELMINTOS EM MORANGOS

Curitiba – PR

PPGAN/UFPR

2025

O presente Manual foi elaborado para utilização dos laboratórios convidados para o processo de intervalidação de protocolo, elaborado no contexto de mestrado de Gabriel Farias Souza, sob orientação do Prof. Dr. Diego Averaldo Guiguet Leal.

Os resultados obtidos durante a pesquisa evidenciaram boa aplicabilidade do protocolo padronizado para recuperar diferentes espécies de helmintos parasitos neste tipo de fruta vermelha, contribuindo para o setor de vigilância epidemiológica e sanitária, visto que inexiste um método padronizado para aferição da sanidade parasitológica neste tipo de fruta.

Para chegar no protocolo apresentado, foram necessários diversos testes a fim de encontrar o que obteve melhor desempenho em recuperar ovos de helmintos contaminados artificialmente em morangos.



Manual ilustrado de um protocolo para detecção de ovos de helmintos em morangos © 2025 by Gabriel Farias Souza and Diego Averaldo Guiguet Leal is licensed under CC BY-NC 4.0

Coordenação

Prof. Dr. Diego Averaldo Guiguet Leal (UFPR)

Elaboração

Prof. Dr. Diego Averaldo Guiguet Leal (UFPR)

Gabriel Farias Souza (mestrando, PPGAN/UFPR)

Diagramação

Ana Gabriela de Paula

Gabriel Farias Souza (mestrando, PPGAN/UFPR)

Ilustrações originais

Ana Maria de Paula

Contato

Diego Averaldo Guiguet Leal: diego.leal@ufpr.br

1.ª Edição 2025

Laboratório de Parasitologia Ambiental

Programa de Pós-graduação em Alimentação e Nutrição (PPGAN)

Universidade Federal do Paraná (UFPR)

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 Recomendações gerais | 1 |
| 2 Preparativos | 2 |
| 3 Contaminação artificial em morangos | 3 |
| 3.1 Materiais necessários..... | 3 |
| 3.2 Procedimento passo a passo | 4 |
| 4 Remoção dos ovos inoculados em morangos | 6 |
| 4.1 Materiais necessários..... | 6 |
| 4.2 Procedimento passo a passo | 8 |
| 5 Concentração dos ovos inoculados em morangos | 17 |
| 5.1 Materiais necessários..... | 17 |
| 5.2 Procedimento passo a passo | 18 |
| 6 Busca de ovos de parasitos em microscópio óptico..... | 21 |
| 6.1 Materiais necessários..... | 21 |
| 6.2 Procedimento passo a passo | 22 |
| 7 Instruções de preparo das soluções eluentes | 28 |
| 7.1 Solução de Alconox® a 1% | 28 |
| 7.2 Solução de Alconox® a 0,1% | 28 |
| 7.3 Solução de Tween® 80 a 0,1% | 28 |

1 RECOMENDAÇÕES GERAIS

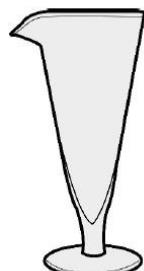
- O uso de jaleco no interior do laboratório é de uso obrigatório.
- Cabelos compridos devem ser presos por questões de segurança.
- Comer, beber, fumar, aplicar cosméticos, bem como levar objetos do laboratório à boca não são permitidos.
- Nunca deixe de lavar adequadamente os materiais de laboratório utilizados: lavar itens que receberam amostras contaminadas com solução de Tween® (polissorbato) 80 a 0,1%, faça enxágue com água da torneira, e só depois com detergente neutro e bucha. Lavar três vezes com água da torneira e repassar com água deionizada também por três vezes. Seguido de cloração por 15 minutos e enxágue.
- Guardar as micropipetas sempre na posição vertical, ajustadas para o volume máximo (posição de descanso do mecanismo).
- Sempre verifique se as balanças se encontram niveladas antes de usá-las. Verifique o indicador de nível.
- Após utilizar as centrífugas, verifique a ocorrência de respingos ou vazamentos de suas amostras. Limpe adequadamente as paredes internas, o rotor e o suporte de tubos com pano úmido, borrifando um pouco de água sanitária, e repassando com álcool 70%. Seque adequadamente ao término.
- Nunca guarde itens em geladeira sem identificação.
- Mantenha as bancadas limpas, secas e organizadas. Não deixe materiais acumulados, apenas os itens indispensáveis para os experimentos.

2 PREPARATIVOS

Será necessário marcar nos cálices de sedimentação o volume de 10 mL (caso essa marcação já não exista), assim como marcar nos tubos de sedimentação o volume de 1,5 mL. Você pode fazer as marcações utilizando água destilada e uma proveta de volume condizente ou a balança de precisão. Isso facilitará a remoção do sobrenadante em etapas futuras.

Também precisaremos eluir materiais com solução de Tween® 80 a 0,1% com antecedência, pois é necessário que a solução seque antes do uso, formando uma película protetora na parte interna dos itens eluídos. Programe-se para que a secagem completa possa ocorrer (p. ex.: secagem *overnight*).

Durante todo o ensaio, os seguintes materiais precisam ser eluídos:



