



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE ENERGIA NUCLEAR
COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR
CENTRO REGIONAL DE CIÊNCIAS NUCLEARES DO NORDESTE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIAS ENERGÉTICAS E
NUCLEARES

DALIANA THAISA MARIA TELES DE OLIVEIRA SOUZA

**BIOMONITORAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS DE MATRIZ NÃO INVASIVA
(PELOS) APLICADA À SAÚDE DE ANIMAIS DOMÉSTICOS**

Recife
2022

DALIANA THAISA MARIA TELES DE OLIVEIRA SOUZA

**BIOMONITORAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS DE MATRIZ NÃO INVASIVA
(PELOS) APLICADA À SAÚDE DE ANIMAIS DOMÉSTICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologias Energéticas e Nucleares.

Área de concentração: Aplicações de Radioisótopos na Agricultura e Meio Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Elvis Joacir de França.

Recife
2022

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Sandra Maria Neri Santiago, CRB-4 / 1267

S729b Souza, Daliana Thaisa Maria Teles de Oliveira.
Biomonitoração de elementos químicos de matriz não invasiva (pelos) aplicada à saúde de animais domésticos / Daliana Thaisa Maria Teles de Oliveira Souza. – 2022.
108 f.: il., fig., tab.

Orientador: Prof. Dr. Elvis Joacir de França.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CTG.
Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares.
Recife, 2022.
Inclui referências, apêndices e anexo.

1. Energia nuclear. 2. Animais domésticos. 3. Biossentinelas. 4. Suscetibilidade. 5. Elementos traços. 6. Contaminação ambiental. I. França, Elvis Joacir de (Orientador). II. Título.

UFPE

621.4837 CDD (22. ed.) BCTG/2023-190

DALIANA THAISA MARIA TELES DE OLIVEIRA SOUZA

**BIOMONITORAÇÃO DE ELEMENTOS QUÍMICOS DE MATRIZ NÃO INVASIVA
(PELOS) APLICADA À SAÚDE DE ANIMAIS DOMÉSTICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociência, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Tecnologias Energéticas e Nucleares. Área de concentração: Aplicações de Radioisótopos na Agricultura e Meio Ambiente.

Aprovada em: 14/09/2022.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Maíra de Vasconcelos Lima (Examinadora Externa) Centro
Regional de Ciências Nucleares do Nordeste

Profa. Dra. Maria José de Filgueiras Gomes (Examinadora Externa)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

A Deus, a minha irmã Danylla, a minha mãe Graça e em especial a minha avó, Terezilda e ao meu pai, Joel (*in memoriam*).

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser tão presente na minha vida, me fortalecendo e me guiando pelo melhor caminho a seguir e sempre me ajudando a superar os obstáculos.

A minha mãe, por ser uma grande inspiração e exemplo de força e coragem.

A minha irmã pelo apoio em todos os momentos, paciência, cuidado e cumplicidade.

Ao meu pai (*in memoriam*) obrigada por ter acreditado em mim desde sempre.

Ao meu orientador Prof. Dr. Elvis Joacir de França, pela paciência, cumplicidade, por ter acreditado no meu potencial e por toda dedicação durante esses anos.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco pelo apoio financeiro.

À Secretaria e à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Tecnologias Energéticas e Nucleares pelo suporte acadêmico.

Aos companheiros que me ajudaram durante essa jornada do mestrado, Marcelo e Matheus.

Aos servidores que me ajudaram bastante tornando possível o desenvolvimento deste trabalho, Suy, Crescêncio e Gilberto.

A seu Lindomar por tornar as idas para as coletas um momento descontraído.

A minha amiga Thyara por toda disponibilidade e apoio de sempre.

A minha amiga Hidaiane por toda força durante esse processo.

A minha gatinha Juju por todo companheirismo e nunca me deixar sozinha nas madrugadas de estudo.

A minha avó (*in memoriam*) obrigada por tudo, olha por mim aí de cima.

E a todos que, de forma direta ou não, contribuíram para realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos!

RESUMO

Animais domésticos convivem diariamente com os seres humanos e estão cada vez mais próximos, compartilhando o ambiente a água e a alimentação. Por possuírem uma fisiologia parecida, podem desenvolver as mesmas doenças, inclusive, além de estarem praticamente sujeitos à mesma exposição a elementos químicos e aos seus efeitos danosos. Por isso, o presente trabalho teve como objetivo realizar a biomonitoração de elementos químicos fazendo uso de uma matriz não invasiva (pelos) para verificar uma possível relação com sistema imunológico debilitado em animais domésticos. Foram amostrados pelos de 95 animais entre gatos e cachorros, incluindo animais internados em Clínica Veterinária, animais sem histórico de doenças e animais com histórico de doenças, para avaliar a influência das comorbidades sobre a composição química dos pelos. Após preparo (limpeza, secagem e homogeneização), as amostras de pelos foram analisadas por EDXRF, que por não ser destrutiva, permitiu, posteriormente o tratamento químico de 0,5g com 4 ml de HNO³ (ácido nítrico), seguindo com determinação por ICP-OES, FAAS e GFAAS. Os elementos analisados foram Alumínio (Al), Cálcio (Ca), Cadmio (Cd), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Potássio (K), Magnésio (Mg), Manganês (Mn), Sódio (Na), Níquel (Ni), Fósforo (P), Chumbo (Pb) e Zinco (Zn), onde de acordo com a análise de agrupamentos, os resultados obtidos não foram totalmente conclusivos, empregando-se os espectros de Raios-X. Contudo, univariadamente, resultados significativos ($\alpha = 0,05$) foram obtidos para Município; Espécie; Alimentação e Doença, onde as concentrações de Cr e Cu foram importantes para a discriminação dos indivíduos doentes. A análise multivariada a partir das concentrações dos elementos químicos também indicou a formação de grupos conforme o estado de saúde dos animais, que podem estar relacionados com o ambiente de crescimento. Desse modo, o local de moradia do tutor possui influência predominante sobre a concentração de elementos químicos nos pelos, enquanto cobre e cromo nos pelos foram importantes para a discriminação de animais saudáveis e doentes.

Palavras-chave: animais domésticos; biossentinelas; suscetibilidade; elementos traços; contaminação ambiental.

ABSTRACT

Domestic animals live with humans on a daily basis and are increasingly closer, sharing the environment, water and food. Because they have a similar physiology, they can develop the same diseases, in addition to being practically subject to the same exposure to chemical elements and their harmful effects. Therefore, the present work aimed to perform biomonitoring of chemical elements using a non-invasive matrix (hair) to verify a possible relationship with a weakened immune system in domestic animals. Hair was sampled from 95 animals, including cats and dogs, including animals admitted to a Veterinary Clinic, animals without a history of disease and animals with a history of disease, to evaluate the influence of comorbidities on the chemical composition of the hair. After preparation (cleaning, drying and homogenization), the hair samples were tested by EDXRF, which, as they were non-destructive, subsequently allowed the chemical treatment of 0.5g with 4 ml of HNO₃ (nitric acid), following ICP determination. -OES, FAAS and GFAAS. The elements analyzed were Aluminum (Al), Calcium (Ca), Cadmium (Cd), Chromium (Cr), Copper (Cu), Iron (Fe), Potassium (K), Magnesium (Mg), Manganese (Mn), Sodium (Na), Nickel (Ni), Phosphorus (P), Lead (Pb) and Zinc (Zn), where according to the cluster analysis, the results obtained were not completely conclusive, using X-ray spectra. However, univariately, significant results ($\alpha = 0.05$) were obtained for Municipality; Species; Food and Disease, where the concentrations of Cr and Cu were important for the discrimination of individuals. A multivariate analysis based on the concentrations of chemical elements also indicated the formation of groups according to the health status of the animals, which may be related to the growth environment. Therefore, the owner's place of residence predominantly influences the concentration of chemical elements in the hair, while copper and chromium in the hair were important for the discrimination of healthy and sick animals.

Keywords: domestic animals; biosentinels; susceptibility; trace elements; environmental contamination.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Distribuição dos casos registrados para SARS-CoV-2 em animais nos EUA.....	20
Figura 2 -	Sistema Biológico dos Elementos – SBE.....	25
Figura 3 -	Estrutura do pelo.....	27
Figura 4 -	Municípios englobados na pesquisa para a biomonitoração de elementos químicos em pelos de animais domésticos.....	33
Figura 5 -	Equipe paramentada para a realização das coletas.....	34
Figura 6 -	Coleta do pelo de um gato.....	36
Figura 7 -	Tubos para armazenamento das amostras durante a coleta.....	36
Figura 8 -	Centrífuga utilizada para limpeza dos pelos.....	37
Figura 9 -	(A) Tubo com a amostra de pelos mergulhada em acetona. (B) Tubo após passar na centrífuga e após retirada do pelo restando apenas o resíduo da amostra.....	37
Figura 10 -	Amostras armazenadas para encaminhamento ao processo de secagem.....	38
Figura 11 -	(A) Porção de amostra picotada. (B) Pelos embalados no filme de poliéster <i>Mylar</i> . (C) Amostras de pelos para a análise por EDXRF.....	39
Figura 12 -	Equipamento EDX-720 da Shimadzu para análises por EDXRF.....	40
Figura 13 -	Amostras com ácido nítrico - HNO ₃ após às 24 horas em repouso.....	42
Figura 14 -	A) Equipamento para a análise por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama - FAAS; (B) Equipamento para a Espectrometria por Absorção Atômica com Forno de Grafite – GFAAS; (C) Equipamento para a análise por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado – ICP-OES.....	43
Figura 15 -	Gráfico de dispersão entre as componentes principais 1 e 2 para as amostras de pelos de animais domésticos.....	46
Figura 16 -	Dendrograma obtido a partir dos espectros de raio-X.....	48

Figura 17 - Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Al determinadas em pelos de animais domésticos.....	51
Figura 18 - Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Ca determinadas em pelos de animais domésticos.....	53
Figura 19 - Gráficos box-plot para as concentrações de Cd determinadas nos pelos de cães e gatos saudáveis (S) e doentes (D).....	54
Figura 20 - Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Cr determinadas em pelos de animais domésticos.....	56
Figura 21 - Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Cu determinadas em pelos de animais domésticos.....	58
Figura 22 - Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Fe determinadas em pelos de animais domésticos.....	60
Figura 23 - Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Mg determinadas em pelos de animais domésticos.....	62
Figura 24 - Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Mn determinadas em pelos de animais domésticos.....	64
Figura 25 - Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Na determinadas em pelos de animais domésticos.....	66
Figura 26 - Gráficos <i>box-plot</i> para as concentrações de Ni determinadas nos pelos de cães e gatos saudáveis (S) e doentes (D).....	67
Figura 27 - Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de P determinadas em pelos de animais domésticos.....	68
Figura 28 - Gráficos <i>box-plot</i> para as concentrações de Pb determinadas nos pelos de cães e gatos saudáveis (S) e doentes (D).....	70
Figura 29 - Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Zn determinadas em pelos de animais domésticos.....	71
Figura 30 - Distribuição das variáveis significativas em nível de 95% de acordo com os resultados da ANOVA.....	73
Figura 31 - Gráfico de dispersão para os valores das componentes principais 1 (CP1) e 2 (CP2)	75
Figura 32 - Dendrograma obtido para os resultados de pelos de animais.....	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Valores de concentração (mg kg^{-1}) para pelos de animais quantificado por diversas técnicas analíticas.....	28
Tabela 2 -	Elementos químicos identificados nas amostras por EDXRF.....	45
Tabela 3 -	Concentrações médias, mínimas e máximas de elementos químicos em mg kg^{-1} de pelos de animais saudáveis comparadas com os animais doentes.....	49
Tabela 4 -	Classificação dos elementos químicos mais significativos para os tratamentos estudados.....	74

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	COVID-19 E PROFISSIONAIS DE SAÚDE.....	16
2.2	ANIMAIS DOMÉSTICOS COMO BIOSSENTINELAS DE DOENÇAS.....	18
2.3	ELEMENTOS QUÍMICOS E IMUNIDADE.....	22
2.4	BIOMONITORAÇÃO.....	24
2.5	MATRIZ NÃO INVASIVA PELOS.....	26
2.6	TÉCNICAS ANALÍTICAS.....	29
2.6.1	Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado ICP-OES.....	30
2.6.2	Espectrometria de Fluorescência de Raio X por Dispersão de Energia (EDXRF).....	30
2.6.3	Espectrometria por Absorção Atômica com Chama (FAAS).....	31
2.6.4	Espectrometria por Absorção Atômica com Forno de Grafite (GFAAS).....	31
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1	DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO.....	32
3.2	AMOSTRAGEM	33
3.2.1	Animais internados em Clínica Veterinária.....	33
3.2.2	Animais saudáveis (sem histórico de doença)	34
3.2.3	Animais com histórico de doenças.....	35
3.2.4	Procedimento de amostragem.....	35
3.3	TRATAMENTO DOS PELOS.....	37
3.4	ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA POR EDXRF	38
3.4.1	Preparação das amostras para análise quimiométrica.....	39
3.4.2	Análise por Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia.	39
3.5	TRATAMENTO QUÍMICO.....	40
3.6	ANÁLISES QUÍMICAS POR FAAS, GFAAS E ICP-OES.....	42
3.6.1	Qualidade do procedimento analítico – Número En.....	44

3.6.2	Análises estatísticas.....	44
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1	ANÁLISE EQUIMIOMÉTRICA POR EDXRF	45
4.2	CONCENTRAÇÕES DE REFERÊNCIA PARA ANIMAIS SADIOS.....	49
4.3	ANÁLISE DE VARIÂNCIA.....	50
4.3.1	Alumínio	50
4.3.2	Cálcio	53
4.3.3	Cádmio	54
4.3.4	Cromo.....	55
4.3.5	Cobre.....	57
4.3.6	Ferro.....	59
4.3.7	Potássio.....	61
4.3.8	Magnésio.....	61
4.3.9	Manganês.....	63
4.3.10	Sódio.....	65
4.3.11	Níquel.....	67
4.3.12	Fósforo.....	68
4.3.13	Chumbo.....	69
4.3.14	Zinco.....	70
4.3.15	Resumo da análise estatística univariada.....	72
4.4	ANÁLISE MULTIVARIADA	74
5	CONCLUSÕES	78
	REFERÊNCIAS	80
	APÊNDICE A – FOLDER DE DIVULGAÇÃO DO TRABALHO.....	91
	APÊNDICE B – DEFINIÇÃO DA METODOLOGIA PARA AMOSTRAGEM DE PELOS COM RELAÇÃO A ELEMENTOS QUÍMICOS	93
	APÊNDICE C – QUESTIONÁRIO APLICADO AOS VOLUNTÁRIOS DA PESQUISA.....	102
	APÊNDICE D – TABELA COM INFORMAÇÕES SOBRE OS ANIMAIS.....	104
	ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA PARA USO DE ANIMAIS – CEUA/UFPE.....	108

1. INTRODUÇÃO

Os animais domésticos compartilham o mesmo ambiente com os seres humanos e estão cada vez mais próximos, além de possuírem alimentação parecida, e consumindo, muitas vezes, da mesma fonte de água como também estando expostos aos mesmos poluentes (ROCHA, 2021; SILVA et al., 2021). Com semelhança fisiológica aos seres humanos, esses animais, tendem a desenvolver as mesmas doenças, porém, por apresentarem um ciclo de vida mais curto, os sintomas se manifestam de forma mais imediata (SOUSA et al., 2013; STRUMINSKA-PARULSKA et al., 2015). Por outro lado, os animais domésticos estão ocupando um nicho muito importante quando associados ao aparecimento e desenvolvimento de novas doenças, sendo considerados bioindicadores e sentinelas (TOMZAMARCINIAK et al., 2012).

Cada vez mais próximo esse contato entre homem e animal, o que pode levar ao compartilhamento de problemas de saúde, de contaminação ambiental e, até mesmo, o desenvolvimento de doenças. A disseminação de doenças nos dias de hoje pode ocorrer bem mais rápida, e alguns fatores contribuem para esse acontecimento como o avanço tecnológico e a facilidade de locomoção entre países. Dois terços das doenças hoje conhecidas com impactos na saúde humana são de origem animal e classificadas como zoonoses. Essas enfermidades são altamente relevantes, considerando-se seu grau de mortalidade, morbidade e os fatores econômicos associados (GHIMIRE, 2022).

Recentemente, precisamente no final de 2019, foi presenciado o surgimento de uma nova doença que, logo se espalhou por diversos países, caracterizando-a como uma pandemia. A doença recebeu o nome de COVID-19 e é causada pelo vírus SARS-CoV-2 que possui alta transmissibilidade, além de ter sido considerada de alta letalidade, até o desenvolvimento das vacinas. Foi classificada como o maior problema de saúde pública mundial, principalmente por exaurir os sistemas de saúde particulares e públicos (ROCHA, 2021; VEDOVATO et al., 2021).

Desse modo, os trabalhadores da saúde integram o grupo com alto nível de exposição, pois muitas vezes, estão em contato direto com pessoas contaminadas

(ROCHA, 2021). Soma-se a isso também, o fato da contaminação pelo SARS-CoV-2 ter sido identificada em animais domésticos (AKHMETZHANOV, 2020). Dessa forma, estudos estão sendo amplamente realizados para um melhor conhecimento sobre o assunto (SILVA et al., 2021), assim como outros fatores, genéticos e imunológicos estão sendo estudados, a fim de esclarecer o mecanismo de ação da doença.

Levando em consideração a ocorrência dessa contaminação, o conceito de biossentinelas é particularmente interessante quando se trata de predição de rompimento de barreiras entre espécies no caso de doenças, assim como, pode ser empregado também para estudos de contaminação por elementos químicos (TOMZAMARCINI et al., 2012). Os elementos químicos classificados como essenciais são importantes para o desempenho de funções fundamentais no organismo como a regulação da resposta imune (MACÊDO et al., 2010). A falta ou excesso desses elementos químicos pode causar danos aos sistemas funcionais, como exemplo a deficiência de zinco, que está fortemente associado com a função imunológica (HAASE; RINK, 2009).

O emprego de animais domésticos como biomonitoradores de contaminação têm se tornado preponderante (SOUSA et al., 2013; KARTHIKRAJ et al., 2020; MAKOWSKA et al., 2022). Para isso, a escolha de uma matriz ideal para a realização das análises químicas é muito importante, uma ótima alternativa é o uso de matriz não invasiva, pois apresenta várias vantagens principalmente em relação ao manuseio, amostragem e aspectos éticos. As matrizes de uso mais comuns para mamíferos, são cabelo (pelo), unha, saliva e urina, para humanos (ESTEBAN; CASTAÑO, 2009). Como o Brasil tem a segunda maior população de cães e gatos em todo o mundo e é o terceiro maior país em população total de animais de estimação (ABINPET 2020), o uso do pelo de animais domésticos mamíferos pode ser um ótimo indicador de contaminação. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi biomonitorar os elementos químicos: Alumínio (Al), Cálcio (Ca), Cádmi (Cd), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Potássio (K), Magnésio (Mg), Manganês (Mn), Sódio (Na), Níquel (Ni), Fósforo (P), Chumbo (Pb) e Zinco (Zn) por meio de uma matriz não invasiva (pelos) para verificar uma possível relação com sistema imunológico debilitado em animais domésticos. Como objetivos específicos, têm-se:

- Implementar metodologia para análise de matriz não invasiva (pelos);
- Aplicar a Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia – EDXRF e ferramentas quimiométricas para discriminar animais saudáveis e aqueles acometidos por doenças;
- Quantificar Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb e Zn nos pelos dos animais domésticos (gatos e cachorros) por meio da Espectrometria de Absorção Atômica com Chama - FAAS e com Forno de Grafite – GFAAS e Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Acoplado Indutivamente – ICPOES;
- Estabelecer relações entre a composição química de pelos e o estado de saúde dos animais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A pandemia da COVID-19, por infligir diretamente a população mundial nos últimos anos, conduziu à reflexão sobre diversos aspectos e formas de lidar com o ambiente e saúde. Animais domésticos estão muito próximos dos humanos e dividem inclusive o mesmo ambiente; algumas vezes, podem desenvolver as mesmas doenças, que tem como origem diversas causas entrelaçadas além de, estarem também, associadas a elementos químicos. Alguns elementos químicos são onipresentes e podem passar despercebidos no ambiente. Similarmente, investir em técnicas para facilitar a detecção de problemas de saúde parece ser essencial nos tempos atuais em que pandemias e epidemias possam ser frequentes. Diante este cenário, pode-se citar o uso de matrizes não invasivas, que podem proporcionar a associação entre elementos químicos e a suscetibilidade a desenvolver doenças. Contudo, o emprego de uma matriz não invasiva é, ainda, considerado complexo uma vez que diversos fatores podem contribuir para alteração na composição química de pelos, por exemplo. Considerando esses pontos, nos tópicos seguintes, serão abordados assuntos essenciais para uma compreensão melhor desta pesquisa científica, incluindo o fator motivador relacionado à suscetibilidade de animais domésticos ao novo coronavírus.

2.1 COVID-19 E PROFISSIONAIS DE SAÚDE

Durante a pandemia da COVID-19, as primeiras pessoas a serem infectadas pelo vírus SARS-CoV-2 foram trabalhadores e clientes do mercado de frutos do mar em Wuhan na China. No Brasil, não foi diferente, o segundo caso registrado no país foi de uma doméstica que se contaminou no seu local de trabalho. Desta forma a atividade ocupacional desenvolvida está ligada aos primeiros casos de contaminação (JACKSON FILHO et al., 2020).

Com o avanço das infecções, alguns profissionais ficaram mais expostos ao vírus, é o caso dos profissionais de saúde que atuaram na linha de frente da pandemia, como: médicos, enfermeiros, técnicos de enfermagem, fisioterapeutas, agentes comunitários de saúde e serviços gerais em atividades hospitalares, por exemplo. A procura por Equipamentos de Proteção individual – EPI como luvas e máscaras, entre

outros, aumentaram e não foi suficiente para atender toda demanda, que incluía vários países além, do Brasil. Ocasinou na escassez de equipamentos adequados para uma devida proteção contra o vírus, que resultou em profissionais mais expostos, conseqüentemente, mais contaminados (HELIOTERIO et al., 2020).

No Brasil, todos os estados registraram casos de COVID-19. Em São Paulo, após dois meses da pandemia decretada, mais de 7 mil trabalhadores da saúde tinham sido afastados. Na Bahia, três meses após, mais de 5.000 trabalhadores foram confirmados com a doença. Os números citados são relativos apenas a casos graves, o que leva a acreditar em um número de infectados provavelmente maiores. Em situações como essa de pandemia, a demanda nos serviços de saúde aumenta e os trabalhadores ficam bastante sobrecarregados, cumprindo cargas horárias de trabalho extensas com muita cobrança e sem descanso, o que resulta em um inquestionável impacto na saúde dos trabalhadores (HELIOTERIO et al., 2020).

Com um grande percentual de funcionários de saúde contaminados com o SARS-CoV-2, é evidente que esses trabalhadores foram os mais expostos durante a pandemia (ROCHA et al., 2021). Classificados como grupo de risco, por conta do contato direto com várias pessoas contaminadas, é esperada uma exposição maior e conseqüentemente uma a uma carga viral elevada. Durante esse período, uma das preocupações dos trabalhadores foi o favorecimento da veiculação do vírus para casa, assim, contaminando seus familiares (TEIXEIRA et al., 2020). O que pode resultar também em contaminação dos seus animais domésticos, tornando-os “reservatórios” do novo coronavírus.

Conforme a progressão da pandemia, estudos foram sendo aprimorados e houve a descoberta de que animais não humanos poderiam se tornar hospedeiros para o SARS-CoV-2. O primeiro caso registrado ocorreu em Hong Kong em fevereiro de 2020, em que um cão foi testado positivo para COVID-19 (SILVA et al., 2021). Porém, é importante ressaltar que a forma de contaminação não foi registrada no formato animais domésticos-humanos e sim humano-animal doméstico. A partir desse momento, outros casos foram notificados e estavam, na maioria das vezes, associados a seus proprietários que testaram positivo para COVID-19 (SILVA et al., 2021).

Além disso, há grande possibilidade que a origem da COVID-19 tenha como base uma relação zoonótica, sendo a fonte principal de contaminação, o comércio de

animais selvagens e o seu contato direto com humanos. Vista como uma doença de grande impacto pelo seu elevado número de mortes causadas, é atualmente considerada a mais recente doença zoonótica conhecida (BORZÉE et al., 2020).

Nesses casos, quando os patógenos de uma determinada espécie atingem outras espécies, tem-se o salto zoonótico; ao serem transmitidos do animal para o homem, chamam-se de zoonoses (ROCHA, et al., 2020). Os surtos zoonóticos sempre ocorreram e são várias as causas do seu surgimento, todavia, principalmente, ações humanas (ROCHA, et al., 2020). Cada vez mais, pessoas possuem animais de estimação e algumas zoonoses têm como origem esses animais (GHIMIRE et al., 2022), o que diante o cenário, indica uma facilidade na contaminação de SARS-CoV-2, para profissionais de saúde e seus respectivos animais domésticos. O qual fomentou o estudo de biomonitoração utilizando pelos, uma vez que animais mais debilitados poderiam desenvolver a doença com mais facilidade.

2.2 ANIMAIS DOMÉSTICOS COMO BIOSSENTINELAS DE DOENÇAS

Os surgimentos de novas doenças estão associados principalmente a fatores socioeconômicos, ambientais e ecológicos (JONES et al., 2008). Quando se trata de doenças infecciosas de origem animal não humana, é levada em consideração a aproximação entre homens e animais (ACOSTA et al., 2020). Um estudo sobre o surgimento de novas doenças concluiu que a maioria das doenças infecciosas (60,3%) foram de origem zoonóticas. Do total dessas doenças, 71,8% foram doenças emergentes de origem selvagem e esses números apresentaram tendências de crescimento nos últimos anos (JONES et al., 2008).

Uma doença zoonótica muito comum é a esporotricose com ocorrência em todo o mundo com destaque para América Latina (SCHUBACH, 2012). No Brasil, essa doença atingiu níveis epidêmicos, principalmente no estado do Rio de Janeiro, devido à contaminação gato-humanos (BRIZENO; SILVA; BASSOLI 2020). Com isso, em julho de 2013, foi divulgada uma portaria na qual a esporotricose se tornou uma doença de notificação compulsória para o Estado do Rio de Janeiro. Alguns anos após, outros estados e municípios passaram a fazer parte dessa lista como é o caso de Pernambuco, Paraíba e alguns municípios como Guarulhos em São Paulo, Camaçari na Bahia e Conselheiro Lafaiate em Minas Gerais (FALCÃO et al., 2019;

BRIZENO; SILVA; BASSOLI, 2020). O estado de evolução dessa doença está associado à imunidade do hospedeiro. Nas formas mais graves como é o caso da infecção sistêmica, o fungo se prolifera por várias áreas do corpo e atinge, principalmente, os indivíduos imunocomprometidos (BACHUR; NEPOMUCENO, 2021).

