



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

MAYKON RAMOS BRASILEIRO

**INQUÉRITO SORO-EPIDEMIOLOGICO DAS INFECÇÕES POR *COXIELLA
BURNETII* EM BOVINOS DA REGIÃO OESTE DO ESTADO DE SÃO PAULO**

Presidente Prudente - SP
2018

MAYKON RAMOS BRASILEIRO

INQUÉRITO SORO-EPIDEMIOLOGICO DAS INFECÇÕES POR *COXIELLA BURNETII* EM BOVINOS DA REGIÃO OESTE DO ESTADO DE SÃO PAULO

Dissertação apresentada Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal – Área de concentração: fisiopatologia animal.

Orientador:
Prof. Dr. Rogério Giuffrida.

636.089 695 9 Brasileiro, Maykon Ramos.
B823i Inquérito soro-epidemiológico das infecções por
Coxiella burnetii em bovinos da região Oeste do estado
de São Paulo / Maykon Ramos Brasileiro. – Presidente
Prudente, 2018. 28f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) -
Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, Presidente
Prudente, SP, 2018.

Bibliografia.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Giuffrida.

1. Inquérito soro-epidemiológico; 2. Zoonose emergente;
3. Febre Q; 4. Coxielose; 5. *Coxiella burnetii*.

MAYKON RAMOS BRASILEIRO

INQUÉRITO SORO-EPIDEMIOLOGICO DAS INFECÇÕES POR *COXIELLA BURNETII* EM BOVINOS DA REGIÃO OESTE DO ESTADO DE SÃO PAULO

Dissertação apresentada Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal – Área de concentração: fisiopatologia animal.

Presidente Prudente, 31 de Outubro de 2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Orientador Rogério Giuffrida.
Instituição: Universidade do Oeste Paulista - Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof. Dr. Marcelo George Mungai Chacur.
Instituição: Universidade do Oeste Paulista - Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof. Dr. Lourdes Ap. Zampieri D'Andréa
Instituição: Laboratório Regional - Instituto Adolfo Lutz
Presidente Prudente - SP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, à minha mãe e toda minha família pelo apoio incondicional que me deram em todos os momentos.

Em especial á minha esposa Mirian Brasileiro pela compreensão, dedicação e motivação durante todo processo de estudo e elaboração do projeto.

AGRADECIMENTOS

A presente dissertação de mestrado não poderia chegar a bom porto sem o precioso apoio de várias pessoas. Em primeiro lugar, não posso deixar de agradecer ao meu orientador, Professor Doutor Rogério Giuffrida por toda a paciência, empenho e sentido prático com que sempre me orientou neste trabalho e em todos aqueles que realizei durante o mestrado. Muito obrigado por me corrigir quando necessário sem nunca me desmotivar.

Desejo igualmente agradecer a Professora Doutora Lizziane Winkelstroter pela dedicação de seu tempo e conhecimento, aos colegas de estudo Anavir Christofoli, Paula Giudice, Prof. Dr. Vamilton Santarém e Henrique Salesi pelo apoio no desenvolvimento e conclusão deste projeto.

RESUMO

Inquérito soro-epidemiológico das infecções por *Coxiella burnetii* em bovinos da região Oeste do estado de São Paulo

A coxielose é uma zoonose associada à bactéria intracelular *Coxiella burnetii* sendo uma infecção comum em ruminantes e humanos de países asiáticos e europeus. No Brasil estudos epidemiológicos sobre a enfermidade são escassos. O presente estudo avaliou a presença de anticorpos anti-*Coxiella* (fase II) em 231 amostras de soro bovino provenientes de doze fazendas de leite e corte da região Oeste do estado de São Paulo, colhidas entre os anos de 2012-2018, que estavam mantidas em estoque sob congelamento a -25°C, utilizadas em outras rotinas diagnósticas. As amostras foram testadas pelo método ELISA, utilizando kit comercial importado (Bio-X - Diagnostics®). Do total avaliado, 176 (76,2%) animais foram sorologicamente positivos. Onze (91,6%) das 12 propriedades apresentaram ao menos um animal positivo, com prevalências variando entre 20 e 100%. Os resultados denotam alta prevalência da coxielose em bovinos de leite e corte na região Oeste Paulista, sugerindo que a enfermidade deve ser avaliada com relação aos potenciais impactos na reprodução dos animais, incluindo diagnóstico diferencial com patógenos abortivos. Considerando-se o risco de transmissão zoonótica e o desconhecimento acerca da doença, as autoridades de saúde locais devem estar atentas a possíveis casos humanos subdiagnosticados ou confundidos com outras enfermidades similares.

Palavras-chave: Inquérito soro-epidemiológico; Zoonose emergente; Febre Q; Coxielose; *Coxiella burnetii*.

SUMÁRIO

1 ARTIGO CIENTÍFICO	8
ANEXO.....	18

1 ARTIGO CIENTÍFICO

Seroepidemiological survey of *Coxiella burnetii* infections in cattle from the western region of the state of São Paulo

Inquérito soro-epidemiológico das infecções por *Coxiella burnetii* em bovinos da região Oeste do estado de São Paulo

Maykon Ramos Brasileiro^{1*}; Rogério Giuffrida²; Lizziane Kretli Winkelstroter Eller³; Anavir Marcos Christofoli⁴; Paula Andrea Fabris Giudice⁵; Vamilton Alvares Santarém⁶; Henrique Salesi Ramos⁷

ABSTRACT

Coxielose is a zoonosis associated with the intracellular bacterium *Coxiella burnetii* being a common infection in ruminants and humans from Asian and European countries. In Brazil, epidemiological studies on the disease are scarce. The present study evaluated the presence of anti-*Coxiella* antibodies (phase II) in 231 bovine serum samples from 12 dairy farms in the western region of the state of São Paulo, collected between the years of 2012-2018, which were maintained in stock under freezing at -25°C, used in other diagnostic routines. Samples were tested by the ELISA method using imported commercial *kit* (Bio-X - Diagnostics®). Of the total evaluated, 176 (76.2%) animals were serologically positive. Eleven (91.6%) of the 12 farms presented at least one positive animal, with prevalence varying between 20 and 100%. The results indicate a high prevalence of coxielose in milk and beef cattle in the western region of São Paulo, suggesting that the disease should be evaluated in relation to the potential impacts on animal reproduction, including differential diagnosis with abortive pathogens. Considering the risk of zoonotic transmission and lack of knowledge about the disease, local health authorities should be aware of possible human cases that are underdiagnosed or confused with other similar diseases.

Keywords: Serum epidemiological survey; Emerging zoonosis; Q fever; Coxielose; *Coxiella burnetii*.