Cálices de sedimentação



Peneiras plásticas



Pincéis



Ponteiras de
micropipeta



Pipetas Pasteur de vidro
com tetina



Tubos de centrifugação

3 CONTAMINAÇÃO ARTIFICIAL EM MORANGOS

3.1 MATERIAIS NECESSÁRIOS



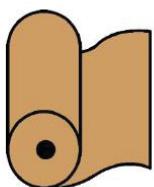
1 unidade
Balança de precisão



1 unidade (10mL)/amostra
Becker de vidro com água destilada



quanto baste (q.b.)
Folha de alumínio



q.b.
Papel Kraft



1 unidade (100 µL)
Micropipeta
+ ponteiras eluídas



1 unidade/ensaio
Microtubo com suspensão de ovos



55-60 g/ensaio (\pm 5 unidades)
Morangos com folhas



1 unidade/ensaio
Pinça ponta romba

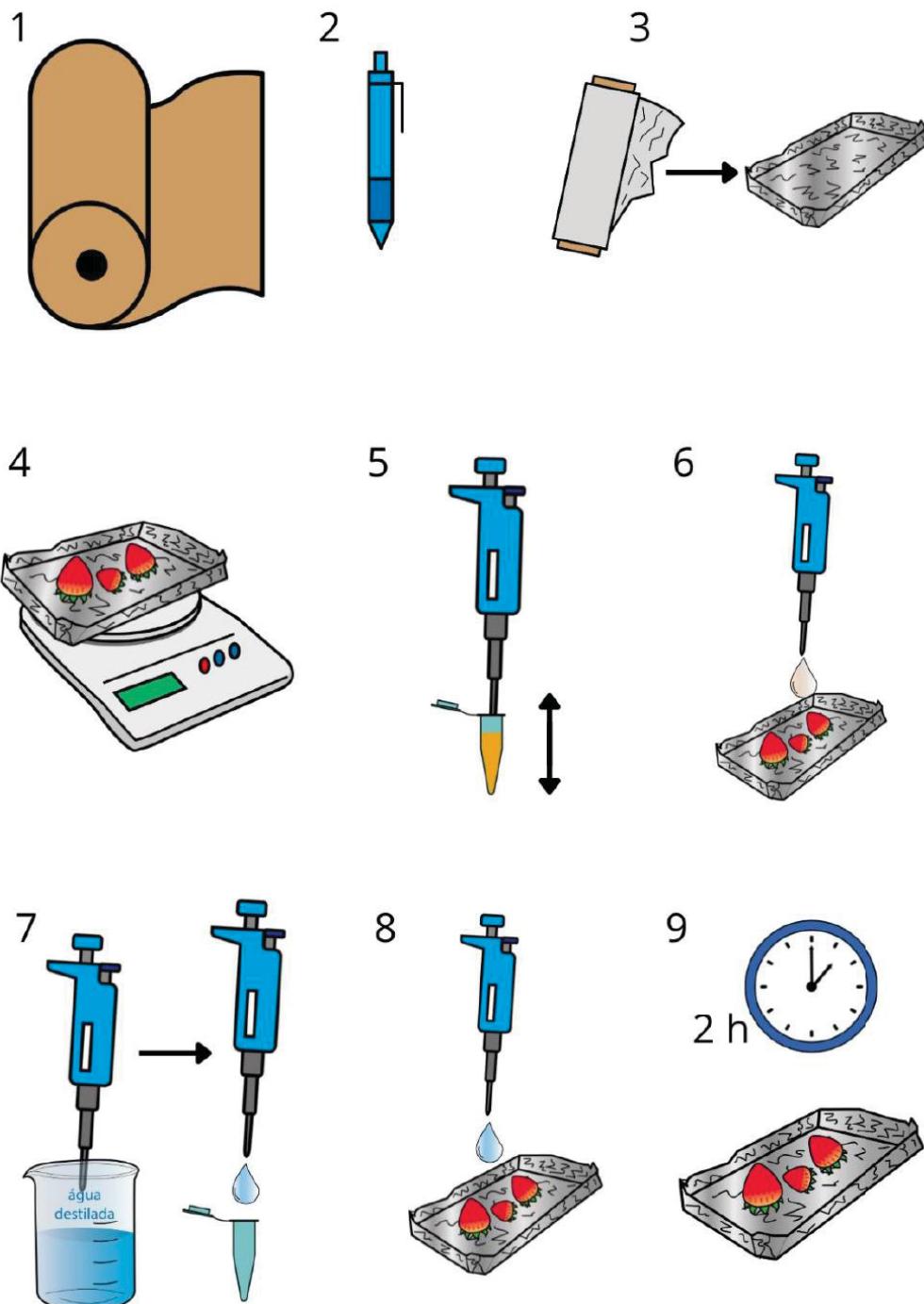
Você receberá o microtubo com suspensão de ovos pronto para uso, não é necessário fazer qualquer tipo de diluição do conteúdo do microtubo.

Se estiver fazendo mais de um ensaio por vez, lembre-se de não utilizar a mesma ponteira da micropipeta, evitando contaminação cruzada entre os ensaios.

3.2 PROCEDIMENTO PASSO A PASSO

- 1 Forre a bancada com papel kraft.
- 2 Anote o código da amostra em todos os itens que achar necessário, para não misturar amostras/ensaios/lavagens.
- 3 Molde um recipiente com a folha de alumínio, para que fique com formato similar a uma bandeja, não se esqueça de escrever o código da amostra.
- 4 Utilizando a bandeja de folha de alumínio, pese entre 55-60 g de morangos (equivalente a aproximadamente 5 morangos médios).
- 5 Abra o microtubo com a suspensão de ovos e homogeneíze o conteúdo aspirando e soltando o líquido com a micropipeta.
- 6 Com a mesma micropipeta e ponteira, contamine os morangos com a suspensão de ovos de helminto, espalhando o líquido uniformemente entre os morangos. Dê preferência para ejetar o líquido na base do morango, para que o uso da pinça nas folhas do morango não remova ovos, e em apenas uma face do fruto, para que nenhum ovo fique grudado na bandeja de alumínio.
- 7 Com a mesma micropipeta e ponteira, colete 100 μ L de água destilada do Becker de 10 mL, e ejete no microtubo que continha a solução de ovos, para assim lavar possíveis ovos que ficaram no microtubo e ponteira. Descarte a água que sobrou no Becker, devido ao contato com a ponteira contaminada.
- 8 Com a mesma micropipeta e ponteira, homogeneíze a solução como feito antes, colete os 100 μ L de água destilada do microtubo contaminado e espalhe uniformemente entre os morangos. **Cuidado:** gotas da solução não devem escorrer para a bandeja, isso pode prejudicar a qualidade do ensaio.
- 9 Deixe os morangos repousarem à temperatura ambiente até que o líquido inoculado seque totalmente, esse processo deve durar aproximadamente duas horas. Aproveite o tempo para organizar as próximas etapas (p. ex.: aquecer a solução eluente). **Cuidado:** Evite mover a bandeja com os morangos, isso pode fazer alguma porção do líquido escorrer, prejudicando a qualidade do ensaio.

