

## **Cães como sentinela ambiental no Porto de Santos**

Dogs as an environmental sentinel in the Port of Santos

Los perros como centinela ambiental en el Puerto de Santos

Recebido: 26/08/2024 | Revisado: 04/09/2024 | Aceitado: 05/09/2024 | Publicado: 09/09/2024

### **Renata Cristina de Abreu Jardim**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5613-1737>

Universidade Metropolitana de Santos, Brasil

E-mail: [renata.jardim@gmail.com](mailto:renata.jardim@gmail.com)

### **Elizabeth B. Oliveira-Sales**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4129-8643>

Universidade Metropolitana de Santos, Brasil

E-mail: [betholiveira@gmail.com](mailto:betholiveira@gmail.com)

### **Ramiro M. Dias**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8148-2539>

Unidade de Vigilância em Zoonoses, Guarujá, Brasil

E-mail: [mvrapiro@hotmail.com](mailto:mvrapiro@hotmail.com)

### **Ana Luiza C. Martimbianco**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4361-4526>

Universidade Metropolitana de Santos, Brasil

E-mail: [analuzacabrera@hotmail.com](mailto:analuzacabrera@hotmail.com)

### **Maria Luiza S. Ventura**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4357-2984>

Universidade Metropolitana de Santos, Brasil

E-mail: [marialuizasamia@hotmail.com](mailto:marialuizasamia@hotmail.com)

### **Carolina C. M. Castro**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8238-3401>

Unidade de Vigilância em Zoonoses, Guarujá, Brasil

E-mail: [carolinamurtamedvet@gmail.com](mailto:carolinamurtamedvet@gmail.com)

### **Jorge E. S. Sarkis**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6745-8185>

Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares, Brasil

E-mail: [jesarkis@ipen.br](mailto:jesarkis@ipen.br)

### **Marcos A. Hortellani**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3364-0648>

Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares, Brasil

E-mail: [mahortel@ipen.br](mailto:mahortel@ipen.br)

### **Paula Andrea de Santis Bastos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7582-5563>

Universidade Metropolitana de Santos, Brasil

E-mail: [paulaasbastos@gmail.com](mailto:paulaasbastos@gmail.com)

## **Resumo**

O rio Pouca Saúde se comunica com o Estuário do Porto de Santos, no bairro Porto em Guarujá. Ao longo do rio existem muitas palafitas lançando esgoto e lixo doméstico. O objetivo foi verificar se cães semidomiciliados da região do Rio Pouca Saúde podem ser biomarcadores de contaminação ambiental. Foram incluídos cães semidomiciliados que perambulavam constantemente pelas margens do Rio Pouca Saúde. Os cães foram submetidos a avaliação clínica, para verificação de possíveis ferimentos em patas e membros, e verificada as funções renal e hepática e realizada a dosagem de Antimônio, Cádmio, Chumbo, Cromo, Mercúrio, Níquel e Zinco. Os cães receberam vacina múltipla e antirrábica, coleira de identificação e coleira antiparasitária. A análise do sangue de 30 cães (50% fêmeas) com média de idade de 4,1 anos, identificou concentração elevada do metal Zinco em 27 indivíduos (90%) ( $Zn = 3,37 \text{ mg/kg} \pm 0,71$ ), que, também foi encontrado em concentrações elevadas nos sedimentos do Rio Pouca Saúde ( $Zn = 193,9 \text{ mg/kg}$ ). Quatro cães (13,3%) apresentaram número de reticulócitos aumentado no plasma de grau leve a moderado ( $10^3/\text{mm}^3$ ). Esses animais apresentaram redução significativa da concentração de VCM ( $p < 0,05$ ), monócitos ( $p < 0,03$ ) e creatinina ( $p < 0,003$ ) em comparação aos animais que não apresentaram essas células. Houve associação linear positiva moderada em relação à concentração de Zinco total e número de hemácias, concentração de hemoglobina e hematócrito no plasma ( $p < 0,05$ ). Os cães semidomiciliados do Sítio Conceiçãozinha, Guarujá, São Paulo, podem ser considerados como biomarcadores/sentinelas da contaminação ambiental para metais tóxicos.

**Palavras-chave:** Metais pesados; Monitoramento ambiental; Biomarcadores; Cães; Zinco.

### Abstract

The Pouca Saúde River communicates with the Porto de Santos Estuary, in the Porto neighborhood in Guarujá. Along the river there are many stilt houses releasing sewage and domestic waste. The objective was to verify whether semi-domiciled dogs from the Pouca Saúde River region can be biomarkers of environmental contamination. Semi-domiciled dogs that constantly roamed the banks of the Pouca Saúde River were included. The dogs were subjected to clinical evaluation, to check for possible injuries to paws and limbs, and kidney and liver function was checked and Antimony, Cadmium, Lead, Chromium, Mercury, Nickel and Zinc were measured. The dogs received multiple and anti-rabies vaccines, an identification collar and an antiparasitic collar. Blood analysis from 30 dogs (50% females) with an average age of 4.1 years, identified high concentrations of the metal Zinc in 27 individuals (90%) ( $Zn = 3.37 \text{ mg/kg} \pm 0.71$ ), which was also found in high concentrations in the sediments of the Pouca Saúde River ( $Zn = 193.9 \text{ mg/kg}$ ). Four dogs (13.3%) showed a mild to moderate increase in the number of reticulocytes in plasma ( $10^3/\text{mm}^3$ ). These animals showed a significant reduction in the concentration of MCV ( $p < 0.05$ ), monocytes ( $p < 0.03$ ) and creatinine ( $p < 0.003$ ) compared to animals that did not present these cells. There was a moderate positive linear association in relation to total Zinc concentration and number of red blood cells, hemoglobin concentration and hematocrit in plasma ( $p < 0.05$ ). Semi-domiciliated dogs from Sítio Conceiçãozinha, Guarujá, São Paulo, can be considered as biomarkers/sentinels of environmental contamination for toxic metals.