Assim como na esporotricose, o sistema imune desenvolve um papel muito importante no combate as infecções. Porém, em algumas doenças infecciosas, o seu comportamento é um pouco mais complexo, é o caso da *Leishmaniose*. A leishmaniose é uma doença de ampla distribuição, sendo inclusive endêmicas em 88 países (SOUZA, 2013). Dos indivíduos acometidos, quando não tratada, a doença pode evoluir para óbito (SOUZA, 2013). Segundo a Organização Mundial de Saúde – OMS, as leishmanioses são algumas das doenças mais negligenciadas no mundo e representam um grande problema de saúde pública. O cão é o principal reservatório e se encontra bem próximo aos humanos, facilitando o potencial zoonótico da doença (SILVA et al., 2017). Souza (2013), em seu estudo com os nutrientes que incluem cobre (Cu), zinco (Zn) e ferro (Fe) e sua influência na resposta imune durante infecção por *Leishmania* sp., encontrou que os animais que apresentaram alterações nas concentrações dos elementos químicos, desenvolveram formas diferentes na evolução da doença. De fato, como já observado em outros estudos, os níveis de Fe e Zn podem ser alterados por infecções agudas e crônicas (MILLER, 1985), quando associados a patógenos.

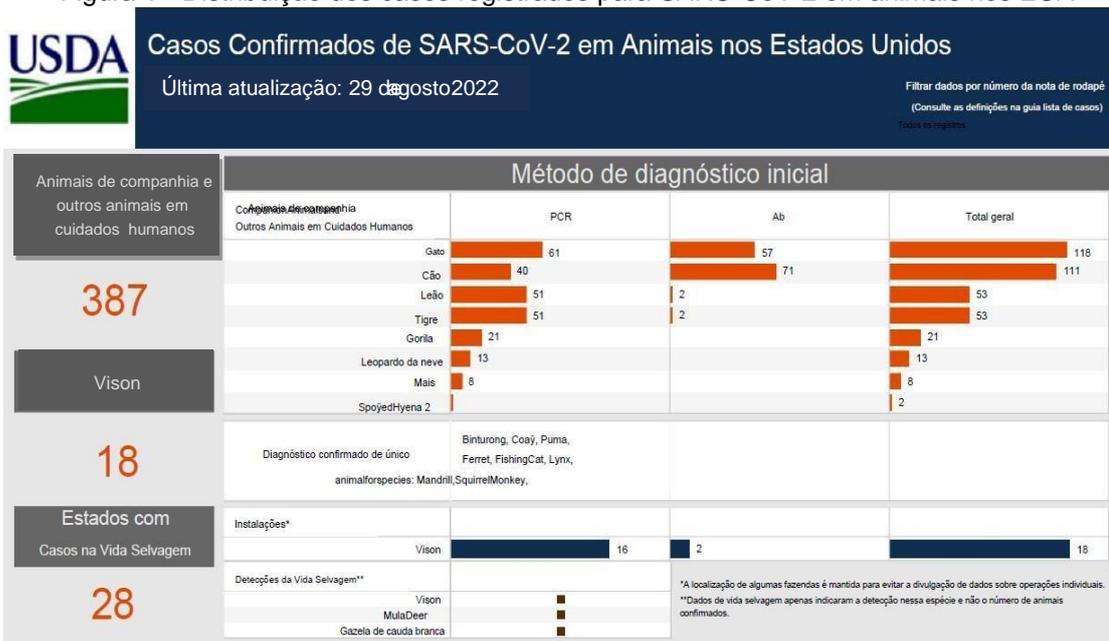
Em consultórios veterinários, existe alta demanda por tratamentos para animais acometidos por doenças de pele. Classificadas como dermatopatias, essas doenças podem ser ocasionadas por vários agentes patológicos, incluindo ácaros, carrapatos, mosquitos e fungos, por exemplo. As provocadas por ácaros, que ocasionam a sarna são as mais frequentes e merecem destaque por conta do seu potencial zoonótico (NÓBREGA, 2018). Animais imunossuprimidos são os mais suscetíveis a desenvolver a sarna, pois é uma doença que está ligada diretamente a imunidade (SANTOS, et al., 2009).

Nos últimos anos, Akhmetzhanov et al. (2020), atentaram ao fato dos animais domésticos serem identificados como uma rota de transmissão viral importante para SARS-CoV-2, corroborando com os registros de infecção em animais ocorrendo em todo o mundo. A contaminação e o sucesso do vírus com relação ao hospedeiro estão

associados a proteína *spike* e sua compatibilidade, para que ocorra a ligação com o receptor (SILVA, 2021). Stout (2020) verificou o nível de identificação entre o receptor da Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ACE2) de animais não humanos e a ACE2 de humanos, indicando que a transmissão por SARS-CoV-2 pode ocorrer entre espécies distintas. O gato doméstico (*Felis catus*) apresentou 85,2% de identidade geral quando comparada ao ACE2 humano, o cão doméstico (*Canis lupus familiaris*), 83,4% e o furão (*Mustela putorius furo*), 82,6% (STOUT, 2020).

Porém, além da identidade com a ACE2, fatores como os genéticos, os ambientais e os imunológicos também estão envolvidos no desenvolvimento dessa infecção (LACOMA et al., 2019), que podem ser determinantes para a suscetibilidade, assim como identificamos na esporotricose, *Leishmaniose* e em algumas dermatopatias. Atualmente, o Serviço de Inspeção de Saúde Animal e Vegetal do Departamento de Agricultura dos EUA já registrou 433 casos de animais que testaram positivos para o SARS-CoV-2, em que, destes, 118 são gatos e 111 são cães (Figura 1). Porém, é de grande importância ressaltar que, atualmente, não existem evidências de que os animais desempenham um papel importante na disseminação do COVID-19. Porém o *Centers of Disease Control and Prevention - CDC* aconselha que pessoas com suspeita ou com confirmação de COVID-19 evitem contato com animais durante sua doença e monitorem qualquer animal com infecção confirmada por SARS-CoV-2 e as outras pessoas e animais da residência (CDC, 2020).

Figura 1 - Distribuição dos casos registrados para SARS-CoV-2 em animais nos EUA



Fonte: <https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/onehealth/one-health-sarscov2-in-animals>

Pode-se relembrar duas doenças com grande impacto na saúde humana, que envolveram animais domésticos em seu processo, porém tiveram como origem a contaminação por metais. A primeira ocorreu em 1940, a doença ficou conhecida como itai-itai que significa “ai-ai” devido ao fato de os médicos notarem dores intensas nas articulações dos pacientes. A contaminação ocorreu através da água utilizada para a irrigação de arroz que estava com alta concentração de cádmio (resíduos de mineração). A segunda ocorreu em 1950 no Japão, em que quase 1.000 pessoas foram vítimas da contaminação por mercúrio por meio da cadeia alimentar. Nessa ocasião, o elemento químico era derramado na Baía de Minamata pela empresa *Chisso Corporation* (NEWMAN, 2010).

No entanto, durante a epidemia em Minamata, os primeiros sintomas neurocomportamentais de intoxicação por mercúrio foram observados em gatos que consumiram peixes contaminados. A doença ficou conhecida entre eles como a “doença do gato dançarino”, pois os animais apresentavam comportamentos estranhos, sofrendo convulsões, correndo em círculos e saltando no ar (RABINOWITZ et al., 2005; HARADA, 2005).

A associação entre exposição química e o desenvolvimento de doenças em animais foi verificada por Magnusson e Person (2015) por meio de reguladores endócrinos e sistema reprodutivo de cães e gatos, em que essa exposição pode levar a sérios danos. Ainda, de acordo com os mesmos autores, animais domésticos e humanos estão tão próximos que podem desenvolver doenças semelhantes, como o adenocarcinoma mamário que pode estar associado a altas exposições químicas (MAGNUSSON; PERSON, 2015).

Ali et al. (2013), em seu estudo, verificaram a aplicação do uso de animais domésticos como biossentinelas de contaminantes ambientais e demonstraram a aplicabilidade e seus benefícios, pois esses animais compartilham o mesmo ambiente com os humanos e estão intimamente relacionados. Os agentes químicos são capazes de alterar e causar danos ao funcionamento do sistema imune, levando a doenças tanto em animais não humanos, como em humanos, pois atuam diretamente na capacidade de reconhecimento de agentes infecciosos e sua neutralização (VERALDI et al., 2006).

2.3 ELEMENTOS QUÍMICOS E IMUNIDADE

Os elementos químicos estão presentes em diversos ambientes e são utilizados por todos os organismos vivos, porém alguns elementos químicos indesejáveis podem ser acumulados em alguns órgãos antes da sua eliminação (SANTOS, 2016). A origem de elementos químicos mais tóxicos pode ser tanto natural como antropogênica (CALDERO'N et al., 2003). Nem todos os elementos químicos possuem suas funções esclarecidas, principalmente a biológica (MELO, 2014).

Alguns elementos químicos que são considerados essenciais, quando seu nível se encontra acima das concentrações necessárias, também podem proporcionar toxicidade. Existem também elementos químicos considerados tóxicos mesmo em concentrações-traços, como alumínio (Al), antimônio (Sb), arsênio (As), bário (Ba), berílio (Be), chumbo (Pb), mercúrio (Hg), tório (Th) e urânio (U), por exemplo (MAGALHÃES, 2015).

A alta concentração de mais de um elemento químico pode levar a uma maior suscetibilidade a danos no organismo, em que as consequências dessa bioacumulação podem ser mais graves, visto que essas substâncias podem atuar de forma combinada, tornando-se um risco para saúde (CALDERO'N et al., 2003). A exposição a diversas substâncias, de ocorrências naturais ou não, têm a capacidade de alterar o sistema imunológico de diversas formas (REYNAUD; DESCHAUX, 2006).

O sistema imunológico é um conjunto de agentes complexo responsável pela proteção do organismo; é um sistema completo, composto por células imunes que estão espalhadas por todo o nosso corpo (JOHNSON et al., 2017). Assume uma posição de vigilância contra entrada de vírus, bactérias, proteínas estranhas, células cancerosas e algumas substâncias desconhecidas. Se por algum motivo esse sistema falhar na sua resposta contra esses agentes, o indivíduo fica suscetível ao desenvolvimento de patologias (FAIRBROTHER; SMITS; GRASMAN, 2004).

Esse sistema conta com duas respostas principais, em que sua função é dividida em imunidade (inata ou natural) e imunidade específica (adaptativa ou adquirida). A primeira resposta do sistema imune quando ativado é a inata/natural, que é representada por barreiras físicas, químicas e biológicas. Essa atividade vai fornecer uma resposta rápida contra organismos patogênicos. As células que atuam nessa

primeira resposta são: macrófagos; célula natural *killer* (NK); células dendríticas e os neutrófilos (CRUVINEL, et al., 2010).

A resposta adaptativa, diferente da resposta inata, é mais lenta e demorada, podendo levar vários dias para se estabelecer, devido ao seu mecanismo de funcionamento complexo. As células referentes à essa resposta adaptativa são os linfócitos (T e B). Além disso, possuem a capacidade de memória na resposta imune (TIZARD, 2014).

Em seus componentes, as células T têm um papel antivírico importante, particularmente os linfócitos T CD4+ e T CD8+ (LI et al., 2020). No caso das células T CD4+, esses componentes celulares são importantes e contribuem para a estimulação da imunidade mediada por anticorpos, para a preparação de células T CD8+ e para a produção de citocinas, enquanto células T CD8+ possuem função citotóxica, agindo de forma direta contra células infectadas pelo vírus (TAY et al., 2020). Outros tipos de células são destacadas pela sua importância, como as células apresentadoras de antígenos (macrófagos e células dendríticas), que estão presentes nos tecidos infectados. Funcionam como ponte entre a imunidade inata e a imunidade adquirida, uma vez que são responsáveis por apresentar peptídeos víricos aos linfócitos (LI et al., 2020).

Caso a resposta inata não seja suficiente contra à infecção, a resposta adaptativa é ativada; se o mesmo agente infeccioso entrar novamente no organismo, dessa vez, a resposta é bem mais rápida por conta da memória adquirida. Para um bom funcionamento desse sistema, é necessário a participação de alguns elementos químicos que desempenham funções essenciais, sem os quais o desempenho do sistema imunológico é comprometido, aumentando a suscetibilidade a doenças (WINTERGERST, et al., 2007).

Zinco é um dos elementos químicos mais importantes e necessário para o sistema imune e uma pequena deficiência desse elemento químico pode causar danos a ao sistema (HAASE; RINK, 2009). Quando evolui para uma deficiência grave, os danos são maiores e mais fáceis de identificar, o que pode incluir a dificuldade de cicatrização de lesões na pele, diminuição das células NK e células T no organismo (HAASE; RINK, 2009).

Bertone et al. (2002) verificaram, em seu estudo, a relação entre as maiores incidências de linfoma maligno e câncer em gatos domésticos expostos a produtos

químicos, principalmente por meio do ambiente e da alimentação. Considerando as rotas de exposição, a monitoração química ambiental é altamente recomendada, principalmente se tratando de fontes complexas de agentes tóxicos.

2.4 BIOMONITORAÇÃO

Como contaminantes estão presentes no ambiente, sua incorporação nos sistemas biológicos pode ocorrer a partir da água, ar, alimentação e por contato, podendo causar efeitos imediatos ou a longo prazo tanto para humanos quanto para animais (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1991). Em 1913, foi sugerido, pela primeira vez pelo fisiologista escocês John Scott Haldane, o uso de pequenos animais como bioindicador para detecção de monóxido de carbono em minas de carvão (POLLOCK, 2016). Vários animais foram testados, coelhos, canários, galinhas, cães, camundongos e pombos por exemplo, o qual chegaram à conclusão que camundongos e canários eram as melhores opções por serem animais mais sensíveis (BURREEL; SEIBERT, 1914).

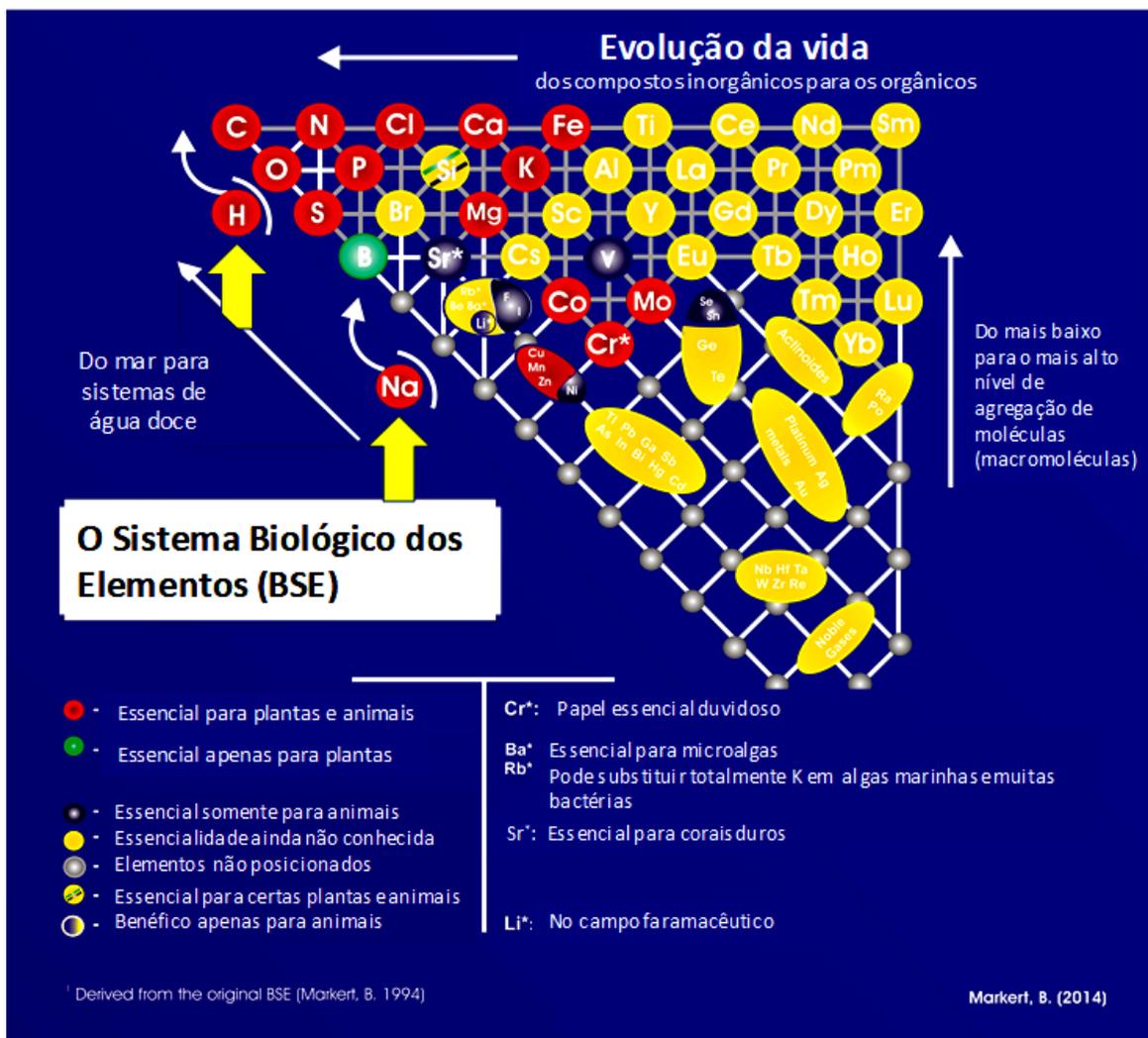
Nos últimos anos, animais de estimação estão sendo vistos como importantes fontes de informações de possíveis efeitos de contaminantes para a população humana, ocupando uma posição importante como biomonitores. Animais de companhia como (cães e gatos) compartilham o mesmo ambiente com os seus tutores humanos, estando muito próximos. Isto é corroborado pelo fato de algumas doenças se manifestarem de forma muito parecidas em ambos os casos (PASTORINHO; SOUSA, 2020). Os animais, que apresentam um nível de concentração consideravelmente tóxica, podem servir como alerta para saúde de adultos e crianças principalmente, sendo então biomonitores (BETTS, 2007). Ainda, e também, podem ser considerados animais biossentinelas de poluição, cujas informações geradas discorrem sobre o nível de poluição do meio (AFRI-MEHENNAOUI et al., 2007).

Por ter um período de vida mais curto e uma fisiologia muito parecida com a humana, o período de latência das doenças em animais domésticos também é, conseqüentemente, mais curto (BACKER et al., 2001). Similarmente, a permanência desses animais no ambiente pode revelar a presença de contaminantes químicos desconhecidos, antes mesmo de causar efeitos danosos no organismo humano, prejudicando sua saúde (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1991). Dentre os

prejuízos ao sistema biológico após a exposição a substâncias químicas, têm-se, a danos no sistema enzimático de células, órgãos e organismos tanto em nível individual quanto em populações de todo um ecossistema (MARKERT et al., 2003).

De acordo com Kabata-Pendias (2010), alimentos e ambiente interferem diretamente na qualidade de vida das pessoas. O excesso ou a escassez de metais nutrientes em um organismo representa um desafio significativo, resultando em desenvolvimento de patologias (SKAAR; RAFFATELLU, 2015). Entender como os organismos utilizam esses elementos químicos e as suas propriedades é de extrema importância e para compreender melhor a interação desses com os seres vivos, por isso Franzle e Markert (2000) desenvolveram o Sistema Biológico dos Elementos – SBE (Figura 2).

Figura 2 – Sistema Biológico dos Elementos – SBE



Fonte: Adaptado de Markert et al. (2014).

Com relação às funções fisiológicas, alguns elementos químicos são importantes para garantir o funcionamento do organismo, principalmente do sistema imunológico como, por exemplo, o anteriormente mencionado zinco, considerado um dos elementos químicos necessários para todas as espécies, quando desempenhada a função de micronutriente (WATLY et al., 2016). A deficiência de zinco pode causar alterações imunológicas como a diminuição no número de linfócitos, impactar a formação dessas organelas, gerando linfócitos com alterações, perda de macrófagos e funções prejudicadas dos linfócitos B e T. Todas essas alterações são fatores que contribuem e tornam o indivíduo mais suscetível a doenças (WINTERGERST et al., 2006).

Essa circunstância também foi observada para o elemento ferro; a deficiência de ferro atinge mais de 5 bilhões de pessoas no mundo, algumas chegam a desenvolver a forma mais severa, a anemia, que podem afetar o organismo e causar danos irreversíveis (UMBELINO; ROSSI, 2006).

Segundo Pedrinelli et al. (2019), a quantidade de elementos químicos na alimentação é multifatorial e inclui uso de químicos durante o processo de produção e cultivo, com relação à qualidade do solo. Após a ingestão, os elementos químicos podem estar presentes e se concentrar mais em alguns órgãos, como fígado, rins e cabelo, por exemplo. A quantidade de elementos químicos, que permanecem no tecido, pode contribuir com o nível de consequências provocadas. Desse modo, os impactos dos elementos químicos sobre a saúde dependem do nível acumulado, idade e, principalmente, a forma que o elemento químico se apresenta. Algumas formas são consideradas mais tóxicas que outras, dependendo da valência (PEDRINELLI et al., 2019).

Muitos elementos químicos comprometem o sistema imunológico dos animais, sendo necessário o estudo de diversas matrizes tanto de origem invasiva como algumas não invasivas, para a monitoração desses elementos químicos.

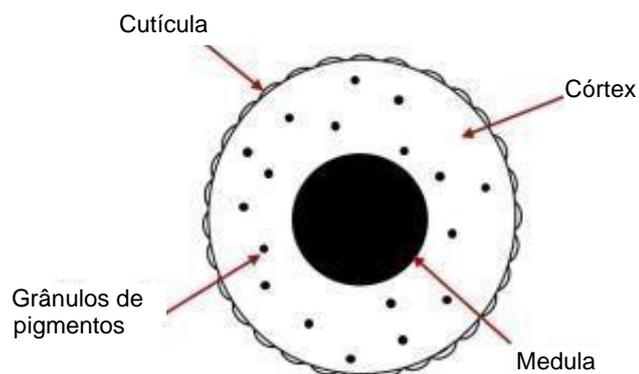
2.5 MATRIZ NÃO INVASIVA PELOS

Os pelos desenvolvem diversas funções importantes para os mamíferos, sendo inclusive uma das características únicas desses seres vivos. Essa característica facilitou demasiadamente o seu sucesso evolutivo, além de fornecer camuflagem,

isolamento térmico, percepção sensorial e comunicação sexual e social, entre outras (TOBIN, 2009).

As pelagens variam bastante entre os animais, com destaque para cães e gatos, cujos pelos estão distribuídos por todo corpo e se diferem no formato, localização, espessura e coloração (SENTHILKUMAR, 2018). Mesmo que, externamente, os pelos apresentem diferenças, a sua constituição ocorre similarmente para todos os mamíferos. O pelo possui sua estrutura formada por medula na camada central, córtex como uma camada intermediária, cutícula na sua camada externa e grânulos de pigmento (SENTHILKUMAR, et al., 2018) como mostra a Figura 3. Considerando-se como um tecido vivo, a formação do pelo é única e depois de formado não sofre modificações estruturais durante seu período de vida (DUNNETT; LEES, 2003).

Figura 3 – Estruturas do pelo



Fonte: Ahmed et al. (2018).

O pelo é constituído principalmente de queratina, melanina e elementos traços. Tais elementos químicos sofrem influência do ambiente externo os quais são depositados no pelo durante todo seu período de crescimento (DEEDRICK; KOCH, 2004). Esses elementos químicos também são absorvidos por fontes endógenas, por meio das raízes que estão em contato com as correntes sanguíneas (VERMEULEN et al., 2009). A partir da análise anatômica do pelo, também é possível a identificação de espécies animais, em que características como formato (ENFSI, 2015), auxiliam a investigação forense (DEEDRICK; KOCH, 2004). A composição de elementos químicos, tem sido cada vez mais estudada e pode ser empregada em diversos tipos de pesquisas, conforme Tabela 1, que demonstra uma variedade de espécies de

animais as quais pelos foram analisados em animais saudáveis e doentes e as respectivas concentrações encontradas para As, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb, V e Zn.

Tabela 1 – Valores de concentração (mg kg^{-1}) para pelos de animais quantificados por diversas técnicas analíticas

Animais	Concentração (mg kg^{-1})	Pb	Cd	Fe	Mn	Co	Ni	Referência
Bode	Min	0,09	0,08	3,2	0,76	0,09	0,13	
	Max	12	29	879	35	1,00	1,75	
Ovelha	Min	0,010	0,02	19	0,97	0,07	0,17	Rashed e Solta (2005)
	Max	8,9	6,25	996	55	1,75	1,75	
Camelo	Min	0,010	0,04	21	0,55	0,11	0,09	
	Max	13	5,75	681	41	1,25	1,75	
Novilhos	Med	0,23	0,031	67	30	0,118	0,67	Miroshnikov et al. (2017)
Vacas	Med	0,34	0,037	117	30	0,184	0,62	
Cães com neoplasias	Med	0,74	0,02	106	4,17	0,17	0,76	Badea et al. (2013)
Cães saudáveis	Med	1,25	0,03	302	13,3	0,30	1,01	
Animais	Concentração (mg kg^{-1})	Cr	Zn	Cu	As	V	Hg	
Novilhos	Med	0,22	101	4,7		0,29	0,008	Miroshnikov et al. (2017)
Vacas	Med	0,23	102	4,8		0,37	0,002	
Gatos selvagens	Med	-	-	-	-	-	0,62	Behrooz e Poma (2021)
Cães com neoplasias	Med	2,7	102	12	-	1,3	-	Badea et al. (2013)
Cães saudáveis	Med	3,8	117	12	0,84	3,0	-	

Fonte: A autora (2022).