RESUMO

A coxielose é uma zoonose associada à bactéria intracelular *Coxiella burnetii* sendo uma infecção comum em ruminantes e humanos de países asiáticos e europeus. No Brasil estudos epidemiológicos sobre a enfermidade são escassos. O presente estudo avaliou a presença de anticorpos anti-*Coxiella* (fase II) em 231 amostras de soro bovino provenientes de doze fazendas de leite e corte da região Oeste do estado de São Paulo, colhidas entre os anos de 2012-2018, que estavam mantidas em estoque sob congelamento a -25°C, utilizadas em outras rotinas diagnósticas. As amostras foram testadas pelo método ELISA, utilizando *kit* comercial importado (Bio-X - Diagnostics®). Do total avaliado, 176 (76,2%) animais foram sorologicamente positivos. Onze (91,6%) das 12 propriedades apresentaram ao menos um animal positivo, com prevalências variando entre 20 e 100%. Os resultados denotam alta prevalência da coxielose em bovinos de leite e corte na região Oeste Paulista, sugerindo que a enfermidade deve ser avaliada com relação aos potenciais impactos na reprodução dos animais, incluindo diagnóstico diferencial com patógenos abortivos. Considerando-se o risco de transmissão zoonótica e o desconhecimento acerca da doença, as autoridades de saúde locais devem estar atentas a possíveis casos humanos subdiagnosticados ou confundidos com outras enfermidades similares.

Palavras-chave: Inquérito soro-epidemiológico; Zoonose emergente; Febre Q; Coxielose; *Coxiella burnetii*.

Introdução

A Febre Q é uma zoonose associada à bactéria *Coxiella burnetii*, microrganismo de localização intracelular que infecta ampla variedade de hospedeiros, incluindo ruminantes domésticos como caprinos, ovinos e bovinos, considerados principais reservatórios do agente (QUINN, 2005). Dessa forma, a enfermidade apresenta prevalência elevada em zonas rurais onde estas espécies são exploradas economicamente.

C. burnetii, ao contrário de outros microrganismos de localização intracelular, é capaz de sobreviver no ambiente extracelular na forma de esporos metabolicamente inertes (*Small-Cell Variant-SVC*) consideradas as formas infectantes do agente. Estas formas, altamente resistentes ao ambiente, podem ser inaladas ou ingeridas por hospedeiros suscetíveis a partir de materiais infectantes provenientes de excreções, tecidos e fluídos do sistema reprodutivo de animais hospedeiros (AGERHOLM, 2014). Nos tecidos do hospedeiro são internalizadas em fagolisossomos, e por meio de mecanismos adaptativos, sobrevivem a acidificação e são modificadas para forma metabolicamente ativa (*Large-Cell Variant-LCV*), capaz de se multiplicar por fissão binária no interior dos vacúolos parasitóforos (KAZAR, 2005; WILLIAMS; PEACOCK; MCCAUL, 1981).

Segundo Agerhom (2014) em ruminantes *C. burnetii* é associada a transtornos do sistema reprodutor, incluindo casos esporádicos de abortamento, partos prematuros, natimortos e nascimento de bezerros fracos em bovinos, ovinos e caprinos, após infectar a placenta com subsequente disseminação para o feto via hematogênica ou via amniótica-oral. Ademais, o microrganismo também é capaz de multiplicar-se na glândula mamária de animais de exploração leiteira, constituindo possível via de transmissão para humanos e outros animais (ASTOBIZA et al., 2012; SCHIMMER et al., 2014). Touros soropositivos eliminam o agente no sêmen (KRUSZEWSKA; TYLEWSKA-WIERZBANOWSKA, 1997).

A excreção prolongada e infecção persistente da bactéria em animais portadores facilita a disseminação do agente entre propriedades próximas e para humanos. Ovelhas portadoras podem eliminar o agente nas fezes por até cinco meses após o parto, três meses via descargas vaginais e quatro meses via leite (ASTOBIZA et al., 2010), similarmente ao que foi observado em bovinos (GARCIA-ISPIERTO; TUTUSAUS; LÓPEZ-GATIUS, 2014).

C. burnetii é comumente identificada em carrapatos, o que leva a crer que agem como vetores. Contudo, esta via de transmissão é ainda, questionável, visto que são necessárias investigações mais aprofundadas sobre a ecologia evolutiva da febre Q e os fatores de virulência *C. burnetii*, associados aos vetores (DURON et al., 2015; PSAROULAKI et al., 2014).

Humanos se infectam principalmente pela inalação ou ingestão de partículas infectantes presentes nas fezes, leite, muco vaginal e fetos abortados de ruminantes domésticos, ou por contato com fômites contaminados (GALE et al., 2015; HATCHETTE et al., 2001). Desta forma, indivíduos que trabalham com animais, incluindo tratadores, médicos veterinários e magarefes apresentam predisposição à infecção, comparados a outras ocupações (NJERU et al., 2016). Em humanos, a

infecção é comumente assintomática. As formas sintomáticas apresentam sinais clínicos brandos, ambíguos e inespecíficos (GRAVES; ISLAM, 2016; MAURIN; RAOULT, 1999; RAOULT; FENOLLAR; STEIN, 2002).

No Brasil, apesar do país apresentar ampla gama de potenciais hospedeiros, representada por um dos maiores rebanhos bovinos do mundo, existem poucos estudos acerca da coxielose em animais. Similarmente, a transmissão zoonótica e o registro de casos humanos são escassos no território brasileiro, sugerindo que a doença pode apresentar relevância em saúde pública, contudo vem sendo negligenciada pelas autoridades sanitárias (ROZENTAL et al., 2012; SICILIANO et al., 2008).

O presente estudo teve como objetivo, avaliar a presença de anticorpos anti-*Coxiella* (fase II) em amostras de soro bovino provenientes de fazendas de leite e corte da região Oeste do estado de São Paulo.

Materiais e Métodos

Para o cálculo do tamanho mínimo amostral foram utilizados parâmetros de prevalência média individual esperada= 21,3%, erro amostral máximo = 6% e valor da estatística Z ($Z_{\alpha/2}$) da distribuição normal padronizada para 95% de confiança = 1,96 (BÖTTCHER et al., 2011; CARBONERO et al., 2015; COOPER et al., 2011; EL-MAHALLAWY et al., 2016; MCCAUGHEY et al., 2010; MUSKENS et al., 2011; OHLSON et al., 2014). Segundo bibliografia consultada seriam necessários 179 animais para construção do estudo, optou-se por avaliar 231 amostras provenientes de doze fazendas de exploração leiteira e de corte da região de Presidente Prudente - SP.