**Keywords:** Heavy metals; Environmental monitoring; Biomarkers; Dogs; Zinc.

### Resumen

El río Pouca Saúde se comunica con el Estuario Porto de Santos, en el barrio de Porto, en Guarujá. A lo largo del río hay muchos palafitos que liberan aguas residuales y desechos domésticos. El objetivo fue verificar si los perros semidomiciliados de la región del río Pouca Saúde pueden ser biomarcadores de contaminación ambiental. Se incluyeron perros semidomiciliados que deambulaban constantemente por las orillas del río Pouca Saúde. Los perros fueron sometidos a evaluación clínica, para comprobar posibles lesiones en patas y extremidades, y se revisó la función renal y hepática y se midieron Antimonio, Cadmio, Plomo, Cromo, Mercurio, Níquel y Zinc. Los perros recibieron vacunas múltiples y antirrábicas, un collar de identificación y un collar antiparasitario. Los análisis de sangre de 30 perros (50% hembras) con una edad promedio de 4,1 años, identificaron altas concentraciones del metal Zinc en 27 individuos (90%) ( $Zn = 3,37 \text{ mg/kg} \pm 0,71$ ), que también se encontró en altas concentraciones. en los sedimentos del río Pouca Saúde ( $Zn = 193,9 \text{ mg/kg}$ ). Cuatro perros (13,3%) mostraron un aumento de leve a moderado en el número de reticulocitos en plasma ( $10^3/\text{mm}^3$ ). Estos animales mostraron una reducción significativa en la concentración de MCV ( $p < 0,05$ ), monocitos ( $p < 0,03$ ) y creatinina ( $p < 0,003$ ) en comparación con los animales que no presentaban estas células. Hubo una asociación lineal positiva moderada con relación a la concentración total de Zinc y al número de glóbulos rojos, concentración de hemoglobina y hematocrito en plasma ( $p < 0,05$ ). Los perros semidomiciliados del Sítio Conceiçãozinha, Guarujá, São Paulo, pueden ser considerados biomarcadores/centinelas de la contaminación ambiental por metales tóxicos.

**Palabras clave:** Metales pesados; Vigilancia ambiental; Biomarcadores; Perros; Zinc.

## 1. Introdução

O rio Pouca Saúde é uma gamboa, braço de rio de mangue sem nascente e sob influência da maré, que se comunica com a margem esquerda do Estuário do Porto de Santos, no bairro Porto em Guarujá. Ao longo do rio existem muitas palafitas lançando esgoto e lixo doméstico (Histórias e lendas do Guarujá, Rios, 2012).

A água desse rio é utilizada pela população ribeirinha para cozimento dos alimentos e indiretamente pelo consumo de pescados e diversão para crianças (Histórias e lendas do Guarujá, Rios, 2012).

O bairro Sítio Conceiçãozinha, por onde passa o rio Pouca Saúde, tem população de 2.532 habitantes (Histórias e lendas do Guarujá, Bairros, 2014).

As consequências ambientais da atividade do porto de Santos, maior complexo portuário da América Latina, impactam toda a região da Baixada Santista. Observa-se poluição de efluentes industriais, terminais portuários, lixões, aterros sanitários, áreas contaminadas por disposição inadequada de resíduos tóxicos, emissários de esgotos e efluentes domésticos, ocupações irregulares, canais que deságuam no estuário, afluxo de turistas no verão e a atividade industrial de Cubatão (Companhia Docas do Estado de São Paulo, 2018).

Uma das causas de poluição ambiental é a eliminação de resíduos tóxicos no meio ambiente (Lima et al., 2019). Os agentes tóxicos são compostos não-biodegradáveis e altamente bioacumulativos com efeitos mutagênicos e carcinogênicos,

tóxicos a determinados órgãos e tecidos (Baan & Grosse, 2004). O risco de contaminação do metal é mais complexo em áreas de várzea ribeirinha (Bhat et al., 2018).

Os altos índices de toxicidade associados à relativa facilidade de acumulação nas cadeias tróficas fundamentam a importância de estudos que determinem suas concentrações em ambientes aquáticos (Rocha & Azevedo, 2015).

Os termos sentinela ou biomarcador se referem ao uso de um animal para avaliar o risco ao humano quando exposto a riscos ambientais (Bowser & Anderson, 2018).

Os animais são os primeiros a entrar em contato com micróbios, contaminantes e poluentes causadores de doenças nas pessoas e os sinais clínicos neles podem ser alerta precoce para ameaças para a saúde humana (Goossens, van den Bogaard & Nohlmans, 2001). Exemplo disso é a pesquisa realizada por Chen et al. (2023) que utilizou cães domésticos como sentinelas da exposição de crianças ao chumbo e identificou que crianças e cães tiveram vias de exposição ao chumbo semelhantes.

A população canina atualmente pode ser categorizada em quatro grupos (WHO, 1990): cães domiciliados ou supervisionados; cães semidomiciliados; cães comunitários e cães ferais.

Cães são usados como alerta de perigo antevendo agentes danosos ao organismo humano (Schmidt, 2009). Cães semidomiciliados são considerados biomarcadores/sentinelas por habitarem os mesmos locais que o homem, estando suscetíveis à mesma variedade de agentes danosos (O'Brien et al., 1993).

Nesse sentido, a investigação de metais no sangue de cães semidomiciliados é ferramenta que pode corroborar neste e em futuros trabalhos de pesquisa. Considerando que as regiões em que pode ocorrer contaminação ambiental estão intimamente relacionadas às áreas em que os cães são semi-domiciliamento, esses animais podem ser possíveis biomarcadores de contaminação ambiental.

O objetivo desse estudo foi verificar se cães semidomiciliados da região do Rio Pouca Saúde podem ser biomarcadores de contaminação ambiental.

## 2. Metodologia

É uma pesquisa transversal mista, de natureza quantitativa, com coleta de dados prospectiva que seguiu as recomendações de relato do roteiro STROBE (*Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology*) para estudos observacionais (von Elm et al., 2007).

Inicialmente foi realizado contato com a Unidade de Vigilância em Zoonoses e a Secretaria de Saúde do Guarujá. Depois com a Coordenadoria de Saúde Básica do município e a Unidade de Saúde da Família (USAFA) do Sítio Conceiçãozinha (Guarujá. Postos de Saúde, 2022). Os gestores dessas entidades acolheram o projeto proporcionando acesso seguro ao território.

A população alvo foram os cães semidomiciliados que perambulam constantemente pelas imediações e margens do Rio Pouca Saúde.

A seleção dos cães foi realizada batendo-se de porta em porta e questionando o morador se o cão dele andava, regularmente, no mangue ou na água do rio Pouca Saúde. Também foi questionado se o cão animal ficava, sempre, nas imediações da moradia, voltando a ela em espaços curtos ou longos de tempo. Os animais selecionados foram os que ficavam sempre nas imediações da moradia. Os agentes de saúde da USAFA Sítio Conceiçãozinha colaboraram, intensamente, na seleção de cães do grupo amostral.

Os cães selecionados foram submetidos a: (i) avaliação clínica para verificação de possíveis ferimentos em patas e membros (Jericó et al., 2015); (ii) Coleta de sangue em tubo com EDTA para confecção de hemograma e avaliação da função renal e hepática (Vaden et al., 2013), em tubo com heparina para dosagem dos elementos químicos: Antimônio, Cádmiio,

Chumbo, Cromo, Mercúrio, Níquel e Zinco (Soldá, 2011); (iii) vacinação com vacina múltipla e antirrábica (uma dose de cada); (iv) identificação com coleira e (v) colocação de coleira antiparasitária.

O projeto foi aprovado pela CEUA da UNIMES sob o nº 202106091IC.

A seleção dos cães considerou o  $n$  mínimo aceitável para as análises de Qui-quadrado. Segundo cálculo amostral realizado no programa G\*Power 3.1, para alcançar um nível de significância de 5%, poder observado de 80% e tamanho do efeito de 0,5 para a análise de correlação linear, seria preciso uma amostra de 23 cães.