Min = mínimo; Max = máximo; Med = mediana

Para determinar a escolha da matriz biológica a ser usada, vários pontos precisam ser levados em consideração como a informação a ser obtida, o tempo disponível para coleta, o acesso a matriz, a disponibilidade, o armazenamento e a locomoção, além das questões éticas. Matrizes como sangue e urina indicam o que está acontecendo ou o que aconteceu em pouco tempo atrás, o que se pode

denominar de contaminação aguda. O cabelo/pelo traz informações de algo que aconteceu no decorrer do tempo, no período aproximado de três meses atrás, podendo esse tempo ser alterado conforme condições ambientais (CAMPBELL, 1985).

Dentre os benefícios do uso de uma matriz não invasiva com pelos, destaca-se o nível de concentração, cujo analito pode ser mais facilmente determinável em pelos quando comparado com sangue e urina, por exemplo (WOLOWIEC et al., 2013). Além disso, o acesso facilitado aos pelos pode fornecer um sistema de alerta precoce, o qual possibilita tomadas de decisões que envolvam a saúde animal, ambiental e humana. Com isso, o uso de matrizes não invasivas é uma ótima alternativa para a monitoração de contaminantes (SOUSA et al., 2013).

Um avanço importante para o emprego da análise de matriz não invasiva, como o cabelo humano, ocorreu com o desenvolvimento do Espectrofotômetro em 1950, pelo Australiano Dr. Alan Walsh, em que, uma análise que tinha uma duração de horas passou a ser realizada em minutos (CAMPBELL, 1985). Em 1972, a Agência Internacional de Energia Atômica - AIEA iniciou um programa com objetivo de monitorar metais-traços em cabelos humanos (CAMPBELL, 1985) por meio de técnicas analíticas como a Análise por Ativação Neutrônica Instrumental (INAA), separação radioquímica (RNAA), Espectrometria de Fluorescência de Raios-X (XRF), Espectrometria de Emissão de Raios-X Induzida por Partículas (PIXE) e a Espectrometria de Absorção Atômica (AAS) (CAMPBELL, 1985; IAEA, 1985). Desse modo, estudos sobre elementos químicos e ensaios de biomonitoração priorizam o emprego de diversas técnicas analíticas, pois fatores como a concentração esperada e a facilidade de detecção são decisórios para a escolha da técnica mais adequada (MAGALHÃES, 2015).

2.6 TÉCNICAS ANALÍTICAS

As técnicas analíticas são importantes para o sucesso de biomonitoração, em que a quantidade de elementos químicos a serem determinados e a qualidade do procedimento, são alguns fatores a serem considerados (MÉLO, 2014).

2.6.1 Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado ICP – OES

A espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) pode determinar até 70 elementos químicos e pode ser aplicada em diversos tipos de amostras. É uma das técnicas mais aceitas para determinação de elementos químicos, incluindo metais (SNEDDON e VICENTE, 2008). Com baixo limite de detecção, da ordem de parte por bilhão (ppb), dependendo do elemento químico a ser determinado, possui alta sensibilidade (SILVA, 2020).

O princípio dessa técnica baseia-se no uso de plasma para realização da atomização e excitação. O mecanismo de funcionamento do plasma depende de um gás para sua formação, sendo o mais usado, argônio, devido ao seu custo-benefício (FELDBAUM, 2019). Uma vez excitados, os elétrons emitem energia em um dado comprimento de onda quando retornam ao estado fundamental. As amostras para análise no ICP-OES precisam estar na forma líquida para aspiração e, em seguida, conversão em aerossol para seguir até o plasma (SNEDDON e VICENTE, 2008).

2.6.2 Espectrometria de Fluorescência de Raio X por Dispersão de Energia (EDXRF)

Durante a década de 70, surgiu a técnica de Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia – EDXRF, principalmente por conta do desenvolvimento do detector semicondutor de silício dopado com lítio – Si(Li) e germânio (HPGe) (ASFORA, 2010). A técnica baseia-se no fato de uma fonte de raios-X ou gama excitar elétrons dos átomos das amostras. A radiação emitida pelos raios-X característicos é medida pelo detector semicondutor e armazenada em espectros (SANTOS et al., 2013).

Entre as técnicas de espectrometria existentes, o seu limite de detecção é alto, mas há vantagens com relação ao custo, ao manuseio por ser considerada mais prática, e ao ambiente, pois os resíduos são gerados em menores quantidades (SANTOS et al., 2013). Aplicada principalmente para análise de amostras sólidas, algumas vezes líquidas, a técnica apresenta como principal vantagem o fato de não ser destrutiva, preservando as amostras utilizadas. Além disso, é considerada

multielementar (NASCIMENTO FILHO, 1999) e permite a realização de análises com rapidez (MÉLO, 2014).

2.6.3 Espectrometria por Absorção Atômica com Chama (FAAS)

A Espectrometria por Absorção Atômica com Chama, do inglês *Flame Atomic Absorption Spectrometry* - FAAS, foi desenvolvida em 1955 pelo físico Sir Allan Wash (PROJAHN et al., 2004). Esta técnica analítica se tornou bem conhecida e pode ser aplicada para a análise de vários tipos de matrizes. Dependendo do nível de concentração, FAAS pode quantificar mais de 60 elementos químicos, possuindo vantagens com relação ao fácil *setup* do equipamento e baixo custo operacional quando comparado com outras técnicas analíticas. Por isso, para muitos laboratórios que realizam estudos nessa área, essa é uma técnica considerada acessível e bastante comum para quantificação de elementos químicos (PROJAHN et al., 2004).

É baseado na capacidade de átomos de elementos químicos em absorver radiação luminosa quando em estado fundamental. Os comprimentos de onda são selecionados para cada analito a partir de um monocromador para a medição da quantidade de luz absorvida (BADER, 2011).

2.6.4 Espectrometria por Absorção Atômica com Forno de Grafite (GFAAS)

Esta técnica analítica possui um grande potencial de determinação de elementos químicos por conta da sua sensibilidade em nível de $\mu\text{g L}^{-1}$ (MATTOS, 2008). Pode ser aplicada em uma diversidade de amostras, sua aplicação tem sido bem aceita para elementos traços (MATTOS, 2008). Foi descrita por L'vov em 1959, cujo princípio é semelhante ao da FAAS, contudo as amostras são inseridas em tubos de grafite em quantidade muito pequena (até 20 μL) para aquecimento, pirólise e atomização das espécies químicas. O gás de arraste utilizado nessa técnica é o argônio com o objetivo de impedir que ocorra a reação de oxigênio com a alta temperatura do equipamento assim como para a eliminação de vapor. (LEPRI, 2005).

Mesmo que tenha a possibilidade de analisar amostras sólidas, GFAAS, na sua modalidade mais comum com correção por efeito Zeeman, necessita dos analitos em solução, por isso, podem ser aplicadas para diversas matrizes biológicas como cabelo, pelos e dentes, por exemplo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo envolve o uso de uma matriz não invasiva pelos de animais domésticos. O intuito era identificar animais com imunidade debilitada, que poderiam ser facilmente contaminados pelo SARS-CoV-2. Contudo, diante da dificuldade de estabelecimento de protocolo para identificação do vírus nos animais estudados nas condições do Centro Regional de Ciências Nucleares do Nordeste – CRCN-NE, a presente pesquisa foi focada na realização de estudos quimiométricos e quantificação dos elementos químicos presentes nos pelos, visando associar o estado de saúde e a composição química de pelos de animais domésticos. Este trabalho contempla várias etapas, desde a captação de voluntários para pesquisa; coleta; implementação do método para análise química e associação entre doenças e elementos químicos em pelos, com a aprovação do Comitê de Ética de Uso Animal – CEUA/UFPE, processo número 0077/2020 (Anexo A).

3.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

Para realização desse estudo, foi levado em consideração como critério de seleção, os animais de uma na clínica veterinária e aqueles dos profissionais de saúde voluntários. Totalizaram-se 95 animais, distribuídos entre os municípios da Região Metropolitana do Recife - RMR, como Recife (n = 34), Goiana (n = 27), Jaboatão (n = 11), Paulista (n = 6), Camaragibe (n = 4), Olinda (n = 3), São Lourenço (n = 3) e Ipojuca (n = 1) (Figura 4). Como único representante da Zona da Mata, foram incluídos animais do município de Paudalho (n = 6).

Figura 4 – Municípios englobados na pesquisa para a biomonitoração de elementos químicos em pelos de animais domésticos



Fonte: Google Earth (2022).

3.2 AMOSTRAGEM

A amostragem foi dividida em três oportunidades: animais internados em clínica veterinária, sabidamente acometidos por enfermidades; animais sem histórico de doenças e considerados saudáveis; e animais com histórico de doenças.

3.2.1 Animais internados em Clínica Veterinária

Por ser uma pesquisa exploratória sobre o uso de matriz não invasiva, foram coletadas amostras de pelos de 5 animais doentes, isto é, 2 cachorros (2 fêmeas) e 3 gatos (2 machos e 1 fêmea), que estavam internados e apresentavam alguma doença

como esporotricose, infecção respiratória, lesão na língua, desidratação, trauma no nariz, malassezia, leishmaniose, sarna, periondontia e gengivite.

3.2.2 Animais saudáveis (sem histórico de doença)

Foram coletadas amostras de pelos de 56 animais saudáveis que não apresentaram nenhum histórico de doença e nenhum sinal ou sintoma de doença no momento da coleta. Seus tutores são profissionais de saúde e voluntários da pesquisa. Do total de amostras coletadas, 20 foram cachorros (12 fêmeas e 8 machos) e 36 gatos (23 fêmeas e 13 machos). As coletas foram realizadas no endereço dos tutores e, conseqüentemente, do animal, seguindo todos os protocolos de segurança para evitar contaminação com vírus SARS-CoV-2. A equipe paramentada, fazendo uso de bata, máscaras PFF2, sapato fechado e luvas, foi deslocada ao local com apoio do carro oficial do CRCN-NE para realizar a coleta conforme a Figura 5. Três amostras desses animais foram coletadas após um ano da primeira coleta, os pelos foram analisados novamente e incluídos nessa pesquisa científica.

Figura 5 – Equipe paramentada para a realização das coletas



Fonte: A autora (2022).

O Laboratório Emergencial de Combate a COVID-19 - LECC/CRCN-NE, criado em abril de 2020, incorporou diversos pesquisadores de várias áreas para a realização de pesquisas, com temas relacionados ao levantamento do perfil dos elementos químicos, em pessoas saudáveis, trabalhadores da saúde, pacientes com diagnóstico positivo para COVID-19 e estudos de integridade física durante o reuso e descontaminação de máscaras PFF2, contando com o apoio de hospitais públicos de grande circulação da RMR. Os profissionais de saúde que participaram de algumas das pesquisas acima e possuíam animais domésticos foram convidados a participarem da pesquisa como voluntários. Para isso, foi preparado um folheto explicativo de acordo com o Apêndice A. A divulgação da pesquisa ocorreu em parceria com o projeto de determinação de elementos químicos em sangue total desses profissionais.

3.2.3 Animais com histórico de doenças

Amostras de 34 animais, sendo 18 cachorros (10 fêmeas e 8 machos) e 16 gatos (10 fêmeas e 6 machos), de tutores voluntários da pesquisa, foram coletadas. Esse grupo apresenta uma grande variedade de doenças, ou seja, desde uma febre rara até tumor, sopro no coração e cinomose, por exemplo.

3.2.4 Procedimento de amostragem

Os pelos dos animais domésticos foram coletados com auxílio de uma tesoura de titânio para a remoção de 1 a 2 g de pelos (Figura 6). As coletas foram realizadas na região ventral de acordo com o trabalho de Santos e França (2021) (Apêndice B). Quando não possível a amostragem neste local por conta da quantidade insuficiente de pelos, as coletas foram realizadas nas regiões dorsais e traseiras dos animais. O procedimento de coleta ocorreu igualmente para todos os animais.

Figura 6 – Coleta do pelo de um gato



Fonte: A autora (2022).

Após coleta, os pelos foram armazenados em tubos Falcon de 50 mL, previamente higienizados, pesados e identificados com o código correspondente a cada amostra (Figura 7).

Figura 7 – Tubos para armazenamento das amostras durante a coleta



Fonte: A autora (2022).

Para todos os grupos de animais participantes da pesquisa, foi aplicado aos seus tutores um questionário para coleta de informações apenas sobre o animal e seu histórico de saúde. O questionário com as informações encontra-se no Apêndice C.

Após a amostragem, as amostras foram encaminhadas para o Laboratório Emergencial de Combate à COVID-19 do CRCN-NE – LECC/CRCN-NE para preparação e, posteriormente, análise química e aplicação de ferramentas quimiométricas.

3.3 TRATAMENTO DOS PELOS

Anteriormente à análise dos pelos, a metodologia de limpeza empregada seguiu o trabalho de Lira (2017) com adaptações, pois esse trabalho foi realizado para a matriz cabelo humano. Os pelos coletados foram lavados com auxílio de 15 ml de acetona em centrífuga (Figura 8), empregando rotação de 1500 rpm/min. Esse procedimento foi repetido por três vezes por 15 minutos cada. A limpeza foi importante para retirar o excesso de resíduos conforme observado na Figura 9, que mostra o antes (a amostra sem passar pelo processo de limpeza) e após o processo de limpeza. Após limpeza, as amostras foram encaminhadas para lavagem com água purificada (Milli-Q).

Figura 8 – Centrífuga utilizada para limpeza dos pelos



Fonte: A autora (2022).

Figura 9 – (A) Tubo com a amostra de pelos mergulhada em acetona. (B) Tubo após passar na centrífuga e após retirada do pelo restando apenas o resíduo da amostra



A

B

Fonte: A autora (2022).

Posteriormente à lavagem, as amostras foram preparadas e encaminhadas para secagem (Figura 10) em estufa de circulação forçada de ar à 40 °C até atingir o peso constante (pesagens sucessivas que não diferiram entre si). Após secagem, com auxílio da tesoura de titânio higienizada para não ocorrer contaminações, as amostras foram picotadas (Figura 11) e armazenadas em envelopes.

Figura 10 – Amostras armazenadas para encaminhamento ao processo de secagem



Fonte: A Autora (2022).

Os pelos coletados foram lavados e secos em estufa, pesados e preparados para análise por meio da Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia (EDXRF). Logo após, foram tratados quimicamente e encaminhadas para análise em Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP-OES), Espectrometria de Absorção Atômica com Chamas (FAAS) e com Forno de Grafite (GFAAS).

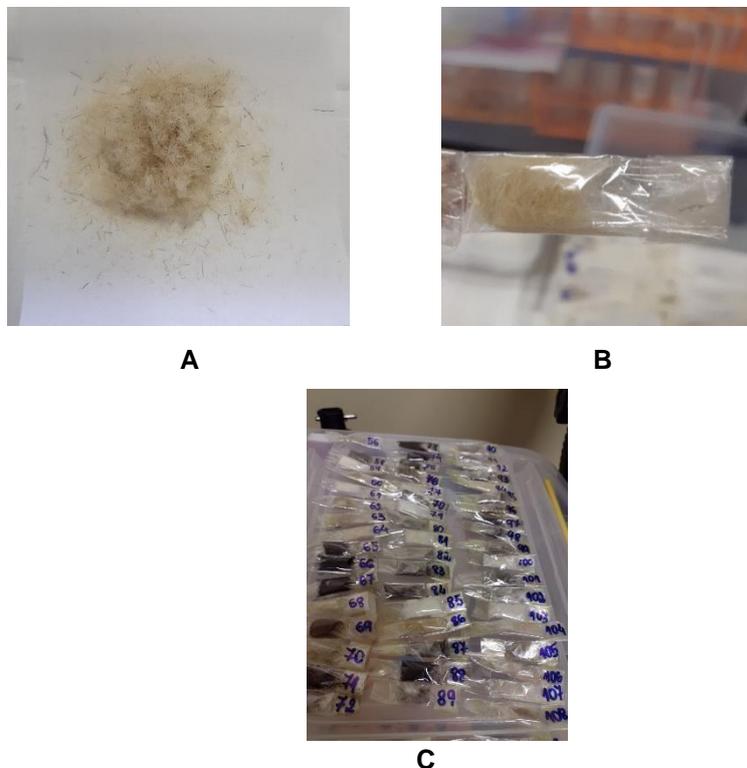
3.4 ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA POR EDXRF

A análise quimiométrica baseou-se, na obtenção de espectros de raios-X para cada amostra, seguida da análise estatística multivariada por componentes principais para a redução do número de canais sem comprometer demasiadamente a variância do conjunto de dados. A análise não foi destrutiva, o que permitiu a utilização da mesma amostra para a análise química, posteriormente.

3.4.1 Preparação das amostras para análise quimiométrica

Foram empregados filmes de poliéster (*Mylar*) para a preparação do invólucro das amostras. As folhas foram dobradas na sua secção longitudinal e, em seguida, as duas extremidades foram dobradas na mesma direção, de modo a obter-se apenas uma camada de *Mylar* para conter as amostras de pelos (Figura 11A). A Figura 11B mostra uma amostra com pelos embalados, pronta para a análise por EDXRF, enquanto a Figura 11C mostra um lote pronto para ser analisado.

Figura 11 - (A) Porção de amostra picotada. (B) Pelos embalados no filme de poliéster *Mylar*. (C) Amostras de pelos para a análise por EDXRF



Fonte: A autora (2022).

3.4.2 Análise por Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia

Para a obtenção dos espectros de raios-X das amostras, foi empregado o equipamento Shimadzu EDX-720 (Figura 12), que consiste em câmara de posicionamento de amostras, tubo de raios-X de ródio e detector de Si(Li). Anteriormente às análises, o equipamento foi calibrado em resolução e energia utilizando o padrão A-750 fornecido pela fabricante. Após a calibração, a verificação

da qualidade da calibração foi realizada a partir da análise do padrão SUS fornecido pelo fabricante (Shimadzu), que contém concentrações conhecidas de elementos químicos. As análises foram realizadas por 100 segundos em atmosfera normal (sem vácuo), voltagem de 50 kV e tempo morto de 34%.

Figura 12 – Equipamento EDX-720 da Shimadzu para análises por EDXRF



Fonte: A autora (2022).

Após a conversão dos espectros em planilha Excel, os resultados foram analisados no programa de computador The Unscrambler para a redução de 2048 canais em 5 componentes principais rotacionadas (método Varimax). A análise de agrupamentos foi realizada no programa de computador Statistica (STATSOFT, 2004) a partir dos métodos de agrupamento e cálculos de distâncias disponíveis para a obtenção de dendrogramas (JOHNSON; WICHERN, 2007).

3.5 TRATAMENTO QUÍMICO

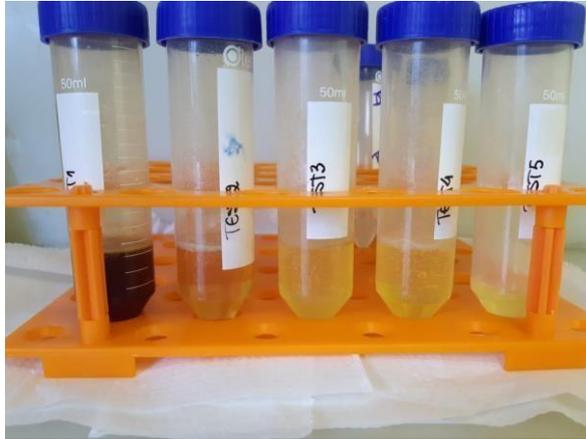
Logo após a análise por EDXRF, as amostras foram tratadas quimicamente para seguir com a análise por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado - ICP-OES, Espectrometria de Absorção Atômica com Chamas (FAAS) e Forno de Grafite (GFAAS). Para realização do tratamento químico, as amostras seguiram os procedimentos a seguir:

- Foram pesadas porções analíticas de 0,1 g a 0,3 g das amostras, diretamente em envelopes de papel vegetal.

- Porções-teste de 0,1 g do material de referência IAEA 087 foram acondicionadas em envelopes para avaliação da qualidade do procedimento analítico, assim como foram analisados brancos analíticos, contendo apenas os reagentes;
- Amostras e materiais de referências contidos nos envelopes foram transferidas para tubo Falcon 50 ml individuais e esterilizado, identificados e pesados. Como esse material de referência não possui todos os analitos a serem determinados, foi adicionado 1 mL de solução contendo 10 mg L^{-1} dos elementos químicos: As, Cd, Cr, Ni, Pb e V nas porções de IAEA 087, obtendo-se amostras dopadas;
- Foram adicionados 4 ml de HNO_3 (ácido nítrico) destilado aos tubos contendo o material, que permaneceu em repouso por 24 horas em capela de fluxo laminar. As cores da solução em tratamento variaram de acordo com a coloração do pelo (Figura 13);
- As soluções foram agitadas manualmente para retirada de resíduos que estariam aderidos à parede do tubo;
- Em seguida, os conjuntos de amostras em tubos falcon, passaram por um processo de aceleração de tratamento químico com o auxílio de um banho de ultrassom à 80°C por um período de 1 hora. Anteriormente a esse procedimento, fragmentos de folhas de alumínio foram mergulhados no banho de ultrassom para verificação do funcionamento do equipamento, identificado a partir da formação de furos nas folhas;
- Após, foi adicionado 0,5 mL de peróxido de hidrogênio – H_2O_2 para ajudar na decomposição da matéria orgânica, impedindo a quelação de elementos químicos de interesse (LIRA, 2017);
- As amostras, materiais de referência e brancos analíticos foram levados novamente ao ultrassom à 80°C por mais 1 hora. Em seguida, foram retiradas do equipamento para a adição de mais 0,5 mL de peróxido de hidrogênio e colocadas no ultrassom mais uma vez. Esse procedimento foi repetido até o clareamento e limpidez das soluções das amostras e materiais de referência;
- Após serem retiradas do ultrassom, as amostras permaneceram em repouso até atingirem a temperatura ambiente. Em seguida, foram transferidas para a centrifuga em um ciclo de três repetições para a separação de material residual, caso presente. Esse procedimento permite a aspiração das soluções das amostras com segurança nos equipamentos, evitando o entupimento de capilares;

- As soluções das amostras foram completadas com água ultrapura até 20 ml para obter o volume final.

Figura 13 – Amostras com ácido nítrico - HNO_3 após às 24 horas em repouso



Fonte: A autora (2022).

Os tubos Falcon contendo as amostras foram armazenados em geladeira para as análises químicas no LECC/CRCN-NE e no Centro de Apoio à Pesquisa da Universidade Federal Rural de Pernambuco - CENAPESQ/UFRPE.

3.6 ANÁLISES QUÍMICAS POR FAAS, GFAAS E ICP-OES

Os elementos químicos foram determinados nas soluções de amostras de materiais de referência de brancos analíticos, Zn, Fe e Cu foram quantificados por FAAS a partir do equipamento Varian AA220FS (Figura 14A); Mn foi determinado por GFAAS por meio do equipamento modelo VARIAN AA240Z com Forno Grafite GTA 120 (Figura 14B), enquanto Ca, K, P, Mg, Al, Na, Pb, Cd, Cr e Ni foram determinados por ICP-OES, empregando o equipamento Agilent 5100 (Figura 14C).

Figura 14 – (A) Equipamento para a análise por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama FAAS; (B) Equipamento para a Espectrometria por Absorção Atômica com Forno de Grafite – GFAAS; (C) Equipamento para a análise por Espectrometria de Emissão Óptica com Plasma Indutivamente Acoplado – ICP-OES



A



B



C

Fonte: A autora (2022).

Para as curvas analíticas, foram utilizadas soluções-padrão Merck (1.000 mg/l) para a diluição e obtenção de padrões internos com as concentrações conhecidas e adequadas para cada elemento químico quantificado. Os detalhes para o procedimento analítico podem ser consultados nos respectivos manuais dos equipamentos, como à seleção do comprimento de onda a ser utilizado, abertura do *slit* e o gás empregado.

Por meio dos resultados obtidos, foi possível estimar a incerteza analítica combinada a partir da soma quadrática das incertezas referentes à precisão (número de repetições analíticas das amostras utilizadas) e à exatidão (desvio com base no material de referência que foi utilizado e analisado). Com isso, as incertezas analíticas foram expandidas em nível de 95% de confiança (ELLISON; WILLIAMS, 2012).

3.6.1 Qualidade do procedimento analítico – Número E_n

Para avaliar a qualidade dos procedimentos analíticos, foi empregado o Número E_n , obtido a partir da diferença entre os resultados obtidos e esperados do material de referência e dividido pela raiz quadrada da soma das incertezas expandidas. Os valores do Número E_n devem estar entre -1 e 1 com nível de 95% de confiança conforme a ISO 13528 (2005).

3.6.2 Análises estatísticas

A análise estatística univariada foi realizada a partir do programa de computador STATISTICA (STATSOFT, 2004) para a verificação das diferenças entre os tratamentos: Doença (D = doentes; S = saudáveis); Espécie (C = cachorro; G = gato); Idade (J = jovem – menor que 1 ano de idade; A = adulto); Município (R = Recife; G = Goiana; PA = Paudalho; I = Ipojuca; J = Jaboatão dos Guararapes; P = Paulista; S = São Lourenço; C = Camaragibe; O = Olinda); Sexo (F = fêmea; M = macho) e Alimentação (RS = ração sólida; AD = alimento disponível). Detalhamento da natureza das amostras pode ser verificado no Apêndice D. A análise foi realizada para os elementos químicos com até 20% de resultados maiores que a concentração mínima determinável - CMD, sendo que, nesses casos, o valor adotado foi a CMD. Como requisitos da análise de variância – ANOVA, foi testada a normalidade da distribuição dos resíduos em nível de 95% de confiança também utilizando o programa Statistica.

A vantagem da aplicação da análise multivariada é a consideração das covariâncias entre os elementos químicos. Por isso, assim como para a ferramenta quimiométrica, aplicou-se análise de agrupamento a partir dos valores dos componentes principais rotacionadas, similarmente, a partir do programa STATISTICA (STATSOFT, 2004).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o trabalho desenvolvido, as técnicas utilizadas e análises estatísticas, este capítulo apresenta os resultados obtidos para a matriz pelo de animais domésticos avaliados no Estado de Pernambuco.