Foram utilizados dois bancos de amostras: Banco 1 proveniente do estoque de amostras para contra-prova de exames de brucelose e Banco 2 composto por amostras de inquéritos sorológicos para doenças parasitárias em outros estudos. As amostras foram submetidas ao teste ELISA (Bio-X Diagnostics™ - AbELISA BIO K 298) para pesquisa dos títulos de anticorpos da classe IgG Anti-*Coxiella burnetii* fase II (WEGDAM-BLANS et al., 2012), o método ELISA é prova ouro na pesquisa de anticorpos Anti-*Coxiella*. Todos os procedimentos foram realizados seguindo indicações da bula do fabricante. A leitura da densidade optica foi realizada em leitora ELISA da marca Robonik® versão RZ3 para microplaca equipada com filtro de 450 nm. A validação do teste ELISA e o cálculo do valor de corte, identificando as amostras reagentes e não reagentes, foi realizado, conforme preconizado pelo fabricante.

O resultado obtido da primeira placa ELISA contendo 95 amostras foi submetido à repetição como contraprova, nas mesmas condições supracitadas, os dados em duplicata foram utilizados para confirmação dos resultados obtidos.

Os dados obtidos foram utilizados para a construção de tabelas de frequências, separadamente para fazendas e animais. As prevalências foram estimadas por intervalo com 95% de confiança pelo método de Agresti-Coull (R TEAM, 2018). As frequências de animais soropositivos foram comparadas entre diferentes sistemas de produção após sobrepor intervalos com 95% de confiança

estimados pelo método de Agresti-Coull. Foi estimada a razão de chances (OR) para avaliar o risco de soropositividade em animais de produção leiteira em relação a animais de corte. Todas as análises foram conduzidas no Programa R®. Foi adotado o valor de 5% de nível de significância (R TEAM, 2018).

Resultados

Os resultados referentes à sorologia dos animais estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1 – Soropositividade em bovinos de exploração leiteira e corte em rebanhos da região Oeste do estado de São Paulo

Propriedade	Exploração	Amostras Reagentes (+)	Amostras testadas	Percentual (%)
1	Corte	29	29	100,0%
2	Corte	27	30	90,0%
7	Corte	4	10	40,0%
9	Corte	5	15	33,3%
10	Corte	0	15	0,0%
11	Corte	3	10	30,0%
Total	-	68	109	62,4%
8	Leite	4	4	100,0%
4	Leite	34	36	94,4%
5	Leite	24	25	96,0%
6	Leite	18	22	81,8%
12	Leite	1	5	20,0%
Total	-	81	92	88,0%
3	Misto	27	30	90,0%
Total geral	-	176	231	75,2%

Foram identificadas presença de Anticorpos Anti-*Coxiella* em 176 das 231 amostras de soro analisadas (IC95% = 70,3% a 81,2%). A prevalência em rebanhos de exploração leiteira (88%, IC95% = 79,7% a 93,3%) foi estatisticamente superior a de corte (62,3%, IC95% = 53 a 71%). Onze das 12 propriedades apresentaram ao menos um animal soropositivo, com prevalências variando entre 20 e 100%. Animais provenientes do banco de soros 1 (167/186 = 89,8%, IC = 84,5% a 93,4%) apresentaram-se reagentes em maior frequência do que animais do banco 2 (20%, IC95% = 10,7% a 34%). Animais de exploração de leiteira apresentaram chance 4,43 (IC95% = 2,11 a 9,30) vezes de serem sororeagentes, quando comparados com animais de corte.

Discussão

Os resultados denotam que a coxielose é altamente prevalente em bovinos na região estudada. Os impactos destes achados em saúde pública e saúde animal são desconhecidos, visto que existem poucos relatos da enfermidade em animais no Brasil, apesar da mesma figurar como doença de

notificação obrigatória em animais (BRASIL, 2013). Similarmente ao modelo epidemiológico descrito em outros países (BÖTTCHER et al., 2011; KREIZINGER et al., 2015; KRUSZEWSKA; TYLEWSKA-WIERZBANOWSKA, 1997), é razoável supor-se que a enfermidade apresenta impactos na reprodução de bovinos no Brasil. O desconhecimento dos profissionais da área animal e humana, possivelmente contribuem para este panorama.

A predominância de animais soropositivos no Banco 1 em comparação ao Banco 2, sugere que *C. burnetii* pode estar envolvida em problemas reprodutivos em bovinos, visto que os animais pertencentes a esta amostragem apresentavam problemas reprodutivos, sendo encaminhados para teste sorológico de brucelose.

Os percentuais observados foram superiores ao de vários estudos conduzidos na Europa. Na Dinamarca, pesquisadores observaram anticorpos em amostras de leite individuais de vacas provenientes de 24 rebanhos, nos quais verificaram que dez foram positivos (PAUL et al., 2012). Na Suécia, a prevalência de anticorpos em rebanhos leiteiros foi de 8,2% (OHLSON et al., 2014). Na Espanha, estudo envolvendo a detecção de anticorpos e DNA de *C. burnetii* em leite de 178 rebanhos bovinos, revelou que 19 foram positivos para a presença de anticorpos anti-*C. burnetii*. No mesmo estudo, de 1.306 vacas avaliadas, 12,3% foram positivas. Na Alemanha, estudos soroepidemiológicos com teste de ELISA, envolvendo amostras de 21.051 bovinos provenientes de 603 propriedades leiteiras resultaram 14,8% de positividade. Neste mesmo estudo 72,3% dos rebanhos analisados foram positivos (BÖTTCHER et al., 2011). Os resultados se aproximaram dos observados na Holanda, onde 268 (78,6 %) de 341 rebanhos bovinos apresentaram animais soropositivos, nos quais, em 193 (56,6 %) foi possível detectar DNA bacterianos por testes de PCR (MUSKENS et al., 2011).

No Brasil, existem poucos dados acerca da prevalência da enfermidade. Os principais estudos foram conduzidos com animais carnívoros e pequenos ruminantes, observando-se baixa prevalência de *C. burnetii* em ovinos (GUIMARÃES et al., 2017; MARES-GUIA et al., 2014). Contudo, estudos recentes têm apontado que a doença apresenta prevalência relativamente alta em humanos no Rio de Janeiro (ROZENTAL et al., 2018), o que reforça o conceito que é uma enfermidade negligenciada e subnotificada no país. Desta forma, não deve ser considerada como doença exótica.

No Brasil, as condições geoclimáticas e o sistema de produção são possíveis fatores que favorecem a dispersão do agente, posto que o país é detentor de um dos maiores rebanhos comerciais do mundo, apresenta, dessa forma, ampla gama de hospedeiros que podem atuar como reservatórios. Ademais as condições climáticas favorecem a dispersão de carrapatos, que podem atuar como potenciais vetores do agente (PSAROULAKI et al., 2014)

Na região estudada existe grande número de assentamentos rurais e uma das maiores populações de bovinos do estado de São Paulo. Nestes locais, verificam-se condições comumente associadas a dispersão da coxielose em outros países, incluindo determinantes intrínsecos (animais jovens, número elevado de partos por vaca, animais com aptidão para exploração leiteira) e extrínsecos (introdução frequente de animais no rebanho, alimentação de bezerros com sucedâneos do

leite, co-infecções outros agentes, densidade populacional elevada e clima quente) (AGGER; PAUL, 2014; CARBONERO et al., 2015; MCCAUGHEY et al., 2010; NUSINOVICI et al., 2015; PAUL et al., 2012).