Contaminação artificial em morangos



4 REMOÇÃO DOS OVOS INOCULADOS EM MORANGOS

4.1 MATERIAIS NECESSÁRIOS



1 unidade (500 mL)/ensaio
Becker de vidro (para aquecimento da solução)



1 unidade (500 mL)/ensaio
Becker de vidro (para manuseio da amostra)



q.b.
Solução de eluição
Tween® 80 0,1%



± 450 mL/ensaio
Solução de eluição
Alconox® a 0,1%



1 unidade (5 mL)/Becker
Pipeta Pasteur descartável



1 unidade (500 mL)
Proveta



1 unidade
Banho-maria digital



55-60 g/ensaio
Morangos previamente contaminados



1 unidade/ensaio
Pinça ponta romba



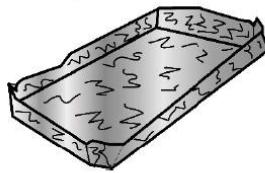
1 unidade/ensaio
Pincel redondo, pelo de
pônei, nº 20



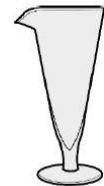
1 unidade/ensaio
Peneira plástica



1 unidade/ensaio
Saco plástico tipo zip
(17 x 24 cm)



1 unidade/ensaio
Bandeja de alumínio



2 unidades (250 mL)/ensaio
Cálice de sedimentação

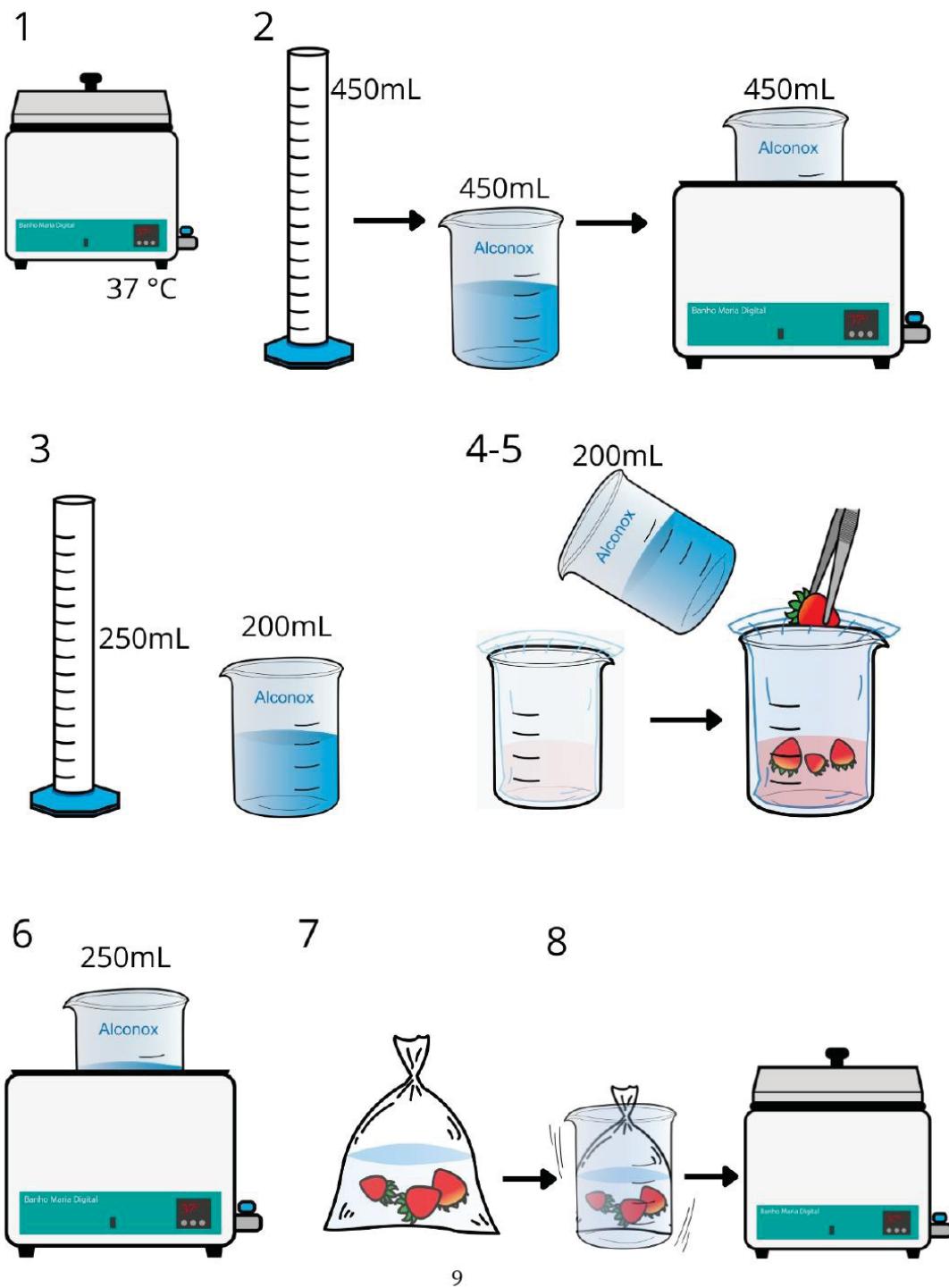


q.b.
Folha de alumínio

4.2 PROCEDIMENTO PASSO A PASSO

- 1 Prepare o banho-maria digital, regulando a temperatura para 37 °C.
- 2 Com a proveta, meça 450 mL de Alconox®, e coloque no Becker de vidro de 500 mL. Posicione-o dentro do banho-maria digital, deixando alguns minutos para que o líquido chegue a 37 °C.
- 3 Após atingir a temperatura ideal, utilize a proveta novamente para retirar 250 mL de Alconox® morno, reserve, deve ter restado no Becker 200 mL de Alconox®.
- 4 Coloque o saco plástico em outro frasco Becker de vidro de 500 mL, da mesma forma que se coloca o saco de lixo em uma lixeira.
- 5 Coloque os 200 mL de Alconox® no saco plástico e, com auxílio da pinça, deposite os morangos já contaminados e secos (priorize segurar pelas folhas do morango). **Não** dispense a bandeja de alumínio.
- 6 Coloque os 250 mL de Alconox® morno que estavam na proveta de volta ao primeiro Becker de vidro de 500 mL e devolva-o ao banho-maria, para não perder temperatura.
- 7 Feche bem o saco plástico tipo zip, mantendo um pouco de ar dentro do saco plástico, para facilitar a posterior agitação.
- 8 Coloque o saco plástico dentro do Becker de vidro, agite levemente o Becker com o saco plástico e leve-o ao banho-maria.