4.1 ANÁLISE QUIMIOMÉTRICA POR EDXRF

Mesmo sendo apenas qualitativa para a obtenção dos espectros de raios-X das amostras, a análise por EDXRF permitiu observar a composição química quanto a macroelementos dos pelos. Na Tabela 2, é possível visualizar a frequência da detecção de S (enxofre), Zn (zinco), Ca (cálcio), Fe (ferro), K (potássio) e Cu (Cobre), sendo que apenas K não esteve presente em todas as amostras, apenas em 75,96%. Enxofre se destacou em termos da frequência de detecção nas amostras, corroborando o estudo de Dunnett e Lees (2003), os autores mencionam a composição dos pelos por queratinas, principalmente. Algumas dessas substâncias apresentam um alto teor do elemento químico devido à contribuição de aminoácidos à base de enxofre com destaque para cisteína (DUNNETT; LEES, 2003).

Tabela 2 – Elementos químicos identificados nas amostras por EDXRF

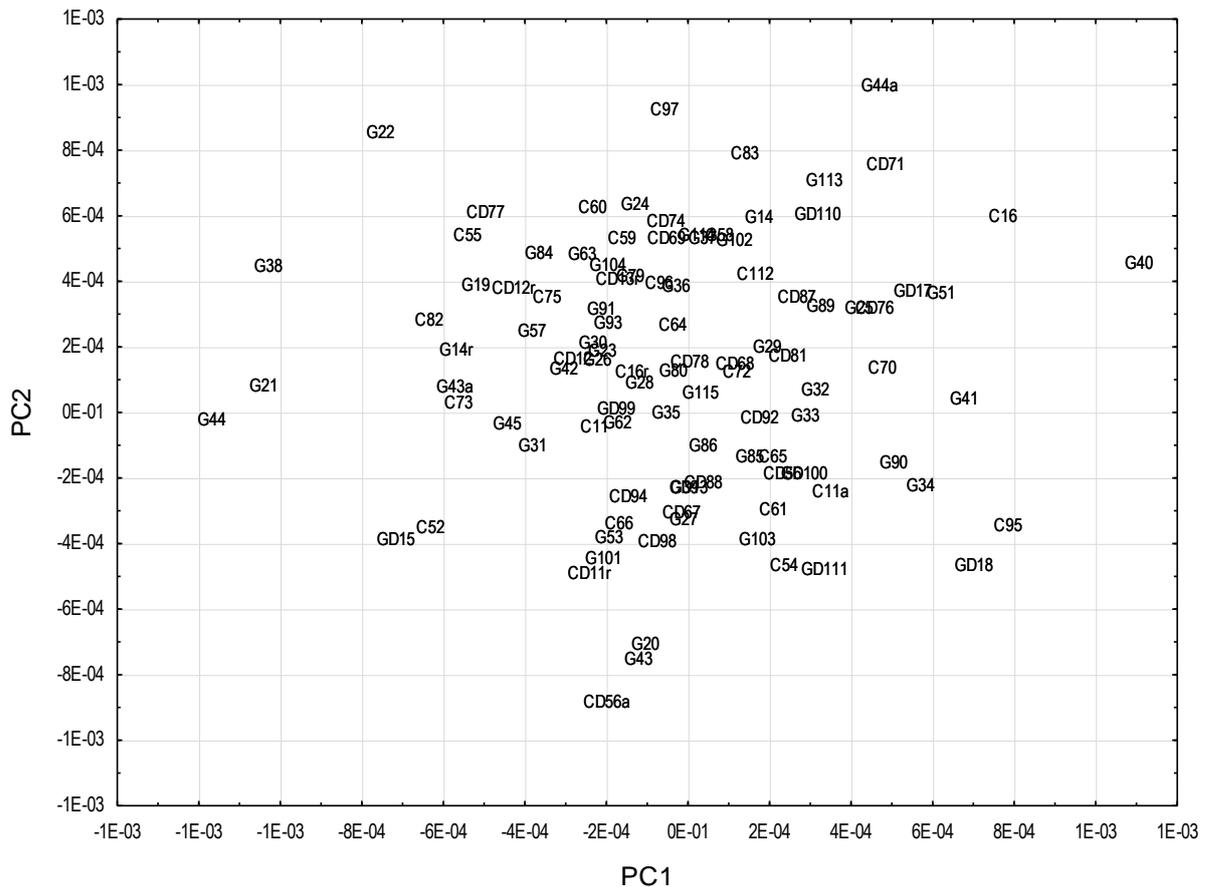
Elemento	Número de amostras contendo o analito	Porcentagem nas amostras
S	104	100%
Zn	104	100%
Ca	104	100%
Fe	104	100%
Cu	104	100%
K	79	75,96%

Fonte: A autora (2022).

Para a análise dos resultados dos espectros de raios-X das amostras, foi aplicada a Análise de Componentes Principais (ACP) e a Análise de Agrupamentos Hierárquica (AAH), consecutivamente. Para ACP, foram computados cerca de 190.000 dados, cuja variância foi explicada em 5 componentes principais

rotacionadas. No gráfico de dispersão da Figura 15, encontram-se os valores das componentes principais 1 (PC1) e 2 (PC2) das amostras analisadas.

Figura 15 – Gráfico de dispersão entre as componentes principais 1 e 2 para as amostras de pelos de animais domésticos



Fonte: A autora (2022).

C = cachorro saudável; CD = cachorro doente; G = gato; GD = gato doente, conforme código usado para identificação das amostras (Apêndice D).

A aplicação da análise de agrupamentos resultou na construção do dendrograma da Figura 16, que sugeriu, a partir da técnica aplicada, a formação dos seguintes grupos para as amostras de pelos de animais domésticos:

- Grupo 1 – 18 animais, sendo 14 gatos e 4 cachorros; desses (18) 8 apresentaram histórico de doenças representando (44,44%).
- Grupo 2 – 19 animais, sendo 7 gatos e 12 cachorros; desses (19), 11 com histórico de doenças (57,89%).

- Grupo 3 – 36 animais, sendo 26 gatos e 10 cachorros; desses (36), 10 com histórico de doenças (27,77%).
- Grupo 4 – 31 animais, sendo 11 gatos e 20 cachorros; desses (31), 13 com histórico de doenças (41,93%).

No total de amostras analisadas ($n = 95$) também foram levadas em consideração as amostras com repetição ($n = 5$), e 4 amostras foram lidas mais de uma vez, o que totalizou 104 amostras analisadas.

Com a ferramenta quimiométrica por EDXRF, não houve concreta discriminação entre os pelos dos animais saudáveis e aqueles de animais com enfermidades ou houve agrupamentos que podem ser associados a atributos físicos e químicos (CHOI et al., 2016). Contudo, foi possível avaliar os pelos de forma mais rápida, o que resulta em caracterização mais imediata, quando necessária. Nesse sentido, a quantificação de elementos químicos pode ajudar a esclarecer a associação entre essas substâncias e a supressão do sistema imunológico por enfermidades.

4.2 CONCENTRAÇÕES DE REFERÊNCIA PARA ANIMAIS SADIOS

Com base nos resultados encontrados a partir de ICP-OES, FAAS e GFAAS para animais saudáveis e doentes, foram definidas as concentrações de referência para esse grupo de animais conforme mostra a Tabela 3.

Tabela 3 – Concentrações médias, mínimas e máximas de elementos químicos em mg kg^{-1} de pelos de animais saudáveis comparadas com os animais doentes

Animais saudáveis														
Estatística descritiva	Al	Ca	Cd	Cr	Cu	Fe	K	Mg	Mn	Na	Ni	P	Pb	Zn
Média	52	812	0,08	1,11	14	78	295	341	0,87	1121	0,37	302	0,69	200
Mínimo	8	252	0,02	0,09	0,10	2	8	32	0,20	100	0,02	144	0,40	128
Máximo	314	2080	0,95	4	26	426	1020	1180	7	3760	3	638	4	258
n	56	56	56	56	56	56	56	56	56	56	56	56	56	56
Animais doentes														
Média	49	931	0,08	1,03	14	78	318	342	1,02	1348	0,40	285	1,43	207
Mínimo	8	78	0,02	0,06	0,10	10	24	30	0,20	67	0,02	23	0,40	89
Máximo	159	2900	0,28	11	43	255	739	1590	9	3330	6	953	21	698
n	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39	39

Fonte: A autora (2022).

n = número de amostras

Os elementos químicos mais enriquecidos nos pelos dos animais saudáveis foram, Na com 3760 mg kg^{-1} , seguido por Ca com 2080 mg kg^{-1} e Mg com 1181 mg kg^{-1} . Elementos traços como Cd, Cr, Ni e Pb também estiveram presentes nas amostras dos animais saudáveis, atingindo concentrações máximas de $0,95 \text{ mg kg}^{-1}$,

4 mg kg⁻¹, 3 mg kg⁻¹ e 4 mg kg⁻¹ respectivamente (Tabela 3). Badea et al. (2018) observaram diferenças significativas em nível de 95% de confiança para as concentrações de elementos químicos em pelos de gatos saudáveis e animais com insuficiência renal, em que Al, Fe, Mg, Ca e Cd apresentaram concentrações mais altas nos gatos saudáveis. As maiores diferenças encontradas para os animais doentes foram referentes a variabilidade maior devido à amplitude entre concentrações mínimas e máximas nos resultados para os elementos químicos traços e nutrientes como Zn (Tabela 3).

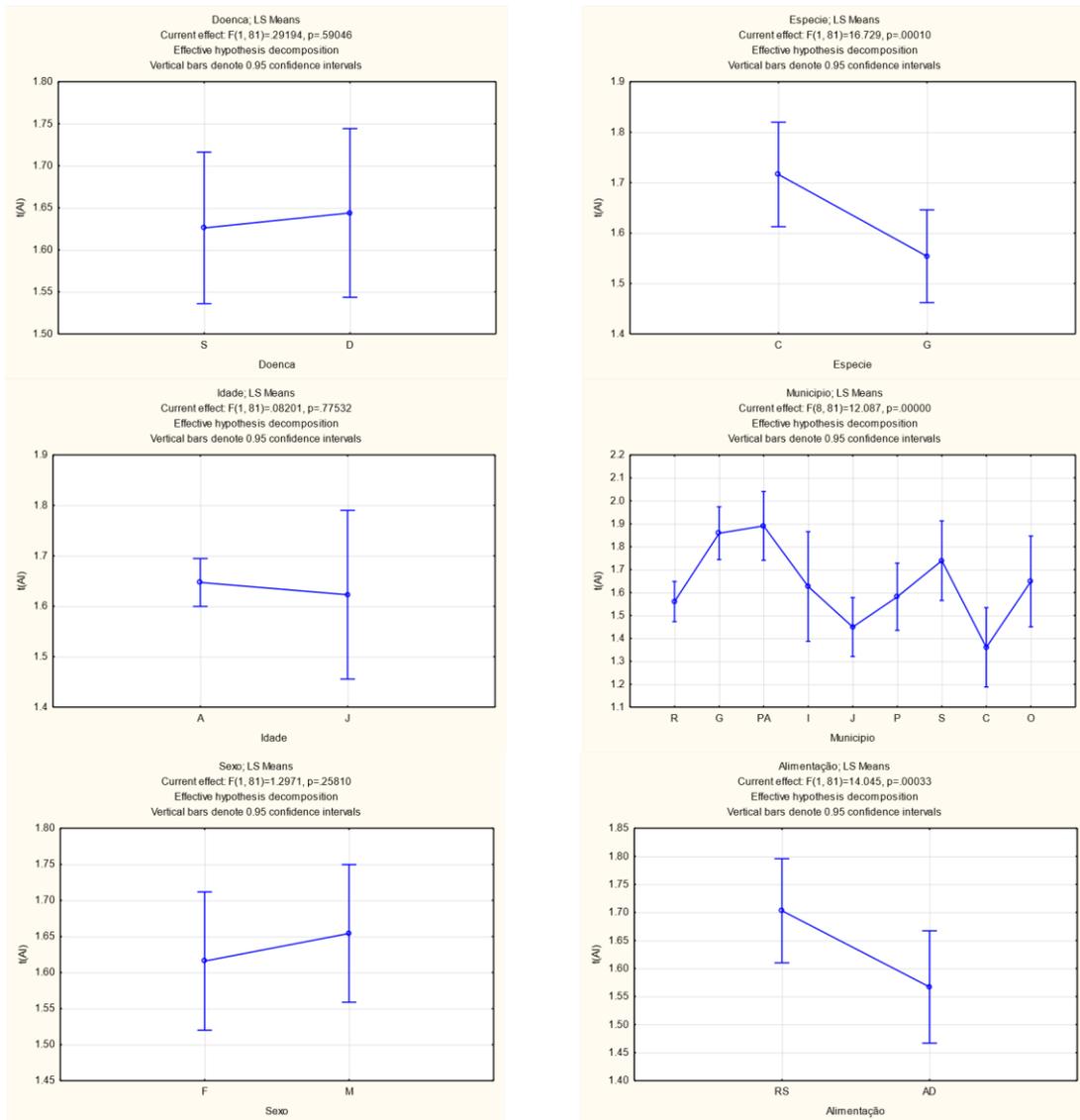
4.3 ANÁLISE DE VARIÂNCIA

Os resultados dos elementos químicos apresentados nesta seção são referentes às concentrações de Al, Ca, Cd, Cu, Cr, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb e Zn. Foi aplicada a análise de variância para testar os efeitos dos tratamentos Doença, Espécie, Idade, Município, Sexo e Alimentação com relação às concentrações médias dos elementos químicos.

4.3.1 Alumínio

De acordo com a Figura 17, as concentrações médias de alumínio foram significativamente diferentes para os tratamentos, Espécie ($p = 0,0010$), em que cães apresentaram a maior concentração média. Assim como foram significativas em nível de 95% de confiança ($p = 0,0000$) para os municípios, Paudalho apresentou a maior concentração média e Camaragibe, a menor. Com relação a Alimentação, maiores concentrações de Al foram obtidas em animais que se alimentam exclusivamente de ração seca ($p = 0,0003$). Entretanto, não houve indícios estatísticos de que as concentrações médias do elemento químico fossem diferentes para animais sadios e doentes ($p = 0,59046$).

Figura 17 – Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de AI determinadas em pelos de animais domésticos



Doença (D = doentes; S = saudáveis); Espécie (C = cachorro; G = gato); Idade (J = jovem – menor que 1 ano de idade; A = adulto); Município (R = Recife; G = Goiana; PA= Paudalho; I = Ipojuca; J = Jaboatão dos Guararapes; P = Paulista; S = São Lourenço; C = Camaragibe; O = Olinda); Sexo (F = fêmea; M = macho) e Alimentação (RS = ração sólida; AD = alimento disponível). Resíduos normalmente distribuídos em nível de 95% de confiança.

Fonte: A autora (2022).

Segundo Espósito et al. (2018), o tempo de vida dos animais pode influenciar nas concentrações dos elementos químicos dos pelos, pois animais domésticos possuem uma vida longa, em comparação a outros animais, o que reflete em uma maior exposição por ingestão, respiração ou até dérmica. Alguns estudos demonstram que, com relação a AI, as maiores concentrações encontram-se em órgão internos

como fígado, pulmão e ossos (SILVA, 2015). As concentrações de alumínio merecem atenção, pois esse elemento químico é considerado tóxico e suas consequências podem ser diversas (BADEA et al., 2019). Para conservação das rações secas, é utilizado alumínio, dentre outras substâncias. O processo de produção desses alimentos envolve muitos elementos químicos, porém não é obviamente a única via de ingestão. Al também é encontrado nas areias para gatos e pelo comportamento que os felinos possuem de lamber a pelagem, esses animais podem acabar ingerindo o elemento químico presente no ambiente (SERPE et al., 2012; PANDEY, 2013).

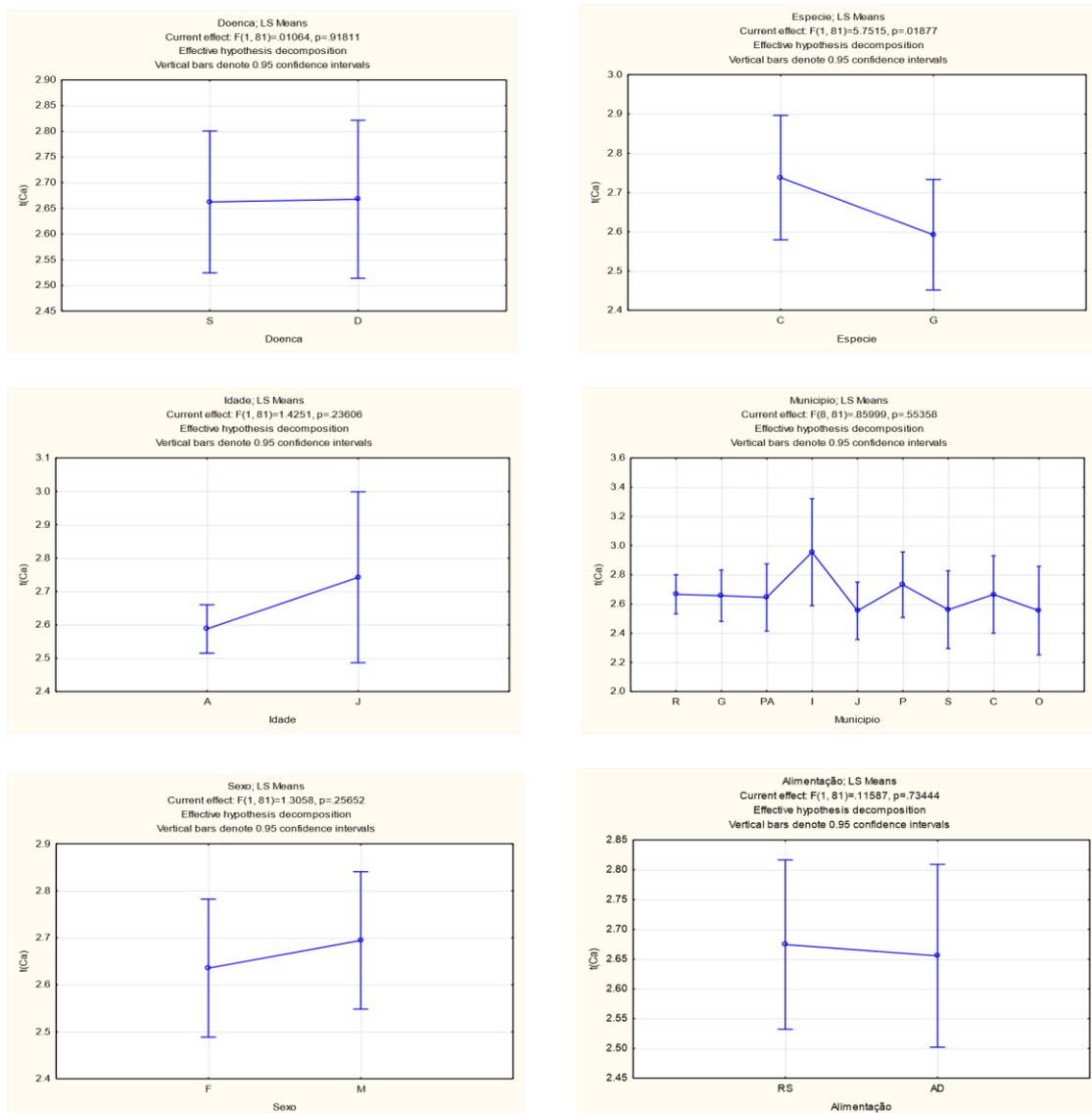
Corroborando com o texto acima, Elias (2015), em seu trabalho, faz citações com relação à alimentação de cães domésticos, em que além de cumprir a função de alimentar e suprir as necessidades nutricionais desses animais, elementos químicos, em especial os tóxicos, também foram bastante comuns de serem encontrados. Esses elementos químicos tóxicos como Al podem causar alterações nos organismos, desencadear patologias e, como consequência extrema, ocasionar a mortalidade dos animais. O sistema nervoso pode ser o mais afetado, uma vez que Al está associado a enfermidades neurológicas em mamíferos (ELIAS, 2015).

Por serem animais cuja alimentação muito provavelmente pode estar associada à alimentação humana, em que alguns se alimentam de sobras, a presença de alumínio nos pelos dos animais domésticos elucida as mesmas rotas de contaminação para humanos, por isso são importantes ferramentas de vigilância (ESPOSITO et al., 2018). O problema relacionado com a alimentação caseira está associado ao fato de nem sempre essa opção consegue atingir o nível nutricional adequado. Desse modo, alguns animais podem sofrer com a falta de nutrientes, problema detectado em uma pesquisa realizada nos EUA e Austrália, pois mais de 60% dos participantes de mais de 55 países alimentavam seus animais com comida caseira (PEDRINELLI et al., 2019). Nesse sentido, o uso da matriz pelo reforça a utilização desses animais domésticos como sentinelas de contaminação.

4.3.2 Cálcio

Dentre os resultados da ANOVA para esse elemento químico, apenas as médias das espécies diferiram entre si em nível de 95% de confiança ($p = 0,01877$) como mostra a Figura 18.

Figura 18 – Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Ca determinadas em pelos de animais domésticos



Doença (D = doentes; S = saudáveis); Espécie (C = cachorro; G = gato); Idade (J = jovem – menor que 1 ano de idade; A = adulto); Município (R = Recife; G = Goiana; PA = Paudalho; I = Ipojuca; J = Jaboatão dos Guararapes; P = Paulista; S = São Lourenço; C = Camaragibe; O = Olinda); Sexo (F = fêmea; M = macho) e Alimentação (RS = ração sólida; AD = alimento disponível). Resíduos normalmente distribuídos em nível de 95% de confiança.

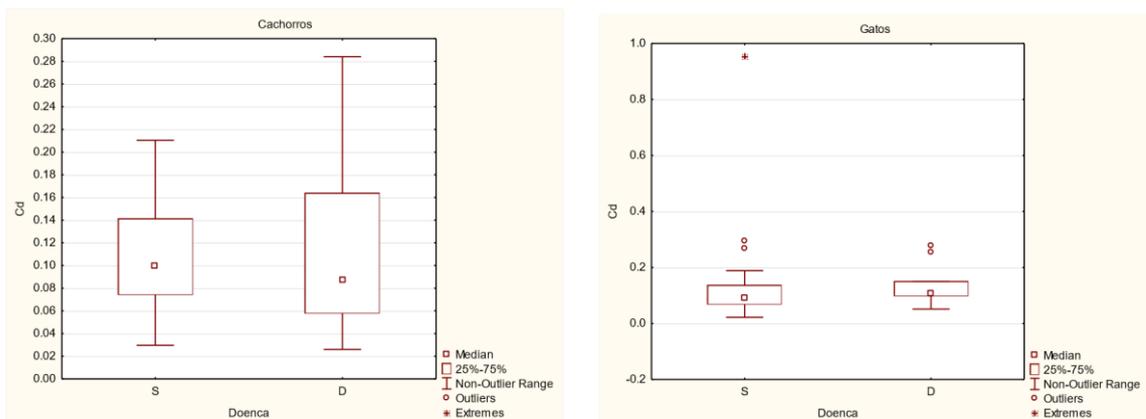
Fonte: A autora (2022).

Cálcio se trata de um elemento químico essencial associado ao desenvolvimento de diversas funções e é constituinte estrutural do osso, assim como favorece uma fisiologia ativa com bom desempenho (SILVA, 2015). Sua distribuição corporal está principalmente nos ossos 99%, enquanto 1% está distribuído na corrente sanguínea, membranas e estruturas internas. A redução das concentrações desse elemento químico no corpo, embora não detectada em nível de 95% de confiança para os animais estudados (Figura 18), pode causar diversas consequências para saúde (SILVA, 2015). Vale ressaltar que alguns estudos indicam cálcio como elemento químico antagônico a chumbo (CASTRO et al., 2010), impedindo a acumulação desse elemento tóxico nos animais.

4.3.3 Cádmiio

Para esse elemento, muitos animais cujos pelos, apresentaram concentrações mínimas determináveis abaixo de $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$, por isso não foi possível realizar a ANOVA para essa variável. Também foram observados pontos fora de controle em nível de 95% de confiança para gatos saudáveis e doentes (Figura 19). Não houve tendência das concentrações médias de Cd serem diferentes para pelos de cães e gatos, assim como para animais doentes e saudáveis.

Figura 19 – Gráficos box-plot para as concentrações de Cd determinadas nos pelos de cães e gatos saudáveis (S) e doentes (D)



Fonte: A autora (2022).

Por outro lado, cádmio possui uma característica diferenciada, pois permanece no ambiente por um tempo mais longo e, quando absorvido, tende a se acumular no organismo. É um elemento químico com similaridades a Zn, que é um nutriente (PANDEY, 2013). No estudo realizado por Esposito et al. (2018), Cd também apresentou tendência de acúmulo de acordo com a idade dos animais. Em outro estudo, as concentrações de Cd foram maiores em cães mais velhos (SERPE et al., 2012). Neste trabalho, não foram obtidos resultados suficientes para comprovar o aumento de Cd com as idades dos animais, porém, por ser biopersistente, estudos sobre o impacto do elemento químico em animais doentes precisam ser verificados a partir de biomonitorização individual, por exemplo, no animal que apresentou concentração de $0,95 \text{ mg kg}^{-1}$.