No Brasil, existem diversos casos da doença descritos na literatura consultada, contudo os relatos não estabelecem nexos causais com contato com animais potencialmente transmissores e concentram esforços em associá-los com debilidades orgânicas e fatores imunossupressivos (LAMAS et al., 2009; MARES-GUIA et al., 2014; ROZENTAL et al., 2018). Uma possibilidade a ser considerada é que muitos destes casos estejam associados à ingestão de produtos lácteos, visto que o microrganismo é eliminado no leite de animais portadores e apresenta elevada resistência a injúrias ambientais (GALIERO et al., 2016; HIRAI et al., 2012). Os resultados obtidos reforçam o risco potencial de transmissão via leite, visto que bovinos de exploração leiteira apresentaram chances mais elevadas de soropositividade.

A região Oeste do estado de São Paulo é uma das principais regiões de bovinocultura que, no ano de 2015 registrou mais de 700.000 cabeças de gado de leite, sendo que 73% desse valor pertencem à produção mista que ocasionalmente tem contato com trabalhadores pecuaristas e veterinários e, posteriormente com trabalhadores de frigoríficos e abatedouros (IPEA, 2017). A ingestão de leite cru é considerada uma possível via de transmissão para humanos, apesar da pasteurização ser capaz de inativar o agente (CERF; CONDRON, 2006). Estudos demonstraram que o agente causador da coxielose é identificado em cerca de 60% dos tanques coletivos de refrigeração de leite presentes em zonas endêmicas (BAUER et al., 2015; HILBERT et al., 2015). Contudo, no Brasil ainda há um expressivo volume de leite irregular comercializado, o que pode favorecer a transmissão do agente, mesmo em zonas urbanas (ABRAHÃO; NOGUEIRA; MALUCELLI, 2005).

O presente estudo teve algumas limitações. Os *kits* importados, apesar de apresentarem sensibilidade e especificidade aceitáveis (VAIDYA et al., 2010; WEGDAM-BLANS et al., 2012), não foram validados no Brasil. A confirmação dos resultados com exames de biologia molecular é dificultada pelo alto risco de manipulação do agente (nível 3). Desta forma, a maioria dos estudos tem sido conduzida com inquéritos soroepidemiológicos.

Conclusões

Os resultados obtidos sugerem que a coxielose apresenta alta prevalência em bovinos da região Oeste do estado de São Paulo. Apesar dos bovinos soropositivos terem sido detectados nos animais de aptidão leiteira e de corte, verificou-se a predominância da detecção da presença de anticorpos em bovinos de exploração leiteira. Torna-se relevante a melhor abordagem da doença através de estudos mais elaborados de epidemiologia pois, sendo identificada de forma esporádica no país devido aos poucos estudos, pode possivelmente estar sendo subdiagnosticada ou confundida com patologias similares, principalmente nas endocardites infecciosas.

Referências

- ABRAHÃO, R. M. C. M.; NOGUEIRA, P. A.; MALUCELLI, M. I. C. O comércio clandestino de carne e leite no Brasil e o risco da transmissão da tuberculose bovina e de outras doenças ao homem: um problema de saúde pública. *Archives of Veterinary Science*, Brasil, v. 10, n. 2, p. 1–17, 2005.
- AGERHOLM, J. S. ticks *coxiella*. Infection, genetics and evolution, *Journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*, Amsterdam, v. 28, p. 150, 2014.
- AGGER, J. F.; PAUL, S. Increasing prevalence of *Coxiella burnetii* seropositive Danish dairy cattle herds. *Acta veterinaria Scandinavica*, Copenhage, v. 56, p. 46, 2014.
- ASTOBIZA, I.; BARANDIKA, J. F.; HURTADO, A.; HUSTE, R. A.; GARCÍA-PÉREZ, A. L. Kinetics of *Coxiella burnetii* excretion in a commercial dairy sheep flock after treatment with oxytetracycline. *Veterinary journal*, Londres, v. 184, n. 2, p. 172–5, 2010.
- ASTOBIZA, I., RUIZ-FONS, F., PIÑERO, A., BARANDIKA, J. F., HURTADO, A., GARCÍA-PÉREZ, A. L. Estimation of *Coxiella burnetii* prevalence in dairy cattle in intensive systems by serological and molecular analyses of bulk-tank milk samples. *Journal of dairy science*, Lancaster, v. 95, n. 4, p. 1632–8, 2012.
- BAUER, A. E.; OLIVA, S.; COOPER, H.; HORNSTRA, H.; KEIM, P.; PEARSON, T.; JOHNSON, A. J. Estimated herd prevalence and sequence types of *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples from commercial dairies in Indiana. *BMC veterinary research*, Londres, v. 11, p. 186, 2015.
- BÖTTCHER, J.; VOSSEN, A.; JANOWETZ, B.; ALEX, M.; GANGL, A.; RANDT, A.; MEIER, N. Insights into the dynamics of endemic *Coxiella burnetii* infection in cattle by application of phase-specific ELISAs in an infected dairy herd. *Veterinary microbiology*, Amsterdam, v. 151, n. 3–4, p. 291–300, 2011.
- BRASIL. Instrução Normativa 50 de 24 de setembro de 2013 - Lista de doenças animais, de notificação obrigatória em território brasileiro, *Brasil*, 2013.
- CARBONERO, A.; CARBONERO, A.; GUZMÁN, L. T.; MONTAÑO, K.; TORRALBO, A.; ARENAS-MONTES, A.; SAA, L. R. *Coxiella burnetii* seroprevalence and associated risk factors in dairy and mixed cattle farms from Ecuador. *Preventive veterinary medicine*, Amsterdam, v. 118, n. 4, p. 427–35, 2015.
- CERF, O.; CONDRON, R. *Coxiella burnetii* and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle? *Epidemiology and infection*, Cambridge, v. 134, n. 5, p. 946–51, 2006.
- COOPER, A.; HEDLEFS, R.; MCGOWAN, H.; KETHEESAN, N.; GOVAN, B. Serological evidence of *Coxiella burnetii* infection in beef cattle in Queensland. *Australian veterinary journal*, Nova Gales do Sul, v. 89, n. 7, p. 260–4, 2011.
- DURON, O.; SIDI-BOUMEDINE, K.; ROUSSET, E.; MOUTAILLER, S.; JOURDAIN, E. The Importance of Ticks in Q Fever Transmission: What Has (and Has Not) Been Demonstrated? *Trends in parasitology*, Oxford, v. 31, n. 11, p. 536–52, 2015.
- EL-MAHALLAWY, H. S.; KELLY, P.; ZHANG, J.; YANG, H.; WEI, G.; MAO, Y.; YANG, Z.;