Para a caracterização dos agentes tóxicos presentes nos cães em comparação aos contaminantes obtidos na análise da água do rio Pouca Saúde do projeto FAPESP (processo 2019/25695-8) foi apresentada uma tabela contendo a análise descritiva dos dados dos metais tóxicos (média±desvio-padrão).

Todos os procedimentos estatísticos foram realizados com o software estatístico TIBCO Statistica™ versão 14.0.0.15. Os testes de Bartlett e Kolmogorov-Smirnov foram empregados para avaliar a homocedasticidade das variâncias e distribuição normal dos dados, respectivamente. Para a interpretação dos resultados, foi adotado o valor de significância estatística de 5% ( $p < 0.05$ ).

As variáveis categóricas foram apresentadas pelo número de observação de cada grupo ( $n$ ) e representadas em forma relativa (%) e as variáveis contínuas foram apresentadas em média±desvio padrão.

Para a análise dos parâmetros de contagem de reticulócitos ( $10^3/\text{mm}^3$ ), sexo e idade dos animais foi utilizado o teste  $t$  de Student para amostras independentes.

Os animais foram classificados em relação ao porte em 3 grupos: mini (3 a 6kg) pequeno (7 a 14kg) e médio (15 a 20kg). Para essa classificação, os parâmetros bioquímicos sanguíneos dos animais foram analisados por meio da ANOVA de uma via, seguida do teste *post hoc* de Duncan, quando apropriado.

Foram feitas correlações de Pearson quando apropriado considerando os pré-requisitos de relação linear entre as variáveis contínuas de interesse: idade do animal (em anos), peso do animal (kg) e parâmetros bioquímicos sanguíneos para analisar a força da relação com a concentração sanguínea do Zinco Total (mcg/dL) nos cães. A magnitude dos coeficientes de correlação foi classificada em módulo de acordo com Cohen (1988): inexistente ou fracos entre 0 a 0,29; médio entre 0,30 a 0,49; forte entre 0,5 a 1.

### 3. Resultados

#### 3.1 População dos cães do estudo

A amostra foi composta por 30 cães semidomiciliados que perambulavam pelas imediações e margens do Rio Pouca Saúde. A idade média dos cães foi 4,1 anos (dp: ±2,69) e o peso médio foi de 11,26 kg (dp: ±4,17). A proporção de fêmeas e machos foi de 50%. Em um animal foi detectada a presença de endoparasita nematódeo no sangue periférico (microfilárias). Os animais não apresentaram lesão nos membros na avaliação clínica. Alguns animais ( $n=4$ ) apresentaram contagem de reticulócitos no plasma ( $10^3/\text{mm}^3$ ) de grau leve a moderado (Tabela 1).

**Tabela 1** - Características da Amostra.

<b>Sexo</b>	<i>N</i>	%
Machos	15	50
Fêmeas	15	50
<b>Idade</b>	<i>N</i>	%
1	2	6,7
2	9	30
3	6	20
4	3	10
5	3	10
7	3	10
>8 anos	4	13,3
<b>Peso</b>	<i>N</i>	%
3 a 5 kg	3	10
6 a 7 kg	4	13,3
8 a 10 kg	3	10
11 a 12 kg	10	33,3
13 a 15 kg	6	20
16 a 20 kg	4	13,3
<b>Reticulócitos</b>	<i>N</i>	%
Ausente	26	86,7
Presente	4	13,3

Fonte: Autores.

### 3.2 Perfil toxicológico dos animais e das águas superficiais e sedimentos do Rio Pouca Saúde

A Tabela 2 apresenta as concentrações dos metais tóxicos Antimônio, Cromo, Mercúrio, Cádmio, Chumbo, Níquel e Zinco no plasma dos cães semidomiciliados. A análise mostrou que somente o contaminante Zinco Total apresentou valores acima do limite de detecção em 27 animais avaliados. Em relação às concentrações de metais em águas superficiais do Rio Pouca Saúde, foi observado valores abaixo do limite de determinação. Entretanto, nas amostras dos sedimentos do Rio Pouca Saúde foi possível identificar a presença dos elementos Níquel (19,3 mg/kg) e Zinco (186 mg/kg e 193,9 mg/kg) em concentrações elevadas. Esses valores foram acima do TEL (*Threshold Effect Level*) e abaixo do PEL (*Probable Effect Level*), portanto, representaram uma possível ocorrência de efeito adverso à comunidade biológica.

**Tabela 2** - Concentrações dos metais tóxicos encontrados no soro dos cães semidomiciliados, nas águas superficiais do Rio Pouca Saúde e em dois pontos distintos de coleta do sedimento do Rio.

<b>Metais Tóxicos</b>	<b>Cães</b>	<b>Soro</b>		<b>Águas Superficiais (mg/L)</b>	<b>Sedimentos Ponto 1 (mg/kg)</b>	<b>Sedimentos Ponto 2 (mg/kg)</b>
	<b>Soro (mg/kg)</b>	<b>LQ</b>	<b>LD</b>			
Antimônio total	< 0,04	0,1	0,04	-	-	-
Cromo total	< 0,18	0,5	0,18	-	-	-
Mercúrio total	< 0,0005	0,002	0,0005	< 0,0001	< 0,002	< 0,002
Cádmio total	< 0,005	0,02	0,005	< 0,001	< 0,02	< 0,02
Chumbo total	< 0,033	0,1	0,033	< 0,005	26,44	22,89
Níquel total	< 0,037	0,1	0,037	< 0,005	<b>19,33</b>	11,76
Zinco total	3,37±0,71	0,5	0,19	< 0,025	<b>186,87</b>	<b>193,9</b>

LQ: Limite de Quantificação. LD: Limite de Detecção. Análise da água superficial e sedimento do rio Pouca Saúde do projeto FAPESP (processo 2019/25695-8). Em negrito os metais com concentração elevada acima do TEL e abaixo do PEL. Referência CETESB: TEL (“Threshold Effect Level”), nível abaixo do qual não ocorre efeito adverso na comunidade biológica, PEL (“Probable Effect Level”), nível acima do qual é provável a ocorrência de efeito adverso à comunidade biológica e a faixa entre o TEL e o PEL representa uma possível ocorrência de efeito adverso à comunidade biológica. Fonte: Autores.

### 3.3 Parâmetros bioquímicos sanguíneos em animais na ausência e presença dos Reticulócitos.

A contagem de reticulócitos foi utilizada para avaliar, em valor absoluto, a resposta medular de regeneração e o grau dessa resposta: se leve, moderada ou intensa frente a uma anemia. Foi detectada a presença de reticulócitos em 4 cães com valores que representaram grau leve e moderado de regeneração. Para avaliar uma possível interferência da presença dessas células nos outros parâmetros sanguíneos, foram selecionados de maneira aleatória 4 cães que apresentavam mesma idade, sexo e peso corporal dos animais (n=4 por grupo). Os resultados indicaram que os animais com a presença de reticulócitos no sangue apresentaram redução estatisticamente significativa da concentração de VCM ( $p<0,05$ ), monócitos ( $p<0,03$ ) e creatinina ( $p<0,003$ ) em comparação aos animais que não apresentaram essas células (Teste *t de Student*) (Tabela 3).