4.3.4 Cromo

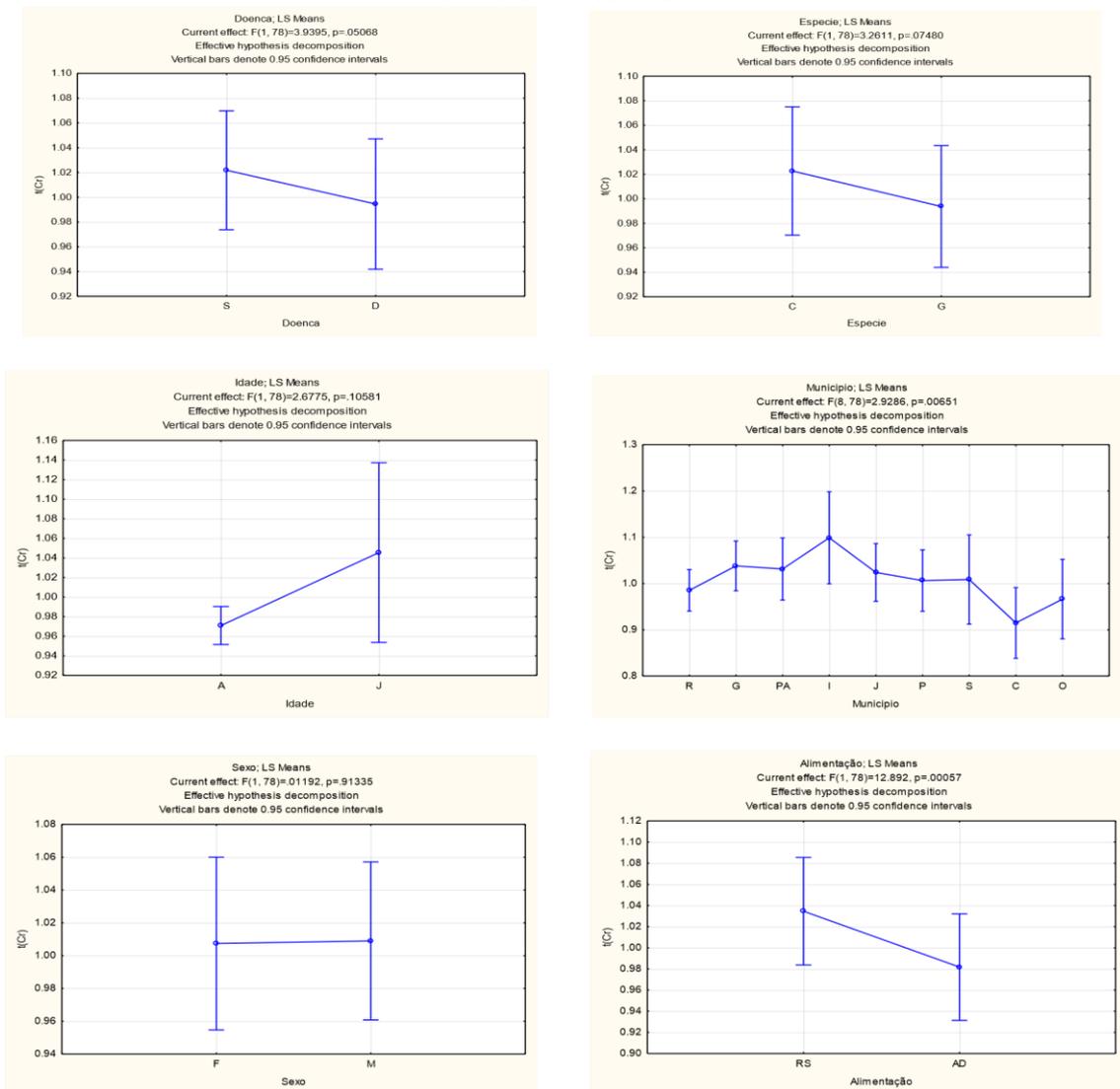
Considerando os resultados da ANOVA, as concentrações médias de cromo foram significativamente ($\alpha = 0,10$) diferentes para os tratamentos Doença ($p = 0,05068$), em que animais saudáveis apresentaram o maior valor médio, e Espécie, pois cães apresentaram a maior concentração média. Para o tratamento Município, houve indícios de diferenças estatísticas em nível de 95% de confiança ($p = 0,00651$) com a maior concentração para animais de Ipojuca em comparação com a menor de Camaragibe. Para Alimentação, mesmo nível de significância foi obtido com $p = 0,00057$, em que a alimentação por ração seca apresentou a maior concentração média desse elemento químico (Figura 20). Um animal apresentou a concentração máxima de 10 mg kg^{-1} , que merece atenção do tutor.

Badea et al. (2018), em seu estudo sobre pelos de animais, obtiveram maiores concentrações de Cr em cães considerados saudáveis, observando a diminuição desse elemento químico nas amostras de pelos de animais com câncer de mama. Este mesmo estudo sugeriu que cromo tendeu a se acumular nos tecidos cancerosos e, por esse motivo, não conseguiu migrar para os pelos (BADEA et al., 2018).

A importância de uma alimentação rica em nutrientes é essencial para o desenvolvimento dos animais. Para gatos, na maioria das vezes, a determinação do tipo de alimentação fica a cargo do tutor, o que, na verdade, deveria ser acompanhada por um profissional responsável, para que a quantidade consumida fosse suficiente

para suprir as necessidades do organismo. Ao analisar os elementos químicos presentes nas rações comercializadas, Altinok-Yipel et al. (2021) encontraram que Cr apresentou as maiores concentrações em alimentos enlatados de origem aquática. A origem do Cr encontrado nas rações pode ser diversa, a contaminação pode ocorrer desde a sua fabricação. Contudo, concentrações baixas de cromo no organismo podem desencadear doenças incluindo a diabetes (ELIAS, 2015).

Figura 20 – Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Cr determinadas em pelos de animais domésticos



Doença (D = doentes; S = saudáveis); Espécie (C = cachorro; G = gato); Idade (J = jovem – menor que 1 ano de idade; A = adulto); Município (R = Recife; G = Goiana; PA = Paudalho; I = Ipojuca; J = Jaboatão dos Guararapes; P = Paulista; S = São Lourenço; C = Camaragibe; O = Olinda); Sexo (F = fêmea; M = macho) e Alimentação (RS = ração sólida; AD = alimento disponível). Resíduos normalmente distribuídos em nível de 95% de confiança.

Fonte: A autora (2022).

Embora associado à saúde do animal, Cr é utilizado no processo de produção de vários materiais como tinta, papel, borracha e tecido, por exemplo. Uma pequena concentração desse elemento químico em contato com a epiderme já pode causar algum efeito indesejado como irritação, podendo evoluir para lesões. Uma exposição por um longo tempo pode causar danos bem maiores e pode atingir órgãos como rins, fígado e, algumas vezes, chega ao sistema nervoso (PANDEY, 2013).

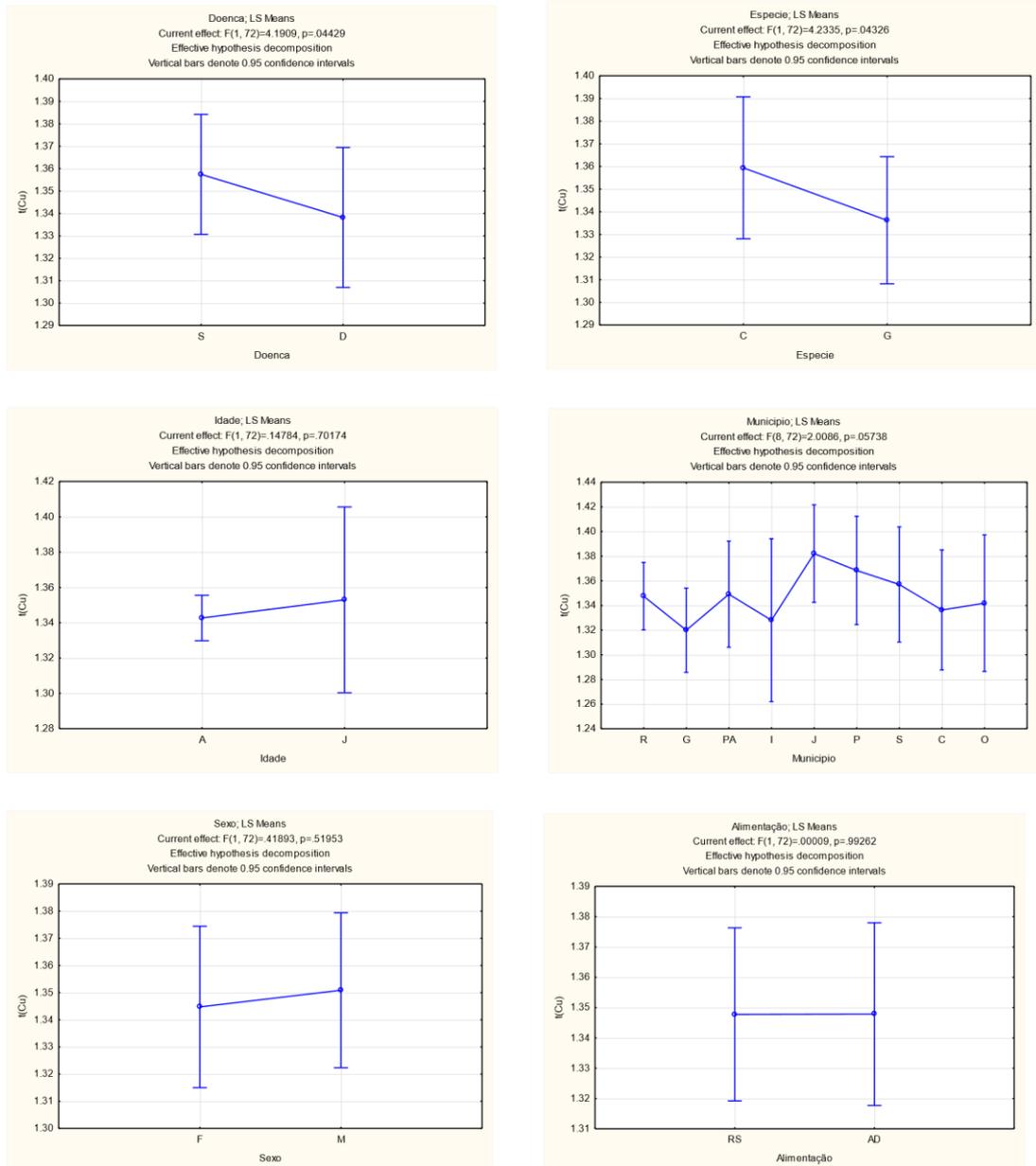
De acordo com Silva (2015), como Cr é encontrado principalmente no fígado, baço e rim, além de acumular-se em grandes concentrações nestes locais, podendo estar presente por um longo tempo, o resultado máximo de 10 mg kg^{-1} encontrado nesse trabalho em pelos pode ser indicativo de hiperacumulação nos órgãos do animal, merecendo maior investigação.

4.3.5 Cobre

Com foco na hipótese de indicação de doença pela composição química dos pelos, os resultados da ANOVA indicaram que as médias das concentrações desse elemento químico foram significativas em nível de 95% de confiança para o tratamento Doença ($p = 0,04429$) com maior concentração para animais saudáveis, e para Espécie ($p = 0,04326$) com maior concentração para cães. Os pelos dos animais amostrados nos municípios apresentaram concentrações médias diferentes em nível de 90% ($p = 0,05738$) com maior concentração para Jaboaão e menor concentração para Goiana (Figura 21).

Cobre é um elemento químico considerado essencial para o organismo, porém altas concentrações podem levar ao desenvolvimento de doenças no sistema endócrino e digestório (PANDEY, 2013). A interação de Cu com outros elementos químicos pode levar ao antagonismo como é o caso de Zn que, em altas concentrações, não permite que Cu seja absorvido pelo organismo. Porém, quando em concentrações maiores, cobre pode causar danos no fígado de cães, que podem evoluir a consequências sérias. A baixa concentração de Cu, por outro lado, pode estar associada ao desenvolvimento de anemias, pois esse elemento químico desempenha um papel essencial no funcionamento bioquímico de ferro e na formação da hemoglobina (ELIAS, 2015).

Figura 21 – Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Cu determinadas em pelos de animais domésticos



Doença (D = doentes; S = saudáveis); Espécie (C = cachorro; G = gato); Idade (J = jovem – menor que 1 ano de idade; A = adulto); Município (R = Recife; G = Goiana; PA = Paudalho; I = Ipojuca; J = Jaboatão dos Guararapes; P = Paulista; S = São Lourenço; C = Camaragibe; O = Olinda); Sexo (F = fêmea; M = macho) e Alimentação (RS = ração sólida; AD = alimento disponível). Resíduos normalmente distribuídos em nível de 95% de confiança.

Fonte: A autora (2022).

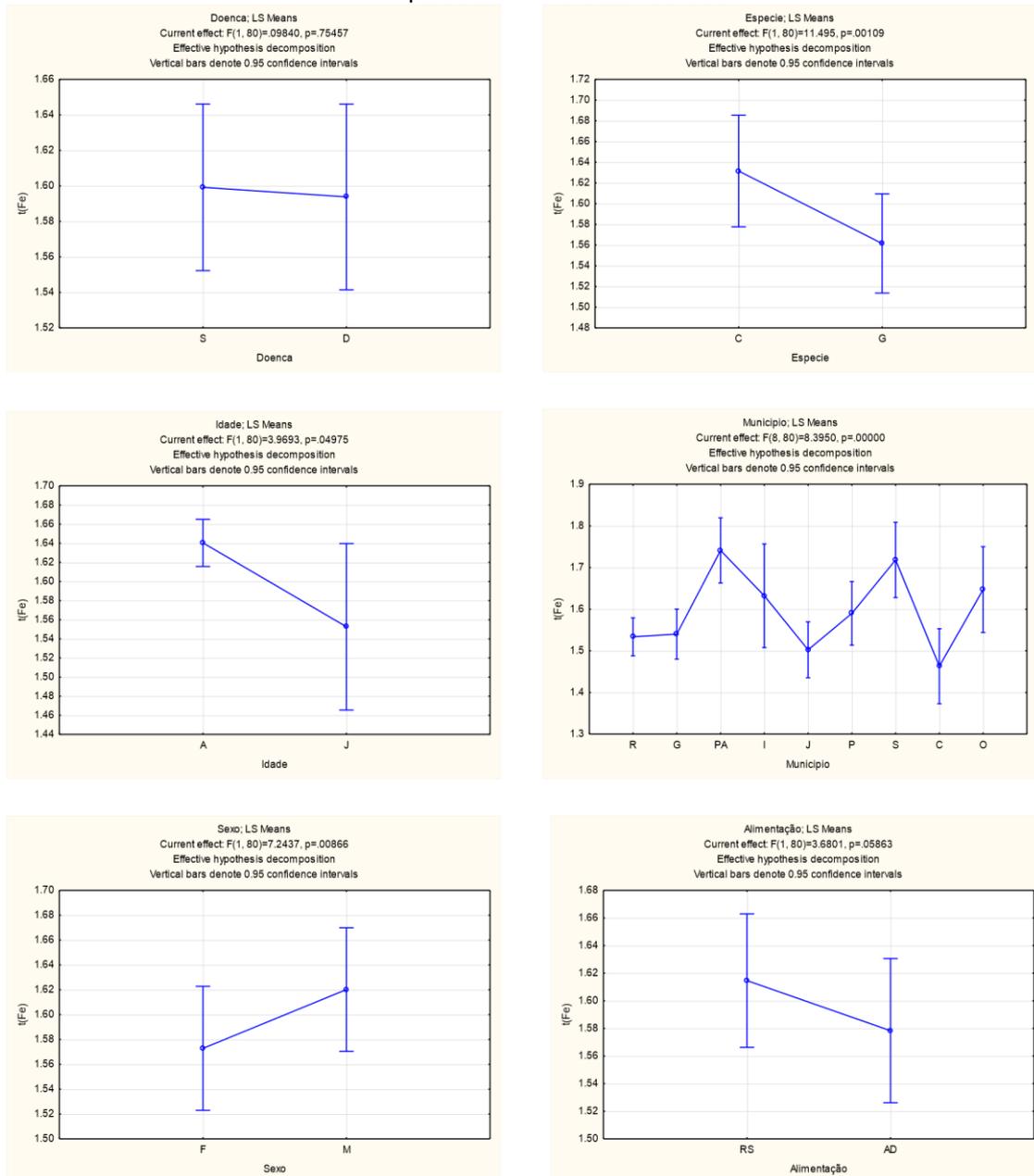
4.3.6 Ferro

Dentre os elementos químicos avaliados até o momento, Fe apresentou o maior número de tratamentos significativos se considerar um nível de 90% de confiança, com exceção do tratamento Doença (Figura 22). Houve indícios estatísticos de que as médias das concentrações de Fe diferiram entre si em nível de 95% para cães e gatos ($p = 0,00109$), com maior concentração para cães, para animais adultos e jovens ($p = 0,04975$), com maior concentração para adultos, e para os municípios ($p = 0,00000$), em que a maior concentração foi observada para Paudalho. Para o tratamento Sexo, a concentração média foi estatisticamente diferente ($p = 0,00866$) para machos com relação às fêmeas, enquanto as rações secas apresentaram menor concentração de Fe ($p = 0,05863$) em comparação com a maior concentração para alimentação diversa (Figura 22).

Em um estudo realizado por Rashed e Soltan (2005), foi verificado que os pelos de cabra (*Capra aegagrus hircus*) apresentaram níveis mais elevados de ferro quando comparados com as demais espécies analisadas. Nesse mesmo trabalho, comparou as concentrações de elementos químicos em pelos de animais de locais poluídos e não poluídos, em que as amostras de animais da área sem poluição apresentaram maior concentração de Fe. Nesta pesquisa, as maiores concentrações de Fe foram encontradas nos pelos dos animais de São Lourenço e Paudalho, que também poderiam ser associadas ao menor grau de poluição quando comparadas com os municípios de Paulista e Recife, por exemplo (LIRA, 2020).

Ferro é um elemento químico considerado essencial, por isso é difícil atestar sua toxicidade mesmo em altas concentrações, contudo, a presença desse elemento químico na alimentação em altas quantidades pode ocasionar doenças que podem se manifestar a médio e longo prazo (ELIAS, 2015). Tomza-Marciniak et al. (2012), em seu estudo, encontraram que cães alimentados com ração comercial tinham uma concentração maior de elementos químicos incluindo Fe, no sangue, mais do que aqueles com dieta caseira.

Figura 22 - Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Fe determinadas em pelos de animais domésticos



Doença (D = doentes; S = saudáveis); Espécie (C = cachorro; G = gato); Idade (J = jovem – menor que 1 ano de idade; A = adulto); Município (R = Recife; G = Goiana; PA = Paudalho; I = Ipojuca; J = Jaboatão dos Guararapes; P = Paulista; S = São Lourenço; C = Camaragibe; O = Olinda); Sexo (F = fêmea; M = macho) e Alimentação (RS = ração sólida; AD = alimento disponível). Resíduos normalmente distribuídos em nível de 95% de confiança.

Fonte: A autora (2022).

4.3.7 Potássio

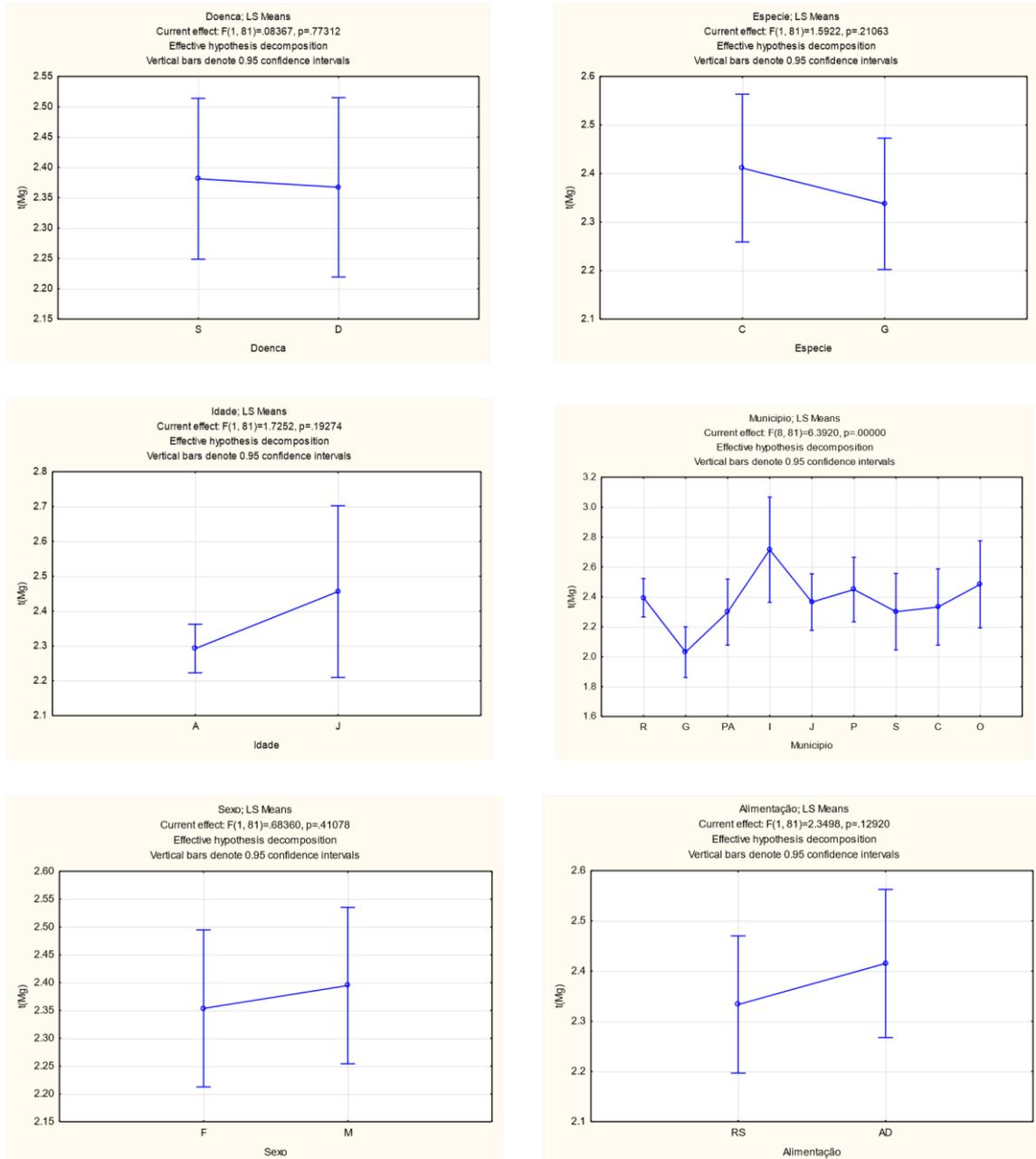
Em contraste aos resultados de ANOVA de Fe, as médias de concentração de potássio não foram significativas para nenhum dos tratamentos avaliados em nível de 95% de confiança. Porém, um animal apresentou comportamento não esperado (*outlier*), em que, sem doenças conhecidas, apresentou 8 mg kg⁻¹, o nível mais baixo de K nos pelos em comparação com a média dos outros animais de 300 mg kg⁻¹ e o máximo de cerca de 1.000 mg kg⁻¹.

4.3.8 Magnésio

Por serem essenciais em grandes quantidades, elementos químicos como Ca, K e Mg tendem a serem menos sujeitos a efeitos de tratamentos, principalmente para aqueles testados nesse trabalho. Nesse sentido, do total de amostras de pelos, foram significativas em nível de 95% de confiança ($p = 0,00000$) apenas para os animais dos municípios, o qual Ipojuca apresentou a maior concentração média nos pelos, enquanto os animais de Goiana apresentaram valor 30% menor em comparação com os de Ipojuca (Figura 23).

Magnésio é um importante elemento químico responsável por inúmeras funções biológicas. Tanto o seu excesso quanto a sua falta atinge diretamente a saúde, tornando o indivíduo suscetível ao desenvolvimento de doenças. Mg está ligado mesmo que, indiretamente, à síntese de DNA e RNA, pois se faz necessário para algumas reações enzimáticas acontecerem. Neste trabalho, a mais baixa concentração do elemento químico foi 30 mg kg⁻¹, enquanto a concentração média alcançou aproximadamente 340 mg kg⁻¹. A provável falta desse elemento químico devido à baixa concentração nos pelos do animal, pode estar impactando as funções musculares e cardíacas, como também facilitar o desenvolvimento de diabetes (SILVA, 2015).

Figura 23 - Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Mg determinadas em pelos de animais domésticos



Doença (D = doentes; S = saudáveis); Espécie (C = cachorro; G = gato); Idade (J = jovem – menor que 1 ano de idade; A = adulto); Município (R = Recife; G = Goiana; PA = Paudalho; I = Ipojuca; J = Jaboatão dos Guararapes; P = Paulista; S = São Lourenço; C = Camaragibe; O = Olinda); Sexo (F = fêmea; M = macho) e Alimentação (RS = ração sólida; AD = alimento disponível). Resíduos normalmente distribuídos em nível de 95% de confiança.

Fonte: A autora (2022).

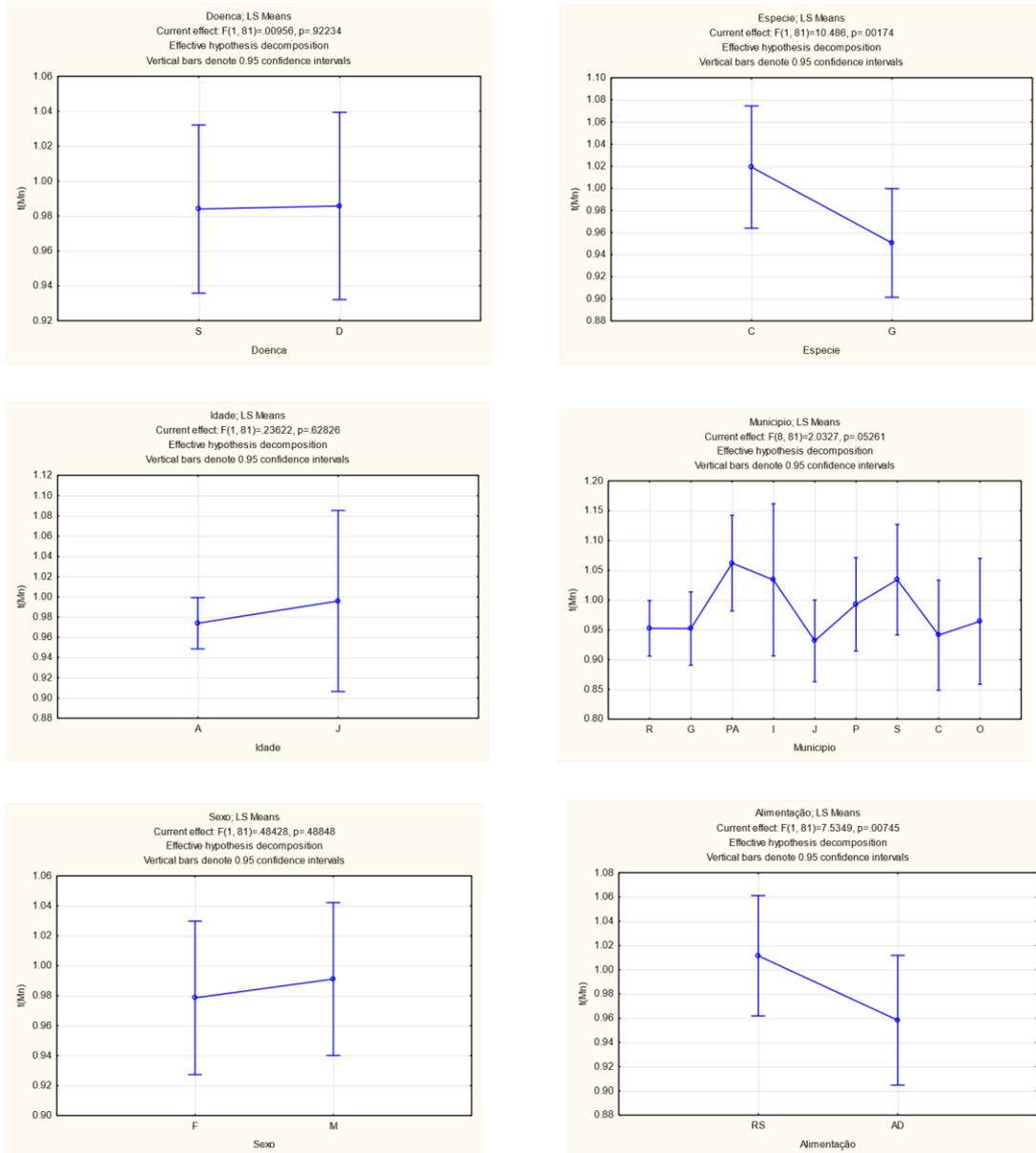
A redução da absorção de Mg em animais, principalmente ruminantes, é conhecida como hipomagnesemia e são vários os fatores desencadeantes dessa doença, incluindo a ingestão alimentar e a quantidade de Mg disponível no ambiente. Nesse caso, quanto maior a concentração de nitrogênio-potássio-fósforo, menor é a disponibilidade de Mg no ambiente, que, dependendo da base da alimentação, as gramíneas, os ruminantes são afetados diretamente (DONCEL et al., 2021). De fato, a quantidade de Mg no ambiente vai influenciar em toda cadeia ecológica, em que sua disponibilidade no solo reflete na quantidade transferida para plantas e animais consequentes (SENBAYRAM et al., 2015).