- ZHANG, Z.; FAN, W.; WANG, C. High seroprevalence of *Coxiella burnetii* in dairy cattle in China. *Tropical animal health and production*, Edimburgo, v. 48, n. 2, p. 423–6, 2016.
- GALE, P.; KELLY, L.; MEARNNS, R.; DUGGAN, J.; SNARY, E. L. Q fever through consumption of unpasteurised milk and milk products - a risk profile and exposure assessment. *Journal of applied microbiology*, Oxford, v. 118, n. 5, p. 1083–95, 2015.
- GALIERO, A.; FRATINI, A.; CAMMÀ, C.; DIDOMENICO, M.; CURINI, V.; BARONTI, L.; TURCHI, B.; CERRI, D. Occurrence of *Coxiella burnetii* in goat and ewe unpasteurized cheeses: Screening and genotyping. *International journal of food microbiology*, Amsterdam, v. 237, p. 47–54, 21, 2016.
- GARCIA-ISPIERTO, I.; TUTUSAUS, J.; LÓPEZ-GATIUS, F. Does *Coxiella burnetii* affect reproduction in cattle? A clinical update. Reproduction in domestic animals, *Zuchthygiene*, Berlim, v. 49, n. 4, p. 529–35, 2014.
- GRAVES, S. R.; ISLAM, A. Endemic Q Fever in New South Wales, Australia: A Case Series (2005–2013). *The American journal of tropical medicine and hygiene*, Baltimore, 2016.
- GUIMARÃES, M. F.; ARAUJO, A. C.; FREIRE, D. P.; MACHADO, D. M. R.; MARTINS, N. N. V. M.; FILHO, J. M.; HORTA, M. C. Investigaç o sorol gica de *Rickettsia rickettsii* e *Coxiella burnetii* em caprinos e ovinos no entorno do Parque Nacional da Serra das Confus es, Piauí. *Pesquisa Veterin ria Brasileira*, Rio de Janeiro, v. 37, n. 6, p. 555–560, 2017.
- HATCHETTE, T. F.; HUDSON, R. C.; SCHLECH, W. F.; CAMPBELL, N. A.; HATCHETTE, J. E.; RETNAM, S.; RAOULT, D.; DONOVAN, C.; MARRIE, T. J. Goat-associated Q fever: a new disease in Newfoundland. *Emerging infectious diseases*, Atlanta, v. 7, n. 3, p. 413–9, 2001.
- HILBERT, A.; ANDRES, T.; WENER, R.; WEHR, R.; FROHLICH, A.; CONRATHS, F. J.; HENNING, K. [Detection of *Coxiella burnetii* in dairy cattle bulk tank milk and single tank milk samples by confirmatory testing]. *Berliner und M nchener tier rztliche Wochenschrift*, Berlim, v. 128, n. 7–8, p. 271–7, 2015.
- HIRAI, A.; NAKAMA, A.; CHIBA, T.; KAI, A. Development of a method for detecting *Coxiella burnetii* in cheese samples. *The Journal of veterinary medical scienc/ the Japanese Society of Veterinary Science*, T quio, v. 74, n. 2, p. 175–80, 2012.
- IPEA. *Atividade Pecu ria no Polo Extremo Oeste*, S o Paulo, 2017.
- KAZAR, J. *Coxiella burnetii* infection. *Annals of the New York Academy of Sciences*, Nova York, v. 1063, p. 105–14, 2005.
- KREIZINGER, Z.; SZEREDI, L.; BACSADI, A.; NEMES, C.; SUG R, L.; VARGA, T.; SULYOK, K. M.; SZIGETI, A.;  CS, K.; T BI S, E.; BOREL, N.; GYURANECZ, M. Occurrence of *Coxiella burnetii* and Chlamydiales species in abortions of domestic ruminants and in wild ruminants in Hungary, Central Europe. *Journal of veterinary diagnostic investigation* : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc, Thousand Oaks, v. 27, n. 2, p. 206–10, 2015.

- KRUSZEWSKA, D.; TYLEWSKA-WIERZBANOWSKA, S. Isolation of *Coxiella burnetii* from bull semen. *Research in veterinary science*, Oxford, v. 62, n. 3, p. 299–300, 1997.
- LAMAS, C. C.; BÓIA, M. N.; FAVACHO, A. R.; KIRSTEN, A. H.; SILVA, A. P.; LEMOS, E. R. Seroprevalence of *Coxiella burnetii* antibodies in human immunodeficiency virus-positive patients in Jacarepaguá, Rio de Janeiro, Brazil. *Clinical microbiology and infection*: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Paris, v. 15 Suppl 2, p. 140–1, 2009.
- MARES-GUIA, M. A. M. DE M.; ROSENTAL, T.; GUTERRES, A.; FERREIRA, A.; BOTTICINI, G.; TERRA, A. K.; MARRASHI, S.; BOCHNER, R.; LEMOS, E. R. Molecular identification of the agent of Q fever – *Coxiella burnetii* – in domestic animals in State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Baltimore, v. 47, n. 2, p. 231–234, 2014.
- MAURIN, M.; RAOULT, D. Q fever. *Clinical microbiology reviews*, Washington, v. 12, n. 4, p. 518–53, 1999.
- MCCAUGHEY, C.; MURRAY, L. J.; MCKENNA, J. P.; MENZIES, F. D.; MCCULLOUGH, S. J.; O'NEILL, H. J.; WYATT, D. E.; CARDWELL, C. R.; COYLE, P. V. *Coxiella burnetii* (Q fever) seroprevalence in cattle. *Epidemiology and infection*, Cambridge, v. 138, n. 1, p. 21–7, 2010.
- MUSKENS, J.; VAN-ENGELLEN, E.; VAN-MAANEN, C.; BARTELS, C.; LAM, T. J. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in Dutch dairy herds based on testing bulk tank milk and individual samples by PCR and ELISA. *The Veterinary record*, Londres, v. 168, n. 3, p. 79, 2011.
- NJERU, J.; HENNING, K.; PLETZ, M. W.; HELLER, R.; NEUBAUERM, H. Q fever is an old and neglected zoonotic disease in Kenya: a systematic review. *BMC public health*, Londres, v. 16, n. 1, p. 297, 2016.
- NUSINOVICI, S.; FROSSLING, J.; WIDGREN, S.; BEAUDEAU, F.; LINDBERG, A. Q fever infection in dairy cattle herds: increased risk with high wind speed and low precipitation. *Epidemiology and infection*, Cambridge, v. 143, n. 15, p. 3316–26, 2015.
- OHLSON, A.; MALMSTEN, J.; FROSSLING, J.; BOLSKE, G.; ASPÁN, A.; DALIN, A. M.; LINDBERG, A. Surveys on *Coxiella burnetii* infections in Swedish cattle, sheep, goats and moose. *Acta veterinaria Scandinavica*, Londres, v. 56, p. 39, 2014.
- PAUL, S.; AGGER, J. F.; MARKUSSEN, B.; CHRISTOFFERSEN, A. B.; AGERHOLM, J. S. Factors associated with *Coxiella burnetii* antibody positivity in Danish dairy cows. *Preventive veterinary medicine*, Amsterdam, v. 107, n. 1–2, p. 57–64, 2012.
- PSAROULAKI, A.; MAINA, A. N.; CUTLER, S. J.; OGOLA, E.; FEIJIN, D. R.; JUNGHAE, M.; HALLIDAY, J. E.; RICHARDS, A. L.; BREIMAN, R. F.; CLEVELAND, S.; NJENGA, M. K. *Coxiella burnetii* in wildlife and ticks in an endemic area. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 108, n. 10, p. 625–31, 2014.
- QUINN, P. J. *Microbiologia veterinária e doenças infecciosas*, Porto Alegre: 1. ed. Artmed, 2005.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM (2018). R: A language and environment for statistical computing.