**Tabela 3** - Análise comparativa dos animais na presença ou ausência de contagem de reticulócitos.

	RETICULÓCITOS ( $10^3/\text{mm}^3$ )	
	Ausência	Presença
Hemácias (milhões/dL)	5,1 ± 1,8	3,9 ± 0,6
Hemoglobina (%)	11,0 ± 3,1	8,8 ± 1,9
Hematócrito (%)	33,0 ± 10,3	24,4 ± 3,5
VCM (fL)	<b>64,2 ± 2,1</b>	<b>61 ± 1,4*</b>
CHCM (%)	32,9 ± 0,45	34,3 ± 2,2
Leucócitos totais (dL)	19600 ± 5774,6	19350 ± 6596,2
Segmentados (dL)	12541 ± 3925,8	13379,2 ± 5433,8
Linfócitos (dL)	5393,5 ± 1340,0	5012,5 ± 1447,8
Monócitos (dL)	<b>513,7 ± 133,5</b>	<b>205 ± 75,7**</b>
Eosinófilos (dL)	1215,5 ± 776,6	804,5 ± 567,1
Plaquetas (dL)	252 ± 56,6	326,2 ± 65,2
Proteínas totais (%)	8,8 ± 1,3	8,2 ± 1,1
ALT (UI/dL)	56,7 ± 20,7	49,5 ± 29,1
Creatinina (mg/dL)	<b>0,95 ± 0,06</b>	<b>0,67 ± 0,09***</b>
Fosfatase Alcalina (UI/dL)	36,5 ± 16,3	69,7 ± 47,4
Uréia (mg/dL)	36,5 ± 8,5	31,5 ± 10,5
Zinco total (mcg/dL)	295,5 ± 65,1	255,3 ± 43,5

\*  $p<0,05$ , \*\* $p<0,03$  e \*\*\*  $p<0,003$ . Teste *t de Student*. Fonte: Autores.

### 3.4 Parâmetros bioquímicos sanguíneos em animais em relação ao fator sexo

O fator sexo dos animais foi avaliado por meio da análise do teste *t de Student*. Os machos apresentaram maior porcentagem de proteínas totais (9,08%) em comparação às fêmeas (7,75%;  $p<0,005$ ). Não foi observado diferença estatisticamente significativa nos outros parâmetros analisados (Tabela 4).

**Tabela 4** - Análise dos parâmetros bioquímicos sanguíneos dos animais em relação ao sexo.

	SEXO	
	Fêmeas	Machos
Hemácias (milhões/dL)	5,4 ± 1,1	5,2 ± 1,3
Hemoglobina (%)	11,5 ± 2,2	11,2 ± 2,7
Hematócrito (%)	34,8 ± 7,1	33,7 ± 8,7
VCM (fL)	63,7 ± 3,5	63,8 ± 2,8
CHCM (%)	33,3 ± 0,9	33,3 ± 1,4
Leucócitos totais (dL)	19426,7 ± 7626,5	18906,7 ± 4540,7
Segmentados (dL)	14304 ± 5879,5	13022,3 ± 3547,7
Linfócitos (dL)	4201,9 ± 1769,6	4708,9 ± 1262,1
Monócitos (dL)	224 ± 109,1	355,5 ± 169,2
Eosinófilos (dL)	831,2 ± 812,3	897,5 ± 570,4
Plaquetas (dL)	305,7 ± 99,6	271,8 ± 48,5
Proteínas totais (%)	<b>7,7 ± 1,2</b>	<b>9,1 ± 1,2*</b>
ALT (UI/dL)	42,5 ± 16,2	45,4 ± 16,3
Creatinina (mg/dL)	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,1
Fosfatase Alcalina (UI/dL)	51,5 ± 34,8	38,3 ± 25,6
Uréia (mg/dL)	28,7 ± 15,2	32,9 ± 6,7
Zinco total (mcg/dL)	338,5 ± 77,7	337,5 ± 69,5

\* p<0,005. Teste *t de Student*. Fonte: Autores.

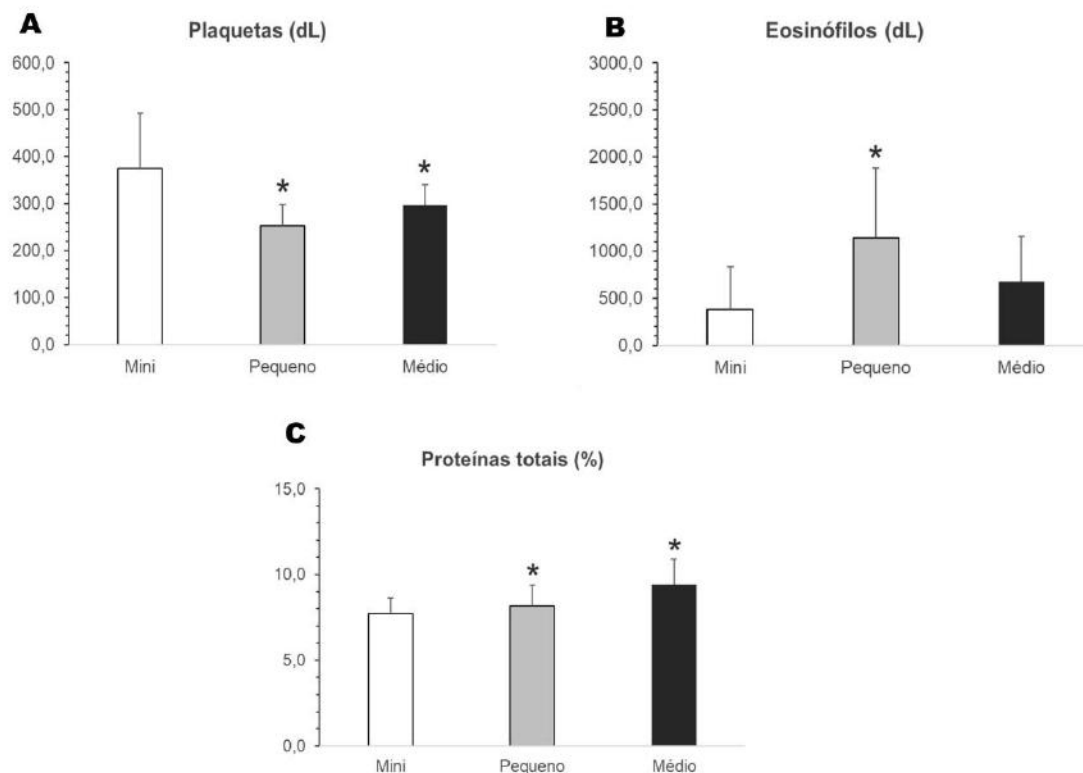
### 3.5 Parâmetros bioquímicos sanguíneos em animais em relação ao fator idade

Os cães foram divididos em dois grupos: cães jovens de 2 a 6 anos e idosos > 7 anos. Foi observado aumento da concentração de proteínas totais nos cães idosos (9,29%) em comparação aos jovens (8,15%; p<0,05). Os demais parâmetros bioquímicos sanguíneos permaneceram inalterados (Teste *t de Student*).