4.3.9 Manganês

Do ponto de vista univariado, a ANOVA aplicada às concentrações de Mn determinadas nos pelos dos animais demonstrou que, em nível de 95% de confiança, os tratamentos Espécie e Alimentação foram significativos (Figura 24). Os maiores valores para Mn foram encontrados para cães. Com $\alpha = 0,10$, pelo menos uma média das concentrações de Mn diferiu das demais para os animais localizados nos municípios ($p = 0,05261$) com maiores valores médios para Paulista e Jaboatão dos Guararapes.

Este elemento químico é essencial por envolver-se na síntese e ativação de muitas enzimas e na regulação do metabolismo da glicose e lipídios em humanos (LI; YANG, 2018). Além disso, Mn é um dos componentes necessários para a manganêssuperóxidodismutase (MnSOD) que é principalmente responsável pela recuperação de espécies reativas de oxigênio no estresse oxidativo mitocondrial. Ambas, tanto a deficiência quanto a intoxicação de Mn são associadas aos efeitos metabólicos e neuropsiquiátricos adversos. Estudos prévios encontraram que a geração das espécies reativas de oxigênio, estresse oxidativo e inflamação são críticas para a patogênese de doenças metabólicas. Além disso, a deficiência em Mn na dieta, assim como a exposição em excesso do elemento químico, pode incrementar a geração dessas espécies reativas, resultando em consequente estresse oxidativo. Contudo, a relação entre Mn e doenças metabólicas não é totalmente esclarecido (LI; YANG, 2018).

Figura 24 - Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Mn determinadas em pelos de animais domésticos



Doença (D = doentes; S = saudáveis); Espécie (C = cachorro; G = gato); Idade (J = jovem – menor que 1 ano de idade; A = adulto); Município (R = Recife; G = Goiana; PA = Paudalho; I = Ipojuca; J = Jaboatão dos Guararapes; P = Paulista; S = São Lourenço; C = Camaragibe; O = Olinda); Sexo (F = fêmea; M = macho) e Alimentação (RS = ração sólida; AD = alimento disponível). Resíduos normalmente distribuídos em nível de 95% de confiança.

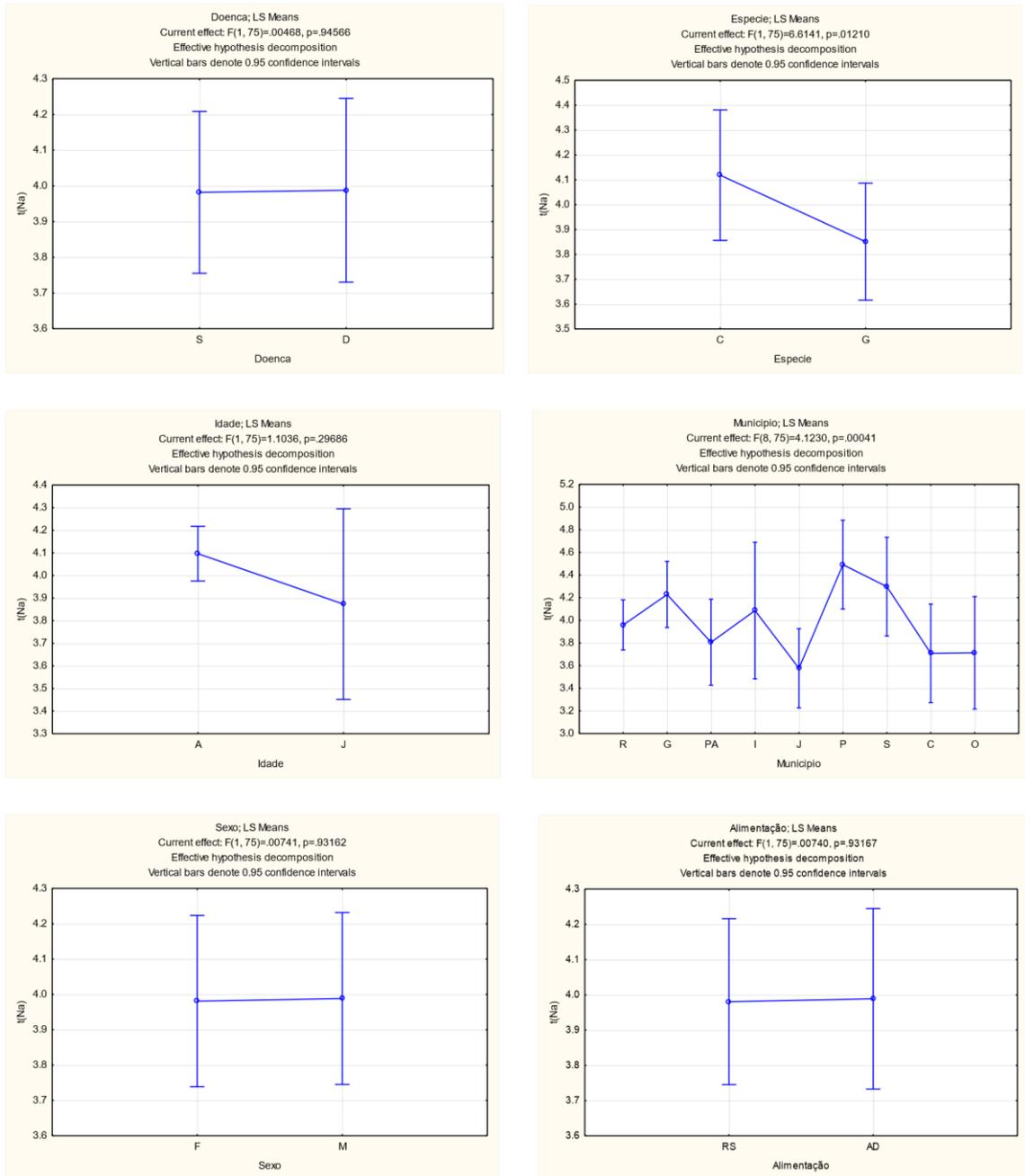
Fonte: A autora (2022).

4.3.10 Sódio

Sódio é o nutriente envolvido na manutenção da homeostase de células normais e na regulação de fluído e balanço eletrólito e pressão sanguínea (STRAZZULLO; LECLERCQ, 2014), por isso foi incluído nesse trabalho. De acordo com os resultados da ANOVA (Figura 25), os tratamentos significativos em nível de 95% de confiança foram Espécie ($p = 0,01210$) e Município ($p = 0,00041$). Os pelos dos cães apresentaram maior concentração de Na em comparação com os pelos de gatos, assim como os animais de Paulista, cujas concentrações médias foram as maiores (Figura 25). Alguns pelos de animais apresentaram concentrações elevadas (acima de 2.000 mg kg^{-1}) com o máximo de aproximadamente 3.800 mg kg^{-1} , ressaltando a problemática desse elemento químico para mamíferos. A deficiência não é algo esperado para animais, uma vez que muitos aditivos se utilizam desse elemento químico para a conservação dos alimentos industrializados (STRAZZULLO; LECLERCQ, 2014). Sendo assim, no estudo realizado por Priyadarshini (2018) é comum a presença de sódio em pelos, o qual foi encontrado em todos os animais estudados em sua pesquisa (ovelha, cabra, gato e cão).

Os gatos e cachorros foram considerados por muito tempo como animais parecidos, mas atualmente ficou evidente que são animais muito diferentes em diversos aspectos, principalmente ao considerar-se a alimentação, seus efeitos benéficos no comportamento humano e aplicações como modelos biológicos (CHAMONE, 2013).

Figura 25 - Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Na determinadas em pelos de animais domésticos



Doença (D = doentes; S = saudáveis); Espécie (C = cachorro; G = gato); Idade (J = jovem – menor que 1 ano de idade; A = adulto); Município (R = Recife; G = Goiana; PA = Paudalho; I = Ipojuca; J = Jaboatão dos Guararapes; P = Paulista; S = São Lourenço; C = Camaragibe; O = Olinda); Sexo (F = fêmea; M = macho) e Alimentação (RS = ração sólida; AD = alimento disponível). Resíduos normalmente distribuídos em nível de 95% de confiança.

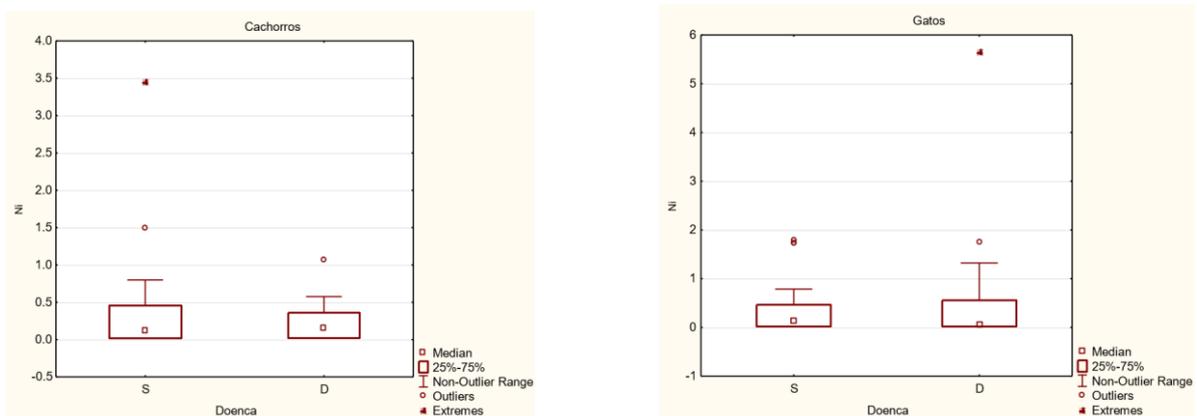
Fonte: A autora (2022).

4.3.11 Níquel

Assim como ocorreu para cádmio, mais do que 20% dos valores determinados de Ni em pelos de animais ficaram abaixo da concentração mínima determinável de $0,02 \text{ mg kg}^{-1}$. Ao contrário de Cd, níquel possui função na produção do sangue vermelho, porém seu excesso no corpo, assim como Cd, torna-o tóxico, em que exposições longas podem causar efeitos principalmente no sistema cardíaco, hepático e dérmico (PANDEY, 2013).

Nesse sentido, optou-se apenas para mostrar o gráfico *boxplot* das concentrações de níquel, em que é possível observar a presença de pontos fora de controle (*outliers*), porém não houve tendência de valores diferenciados para os pelos das espécies estudadas assim como para os pelos de animais saudáveis e doentes (Figura 26).

Figura 26 – Gráficos *box-plot* para as concentrações de Ni determinadas nos pelos de cães e gatos saudáveis (S) e doentes (D)



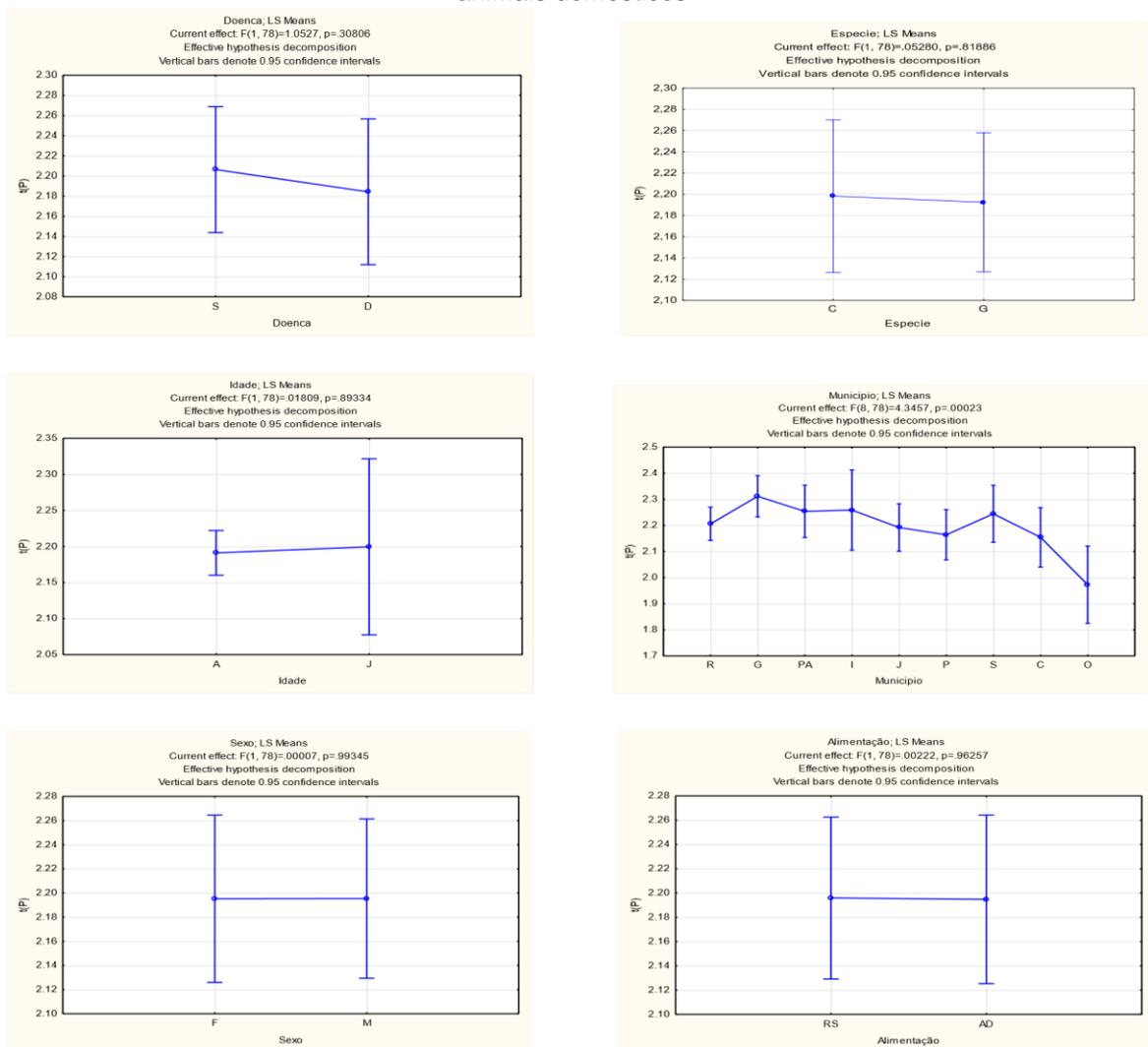
Fonte: A autora (2022).

Níquel tem uma ocorrência comum em solos, sendo facilmente absorvido por plantas, por isso, sua monitoração em ambiente urbano deve ser realizada, pois se enfatiza que a exposição aos níveis altos de níquel pode trazer vários danos para saúde, com consequências para o sistema reprodutor, imunológico, neurológico e hematológico (GUO et al., 2020).

4.3.12 Fósforo

Os resultados da ANOVA indicaram que apenas o tratamento Município foi significativo em nível de 95% de confiança ($p = 0,00023$) para os pelos dos animais (Figura 27), em que a maior concentração média foi observada para o Município de Goiana.

Figura 27 – Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de P determinadas em pelos de animais domésticos



Doença (D = doentes; S = saudáveis); Espécie (C = cachorro; G = gato); Idade (J = jovem –menor que 1 ano de idade; A = adulto); Município (R = Recife; G = Goiana; PA = Paudalho; I = Ipojuca; J = Jaboatão dos Guararapes; P = Paulista; S = São Lourenço; C = Camaragibe; O = Olinda); Sexo (F = fêmea; M = macho) e Alimentação (RS = ração sólida; AD = alimento disponível). Resíduos normalmente distribuídos em nível de 95% de confiança.

Fonte: A autora (2022).

Além do papel fisiológico, fósforo desempenha um papel fundamental na economia, principalmente para a produção de alimentos. Porém, quando em concentrações elevadas, pode provocar diversos danos ambientais, pois possui uma tendência a se tornar um poluente, mesmo a legislação brasileira não o considerando como tal (KLEIN; AGNE, 2012). Algumas regiões destinadas ao cultivo de cana-de-açúcar ou carcinicultura possuem tendência do aumento da poluição de P, principalmente em recursos hídricos (GARLIPP et al., 2010) como é o caso do Município de Goiana localizado em Pernambuco, no qual, durante o período colonial, foi um dos maiores produtores de cana-de-açúcar do estado (MIRANDA, 2016). Todavia, é necessário assumir que água e atmosfera seriam as principais fontes de disponibilização de P nesse município para os animais, uma vez que P nos solos tende a ser indisponível (GARLIPP et al., 2010).

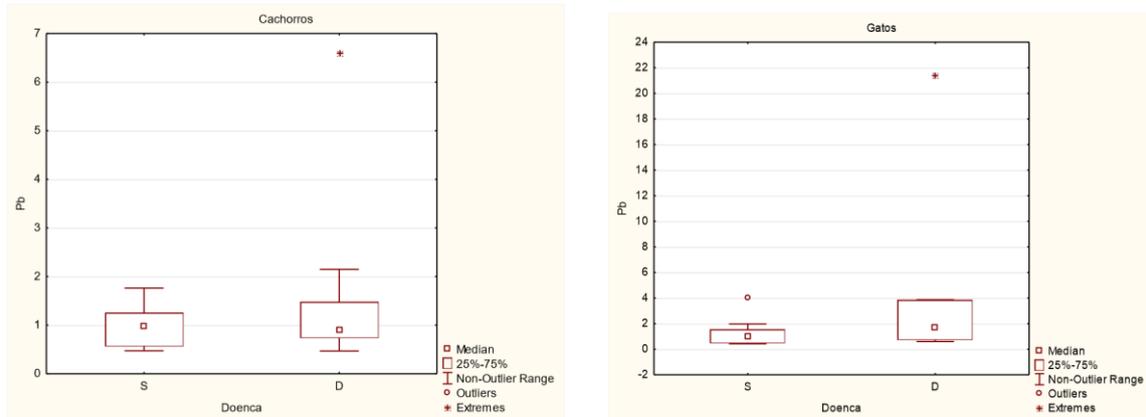
Por outro lado, caso haja alimentos artificialmente incrementados com P, após ingestão, alterações hormonais poderão ser observadas, as quais podem induzir a um hiperparatireodismo ou/e perda óssea, entre outras consequências (CALVO; URIBARRI, 2013).

Vale ressaltar que a alta concentração de P observada para os pelos dos animais de Goiana, provavelmente associada ao ambiente, pode refletir na dificuldade de absorção de outros nutrientes como é o caso de Mg, cuja deficiência pode resultar em problemas de saúde para os animais (Seção 4.4.8).

4.3.13 Chumbo

De acordo com as concentrações de chumbo, 56 amostras de pelos de animais estiveram abaixo da concentração mínima determinável de $0,4 \text{ mg kg}^{-1}$, o que chamou muita atenção devido ao fato da problemática da contaminação por esse elemento químico em sistemas biológicos. Por isso, o gráfico *box-plot* apenas mostra as concentrações médias, os desvios-padrão e os intervalos de confiança em nível de 95% de confiança (Figura 28).

Figura 28 – Gráficos *box-plot* para as concentrações de Pb determinadas nos pelos de cães e gatos saudáveis (S) e doentes (D)



Fonte: A autora (2022).

De acordo com a literatura, Pb está mais envolvido em casos de contaminação em animais, pois estes apresentam um sistema endócrino mais frágil e suscetível. As fontes de contaminação são diversas, incluindo tintas, baterias de automóveis, materiais de construção, os quais estão presentes no ambiente (PANDEY, 2013). De fato, na Figura 28, é possível verificar concentrações muito elevadas, atingindo 21 mg/kg⁻¹ em pelos de um animal avaliado, o que pode indicar alguma fonte local de contaminação.

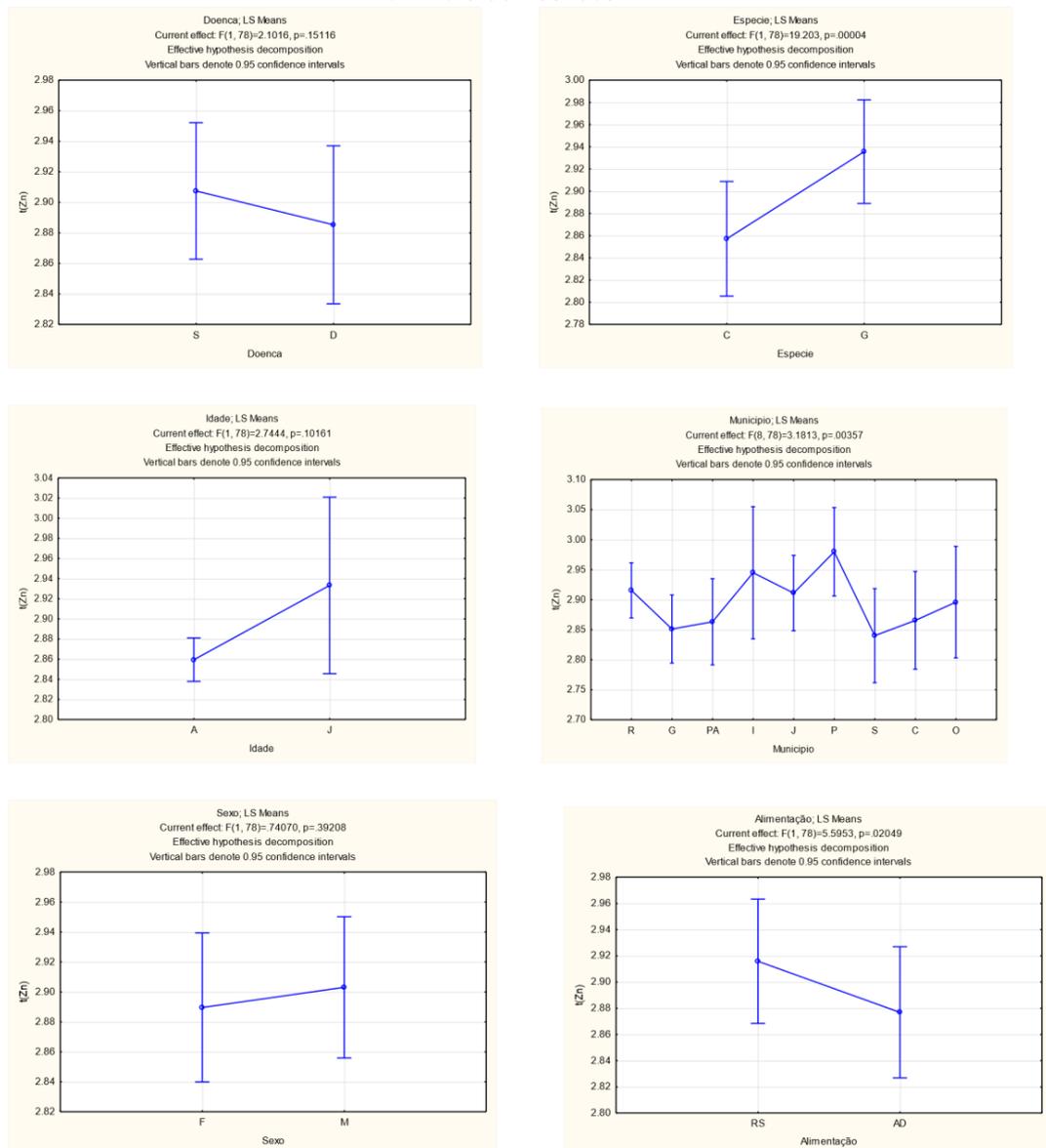
Algumas matrizes são mais empregadas para a biomonitoração desse elemento químico no organismo como o sangue, por exemplo. A concentração de Pb nessa matriz pode representar uma acumulação bem maior no plasma, porém, nem sempre a concentração encontrada no sangue será a mesma encontrada no plasma. Desse modo, algumas matrizes podem acumular mais elementos químicos que outras, principalmente ao se estudar matrizes que indicam contaminação recente como é o caso da urina (SILVA, 2015). Ainda, determinações de Pb em matrizes como sangue e urina poderiam auxiliar na identificação das fontes do elemento químico para os animais, cujas concentrações ultrapassaram 4 mg kg⁻¹.

4.3.14 Zinco

Mesmo desconsiderando as covariâncias entre os elementos químicos por se tratar de análise estatística univariada, os resultados da ANOVA apontaram para

diferenças significativas de Zn para os pelos das espécies de animais ($p = 0,00004$), em que gatos apresentaram maior concentração do elemento químico; para aqueles determinados nos animais dos mais variados municípios ($p = 0,00357$), nos quais Paulista e Ipojuca merecem destaque para as maiores concentrações médias, e para animais alimentados com ração seca ($p = 0,02049$) como mostra a Figura 29.