Remoção dos ovos inoculados em morangos



9 Faça uma leve agitação como na etapa anterior quando o Becker com o saco plástico completar 5 e 10 minutos dentro do banho-maria.

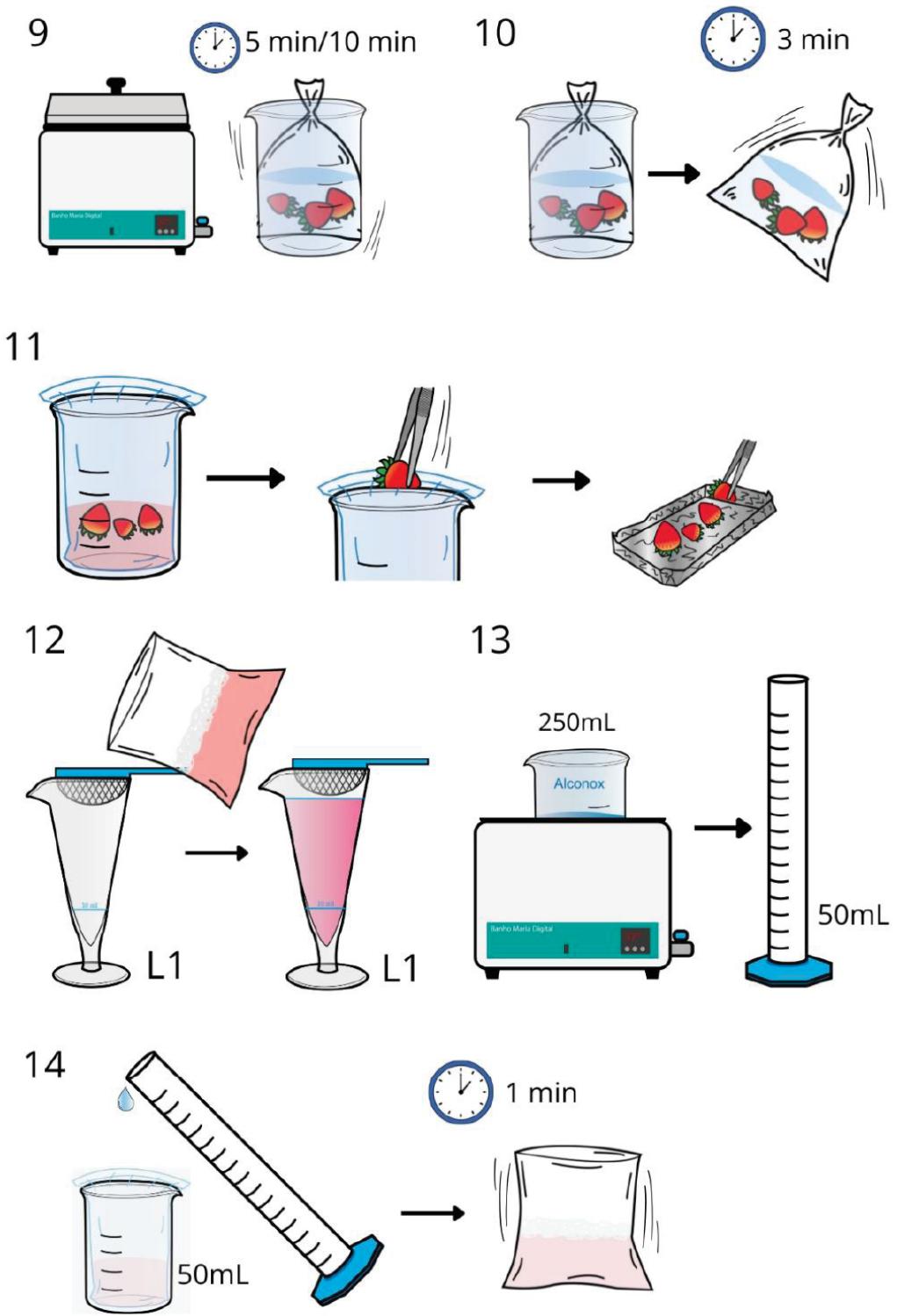
10 Após 15 minutos completos, retire do banho-maria o Becker de vidro com o saco plástico. Não dispense o Becker e o banho-maria. Proceda com agitação manual vigorosa do saco plástico por 3 minutos.

11 Abra o saco plástico (use o frasco Becker como apoio novamente) e retire, com o auxílio da pinça, os morangos, depositando-os na bandeja de alumínio. Sacuda-os levemente dentro do saco plástico para retirar o excesso de líquido.

12 Peneire o líquido do saco plástico no cálice de sedimentação da lavagem 1 (L1).

13 Transfira 50 mL de Alconox®, que estava aquecendo no banho-maria, para a proveta.

14 Transfira os 50 mL de Alconox® da proveta para o saco plástico. Agite suavemente por 1 minuto.



15 Esfregue o saco plástico para que gotas nas paredes do saco desçam para o fundo, e peneire o líquido do saco plástico no mesmo cálice de sedimentação (lavagem 1). **Não** descarte o saco plástico.