### 3.6 Parâmetros bioquímicos sanguíneos em animais em relação ao fator porte do animal

Em relação ao porte dos cães (Fig. 1), a ANOVA de uma via mostrou que houve diferença estatística nos parâmetros contagem de plaquetas [ $F_{(2,27)} = 7,78$ ; p<0,003], de eosinófilos [ $F_{(2,27)} = 3,53$ ; p<0,05] e porcentagem de proteína total [ $F_{(2,27)} = 3,91$ ; p<0,04] entre os grupos. O teste *post hoc* de Duncan mostrou que os cães dos grupos de porte pequeno (252 plaquetas por dL; p<0,001) e médio (296 plaquetas por dL; p<0,02) apresentaram redução estatisticamente significativa na contagem de plaquetas em comparação ao grupo de porte mini (375 plaquetas por dL; Figura 1C). Na avaliação dos eosinófilos (Figura 1B), houve aumento deste parâmetro nos animais do grupo de porte pequeno (1.138 eosinófilos por dL; p<0,03) em comparação ao grupo de porte mini (380 eosinófilos por dL). Os cães dos grupos de porte pequeno (8,16%; p<0,05) e médio (9,42; p<0,02) apresentaram aumento estatisticamente significativo na porcentagem de proteínas totais em comparação aos animais do grupo de porte mini (7,73%; Figura 1C). A ANOVA de uma via mostrou que não houve diferença estatística entre os grupos nos outros parâmetros analisados.

**Figura 1** - Avaliação do porte dos cães semidomiciliados na contagem de plaquetas (A), eosinófilos (B) e proteínas totais(C). Os valores estão representados pelas médias  $\pm$  desvio-padrão. ANOVA de uma via, seguida do teste *post hoc* de Duncan. \* $p < 0,05$  quando comparado ao grupo de porte mini.



Fonte: Autores.

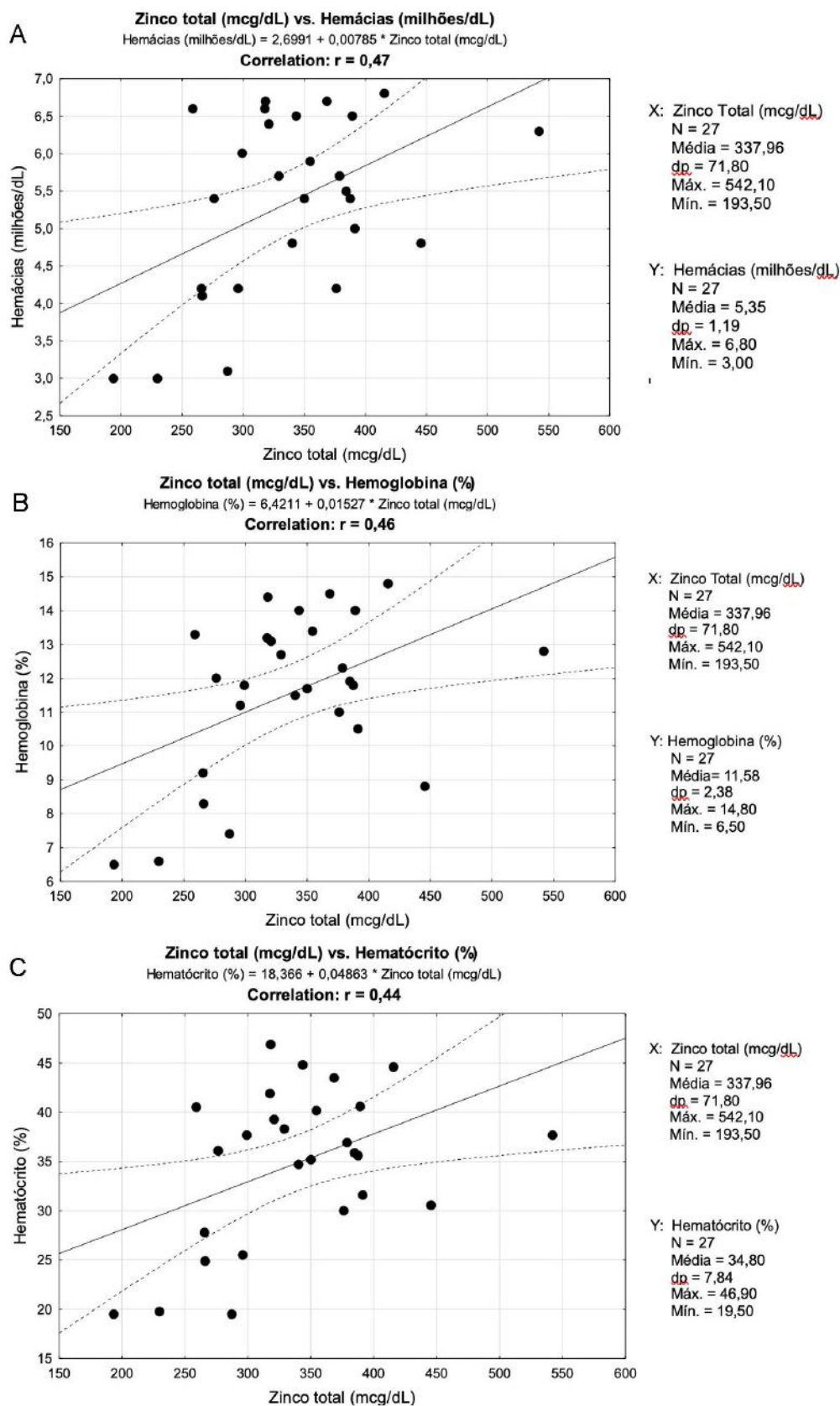
### 3.7 Correlação dos fatores idade, peso corporal e parâmetros bioquímicos com a concentração sanguínea do Zinco Total

A Figura 2A mostra que a variável hemácia (milhões/dL) revelou associação estatisticamente significativa com a concentração de Zinco total no soro nos cães de ambos os sexos e de diferentes pesos e idades ( $p < 0,05$ ). E as variáveis porcentagem de hemoglobina e hematócrito no plasma mostraram associação significativa com a concentração de Zinco total ( $p < 0,05$ ; Figuras 2C e 2D). Como pode ser observado na figura 2, nas três variáveis, há uma correlação linear positiva entre X e Y. A magnitude dos coeficientes de correlação de Person (r) observados foi de escores entre 0,44 a 0,47, considerados segundo Cohen (1988)<sup>18</sup> como médio ou moderado entre os respectivos pares de variáveis.