R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

RAOULT, D.; FENOLLAR, F.; STEIN, A. Q fever during pregnancy: diagnosis, treatment, and follow-up. *Archives of internal medicine*, Chicago, v. 162, n. 6, p. 701–4, 25, 2002.

ROZENTAL, T.; MASCARENHAS, L. F.; ROZENBAUM, R.; GOMES, R.; MATTOS, G. S.; MAGNO, C. C.; ALMEIDA, D. N.; ROSSI, M. I.; FAVACHO, A. R.; DE-LEMOS, E. R. *Coxiella burnetii*, the agent of Q fever in Brazil: its hidden role in seronegative arthritis and the importance of molecular diagnosis based on the repetitive element IS1111 associated with the transposase gene. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 107, n. 5, p. 695–697., 2012.

ROZENTAL, T.; SILVA, A. S. V.; OLIVEIRA, R. C.; FAVACHO, A. R. M.; OLIVEIRA, M. L. A.; BASTOS, F. I.; LEMOS, E. R. S. Seroprevalence of *Bartonella* spp., *Coxiella burnetii*, and Hantavirus among people who inject drugs in Rio de Janeiro, Brazil: a retrospective assessment of a biobank. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, São Paulo, v. 60, n. 0, 19, 2018.

SCHIMMER, B.; SCHOTTEN, N.; VAN-ENGELEN, E.; HAUTVAST, J. L.; SCHNEEBERGERM P. M.; VAN-DUJINHOVEN, Y. T. *Coxiella burnetii* seroprevalence and risk for humans on dairy cattle farms, the Netherlands, 2010-2011. *Emerging infectious diseases*, Atlanta, v. 20, n. 3, p. 417–25, 2014.

SICILIANO, R. F.; BARBOSA, H. R.; MENDONÇA, F. R. H.; SAMPAIO, C. J. B.; ORISMAR, R.; SANTOS, F. C. P.; SILVA, C.; VAREJÃO, S. T. M.; MAX, G. S. Endocardite por *Coxiella burnetii* (febre Q): doença rara ou pouco diagnosticada? Relato de caso. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, São Paulo, v. 41, n. 4, p. 409–412, 2008.

VAIDYA, V. M.; MALIK, S. V.; BHILEGAONKAR, K. N.; RATHORE, R. S.; KAUR, S.; BARBUDDHE, S. B. Prevalence of Q fever in domestic animals with reproductive disorders. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, Oxford, v. 33, n. 4, p. 307–321, 2010.

WEGDAM-BLANS, M. C. A.; WIELDERS, C. C.; MEEKELENKAMP, J.; KORBEEK, J. M.; HERREMANS, T.; TJHIE, H. T.; BIJLMER, H. A.; KOOPMANS, M. P.; SCHEEBERGER, P. M. Evaluation of Commonly Used Serological Tests for Detection of *Coxiella burnetii* Antibodies in Well-Defined Acute and Follow-Up Sera. *Clinical and Vaccine Immunology*, Washington, v. 19, n. 7, p. 1110–1115, 2012.

WILLIAMS, J. C.; PEACOCK, M. G.; MCCAUL, T. F. Immunological and biological characterization of *Coxiella burnetii*, phases I and II, separated from host components. *Infection and immunity*, Washington, v. 32, n. 2, p. 840–51, 1981.

ANEXO

Author Guidelines

Diretrizes para autores

Após 19/02/2015, a taxa de submissão de novos artigos será de R \$ 100,00 . Se o artigo for rejeitado, esta taxa não será devolvida.

Artigos submetidos após **19/02/2015** que forem aceitos e aprovados para publicação estarão sujeitos a uma Taxa de Publicação, ajustada de acordo com o número de páginas no manuscrito.

Até 10 páginas: **R \$ 300,00**

De 11 a 15 páginas: **R \$ 400,00**

De 16 a 20 páginas: **R \$ 500,00**

De 21 a 25 páginas: **R \$ 600,00**

Se o **artigo for aceito para publicação** , o valor de **R \$ 100,00** pago pela taxa de submissão **não será deduzido da taxa de publicação** .

The **proof of deposit** should be scanned and annexed as a supplementary file in the electronic system.

The deposit should be made in the name of the Instituto de Tecnologia e Desenvolvimento Econômico e Social (ITEDES), CNPJ: 00.413.717/0001-65, in one of the three bank accounts below:

Banco do Brasil (001)

Branch: 1212-2

Current account: 43509-0 - Brasil

Caixa Econômica Federal (104)

Branch: 3076

Current account: 0033-4

Transaction: 003 - Brasil

Itaú (341)

Branch: 3893

Current account: 29567-9 - Brasil

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

Articles can be submitted in Portuguese or English, but will only be published in English.

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

Articles sent to the journal by march 31, 2014 and those that are still being processed may be published in Portuguese; however, priority for publication will be given to the articles that are translated into English.

All articles, after being accepted for publication, must be accompanied by a proof certificate of translation or correction (as a supplementary file) from one of the following translation services:

[American Journal Experts](#)

[Editage](#)

[Elsevier](#)

<http://www.proof-reading-service.com>

<http://www.academic-editing-services.com/>

<http://www.publicase.com.br/formulario.asp>

<http://www.stta.com.br/>

The lead author must attach the **document that provides evidence of** this translation or correction in the electronic system on the submission page in "**Docs. Sup.**"

COMMENTS:

1) Original manuscripts submitted for review are initially assessed by the Editorial Committee of *Semina: Ciências Agrárias*. In this assessment, quality requirements for publishing with the journal will be evaluated, such as scope of the article, suitability with regard to the journal standards, quality of writing and theoretical foundation. Additionally, it is also considered literature review update, consistency and accuracy of the methodology, contribution of the results, discussion of the data observed in the study, table and figure depiction, and originality and consistency of conclusions.