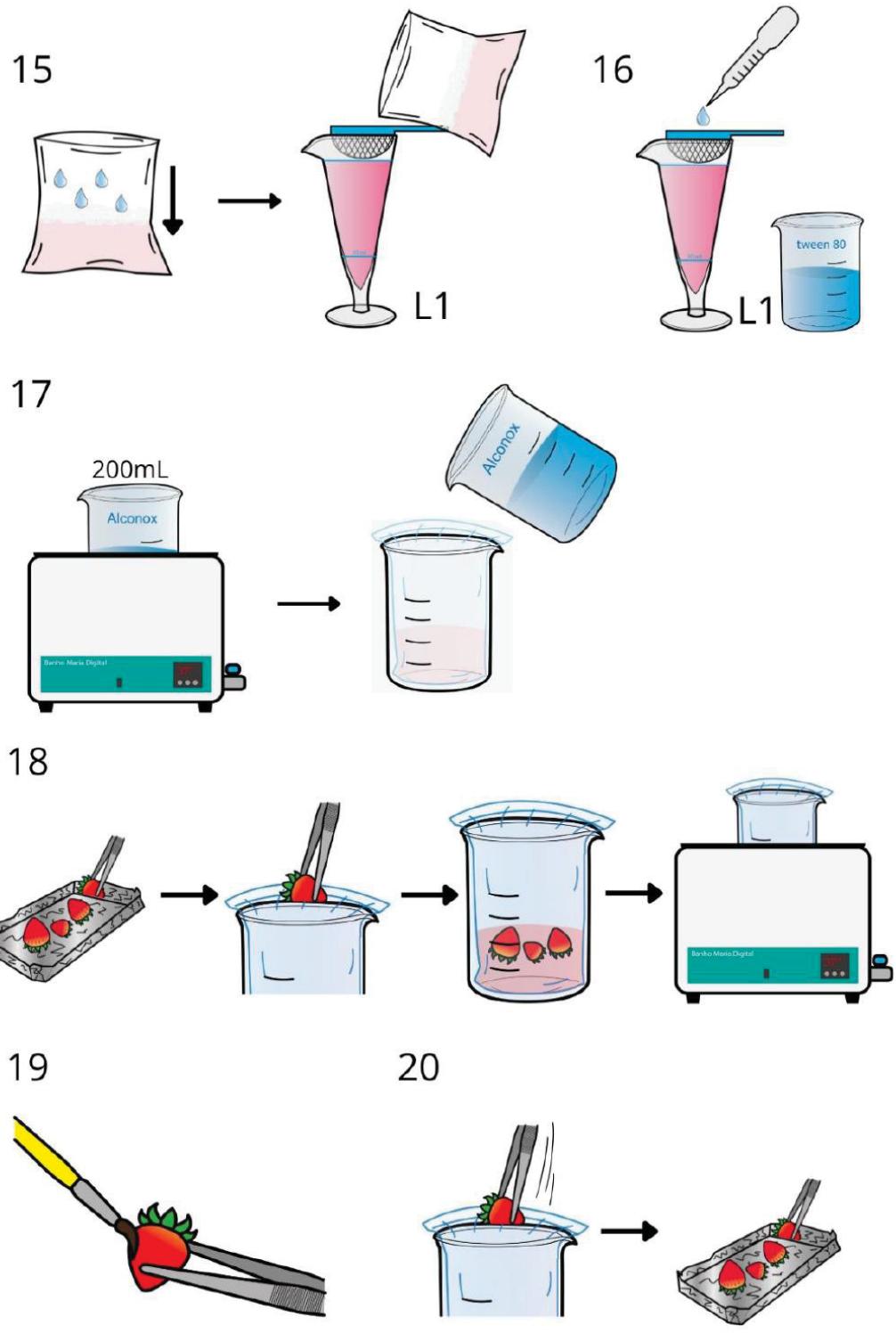
16 Coloque uma porção livre de Tween® 80 para ajudar a desprender possíveis ovos da peneira plástica. Agora, o cálice de sedimentação deverá ter \pm 250 mL de líquido.

17 Retire o Becker que está no banho-maria aquecendo os 200 mL restantes de Alconox®. Coloque o saco plástico no Becker de suporte novamente e transfira o Alconox® para o saco plástico.

18 Transfira os morangos que estão na bandeja de alumínio para o Becker com saco plástico e Alconox®. Coloque o Becker com saco plástico no banho-maria.

19 Com o auxílio de pincel e pinça ponta romba, lave novamente os morangos, ainda dentro do banho-maria, segurando o fruto pelas folhas, se possível. Confira se cada morango foi devidamente pincelado em todos os lados. O processo de lavagem não deve ultrapassar 3 minutos.

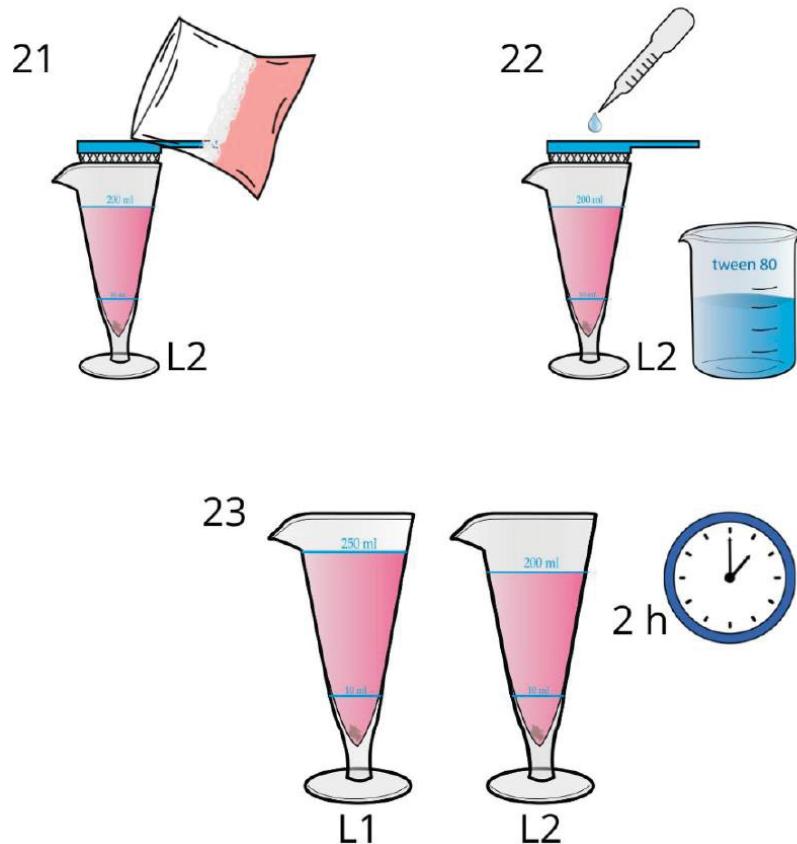
20 À medida que for esfregando os morangos, remova-os do saco plástico (sacudindo-os antes para que soltem gotas) e deposite-os na bandeja de alumínio. Quando não houver mais morangos, bata o pincel nos cantos do saco plástico, e retire o Becker com saco plástico do banho-maria.