Por fim, em relação aos demais parâmetros bioquímicos sanguíneos avaliados e aos fatores idade e peso corporal, não se encontrou associação significativa entre essas variáveis e a concentração do contaminante Zinco total.



**Figura 2** - Correlação de Person (r) entre concentração de Zinco total (mcg/dL) vs contagem de hemácia (milhões/dL) (A), porcentagem de hemoglobina (%) (B) e porcentagem de hematócrito (%) (C) no sangue dos cães semidomiciliados.



Fonte: Autores.

#### 4. Discussão

Os cães semidomiciliados são biomarcadores sentinelas por habitarem os mesmos locais que o homem (Neves, 2019)<sup>19</sup>, estando suscetíveis às mesmas doenças e agentes danosos, sendo possível a obtenção de informações médicas que podem ser relevantes para enfermidades similares em humanos (O'Brien et al., 1993). Como também, serem determinantes ambientais da morbidade e mortalidade em humanos (Dettori et al., 2023).

A função do cão doméstico como “bioindicador sentinela” de contaminação para o cádmio e o chumbo relacionou-se a aspectos bioquímicos dos animais e socioambientais (Neves, 2019). O grupo de cães semidomiciliados, participantes desse trabalho de pesquisa, apesar de ter sido selecionado de maneira aleatória apresentou-se bastante representativo considerando os parâmetros sexo, idade e peso.

A escolha de animais semidomiciliados foi correta, pesquisa identificou maiores níveis de metais (Cd e Pb) no organismo de cães semidomiciliados em relação a domiciliados (Neves, 2019). Estar fixo em um local diminuiu muito a chance de contato com diferentes contaminantes ambientais.

Outros pontos evidenciados em relação ao modelo cão é que eles respondem a muitas agressões tóxicas de maneiras análogas aos humanos, pois apresentam expectativa de vida longa e estão isentos de importantes fatores de risco para doença relacionados ao estilo de vida (Backer et al., 2001).

Outro fato que corrobora os cães semidomiciliados apresentarem-se como possíveis marcadores/sentinelas de contaminação ambiental é o relato de médico veterinário - que atuou em resgates em situação de desastre por rompimento de rejeito da atividade de mineração ocorrido em Minas Gerais - de que os cães de resgate do corpo de bombeiros foram apresentando, ao longo do período de trabalho, elevação no sangue dos metais tóxicos, necessitando de afastamento médico (Xaulim, 2020).

Animais sentinela da contaminação ambiental entram em contato com o solo contaminado por meio do pelo, além da via alimentar. Os pelos dos mamíferos têm contato direto com a corrente sanguínea, podendo transferir os metais acumulados pelos tecidos externos para o interior do corpo, atingindo o sangue e órgãos, como rins, pulmões e fígado. Os autores trabalharam com ratos em locais com diferentes gradientes de poluição e identificaram relação positiva entre as concentrações de cádmio no pelo e em todos os tecidos internos dos animais, e de chumbo no pelo e a presença desse metal no rim e fígado (Beernaert et al., 2007).

Apesar de não ter sido evidenciada concentrações de metais em águas superficiais do Rio Pouca Saúde, a análise dos sedimentos identificou a presença dos elementos Níquel (19,3 mg/kg) e Zinco (186 mg/kg e 193,9 mg/kg) em concentrações elevadas (Ventura, 2022; Ventura et al., 2024).

Em relação aos cães semidomiciliados do Sítio Conceiçãozinha, a análise mostrou que somente o contaminante Zinco Total apresentou valores acima do limite de detecção em 90% dos animais avaliados.

Destaca-se que os cães participantes desse estudo de pesquisa provavelmente perambulavam, livremente, pelos locais do rio Pouca Saúde identificados por Ventura (2022). Considerado isso os cães dessa pesquisa podem ser caracterizados como sentinelas/biomarcadores da presença de Zinco no Rio Pouca Saúde.

O homem, como ser onívoro em contato direto com a natureza, recebe direta ou indiretamente parte destes resíduos. A intoxicação está relacionada, diretamente, à dose e à intensidade de exposição aos compostos tóxicos inorgânicos, que podem prejudicar os órgãos e processos biológicos de um mamífero (Neves, 2019). As concentrações elevadas de Ni e Zn nos sedimentos representam uma possível ocorrência de efeito adverso à comunidade biológica (Ventura, 2022, Ventura et al., 2024).

O Zn é um metal amplamente distribuído na natureza, ocorrendo nos solos e, como nutriente essencial, nas plantas em geral. Nos solos, os valores de zinco em áreas não poluídas variam de 10 a 30  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , a concentração média natural deste metal na crosta terrestre é de 65  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 2001).

O uso do Zn em sua forma metálica ou em sais é comum nos diferentes ramos industriais. Na Baixada Santista, o Zn é encontrado nos efluentes de grande parte das indústrias, dos terminais e em áreas contaminadas da região. Além do uso industrial, o Zn está presente nas habitações (em telhas e utensílios) e em produtos diversos, ocorrendo no lixo e no esgoto doméstico (Gordon, 2018).

A presença de Zn no lixo e esgoto domésticos sinaliza a necessidade de melhoria na qualidade da água da população do Sítio Conceiçãozinha por meio de ações públicas de tratamento do esgoto. Ações de conscientização da população sobre o descarte de lixo também são necessárias (Ventura, 2022; Ventura et al., 2024). É fundamental cada morador do território fazer a sua parte, além de solicitar junto a prefeitura ações de saneamento de esgoto.

Os animais participantes dessa pesquisa não apresentaram lesão nas patas na avaliação clínica. Diferente do que ocorre com cães que trabalham em situações de resgate que apresentam ferimentos em patas e membros (Gordon, 2018).

Quatro cães do estudo apresentaram número de reticulócitos aumentado no plasma de grau leve a moderado e isso, normalmente, indica uma hiperatividade da medula óssea frente a quadros de anemia (Riley et al., 2001). Cães semidomiciliados que podem passar por períodos de restrição alimentar podem apresentar anemia.

Animais submetidos à restrição alimentar apresentaram aumento significativo nos níveis de lipoproteína de alta densidade em comparação com os animais que tiveram livre acesso à comida (Alvarenga et al., 2012).

Os machos apresentaram maior porcentagem de proteínas totais em comparação as fêmeas e isso pode ser devido a estados de desidratação e inflamação (Carneiro, 2013). Uma explicação para isso é que machos, em geral, apresentam comportamento mais agressivo na disputa de alimento, território, reprodução levando a inflamação e/ou desidratação. Foi observado que cães idosos (mais de sete anos) apresentaram aumento de proteínas totais em comparação aos cães jovens, também podendo expressar maior estresse na disputa por recursos frente animais mais jovens.