Figura 29 – Resultados da ANOVA aplicada às concentrações de Zn determinadas em pelos de animais domésticos



Doença (D = doentes; S = saudáveis); Espécie (C = cachorro; G = gato); Idade (J = jovem – menor que 1 ano de idade; A = adulto); Município (R = Recife; G = Goiana; PA = Paudalho; I = Ipojuca; J = Jaboatão dos Guararapes; P = Paulista; S = São Lourenço; C = Camaragibe; O = Olinda); Sexo (F = fêmea; M = macho) e Alimentação (RS = ração sólida; AD = alimento disponível). Resíduos normalmente distribuídos em nível de 95% de confiança.

Fonte: A autora (2022).

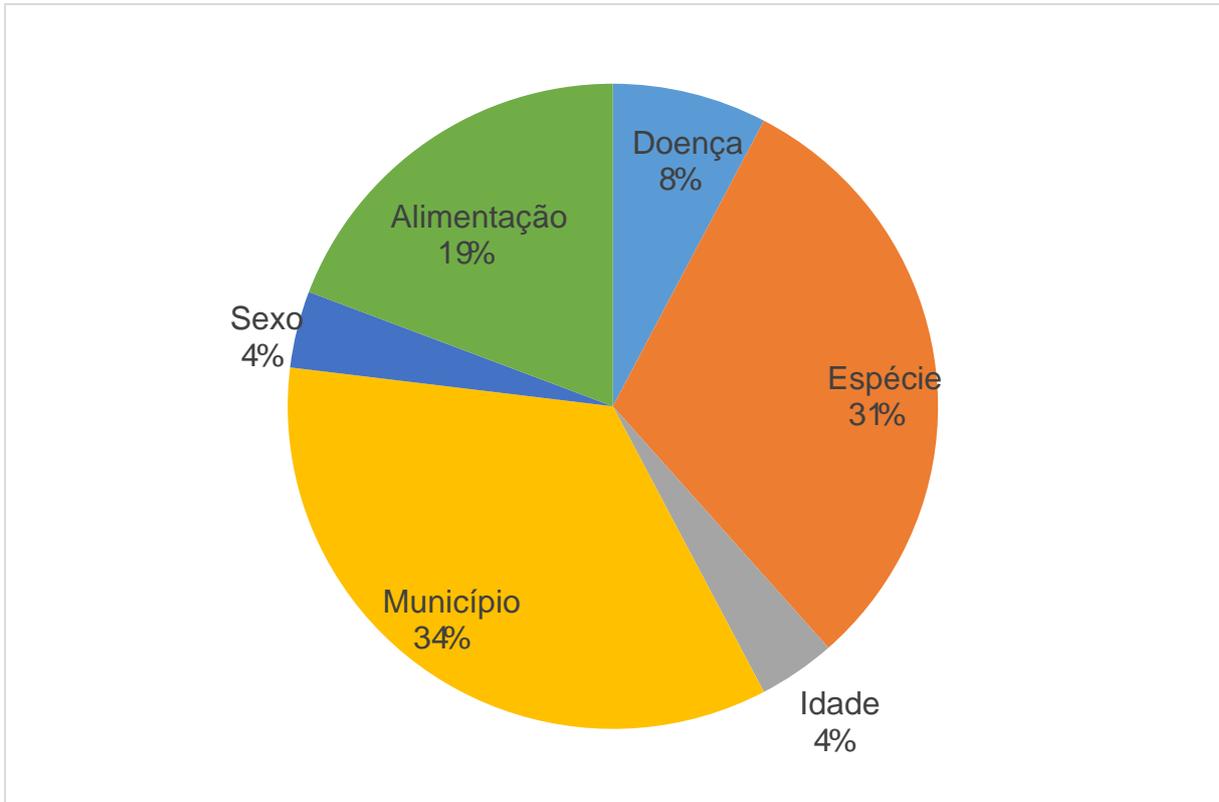
Considerado um elemento químico essencial, Zn desenvolve funções importantes para o funcionamento do organismo, sendo importante para o crescimento, sistema imunológico, mineralização óssea e apoptose de células, por exemplo. O excesso de Zn pode levar ao desenvolvimento de vários danos, podendo ser letal em algumas circunstâncias (ZAFALON, 2020). No caso dos animais avaliados, a máxima concentração observada foi cerca de 700 mg kg^{-1} , isto é, 7 vezes superior ao encontrado na literatura (Tabela 1).

Porém, quando ocorre a deficiência desse elemento químico, a principal consequência está associada ao funcionamento do sistema imune. A forma mais importante de obtenção desse elemento químico é por meio da ingestão, ou seja, alimentação. Em alguns momentos como em gestação, infância e adolescência, o corpo necessitará de uma concentração maior de Zn (CRUZ; SOARES, 2011). De acordo com os resultados obtidos, a mínima concentração do elemento químico encontrada nos pelos dos animais foi 88 mg kg^{-1} , não sendo factível a hipótese de deficiência para esses animais.

4.3.15 Resumo da análise estatística univariada

Diante do exposto, elaborou-se um resumo dos resultados univariados encontrados neste trabalho (Figura 30), nos quais a maioria dos resultados significativos em nível de 95% de confiança foram referentes ao tratamento Município para Al, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, P e Zn ($n = 9$); em seguida, Espécie com Al, Ca, Cr, Cu, Fe, Mn, Na e Zn ($n = 8$); Alimentação com Al, Cr, Fe, Mn e Zn ($n = 5$) e Doença com Cr e Cu ($n = 2$). Para idade e sexo, apenas Fe foi significativo (Figura 30).

Figura 30 – Distribuição das variáveis significativas em nível de 95% de acordo com os resultados da ANOVA



Fonte: A autora (2022).

Badea et al. (2018), por meio dos resultados de seu estudo, refletiu sobre a quantidade de elementos químicos encontrados nos pelos dos animais estudados, associando as maiores concentrações com locais mais poluídos. As atividades antropogênicas são, em diversas vezes, responsáveis pela contaminação do ambiente (PRIYADARSHINI et al., 2018).

Ao observar a importância do elemento químico para cada tratamento testado, as concentrações de Fe nos pelos foram significativas para os tratamentos espécie, idade, município, sexo e alimentação. Para Cr as médias significativas entre os tratamentos foram para doença, espécie, município e alimentação. Cu apresentou relevância para doença, espécie e município, enquanto Al, Mn e Zn foram significativos para espécie, município e alimentação. Sódio apenas foi significativo para espécie e município, Ca para espécie e P e Mg ambos para município (Tabela 4).

Tabela 4 – Classificação dos elementos químicos mais significativos para os tratamentos estudados

Fe	Cr	Cu	Al	Zn	Mn	Na	Ca	P	Mg
E	D	D	E	E	E	E	E	M	M
I	E	E	M	M	M	M			
M	M	M	A	A	A				
S	A								
A									

D = doença; E = espécie; I = Idade; M = município; S = sexo; A = alimentação

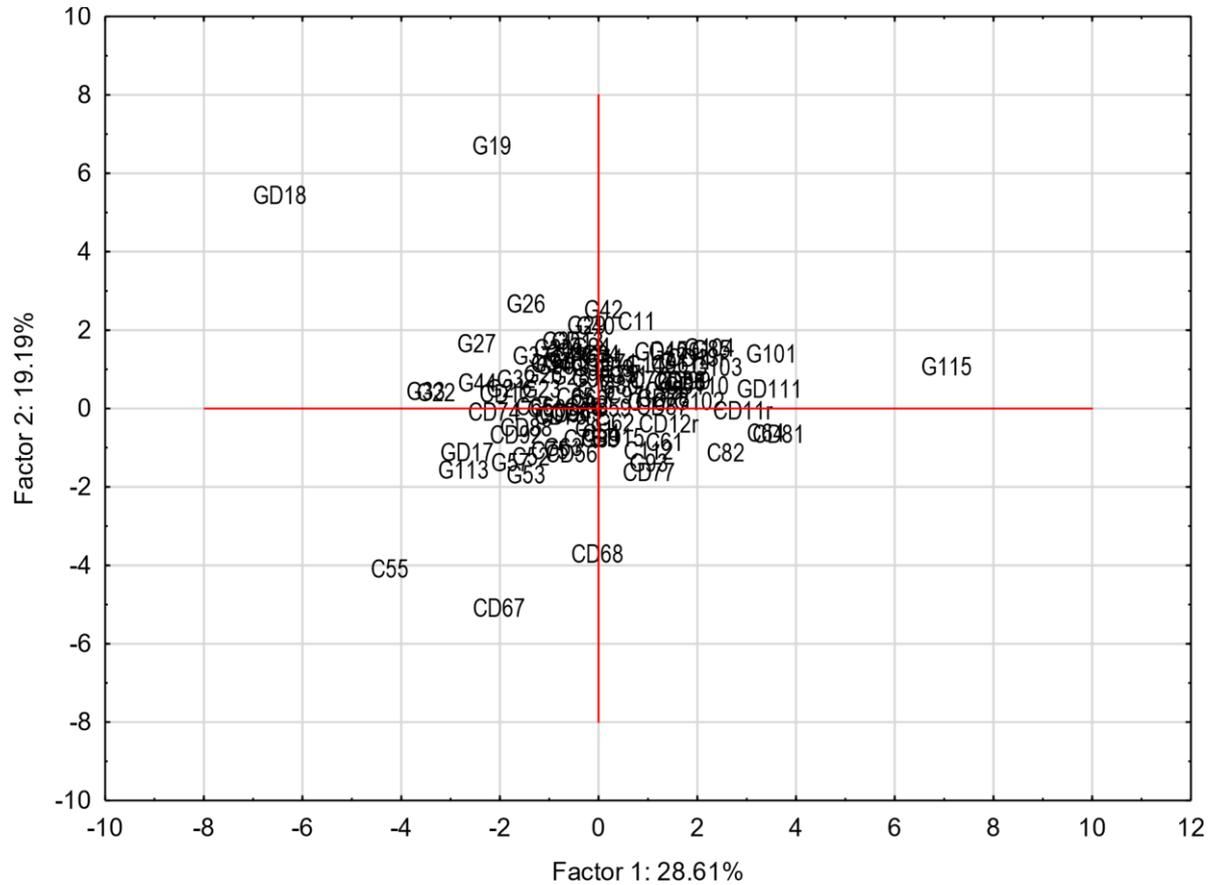
Fonte: A autora (2022).

As consequências do desequilíbrio nas concentrações de elementos químicos no organismo podem comprometer a funcionalidade, em que manter o equilíbrio é essencial (ELIAS, 2015). Contudo, a interação entre os elementos químicos só pode ser levada em consideração no contexto da análise multivariada.

4.4 ANÁLISE MULTIVARIADA

Ao analisar multivariadamente as concentrações obtidas por ICP-OES, FAAS e GFAAS, foi aplicada a Análise por Componentes Principais – PCA para redução do número de variáveis para 4 componentes principais. Empregaram-se as componentes principais 1 – PC1 e 2 – PC2 para avaliar pontos fora de controle multivariados. As amostras de pelos dos animais GD18, G19, G115, CD67, CD68 e C55 foram considerados *outliers* multivariados (Figura 31).

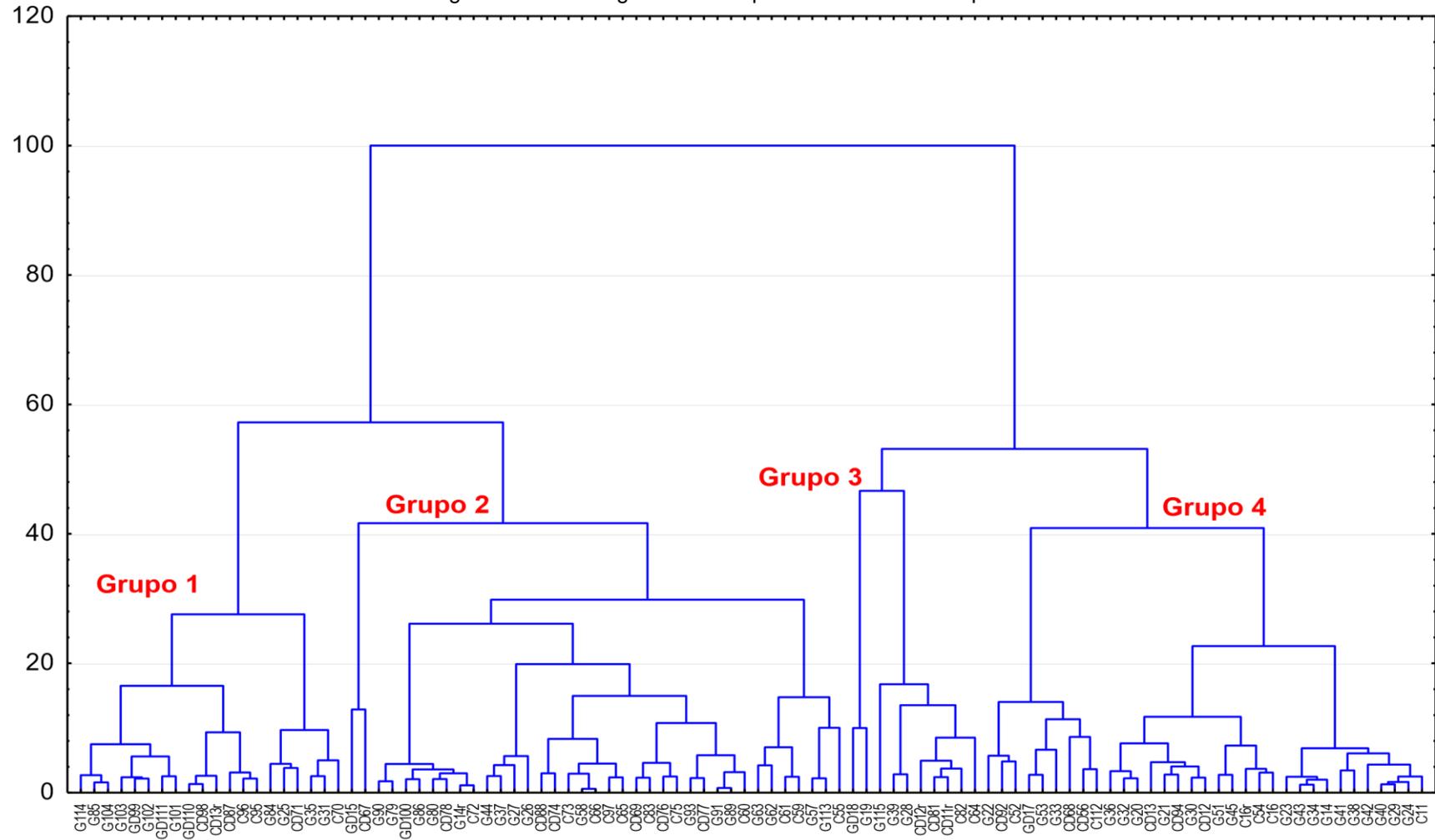
Figura 31 – Gráfico de dispersão para os valores das componentes principais 1 (CP1) e 2 (CP2).



Fonte: A autora (2022).

Para os valores das componentes principais, foi aplicada a análise de agrupamento para a seleção do dendrograma mais interessante para os resultados multivariados dos pelos dos animais (Figura 32).

Figura 32 - Dendrograma obtido para os resultados de pelos de animais



Fonte: A autora (2022).

Considerando as covariâncias dos dados, foram destacados os seguintes grupos no dendrograma obtido a partir do método de agrupamento City-Block Manhattan e cálculo de distância por método de Ward:

- Grupo 1: 20 animais, sendo 13 gatos e 7 cachorros; destes (20), 9 apresentaram histórico de doenças (24,32%).
- Grupo 2: 37 animais, sendo 20 gatos e 17 cachorros; destes (37), 14 apresentaram histórico de doenças (37,83%).
- Grupo 3: 10 animais, sendo 5 gatos e 5 cachorros; destes (10), 4 apresentaram histórico de doença (40,00%).
- Grupo 4: 33 animais, sendo 18 gatos e 14 cachorros; destes (33), 12 apresentaram histórico de doenças (36,36%).

Foram analisados (n=95) e as repetições (n=5), totalizando assim (n=100) amostras. Diferentemente dos resultados encontrados para análise por EDXRF e aplicação das ferramentas quimiométricas, a discriminação foi melhorada quando foram utilizadas as concentrações encontradas nos pelos dos animais, mesmo considerando os prováveis erros na categorização dos pelos dos animais.

5 CONCLUSÕES

- A metodologia para análise da matriz (pelos) foi implementada com sucesso, permitindo a caracterização química a partir da Espectrometria de Absorção Atômica com Chama - FAAS e com Forno de Grafite – GFAAS e Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma Acoplado Indutivamente – ICP-OES para Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb e Zn para matriz estudada, o que representa um avanço no uso da matriz para estudos com animais biossentinelas/biomonitores;
- A análise por EDXRF e as ferramentas quimiométricas aplicadas para agrupamento dos grupos de animais doentes e saudáveis não apresentou resultados muito satisfatórios, o que leva a considerar outras características dos pelos como fator preponderante para o agrupamento observado;
- Os elementos químicos mais importantes para a discriminação de pelos de animais saudáveis e doentes foram Cr e Cu;
- O elemento químico Fe foi o mais significativo para os tratamentos espécie, idade, município, sexo e alimentação, assim como Cr, para doença, espécie, município e alimentação;
- O local de moradia do tutor possui grande influência sobre a concentração de elementos químicos nos pelos. Com isso, dependendo do local e concentrações de elementos químicos encontrados, os animais podem sim estar mais suscetíveis a doenças;
- Os elementos químicos foram suficientes para a discriminação dos pelos das espécies estudadas, univariadamente;
- A alimentação também demonstrou ter grande influência sobre a concentração dos elementos químicos nos pelos;
- O uso da matriz pelo pode sim ser usada como um indicativo de contaminação, agregando nas investigações do caminhamento de elementos químicos nos ecossistemas;
- A matriz pelo pode servir como indicativo de saúde dependendo dos elementos químicos determinados, visto que alguns possuem grande

relevância para o sistema imunológico do animal, indicando, assim, uma suscetibilidade para desenvolvimento de doenças nesse animal;

- A associação entre suscetibilidade de animais domésticos em caso de pandemia e os funcionários de saúde os quais estão mais expostos é algo que precisa de mais atenção, pois a contaminação com elementos químicos destes animais pode ser, um fator, de maior facilidade;
- A continuação desse estudo é de grande importância para obter-se mais informações sobre essa suscetibilidade e quais doenças podem estar sendo refletidas nas concentrações de elementos químicos dos pelos dos animais domésticos.

REFERÊNCIAS

- ACOSTA, A. L.; XAVIER, F.; CHAVES, L. S. M.; SABINO, E. C.; SARAIVA, A. M.; SALLUM, M. A. M. Interfaces à transmissão e *spillover* do coronavírus entre florestas e cidades. **Estudos avançados**, v. 34, 191-208p., 2020.
- AFRI-MEHENNAOUI, F.; FARID-MOHAMED, K.; LEILA, S.; SAID, DEKHINAT.; SMAIL, M. Hair bovines as an indicator of lead, cadmium, zinc and copper exposure in the north- east of Algeria. **Conference on Environment & Natural Resources**. 19p., 2007.
- AHMED, Y. A.; ALI, S.; GHALLAB, A. Hair histology as a tool for forensic identification of some domestic animal species. *Excli J.* v. 17, 663-670p. 2018.
- AKHMETZHANOV, A. R; LINTON, N. M; NISHIURA, H. Rising evidence of COVID19 transmission potential to and between animals: do we need to be concerned?, **medRxiv**. 2020.
- ALI, N.; MALIK, R. N.; MEHDI, T.; EQANI, S. A. M. A. S.; JAVEED, A.; NEELS, H.; COVACI, A. Organohalogenated contaminants (OHCs) in the serum and hair of pet cats and dogs: Biosentinels of indoor pollution. **Science of the Total Environment**, v. 449, 29-36p., 2013.
- ALTINOK-YIPEL, F; YIPEL, M; TEKELI, Y. O. Health risk assessment of essential and toxic metals in canned/pouched food on kitten and adult cats: an animal health risk assessment adaptation assay. **Biological Trace Element Research**, v. 200, 1937-1948p., 2021.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO – **ABINPET** – Disponível em: <http://abinpet.org.br/infos_gerais/>. Acesso em: 21 de agosto de 2020.
- ASFORA, V. K. Fluorescência de Raios X por dispersão de energia aplicada à caracterização de tijolos de sítios históricos de Pernambuco. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) – Departamento de Energia Nuclear, Universidade Federal de Pernambuco, 105p., 2010.
- BACHUR, T. P. R; NEPOMUCENO, D. B., Doenças infecciosas e parasitárias no contexto brasileiro. Campina Grande: **Editora Ampila**, v.II, 410p., 2021.
- BACKER, L. C.; GRINDEM, C. B.; CORBETT, W. T.; CULLINS, L.; HUNTER, J. L. Pet dogs as sentinels for environmental contamination. **Science of The Total Environment**, v. 274, n. 1-3, 161-169p., 2001.
- BADEA, E; GORAN, G. V; CRIVINEANU, V. Aluminium levels in cats and dogs. Scientific Works. Series C. **Veterinary medicine**, v. 65, 21-23p., 2019.

BADEA, E.; GORAN, G. V.; TOCA, C.; CRIVINEANU, V. Assessment of heavy metal and mineral levels in hair samples from dogs with mammary neoplasms. **Bulletin of University of Agricultural Sciences And Veterinary Medicine Cluj-Napoca, Food Science and Technology**, v. 75, n. 1, 1p., 2018.

BADER, N. Sample preparation for Flame Atomic Absorption Spectroscopy: An overview. **Rasayan Journal of Chemistry**. v. 4, 49-55p., 2011.

BERTONE, E. R; SNYDER, L. A; MOORE, A. S., Environmental tobacco smoke and risk of malignant lymphoma in pet cats. **American Journal of Epidemiology**, v. 156, 268-273 p., 2002.

BETTS, K. PBDEs, cats, and children. **Environmental Science & Technology**, v. 18, 6319-6320p., 2007.

BRIZENO, M. C; SILVA, E. C; BASSOLI, A. C. D. G. O problema de saúde pública da esporotricose felina no estado de Pernambuco, Brasil: Uma revisão narrativa. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, 93845-93855 p., 2020.

BORZÉE, A.; MCNEELY, J.; MAGELLAN K.; MILLER, J. R. B.; PORTER, L.; DUTTA, T.; KADINJAPPALLI, K. P.; SHARMA, S.; SHAHABUDDIN, G.; APRILINAYATI, F.; RYAN, E. G.; HUGLES, A.; MUTALIB, A. H. A.; WAHAB, A. Z. A.; BISTA, D.; CHAVANICH, S. A.; CHONG, J. L.; GALE, A. G.; GHSFFARI, H.; GHIMIREY, Y.; JAYARAJ, V. K.; KHATIWADA, A. P.; KHATIWADA, M.; KRISHNA, M.; LWIN, N.; PAUDEL, P. K.; SADYKOVA, C.; SANINI, T.; SHERESTHA, B. B.; STRINE, C. T.; SUTTHACHEEP, M.; WONG, E. P.; YEEMIN, T.; ZAHIRUDIN, N. Z.; ZHANG, L. COVID-19 highlights the need for more effective wildlife trade legislation. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 35. 1052-1055p., 2020.

BURREL, A; SEIBERT, F. M. Experiments with small animals and carbon monoxide. **The Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 6, 241-244p., 1914.

CALDERON, J.; ORTIZ-PÉREZ, D.; YAÑEZ, L.; DÍAZ-BARRIGA, F. Human exposure to metals. Pathways of exposure, biomarkers of effect, and host factors. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 56, 93-103p., 2003.

CALVO, M. S; URIBARRI, J., Public health impact of dietary phosphorus excess on bone and cardiovascular health in the general population. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 98, 6-15 p., 2013.

CAMPBELL, J.D., Hair analysis: A diagnostic tool for measuring mineral status in humans. **Journal of Orthomolecular Psychiatry**, v. 14, 275-280p., 1985.

CASTRO, C, S. P.; ARRUDA, A. F.; CUNHA, L. R.; SOUZADE, J. R.; BRAGA, J. W. B.; DÓREA, J. G. Toxic metals (Pb and Cd) and their respective antagonists (Ca and Zn) in infant formulas and milk marketed in Brasilia, Brazil. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 7, 4062-4077 p.,2010.

CHAMONE, C. M. K. Principais deficiências nutricionais em gatos: Revisão de literatura. **Monografia** (Especialização em Medicina de Felinos) – Centro de Estudos

Superiores de Maceió, Fundação Educacional Jayme de Altavila. São Paulo, 39p., 2013.

CHOI, Y. H.; HONG, C. K.; PARK, G. Y.; KIM, C. K.; KIM, J. H.; JUNG, K.; KWON, J. K. A Nondestructive approach for discrimination of the origin of sesame seeds using ED-XRF and NIR spectrometry with chemometrics. **Food Science and Biotechnology**, v. 25, 433–438p., 2016.

CRUVINEL, W. M.; MESQUITA JUNIOR, D.; ARAÚLO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T. SOUZA, A. W. S.; SILVA, N. P.; ANDRADE, L. E. C. Sistema humanitário – Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 50, 434-461p., 2010.

CRUZ, J. B. F.; SOARES, H. F. Uma revisão sobre o zinco. **ensaios e ciência ciências biológicas, agrárias e da saúde**. v. 15, 208-222p., 2011.

CDC CENTERS OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Internet. 2022. Disponível em: <https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/onehealth/one-healthsarscov2-inanimals>. Acesso em 6 de setembro de 2022.

DEEDRICK, D. W.; KOCK, S. L. Microscopy of hair part II: A practical guide and manual for animal hairs. **Forensic Science Communications**, v. 6, 32p., 2004.

DONCEL, B.; PUENTES, J. D.; CAFFARENA, R. D.; RIET-CORREA, F.; COSTA, R. A.; GIANNITTI, F. Hypomagnesemia in beef cattle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.41, 11p., 2021.

DUNNETT, M.; LESS, P. Trace element, toxin and drug elimination in hair with particular reference to the horse. **Research in Veterinary Science**, v. 75, 891-910p., 2003.

ELIAS, C. Qualidade nutricional de rações para cães: influência de Zn na absorção de Cu e na prevenção de doença hepática. **Tese** (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo – USP, Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA. 141p., 2015.

ELLISON, S. L. R.; WILLIAMS, A. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3ª edição. Teddington, Reino Unido, **Eurachem/CITAC**, 141p., 2012.