21 Despeje o líquido resultante da nova lavagem em um novo cálice de sedimentação (lavagem 2 – L2) com a mesma peneira do primeiro cálice. Nesse momento o cálice deve ter \pm 200 mL de líquido. Descarte os frutos e o saco plástico como lixo infectante.

22 Coloque uma porção livre de Tween® 80 para ajudar a desprender possíveis ovos da peneira plástica.

23 Deixe os cálices em repouso por duas horas, cubra-os com folha de alumínio para evitar perturbações no sedimento. Os cálices devem ficar posicionados de modo que facilite passos seguintes, sem necessidade de deslocá-los do lugar, evitando assim que o sedimento decantado se misture novamente ao sobrenadante. Aproveite esse tempo para organizar as próximas etapas.



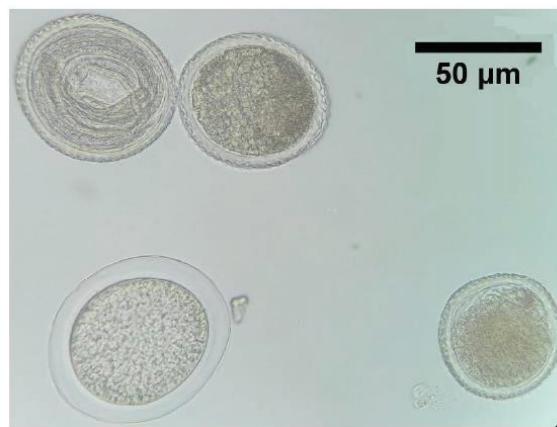
O QUE POSSO ENCONTRAR DURANTE A LEITURA?

Os ovos das soluções para inoculação foram obtidos pela remoção direta destes do útero de vermes fêmea. Devido a isso, os ovos não entraram em contato com sais biliares, assim permanecendo com coloração mais clara.

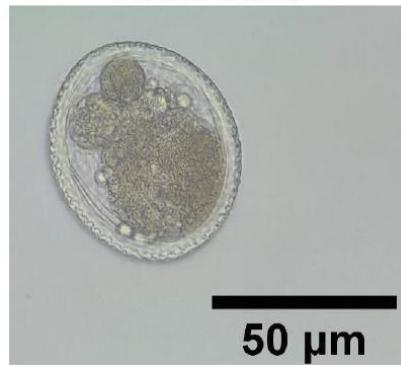
Para facilitar a identificação dos ovos na leitura ao microscópio óptico, as suspensões de ovos receberam lugol como corante, sendo desnecessário adicioná-lo durante a leitura.

Traremos agora exemplos de ovos de *Toxocara canis* que podem estar presentes durante a leitura, em diferentes estágios de embrionamento.

Observe que os ovos podem estar larvados ou não.