Cães do grupo de porte mini apresentaram aumento, estatisticamente, significativo no número de plaquetas em comparação aos grupos de porte pequeno e médio. Entretanto, os cães de porte pequeno e médio apresentaram aumento significativo de proteínas totais em comparação aos animais de porte mini. Houve aumento do número de eosinófilos nos animais de porte pequeno em comparação ao de porte mini. Não foi identificada hipótese para essas ocorrências.

Foi verificado em relação a variável número de hemácia associação linear positiva moderada em relação à concentração de Zinco total, ou seja, quanto maior a concentração de Zinco no soro dos cães, de ambos os sexos e de diferentes pesos e idades, maiores foram as concentrações de hemácias.

Neves (2019) identificou níveis de Cádmio e Chumbo no sangue de cães do distrito de Antonio Perreira, Outro Preto, Minas Gerais, sendo que fêmeas apresentaram maiores níveis desses metais do que machos. Nos cães do Sítio Conceiçãozinha não foi evidenciada associação entre sexo e níveis de metais. Uma explicação para isso pode ser que os diferentes metais identificados nos dois estudos sejam relevantes ou as condições que os animais viviam. Neves (2019), levantou a hipótese da maior proximidade, devido a afetividade, das fêmeas ao ser humano, pois há relatos de que cachorras acompanham por mais tempo seus tutores, apresentando maior chance de exposição.

Nos cães participantes desse estudo, não foram significativos os fatores idade e porte, pois não houve associação com o Zinco. Dados discordantes aos que identificaram relação da idade à significativo acúmulo do cádmio em todos os tecidos e pelos de cães (Beernaert et al., 2007). Como também aos que verificaram para a idade e porte relação com níveis de Cádmio e Chumbo; cães mais idosos apresentaram maiores níveis de Cádmio e Chumbo e quanto maior o porte dos animais, menor a

concentração deles no sangue de cães (Neves, 2019). Ressalta-se que, pesquisa realizada por Giugliano et al., (2023) identificou que a exposição a metais tóxicos leva a uma maior mortalidade em cães mais velhos.

Estudos de López-Alonso et al. (2007), sugerem que a contaminação em cães mais velhos é maior e aumenta com o tempo. O que deve estar relacionado à bioacumulação dos metais em tecidos.

Avaliando-se o aspecto hematológico identificou-se relação indireta entre a concentração de Cádmio e de Chumbo com o número de linfócitos circulantes. Sugere-se que esta redução no número de linfócitos implique em parcial deficiência na resposta imune destes animais (Neves, 2019). Fato não observado nos cães dessa pesquisa, pois o número de linfócitos não apresentou alteração significativa frente aos valores de referência quando o Zinco estava aumentado.

Nos cães estudados não houve alteração na atividade hepática na presença de Zinco, dados diferentes aos verificados no distrito de Antônio Pereira (Ouro Preto, MG) em que cães apresentaram elevação nas enzimas hepática, principalmente quando da presença de chumbo (Neves, 2019).

Um fator que pode influenciar os níveis de metais tóxicos no sangue de cães, mas não foi alvo dessa pesquisa é o tipo de solo onde os cães permanecem/dormem, por ser considerado área de bioacumulação. Foram encontrados maiores níveis de cádmio e de chumbo em animais semidomiciliados com acesso às ruas de calçamento e terra, que alternavam suas tocas com frequência dentro das residências humanas (Park et al., 2005).

Considerando a susceptibilidade individual deve-se destacar que os cães do Sítio Conceiçãozinha, objetos dessa pesquisa, se mostraram bem adaptados às condições adversas particulares locais, apesar dos elevados níveis de Zinco no sangue.

O uso de bioindicadores ou sentinelas de metais tóxicos seria um alerta para minimizar consequências futuras como o surgimento de carcinomas, doenças autoimunes ou alterações metabólicas e de sistema nervoso central, todas consequentes do acúmulo crônico de metais tóxicos no animal. Isso é especialmente importante porque esses contaminantes ambientais inodoros não são evidenciados pela população humana. Dessa forma, acabam sendo consumidos de maneira indireta e frequente quando são usados na alimentação peixes, aves, hortaliças que absorveram esses metais tóxicos (Neves, 2019).

Destaca-se como principal limitação desse estudo, a dificuldade de abordagem da população de cães semidomiciliados que perambulam nas margens do Rio Pouca Saúde, onde em dias de chuva não havia segurança suficiente para caminhar nas passarelas improvisadas que conduzem às palafitas, e nos dias de sol as elevadas temperaturas dificultaram a coleta de dados. Claro que tudo isso faz parte de um projeto de vigilância epidemiológica com busca ativa desenvolvido em território, mas deve ser comentado para que novos pesquisadores estejam preparados para essas peculiares dificuldades.

## 5. Conclusão

Os resultados demonstraram que cães semi-domiciliados, residentes no Sítio Conceiçãozinha, Guarujá, São Paulo, podem ser classificados como biomarcadores/sentinelas da contaminação ambiental para metal tóxico na lama do Rio Pouca Saúde.

Devem ser realizados mais estudos para esclarecer, por exemplo, qual o tempo de exposição natural de um cão do Sítio Conceiçãozinha ao metal tóxico para que este afete o animal gravemente.

## Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa no Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de iniciação (processo 2020/12335-0) e materiais (processo 2019/25695-8). À Secretaria de Saúde do Guarujá, à Coordenadoria de Atenção Básica a Saúde e a Unidade de Saúde da Família (USAFA) do Sítio Conceiçãozinha, do Guarujá, São Paulo pelo acolhimento do projeto.

Agradecimentos especiais aos Agentes Comunitários de Saúde (ACS) Clea Simplício e Albert Carlos Neres pela disposição em ir em busca dos cães do estudo.

## Conflito de Interesses

Os autores informam que não há conflito de interesse.