If the number of submitted manuscripts exceeds the assessment and publication capacity of *Semina: Ciências Agrárias*, a comparison between submissions will be made, and the works considered to have the highest contribution potential to scientific knowledge will be directed to ad hoc advisors. The manuscripts that are not approved by these criteria are archived, whereas the remaining manuscripts are subjected to assessment by at least two scientific advisors who are experts in the subject area of the manuscript, without identifying the authors. The submission fee will not be returned to authors who have their manuscripts archived.

2) Where appropriate, if the research project that originated the article was performed according to biosafety and ethics technical standards under approval from an ethics committee involving humans and/or an ethics committee involving animals, the commission name, institution, and process number should be stated.

MANUSCRIPTS WILL NOT BE ACCEPTED WHEN:

- a) The attached main article file has the names of the authors and their respective affiliations.
- b) The **complete registration** of all authors has been added to the metadata during submission; **Example:** Full name; Institution/Affiliation; Country; Summary of Biography/Title/Role.
- c) Text explaining the relevance of the work (importance and distinction from previously published works), with a maximum length of 10 lines, is included in the field COMMENTS TO THE EDITOR.
- d) The submission is accompanied by a document proving payment of the submission fee as a supplementary file in the "**Docs. Sup.**" section.
- e) The main article is accompanied by supplementary files, including graphs, figures, photos, and other documents, IN THEIR ORIGINAL VERSION (JPEG, TIFF, or EXCEL formats).
- f) The following information is included in the original manuscript: title, abstract, keywords in Portuguese and English, tables, and figures.

RESTRICTIONS BY SUBJECT AREA:

FOR THE AGRONOMY FIELD, MANUSCRIPTS WILL NOT BE ACCEPTED IN CASE OF THE FOLLOWING:

- a) The experiments conducted with an *in vitro* culture are limited to the improvement of protocols already standardized or do not provide new information about the subject area;

- b) The field experiments do not include data corresponding to at least two years or to diverse locations within the same year;
- c) The experiments refer only to tests about the efficiency of commercial products against biotic and abiotic agents or physiological stress;
- d) The experiments involve only bioassays (screening) on the efficacy of methods for controlling insects, mites, or diseases in plants, unless they contain an important contribution about the action mechanisms under the perspective of a frontier of knowledge; or
- e) The objective is limited to registering the occurrence of a species of a plague or pathogen or associations with hosts in new locations within geographical regions where the species is already known. Documenting already known species or associations will only be considered if they are described in new ecological areas. The distribution records should be based on ecosystems and not on political boundaries.

FOR THE VETERINARY FIELD, THE MANUSCRIPTS WILL NOT BE ACCEPTED IN CASE OF THE FOLLOWING:

- a) Publication of case reports is restricted; only articles with great relevance and originality that make a real contribution to the advance of knowledge in the field will be selected for processing.

Work Categories

- a) Scientific articles: maximum of 20 pages, including figures, tables, and bibliographic references
- b) Scientific communications: maximum of 12 pages, with bibliographic references limited to 16 citations and a maximum of two tables, two figures, or a combination of one table and one figure
- c) Case reports: maximum of 10 pages, with bibliographic references limited to 12 citations and a maximum of two tables, two figures, or one table and one figure
- d) Review articles: maximum of 25 pages, including figures, tables, and bibliographic references

Presentation of the Work

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

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

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

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

Manuscript preparation

Scientific article:

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

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

The work should be presented in the following order:

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

Note:

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

Figures: The figures that are deemed essential will be accepted and should be cited in the text by their numeric order, in Arabic numerals. If any submitted illustrations have already been published, the source and permission for publication should be stated.

Tables: Tables should be accompanied by a header that will allow understanding of the data collected without the need to use the body of the text for reference.

Quantities, units, and symbols:

- a) Manuscripts should be in agreement with the criteria established in the International Codes for each subject area.
- b) Use the International System of Units in all text.

- c) Use the negative power format to note and present related units: e.g., kg ha⁻¹. Do not use the forward slash symbol to relate units: e.g., kg/ha.
- d) Use a simple space between units: g L⁻¹, not g.L⁻¹ or gL⁻¹.
- e) Use 24-hour time representation with four digits for the hours and minutes: 09h00, 18h30.

8. In-text author citations

Citations must be followed by the year of publication, and multiple citations should follow the alphabetical order system, according to the following examples:

- a) The results by Dubey (2017) confirmed that
- b) According to Santos et al. (2017), the effect of nitrogen
- c) Beloti et al. (2017b) assessed the microbiological quality
- d) [...] and inhibit the test for syncytium formation (BRUCK et al., 2017).
- e) [...] compromising the quality of its derivatives (AFONSO; VIANNI, 2017).

Citations with two authors

In citations of sources that have two authors, the authors' names are separated by a semicolon when citing them within parentheses.

Ex: (PINHEIRO; CAVALCANTI, 2017).

Use *and* when the authors are included in the sentence rather than cited in parentheses.

Ex: Pinheiro and Cavalcanti (2017).

Citing more than two authors

Indicate the first author followed by the expression et al.

Within parentheses, separate references with a semicolon when more than one reference is cited.

Ex: (RUSSO et al., 2017) or Russo et al. (2017); (RUSSO et al., 2017; FELIX et al., 2017).

Citing multiple documents by the same author, published in the same year

Add lowercase letters, in alphabetical order, after the date and without a space.

Ex: (SILVA, 2017a, 2017b).

Citing multiple documents by the same author, published in different years

Separate the dates with a comma.

Ex: (ANDRADE, 2015, 2016, 2017).

Citing various documents by various authors, mentioned simultaneously

Place the citations in alphabetical order, separated by a semicolon.

Ex: (BACARAT, 2017; RODRIGUES, 2017).

9. References: The references, according to the standard NBR 6023, Aug. 2000, and reformulation number 14.724 of the Brazilian Technical Standards Association (ABNT), 2011, must be listed in alphabetical order at the end of the manuscript. **All the authors participating in a referenced study must be mentioned, regardless of the number of participants.** The accuracy and adequacy of references for works that have been consulted and mentioned in the text of the article, as well as opinions, concepts, and statements, are entirely the responsibility of the authors.