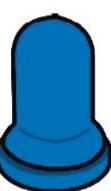
Ovos de *T. canis*



Ovo de *T. canis*

5 CONCENTRAÇÃO DOS OVOS INOCULADOS EM MORANGOS

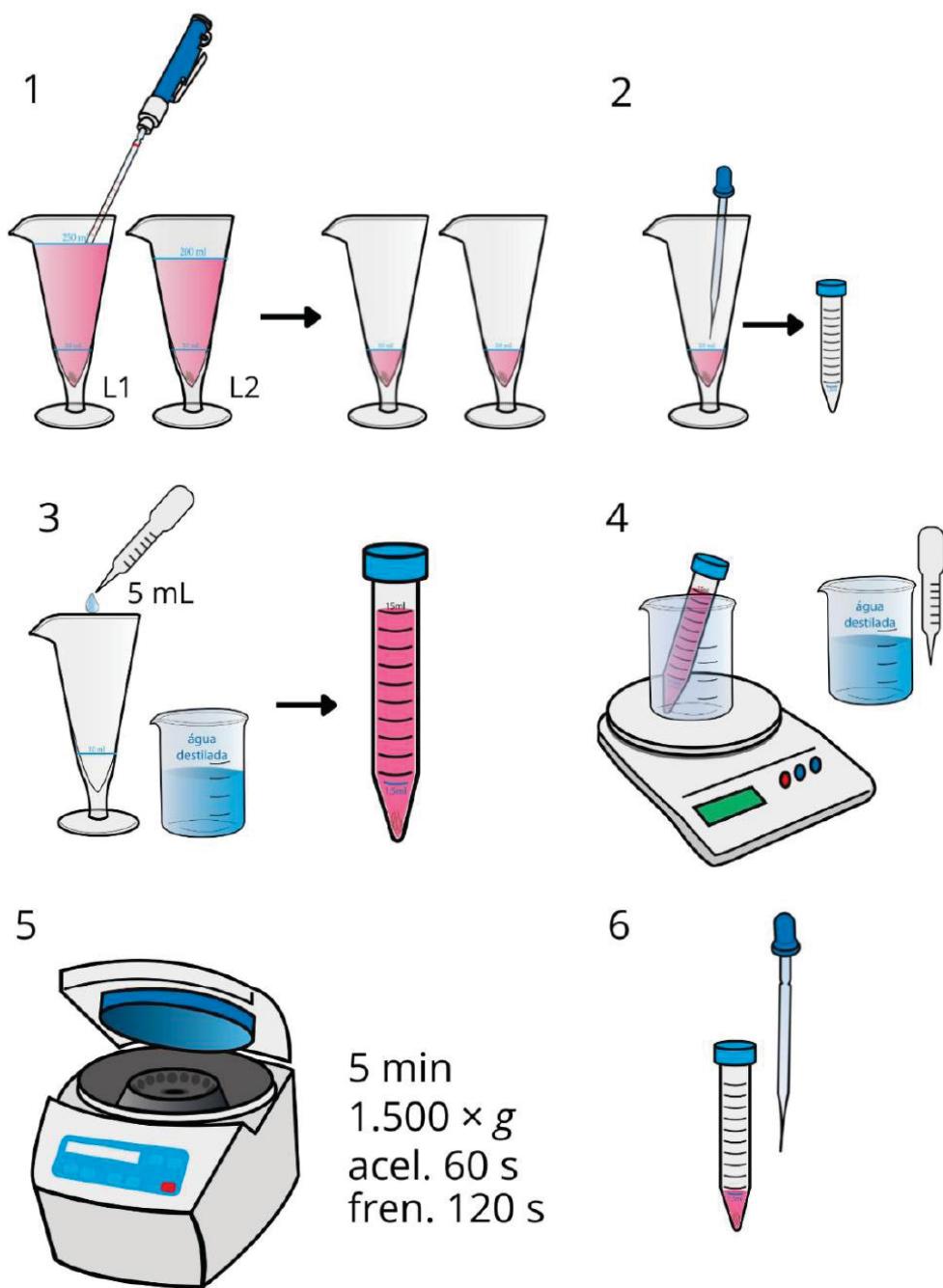
5.1 MATERIAIS NECESSÁRIOS

| | | | | | |
|---|---|--|---|---|---|
|  | 1 unidade (100 mL) Becker de vidro (suporte de tubos na balança) |  | 1 unidade (5 mL)/Becker Pipeta Pasteur descartável |  | 1 unidade (50 mL)/ensaio Becker de vidro com água destilada |
|  | 1 unidade Centrífuga de tubos |  | 1 unidade Pipetador pi-pump |  | 2 unidades (20 mL)/ensaio Pipeta de plástico |
|  | 2 unidades/ensaio Pipeta Pasteur de vidro |  | 2 unidades/ensaio Tetina |  | 4 unidades (15 mL)/ensaio Tubo de centrifugação (2 são para suporte) |
|  | 2 unidades/ensaio (L1 e L2) Cálices de vidro da etapa anterior |  | 1 unidade Balança de precisão | | |

5.2 PROCEDIMENTO PASSO A PASSO

- 1 Após as duas horas de sedimentação, retire cuidadosamente o sobrenadante com auxílio da pipeta de 20 mL e pi-pump, deixando 10 mL do sedimento (como marcado previamente).
- 2 Transfira o sedimento para o tubo de centrifugação com auxílio da pipeta Pasteur de vidro e tetina. **Não** misture os cálices de sedimentação, queremos saber dos resultados separados.
- 3 Lave cada cálice de sedimentação com 5 mL de água destilada. Esses 5 mL de água destilada serão adicionados aos 10 mL já presentes no tubo de centrifugação, completando 15 mL.
- 4 Na balança de precisão, pese os tubos de centrifugação com o apoio do frasco Becker de 100 mL. Faça os ajustes necessários com água destilada para parear o peso dos tubos antes de colocar na centrífuga.
- 5 Centrifugue por 5 minutos a $1.500 \times g$, com 60 segundos de aceleração e 120 segundos de frenagem. Retire os tubos da centrífuga com cuidado para não desmanchar o sedimento formado no fundo.
- 6 Descarte o sobrenadante com o auxílio da pipeta Pasteur de vidro e tetina, deixando 1,5 mL do sedimento (como marcado previamente). Guarde os tubos na geladeira ou prossiga para leitura.

Concentração dos ovos inoculados em morangos



O QUE POSSO ENCONTRAR DURANTE A LEITURA?

Além dos ovos, artefatos e detritos podem estar presentes no sedimento, como pólens, larvas, ovos de ácaro, artrópodes inteiros (vivos ou não) e fragmentos.

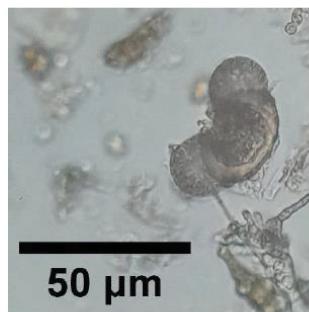
Traremos agora exemplos de artefatos que podem estar presentes durante a leitura.



Larva



Possível ovo de ácaro



Pólen



Pólen



Artefato



Artrópode inteiro

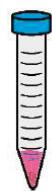
6 BUSCA DE OVOS DE PARASITOS EM MICROSCÓPIO ÓPTICO

6.1 MATERIAIS NECESSÁRIOS



1 unidade (100 μ L)

Micropipeta + ponteiras eluídas



1 unidade

Tubo com amostra



1 unidade

Microscópio óptico



q.b.

Lâminas de vidro para microscópio



q.b.

Lamínulas de vidro para microscópio
(24 x 24 mm)



1 unidade (5 mL)

Pipeta Pasteur descartável



1 unidade (50 mL)

Becker de vidro com água destilada

6.2 PROCEDIMENTO PASSO A PASSO

1 Ajuste a micropipeta da amostra para 50-70 μL . O volume de amostra lido por vez vai depender do quanto viscosa ela estará. A amostra não deve extravasar da lamínula.

2 Abra o tubo da amostra e homogeneíze o conteúdo aspirando e soltando o líquido com a micropipeta.

3 Cuidadosamente, cole o volume escolhido da amostra e disponha no centro da lâmina.

4 Coloque a lamínula por cima, encostando uma das arestas na lâmina em ângulo de 45°, arrastando-a ao encontro da amostra até que o líquido se espalhe pela aresta inteira, quando se deve soltar a lamínula para que esta caia suavemente sobre a amostra. **Não** é necessário adicionar lugol.