## Referências

- Alvarenga, T. A., Tufik, S., Pires, G. N., & Andersen, M. L. (2012). Influence of food restriction on lipid profile and spontaneous glucose levels in male rats subjected to paradoxical sleep deprivation. *Clinics*, 67(4), 375-380. 10.6061/clinics/2012(04)11
- Baan, R. A., & Grosse, Y. (2004). Man-made mineral (vitreous) fibres: evaluations of cancer hazards by the IARC Monographs Programme. *Mutation Research*, 553(1-2), 43-58. 10.1016/j.mrfmmm.2004.06.019
- Backer, L. C., Grindemb, C. B., Corbett, W. T., Cullinsb, L., & Lee Hunter, J. (2001). Pet dogs as sentinels for environmental contamination. *Science of the Total Environment*, 274(1-3), 161-9. 10.1016/s0048-9697(01)00740-9
- Beernaert, J., Schiers, J., Leirs, H., Blust, R., & Van Hagen R. (2007). Non-destructive pollution exposure assessment by means of wood mice hair. *Environmental Pollution*, 145(2), 443-51. 10.1016/j.envpol.2006.04.025
- Bhat, S. A., Singha, S., Singhb, J., Kumarc, S., & Bhawanaa, A. P. V. (2018). Bioremediation and detoxification of industrial wastes by earthworms: Vermicompost as powerful crop nutrient in sustainable agriculture. *Bioresource Technology*, 252, 172-179. 10.1016/j.biortech.2018.01.003.
- Bowser, N., & Anderson, N. (2018). Dogs (*Canis familiaris*) as sentinels for human infectious disease and application to Canadian populations: a systematic review. *Veterinary Science*, 21, 5(4),83. 10.3390/vetsci5040083.
- Carneiro, L. F. R. (2013). *Proteínas de fase aguda em cães com diferentes escores corporais*. (Dissertação). Goiânia, GO. Escola de Veterinária e Zootecnia. Universidade Federal de Goiás. 289p.
- Chen, X., Cao, S., Wen, D., Zhang, Y., Wang, B., & Duan, X. (2023). Domestic dogs as sentinels of children lead exposure: Multi-pathway identification and source apportionment based on isotope technique. *Chemosphere*, 316,137787. 10.1016/j.chemosphere.2023.137787.
- Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. (2001). *Sistema Estuarino de Santos e São Vicente. Relatório técnico*. São Paulo. CETESB - Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental.
- Companhia Docas do Estado de São Paulo. (2018). *Guarujá*. <http://www.portodesantos.com.br/institucional/o-porto-de-santos>
- Cohen, J. (1998). *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. Second edition. Routledge. 567p.
- Dettoni, A., Ferroni, L., Felici, A., Scoccia, E., & Maresca, C. (2023). Canine mortality in Umbria Region (Central Italy): a population-based analysis. *Veterinary Research Communication*, 47(4), 2301-2306. 10.1007/s11259-023-10146-6.
- Giugliano, R., Crescio, M. I., Cosma, V., Ciccotelli, V., Vivaldi, B., & Razzuoli, E. (2024). Mortality and heavy metals environmental exposure: a study in dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, 5(10), 1297311. 10.3389/fvets.2023.1297311
- Goossens, H. A. T., van den Bogaard, A. E., & Nohlmans, M. K.E. (2001). Dogs as sentinels for human Lyme borreliosis in The Netherlands. *Journal of Clinical Microbiology*,39, 844–848.
- Gordon, L. E. (2018). The contribution of rescue dogs during natural disasters. *Revue Scientifique et Technique*, 37(1), 213-221. 10.20506/rst.37.1.2752.
- Guarujá: Postos de Saúde. (2022). <https://postosdesaude.com.br/sp/guaruja/usafa-sitio-conceicaozinha-guaruja>.
- Histórias e lendas do Guarujá – Bairros. (2014). *Os bairros do Guarujá*. <https://www.novomilenio.inf.br/guaruja/gbairronm.htm>.
- Histórias e lendas do Guarujá – Rios. (2012). *Rio Pouca Saúde*. <https://www.novomilenio.info.br/guaruja/gh019i.htm>.
- Jericó, M. M., Neto, J. P. A., & Kogika, M. M. (2015). *Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos*. Rio de Janeiro: Roca. 2012. 464p.
- Lima, M. G. F., Rocha, L. C., Silveira, G. L., Alvarenga, I. F. S., & Viera, L. F. A. (2019). Nucleolar alterations are reliable parameters to determine the cytogenotoxicity of environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 15(174), 630-636. 10.1016/j.ecoenv.2019.03.033.
- López-Alonso, M., Miranda, M., García-Partida, P., Cantero, F., Hernández, J., & Benedito, J. L. (2007). Use of dogs as indicators of metal exposure in rural and urban habitats in NW Spain. *Science of Total Environment*, 372(2-3), 668-75. 10.1016/j.scitotenv.2006.10.003
- Neves, L. C. (2019). *Cães sentinelas no monitoramento de contaminantes inorgânicos ambientais*. (Dissertação). Ouro Preto, MG. Departamento de Biodiversidade, Evolução e Meio Ambiente. Instituto de Ciências Exatas e Biológicas. Universidade Federal de Ouro Preto. 29p.
- O'Brien, D. J., Kaneene, J. B., & Poppenga, R.H. (1993). The use of mammals as sentinels for human exposure to toxic contaminants in the environment. *Environmental Health Perspectives*, 99, 351–368. 10.1289/ehp.9399351

- Park, S. H., Lee, M. H., & Kim, S. K. (2005). Studies on the concentrations of Cd, Pb, Hg and Cr in dog serum in Korea. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 8(11), 1623-1627.
- Riley, R. S., Ben-ezra, J. M., Goel, R., & Tidwell, A. (2001). Reticulocytes and reticulocyte enumeration. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 15(5), 267-94. 10.1002/jcla.1039.
- Rocha, C. H. B., & Azevedo, L. P. (2015). Avaliação da presença de metais pesados nas águas superficiais da Bacia do Córrego São Mateus, Juiz de Fora (MG), Brasil. *Revista Espinhaço*, 4(2), 33-44.
- Schmidt, P. L. (2009). Companion animals as sentinels for public health. *Veterinary Clinical North American: Small Animal Practice*, 39(2), 241-250.
- Soldá, N. (2011). *Determinação dos níveis de chumbo em amostras de sangue por meio da técnica de fingerstick associada à espectrometria de massas de alta resolução com fonte de plasma acoplada indutivamente (HR/ICP/MS)*. (Dissertação). São Paulo, SP. Ciências na Área de Tecnologia Nuclear – Aplicações. Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.63p.
- Vaden, S. L., Knoll, J. S., Smith Jr., F. W. K., & Tilley, L.P. (2013). Exames laboratoriais e procedimentos diagnósticos em cães e gatos. Roca, 848p.
- Ventura, M. L. S. (2022). *Avaliação das condições toxicológicas de um rio altamente impactado localizado no ambiente portuário de Santos – SP*. (Dissertação). Santos, SP. Mestrado em Saúde e Meio Ambiente. Universidade Metropolitana de Santos. 102 p.
- Ventura, M.; Curraladas, I.; dos Santos, M.; Boim, M.; Maquigusa, E.; Bastos, P., Jorge E. S. Sarkis, J. E. S.; Marcos A. Hortellani, M. H.; & Oliveira-Sales, E. (2024). Toxicological stress in a highly impacted river from the port environment of Santos, sp. *Química Nova*, 47(6), e-20240012, 1-9. 10.21577/0100-4042.20240012
- von Elm, E., Altman, D. G., Egger, M., Pocock, S. J., Gotsche, P. C., & Vandenbroucke, J. P. (2007). The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: guidelines for reporting observational studies. *Annals of Internal Medicine*, 147(8), 573-577. PMID: 17938396
- WHO. World Society for Protection of Animals. (1990). *Guidelines for the dog population management*. Geneva: World Health Organization. 116p.
- Xaulim, G. M. D. R. (2020). *Comunicação pessoal - visita técnica à Coordenadoria Estadual de Defesa dos Animais (CEDA), Ministério Público de Minas Gerais, ocorrida em 18 de Agosto de 2020*.