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

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

Scientific communication

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

Case report

A case report should be a brief description of clinical and pathological cases, unprecedented results, reporting of new species, or studies on the occurrence or incidence of plagues, microorganisms, or parasites of agronomic, zootechnical, or veterinary interest. The case report must contain the following sections: Title (Portuguese and English); Abstract with Keywords in Portuguese; Abstract with Keywords in English; Introduction with a literature review; case report(s), including results, discussion, and conclusion; and bibliographic references.

Bibliographic review articles

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

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

Other important information

1. The publication of articles depends on the favorable opinion of ad hoc advisors and the approval of the *Semina: Ciências Agrárias* UEL Editorial Board.
2. Reprints will not be given to the authors, since the issues will be available online at the journal's website (<http://www.uel.br/revistas/uel>).
3. Copyright transfer: The authors agree with the transfer of publication rights of the manuscript to the journal. Reproduction of the articles is only allowed when the source is cited. Commercial use of the information is forbidden.
4. Unforeseen questions about or problems in the present standards will be addressed by the Editorial Board of the subject area in which the article was submitted for publication.

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

Submission conditions

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

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

Use the button "**include author.**"

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

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

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

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

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

Copyright Declaration

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

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

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

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

Privacy Policy

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

Submission conditions

As part of our submission process, the authors are obliged to ensure that the submission conforms to all of the items listed below. Submissions that are not in compliance with the standards will be returned to the authors.

1. The authors state that the contribution is original and new and that it is not being assessed for publication in another journal; any exception(s) should be justified in the "Comments to the Editor."
2. The authors state that the material is correctly formatted and that the Supplementary Files were uploaded, BEING AWARE that the **incorrect format will result in the SUSPENSION of the evaluation process WITHOUT EVALUATION OF MERIT.**
3. **In the next step, fill in the metadata in English.**

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

1. **Authorship data from all authors should be filled in during the submission process.**

Use the button "**include author.**"

1. Verify that the **authorship identification** of the work has been removed from the archive and from Word using the Properties option in order to ensure the anonymity criteria of the journal, if the article is submitted to peer review according to the directions available at [Ensuring a blind peer review](#).
2. The files for submission are in Word, OpenOffice, or RTF formats (as long as they do not exceed 2 MB).

The text is written with 1.5 line spacing and in Times New Roman size 11 font. Use italics instead of underline (except for URL addresses).

The text follows the style patterns and bibliographic requirements described in [Guidelines for Authors](#) under the heading "About the Journal."

1. Confirm that all ethical standards were followed if the research was performed with living beings. Provide documentation of the approval of an institutional ethics committee and proof of informed consent if these documents are requested. Compliance with the applicable ethical precepts should be cited in the text body.
2. A text indicating the relevance of the work (importance and distinction with respect to other works already published), with a maximum length of 10 lines, must be included in the field **COMMENTS TO THE EDITOR.**

Copyright Declaration

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

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

Alterations, corrections, or suggestions at the conceptual level, when necessary, will be directed to the authors. In these cases, after being changed, the articles will be subjected to a new assessment.

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

Privacy Policy

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

Should they be both highlighted *and* in boldface? Or should this just read "The headings should be in boldface"?

It seems this sentence and the following sentence (after "1.") should perhaps be switched for clarity, as follows:

Using the following steps, please fill in the metadata in English.

1. Use the button "include author."

Por favor, reveja os títulos e a ordenação / numeração dos passos nesta seção cuidadosamente para garantir que os passos estão numerados claramente na ordem que os autores devem segui-los.

Como a sentença indica "caso o artigo seja submetido a revisão por pares", parece desnecessário incluir (ex .: artigos) aqui. Por favor, considere excluir isso.

Deve haver um item numerado separado com uma explicação da taxa de submissão? Em caso afirmativo, forneça as informações apropriadas. Se não, considere excluir isso.

Submission Preparation Checklist

As part of the submission process, authors are required to check off their submission's compliance with all of the following items, and submissions may be returned to authors that do not adhere to these guidelines.

1. A contribuição é original e inédita e não está sendo considerada para publicação em outro periódico; caso contrário, deve ser justificado em "Comentários ao Editor".
2. Informamos que o texto está formatado corretamente e que o Material Complementar será carregado, TENDO EM CONTA que a formatação incorreta implicará em uma SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DE MÉRITO
3. Os arquivos de submissão estão no formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não excedam 2MB).

O espaçamento entre linhas deve ser definido como 1,5; a fonte é Time New Roman, tamanho 11; usa itálico em vez de sublinhado (exceto para endereços de URL);

O texto segue o estilo e os requisitos de referência descritos em "Orientações dos autores", na seção "Sobre o periódico".

4. **Na etapa subsequente, os metadados devem ser fornecidos em português.**

- o **Para** incluí-los, depois de salvar os dados de submissão em inglês, clique em "editar metadados" no topo da página - mude o idioma para o português e insira: título em português, resumo e palavras-chave. Salve e continue com a próxima etapa.
5. As informações de autoria para todos os autores devem ser fornecidas no momento da submissão.

Use a opção " **incluir autor.** "

6. A identidade do autor foi removida do arquivo e da opção "Propriedades" no Word, garantindo assim que os critérios de confidencialidade da revista sejam atendidos, caso seja enviada para revisão por pares (por exemplo, manuscritos), de acordo com as instruções listadas em "Garantindo a Cegueira". Revisão por pares. "
7. Declaro que todos os regulamentos éticos foram seguidos, no caso de pesquisas com organismos vivos, e possuo os documentos que demonstram aprovação pelo Comitê de Ética e pelo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, caso sejam solicitados. O cumprimento dos princípios éticos aplicáveis deve ser citado no texto.
8. Texto, até 10 linhas, indicando a relevância do trabalho (importância e diferencial em relação aos trabalhos publicados anteriormente) deve ser incluído e escrito no campo "COMENTÁRIOS AO EDITOR".
9. [Taxa de submissão para artigos](#)

Copyright Notice

O Copyright dos manuscritos publicados pertence ao periódico. Como são publicados em um periódico de acesso aberto, eles estão disponíveis gratuitamente, para uso privado ou para fins educacionais e não comerciais.

A revista tem o direito de fazer, no documento original, alterações referentes às normas lingüísticas, ortografia e gramática, com o objetivo de garantir as normas padrão do idioma e a credibilidade da revista. No entanto, respeitará o estilo de escrita dos autores.

Quando necessário, alterações conceituais, correções ou sugestões serão encaminhadas aos autores. Nesses casos, o manuscrito deve ser submetido a uma nova avaliação após revisão.

A responsabilidade pelas opiniões expressas nos manuscritos é inteiramente dos autores.

Privacy Statement

The names and email addresses entered in this journal site will be used exclusively for the stated purposes of this journal and will not be made available for any other purpose or to any other party.

Semina: Ciênc. Agrár.
Londrina - PR
E-ISSN 1679-0359
DOI: 10.5433/1679-0359
E-mail: semina.agrarias@uel.br