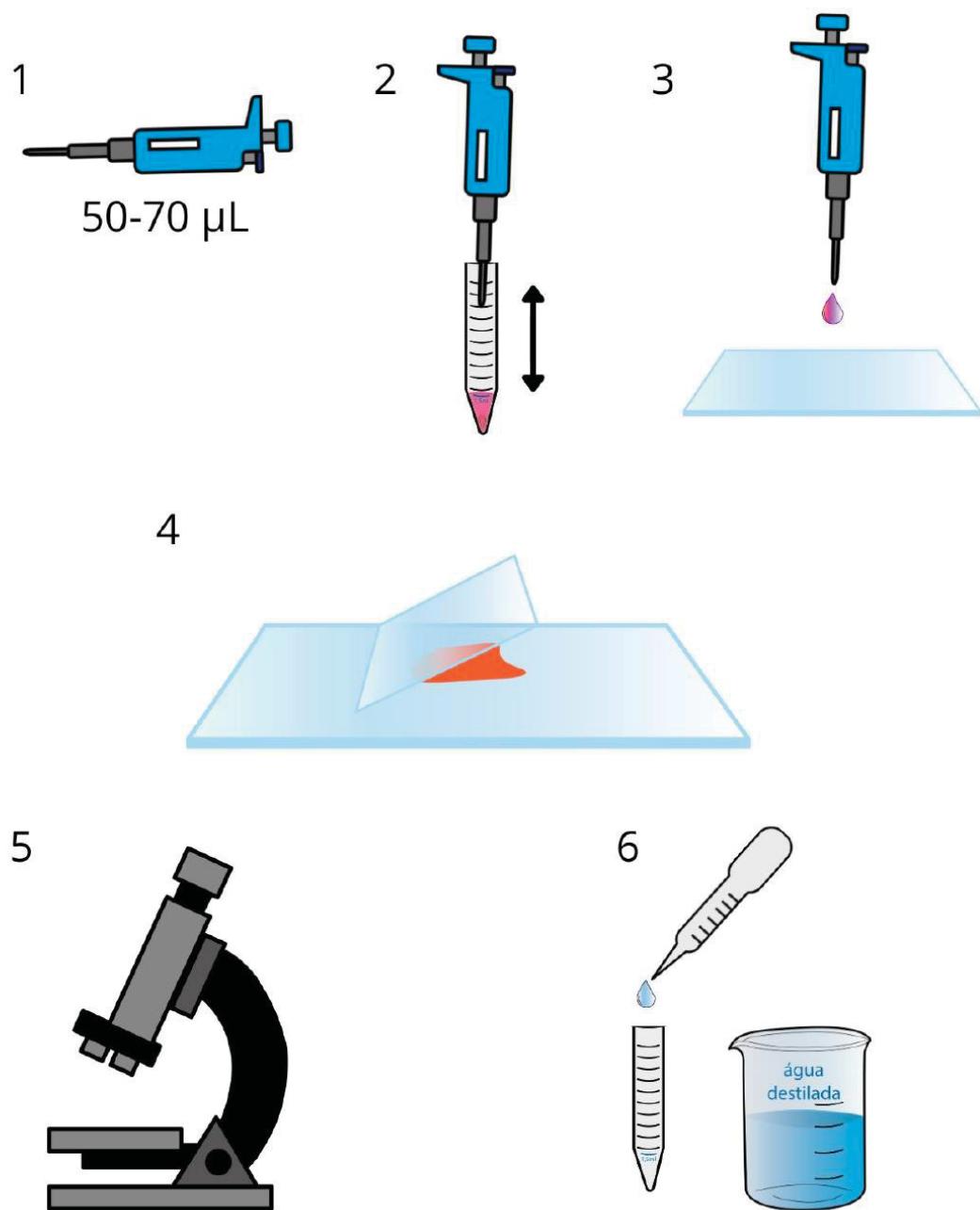
5 Coloque a lâmina no *charriot* do microscópio óptico e faça a leitura. Marque número de ovos e ovos larvados encontrados.

6 Após o esvaziamento do tubo da amostra, lave com pequena porção de água destilada, para recuperar possíveis ovos que ficaram no tubo. Leia esse líquido de lavagem como nos passos anteriores.

Passe para próxima amostra somente quando acabar o conteúdo do tubo da amostra anterior. Troque a ponteira da micropipeta quando efetuar a mudança de amostra.

As páginas seguintes podem ser usadas para computar as informações de leitura.

Busca de ovos de parasitos em microscópio óptico



ENSAIO:

LAVAGEM 1 – L1

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

LAVAGEM 2 – L2

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

ENSAIO:

LAVAGEM 1 – L1

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

LAVAGEM 2 – L2

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

ENSAIO:

LAVAGEM 1 – L1

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

LAVAGEM 2 – L2

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

ENSAIO:

LAVAGEM 1 – L1

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

LAVAGEM 2 – L2

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

ENSAIO:

LAVAGEM 1 – L1

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

LAVAGEM 2 – L2

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

ENSAIO:

LAVAGEM 1 – L1

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

LAVAGEM 2 – L2

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

ENSAIO:

LAVAGEM 1 – L1

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

LAVAGEM 2 – L2

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

ENSAIO:

LAVAGEM 1 – L1

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

LAVAGEM 2 – L2

| Lâmina | Informações da leitura | Resp. |
|--------------|--|-------|
| Ex.: 1-10 | OVO = 0, 1, ... OVO _{LARVADO} = 0, 1, ... | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| Total | | |

7 INSTRUÇÕES DE PREPARO DAS SOLUÇÕES ELUENTES

7.1 SOLUÇÃO DE ALCONOX® A 1%

Em um Becker de vidro, dissolver 10 g do detergente em pó em 1 litro de água destilada, com auxílio de agitador magnético em baixa rotação (para evitar formação de espuma). Refrigerar em recipiente fechado e etiquetado. Não preparar volume inferior a 1 litro, para não prejudicar a precisão da diluição.

7.2 SOLUÇÃO DE ALCONOX® A 0,1%

Em um Becker de vidro, dissolver 100 mL da solução de Alconox® a 1% em 900 mL de água destilada. Em caso de uso não imediato, refrigerar em recipiente fechado e etiquetado.

7.3 SOLUÇÃO DE TWEEN® 80 A 0,1%

Em um Becker de vidro, dissolver 1 mL do detergente Tween® 80 em 999 mL de água destilada, com auxílio de agitador magnético em baixa rotação (para evitar formação de espuma). Refrigerar em recipiente fechado e etiquetado.