ENFSI EUROPEAN NETWORK OF FORENSIC SCIENCE INSTITUTES – **Best practice manual for the microscopic examination and comparison of human and animal hair**. 64p., 2015. Disponível em: <https://enfsi.eu/about-enfsi/structure/workinggroups/documents-page/documents/best-practice-manuals/>. Acesso: 6 de setembro 2022.

ESPOSITO, M.; ROMA, A.; MAGLIO, P.; SANSONE, D.; PICAZIO, G.; BINCO, R.; MARTINIS, C.; ROSATO, G.; BALDI, L.; GALLO, PASQUALE. Heavy metals in organs of stray dogs and cats from the city of Naples and its surroundings (Southern Italy). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, 3473– 3478p., 2018.

ESTEBAN, M; CASTAÑO, A. Non-invasive matrices in human biomonitoring: A review. **Environmental Toxicology**, v 35, 438-49p., 2009.

FAIRBROTHER, A; SMITS, J; GRASMAN, K. A. Avian immunotoxicology. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 7, 105-137p., 2004.

FALCÃO, E. M. M.; FILHO, J. B. L.; CAMPOS, D. P.; VALLE, A. C. F.; BASTOS, F. I.; GUTIERREZ-GALHARDO, M. C.; FREITAS, D. F. S. Hospitalizações e óbitos relacionados à esporotricose no Brasil (1992-2015). **Cadernos de Saúde Pública**, v. 35, 1-7 p., 2019.

FELDBAUM, P. A. Determinação de terras raras em material geológico por ICP-OES. **Dissertação** (mestrado em Química) – Instituto de Química da Universidade de São Paulo, 81p., 2019.

FRANZLE, S.; MARKET, B. The Biological System of the Elements (BSE). Part II: a theoretical model for establishing the essentiality of chemical elements. The application of stoichiometric network analysis to the biological system of the elements. **Science of The Total Environment**, v. 249, 223-241p., 2000.

GARLIPP, A. B.; SOUZA NETO, J. A.; VALENÇA, L. M. M.; MANSO, V. A. V. Variabilidade histórica de elementos maiores e traços em sedimentos estuarinos sob influência da carcinicultura: O sistema estuarino Goiana-Megaó, Pernambuco, Brasil. **Estudos Geológicos**, v. 20, 3-18p., 2010.

GHIMIRE, P. R; MAREDA, M. K; WILKINS, J. M. Virtual training for managing emerging zoonotic diseases including COVID-19. **Journal of International Agricultural and Extension Education**, v. 29, 57-75p., 2022.

GUO, H.; LIU, H.; JIAN, Z.; CUI, H.; FANG, J.; ZUO, Z.; DENG, J.; LI, Y.; WANG, X.; ZHAO, L.; HE, R.; TANG, H. Immunotoxicity of nickel: Pathological and toxicological effects. **Ecotoxicology and Environmental Safety**. v. 203, 1-10p., 2020.

HAASE, H.; RINK, L. The immune system and the impact of zinc during aging. **Immunity & Ageing**, v.6, 1-17p., 2009.

HARADA, M. The global lessons of minamata disease: an introduction to minamata studies. **Taking life and death seriously - Bioethics from Japan**, v.8, 299-335p., 2005.

HELIOTERIO, M. C.; LOPES, F. Q. R. S.; SOUSA, C. C.; SOUZA, F. O.; PINHO, P. S.; SOUSA, F. N. F.; ARAUJO, T. M. COVID-19: Por que a proteção de trabalhadores e trabalhadoras da saúde é prioritária no combate à pandemia? **Trabalho, Educação e Saúde**, v.18, 13p., 2020.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY – IAEA. Health-related Monitoring of Trace Element Pollutants Using Nuclear Techniques (Results of Co-ordinated Research Programmes), IAEA-TECDOC-330, **IAEA**, Vienna (1985)

JACKSON FILHO, J. M.; ASSUNÇÃO, A. A.; ALGRANTI, E.; GARCIA, E. G.; SAITO, C. A.; MAENO, M. A saúde do trabalhador e o enfrentamento da COVID-19. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 45, 1-3p., 2020.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. Applied multivariate statistical analysis. **Pearson Education**, v. 6, 808p., 2007.

JOHNSON, V. J.; GERMOLEC, D.R.; LUEBKE, R.W.; LUSTER, M.I. Immunotoxicity studies. **Reference Module in Biomedical Sciences**, v. 3, 255-270p., 2017.

JONES, K. E.; PATEL, N. G.; LEVY, M. A.; STOREYGARD, A.; BALK, D.; GITTLEMAN, J. L.; DASZAK, P. Global trends in emerging infectious diseases. **Nature**, v. 451, 990-994p., 2008.

KABATA-PENDIAS, A. Trace elements in soils and plants. 4 ed. New York, NY, **CRC Press**, 548p., 2010.

KARTHIKRAJ, R; LEE, S; KANNAN, K. Biomonitoring of exposure to bisphenols, benzophenones, triclosan, and triclocarban in pet dogs and cats. **Environmental Research**, v. 180, 108821p., 2020.

KLEIN, C.; AGNE, A. A. Fósforo: de nutriente à poluente! **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 8, 1713-1721p., 2013.

LACOMA, A.; MATEO, L.; BLANCO, I.; MÉNDEZ, M. J.; RODRIGO, C.; LATORRE, I.; VILLAR-HERNANDEZ, R.; DOMINGUEZ, J.; PRAT, C. Impact of host genetics and biological response modifiers on respiratory tract infections. **Frontiers in Immunology**, v. 10, 1-9p., 2019.

LEPRI, F. G. Espectrometria de absorção atômica de alta resolução com fonte contínua como ferramenta analítica para o desenvolvimento de método para determinação de níquel e vanádio por espectrometria de absorção atômica em forno de grafite em amostras de óleo cru. **Dissertação** (Pós-Graduação em Química). Universidade Federal de Santa Catarina. 91p., 2005.

LI, G.; FAN, Y.; LAI, Y.; HAN, T.; LI, Z.; ZHOU, P.; PAN, P.; WANG, W.; HU, D.; LIU, X.; ZHAND, Q.; WU, J. Coronavirus infections and immune responses. **Journal of Medical Virology**. v. 92, 424-432p., 2020.

LI, L.; YANG, X. The essential element manganese, oxidative stress, and metabolic diseases: links and interactions. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2018, 1-11p., 2018.

LIRA, M. C. C. Análise ambiental e humana do assentamento rural de Natuba em Vitória de Santo Antão, Pernambuco. **Tese** (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal de Pernambuco, 121p., 2017.

LIRA, M. B. G. Aplicabilidade da vegetação e solos de praças e parques para a monitoração de qualidade ambiental: Elementos químicos tóxicos e radionuclídeos.

Dissertação (Mestrado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) – Departamento de Energia Nuclear. Universidade Federal de Pernambuco. 178p., 2020.

MACÊDO, E. M. C.; AMORIM, M. A. F.; SILVA, A. C. S.; CASTRO, C. M. M. B. Efeitos da deficiência de cobre, zinco e magnésio sobre o sistema imune de crianças com desnutrição grave. **Revista Paulista de Pediatria** v. 28, 329-336p., 2010.

MARKERT, B. A.; BREURE, A. M.; ZECHMEISTER, H. G. Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. Editor(s): B.A. Markert, A.M. Breure, H.G. Zechmeister. In: Bioindicadores e biomonitores. **Trace metals and other contaminants in the environment**. v.6, 3-39p., 2003.

MAGALHÃES, R. L. M. Concentrações naturais de elementos químicos da classe insecta do fragmento florestal de mata atlântica reserva Charles Darwin.
Dissertação (Mestrado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) Departamento de Energia Nuclear. Universidade Federal de Pernambuco. 95p., 2015.

MAGNUSSON, U.; PERSSON, S. Endocrine disruptors in domestic animal reproduction: a clinical issue? **Reproduction in Domestic Animals**, v. 50, 15-19p., 2015.

MAKOWSKA, K.; MARTÍN, J.; RYCHLIK, A.; APARICIO, I.; SANTOS, J. L.; ALONSO, E.; GONKOWSKI, S. Biomonitoring parabens in dogs using fur sample analysis – Preliminary studies. **Science of the Total Environment**, v. 807, 150757p., 2022.

MATTOS, J. C. P. Determinação de elementos-traço em amostras de nitreto de alumínio e nitreto de silício por análise direta de amostras sólidas em Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite. **Tese** (Doutorado em química) Universidade Federal de Santa Maria. 94p., 2008.

MÉLO, J. T. B. Moluscos terrestres *Littoraria angulifera* e *melampus coffea* como biomonitores da qualidade ambiental de manguezais pernambucanos. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) – Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Energia Nuclear, 81p., 2014.

MILLER, E. R. Mineral x disease interactions. **Journal of Animal Science**. v.60, 1500-1507p.,1985.

MIRANDA, J. B. Evolução geoquímica e ambiental dos sedimentos médio-estuarinos do rio Goiana-Pernambuco, nos três últimos séculos. **Tese** (Doutorado em Geociências) – Universidade Federal de Pernambuco – Centro de Tecnologia e Geociências, 154p., 2016.

MIROSHNIKOV, S.; ZAVYALOV, O.A.; FROLOV, A. N.; BOLODURINA, I. P.; KALASHNIKOV, V. V.; GRABEKLI, A. R.; TINKOV, A. A.; SKALNY, A. V. The Reference Intervals of Hair Trace Element Content in Hereford Cows and Heifers (Bos taurus). **Biol Trace Elem Res**. v.180, 56-62p. 2017.

NASCIMENTO FILHO, V. F. Técnicas analíticas nucleares de Fluorescência de Raios-X por Dispersão de Energia (EDXRF) e Reflexão Total (TXRF). **Centro de Energia Nuclear na Agricultura/CENA-USP**, Piracicaba, 32p., 1999.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (US) Committee on Animals as Monitors of Environmental Hazards. Animals as sentinels of environmental health hazards. Washington, **The National Academies Press**, 173p., 1991.

NEWMAN, M. C. **Fundamentals of Ecotoxicology**. 3 ed. New York, NY, CRC Press, 541p., 2010.

NÓBREGA, B. G. Estudo retrospectivo de Demodicose e Escabiose em cães atendidos no Hospital Veterinário de Areia - PB, Campus II – UFPB. **Trabalho de Conclusão de Curso** (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal da Paraíba - Centro de Ciências Agrárias, 33p., 2018.

PANDEY, G. **Heavy metal toxicity in domestic animal**. 2013 *E-book*. 108p. Disponível em: http://www.isca.co.in/ANI_VAT_AND_FISHRY/ani-vat-and-fishry-lab-manual.php. Acesso em: 07 de setembro 2022.

PASTORINHO, M.; R; SOUSA, A. C. A. **Pets as Sentinels, Forecasters and Promoters of Human Health**. Portugal. 2020. E-book: 297p. DOI 10.1007/978-3030-30734-9. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-03030734-9>. Acesso em: 30 de agosto 2022.

PEDRINELLI, V.; ZAFALON, R. V. A.; RODRIGUES, R. B. A.; PERINI, M. P.; CONTI, R. M. C.; VENDRAMINI, T. H. A.; BALIEIRO, J. C. C.; BRUNETTO, M. A. Concentrations of macronutrients, minerals and heavy metals in home-prepared diets for adult dogs and cats. **Scientific Reports Nature Research**, v. 9, 12p., 2019.

POLLOCK, C. The canary in the coal mine. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 30, 386–391p., 2016.

PRIYADARSHINI, P. A.; ABHILASHA, J.; HARSHITHA, J.; MADHUSHREE, P.; POOJA, Y.; SPANDANAHERLE, A. L.; VAISHNAVI, R. Qualitative assesment of heavy metals in Bengaluru city air pollution: Using few bioindicators. **International Journal of Pure and Applied Researches**, v. 1, 1-4p., 2018.

PROJAHN, H. D.; STEEG, U.; SANDERS, J.; VANCLAY, E. Application of the reference-element technique for fast sequential flame atomic-absorption spectrometry. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, v. 378, 1083–1087p., 2004.

RABINOWITZ, P. M.; GORDON, Z.; HOLMES, R.; TAYLOR, B.; WILCOX, M.; CHUDNOV, D.; NADKARNI, P.; DEIN, F. J. Animals as sentinels of human environmental health hazards: an evidence-based analysis. **EcoHealth**, v. 2, 2637p., 2005.

RASHED, M. N; SOLTAN, M. E. Animal hair as biological indicator for heavy metal pollution in urban and rural areas. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 110, 41-53p., 2005.

REYNAUD, S.; DESCHAUX, P. The effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on the immune system of fish: a review. **Aquatic Toxicology**, v. 77, 229-238p., 2006.

ROCHA, P. H.; TRINDADE, H.; NEVES, R. P. A.; ROMÃO, E. F.; LIMA, L. COVID-19: A geographic reflection about pathological differentiations. In SciELO Preprints. 2020. Disponível em: <https://preprints.scielo.org/index.php/scielo/preprint/view/761>. Acesso em: 23 jun. 2024.

ROCHA, R. C. C. Desenvolvimento de método para determinação de elementos tóxicos e essenciais em pelo canino por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado. **Dissertação** (Mestrado em Química) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, 81p., 2021.

ROCHA, R. P. S.; OLIVEIRA, J. L. C.; CARVALHO, A. R. S.; MATOS, B. A. B.; MUFATO, L. F.; RIBEIRO, A. C.; SILVA, G. K. T. Características de profissionais de saúde acometidos por Covid-19: revisão integrativa da literatura. **Saúde em Debate**, v. 45, 871-884p., 2021.

SANTOS, E. S.; GAMA, E. M.; FRANÇA, R. S.; SOUZA, A. S.; MATOS, R. P. Espectrometria de fluorescência de Raios-X na determinação de espécies químicas. **Centro Científico Conhecer**, v. 9, 3413-3432p., 2013.

SANTOS, K. M. B. Pressão ambiental sobre *Littoraria Angulifera*: Acumulação de elementos químicos e mutagenicidade associadas a alterações histológicas. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologias Energéticas e Nucleares) – Universidade Federal de Pernambuco – Departamento de Energia Nuclear, 101p., 2016.

SANTOS, L. M.; MACHADO, J. A. C.; NEVES, M. F. Demodicose canina: Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 3, 1-5p., 2009.

SCHUBACH, T. M. P.; MENEZES, R. C.; WANKE, B. Sporotrichosis. In: GREENE, C. E. Infectious diseases of the dog and cat, 4. ed. Philadelphia: **Saunders Elsevier**, p. 645-650, 2012.

SENTHILKUMAR, S.; GNANADEVI, R.; KANNAN, T. A.; ARUNAMAN, C. S.; RAMESH, G. Microanatomical observations of hair in domestic animals: A comparative study. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 6, 1925-1929p., 2018.

SENBAYRAM, M.; GRANSEE, A.; WAHLE, V.; THIEL, H. Role of magnesium fertilisers in agriculture: plant–soil continuum. **Crop & Pasture Science**, v. 66, 1219–1229p., 2015.

SERPE, F. P.; RUSSO, R.; DE SIMONE, A.; FLORIO, S.; ESPOSITO, M.; SEVERINO, L. Levels of heavy metals in liver and kidney of dogs from urban environment. **Open Veterinary Journal**, vol. 2, 15-18p., 2012.

SILVA, J. D., MELO, D. H. M.; COSTA, J. A. G.; COSTA, D. F.; SILVA, R. B. S.; MELO, M. A.; AZEVEDO, S. S.; ALVES, C. J. Leishmaniose visceral em cães de assentamentos rurais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, 1292-1298p., 2017.

- SILVA, J. P. S. Elementos essenciais e tóxicos em solos, produtos agrícolas e urina de agricultores em sistemas agroecológicos. **Tese** (Doutorado em Ciências do Solo) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, 122p., 2015.
- SILVA, L. S.; MACHADO, E. L.; OLIVEIRA, H. N.; RIBEIRO, A. P. Condições de trabalho e falta de informações sobre o impacto da COVID-19 entre trabalhadores da saúde. **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 45, 1-8p., 2020.
- SILVA, M. T. F.; PINHO, J. C. P.; COSTA, S. B.; VIEIRA, V. R.; OLIVEIRA, W. A. **SARS-CoV-2 e os animais de companhia**. Brasília. 2021. Nota Técnica. 24p. **EPIRIDE**. Disponível em: <https://proepi.org.br/download/animais-companhia-covid-sds/>. Acesso: 15 de julho de 2022.
- SILVA, T. N. Desenvolvimento de métodos analíticos para a determinação de elementos-traço em tintas anti-incrustantes por ICP-OES e LA-ICP-MS. **Dissertação** (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 106p., 2020.
- SKAAR, E. P.; RAFFATELLU, M. Metals in infectious diseases and nutritional immunity. **Metallomics**. v. 7, 926-928p., 2015.
- SNEDDON, J.; VINCENT, D. M. ICP-OES e ICP-MS para a Determinação de Metais: Aplicação a Ostras. **Cartas Analíticas**, v. 41, 1291-1303p. 2008.
- SOUSA, A. C. A.; TEIXEIRA, I. S. S.; MARQUES, B.; VILHENA, H.; VIEIRA, L.; SOARES, A. M. V. M.; NOGUEIRA, A. J. A.; LILLEBO, A. I. Mercury, pets' and hair: baseline survey of a priority environmental pollutant using a noninvasive matrix in man's best friend. **Ecotoxicology**, v. 22, 1435–1442p., 2013.
- SOUZA, C. C. Elementos traço na leishmaniose visceral canina: correlações com aspectos clínicos, histopatológicos e estresse oxidativo. **Tese** (Doutorado em Patologia Geral) – Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, 135p., 2013.
- STATSOFT. Statistica 7.0 Tulsa: Statsoft, 2004.
- STOUT, A. E.; ANDRÉ, N. M.; JAIMES, J. A.; MILLET, J. K.; WHITTAKER, G. R. Coronaviruses in cats and other companion animals: Where does SARS-CoV2/COVID-19 fit? **Veterinary Microbiology**, v. 247, 108777p., 2020.
- STRAZZULLO, P; LECLERCQ. C. Sodium. **Advances in Nutrition**, v. 5, 188–190p., 2014.
- STRUMINSKA-PARULSKA D. I.; SZYMANSKA K.; SKWARZEC B. Determination of ²¹⁰Po in hair of domestic animals from Poland and Norway. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 306, 71-78p., 2015.

TAY, M. Z.; POH, C. M.; RÉNIA, L.; MACARY, P. A.; NG, L. F. P. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. **Nature Reviews Immunology**, v. 20, 363-374p., 2020.

TEXEIRA, C. F. S.; SOARES, C. M.; SOUZA, E. A.; LISBOA, E. S.; PINTO, I. C. M.; ANDRADE, L. R.; ESPIRIDIANO, M. A. A saúde dos profissionais de saúde no enfrentamento da pandemia de Covid- 19. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 25, 34653474p., 2020.

TIZARD, I. R. **Imunologia Veterinária**. 9º ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 1217p., 2014.

TOBIN, D.J. Anatomy and physiology of the hair follicle. In: Hair loss disorders in domestic animals. 1 ed. USA: **Wiley-Blackwell**, 17-42p., 2009.

TOMZA-MARCINIAK, A.; PILARCZYK, B.; BAKOWSKA, M.; LIGOCKI, M.; GAIK, M. Lead, cadmium and other metals in serum of pet dogs from an urban area of NW Poland. **Biological Trace Element Research**, v. 149, 345-351p., 2012.

UMBELINO, D. C; ROSSI, E. A. Deficiência de ferro: consequências biológicas e propostas de prevenção. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.7, 103-112p., 2006.

VEDOVATO, T. G.; ANDRADE, C. B.; SANTOS, D. L.; BITENCOURT, S. M.; ALMEIDA, L. P.; SAMPAIO, J. F. S. Trabalhadores(as) da saúde e a COVID-19: condições de trabalho à deriva? **Revista Brasileira de Saúde Ocupacional**, v. 46, 15p., 2021.

VERMEULEN, F.; D'HAVÉ, H.; MUBIANA, V. K.; VAN DEN BRINK, N. W.; BLUST, R.; BERVOETS, L.; DE COEN, W. Relevance of hair and spines of the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) as biomonitoring tissues for arsenic and metals in relation to blood. **Science of the Total Environment**, v. 407, 1775–1783p., 2009.

VERALDI, A.; COSTANTINI, A. S.; BOLEJACK, V.; MILIGI, L.; VINEIS, P.; LOVEREN, H. V. Immunotoxic effects of chemicals: a matrix for occupational and environmental epidemiological studies. **American Journal of Industrial Medicine**, v. 49, 1046-1055p., 2006.

WATLY, J.; POTOCKI, S.; ROWINSKA-ZYREK, M. Zinc homeostasis at the bacteria/host interface-from coordination chemistry to nutritional immunity. **Chemistry - A European Journal**, v. 22, 1-20p., 2016.

WINTERGERST, E. S.; MAGGINI, S.; HORNIG, D. H. Immune-enhancing role of vitamin c and zinc and effect on clinical conditions. **Annals of nutrition and Metabolismo**, v. 50, 85-94p., 2006.

WINTERGERST, E. S.; MAGGINI, S.; HORNIG, D. H. Contribution of selected vitamins and trace elements to immune function. **Annals of Nutrition and Metabolism**, v. 51, 301-323p., 2007.

WOŁOWIEC, P.; MICHALAK, I.; CHOJNACKA, K.; MIKULEWICZ, M. Hair analysis in health assessment. **Clínica Chimica Acta**, v. 419, 139–171p., 2013.

ZAFALON, R. V. A. Determinação de metais pesados em ingredientes e alimentos comerciais para cães e gatos. **Dissertação** (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) Universidade de São Paulo, 139p., 2020.

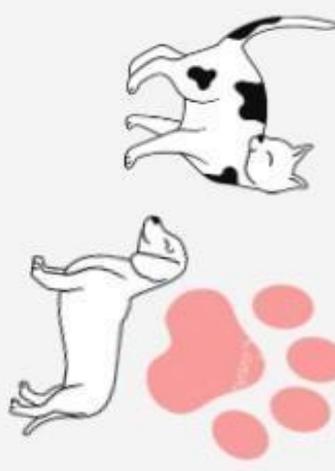
APÊNDICE A – FOLDER DE DIVULGAÇÃO DO TRABALHO



QUEM SOMOS?

Olá, fazemos parte do
Laboratório Emergencial de
Combate ao COVID-19 -
LECC/CRCN-NE. Estamos
realizando um estudo sobre a
susceptibilidade de infecção por
SARS-COV-2 em animais
domésticos para entender quais
fatores podem contribuir para
essa infecção.

DADOS DE CONTATO:
leccacnen.gov.br

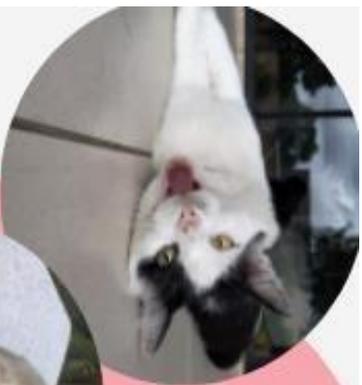



Estamos realizando um
estudo sobre a
susceptibilidade de infecção
por SARS-COV-2
em animais domésticos

**VOCÊ É TRABALHADOR DA
SAÚDE? TEM ANIMAIS
DOMÉSTICOS?**

**PRECISAMOS DA
SUA AJUDA!**
SEJA UM VOLUNTÁRIO





COVID-19 E PROFISSIONAIS DE SAÚDE

Algumas pessoas estão mais expostas como é o caso de vocês, profissionais de saúde, que estão atuando diretamente no atendimento às pessoas infectadas pelo COVID-19.



Você é profissional de saúde?

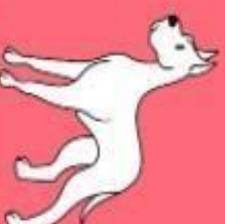
*Precisamos da
sua ajuda!*

SEJA UM VOLUNTÁRIO!

Essa é uma pesquisa não invasiva!
Não há grande estresse para o animal
(nem para o tutor!)

COMO AJUDAR?

ENTRE EM CONTATO PARA
AGENDAR A COLETA DA AMOSTRA
DE PÊLO DO SEU ANIMALZINHO:
lececehen.gov.br



Animais domésticos no Brasil

O Brasil tem a segunda maior população de cães e gatos em todo o mundo e é o terceiro maior país em população total de animais de estimação (ABINPET 2018).

SARS-COV-2 x Animais Domésticos

Uma nova rota de transmissão têm sido identificada em vários locais do mundo e trata-se da contaminação (Humano - Animais domésticos).

Ainda são poucos os casos registrados de infecção por SARS-COV-2 em animais domésticos, porém toda o cuidado é pouco.



APÊNDICE B – DEFINIÇÃO DA METODOLOGIA PARA AMOSTRAGEM DE PELOS COM RELAÇÃO A ELEMENTOS QUÍMICOS



RELATÓRIO PARCIAL – INICIAÇÃO CIENTÍFICA

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS PARA ANÁLISE QUÍMICA DE PELOS DE ANIMAIS POR ESPECTROMETRIA DE ABSORÇÃO ATÔMICA

RAUANNA CRYSTAL CARVALHO DOS SANTOS

Prof. Dr. ELVIS JOACIR DE FRANÇA

Laboratório Emergencial de Combate a COVID-19 - LECC/CRCN-NE

Período: Agosto/2021 a Janeiro/2022

INTRODUÇÃO

A escolha de uma técnica analítica para a determinação de elementos químicos em uma matriz biológica depende de fatores como a natureza da amostra, tipo de investigação, facilidade de coleta, faixa de concentração e as considerações analíticas. Amostras biológicas como sangue, urina, cabelo, saliva, suor e meconium podem ser consideradas para a realização destas análises químicas (BORDIN et al., 2015). A Espectrometria de Absorção Atômica (AAS - *Atomic Absorption Spectrometry*) é um dos métodos analíticos mais utilizados na determinação de elementos traços, que estão presentes em amostras, sejam estas líquidas, sólidas, em suspensão, e até mesmo gasosas (AMORIM et al, 2008).

Para o funcionamento dos organismos vivos, os elementos químicos são muito importantes principalmente os metálicos. Entretanto, seu excesso ou a falta pode

ocasionar algum tipo de patologia (BRAIT, 2009). Elementos químicos tais como Cd, Pb e Cr⁴⁺ são muito tóxicos mesmo em baixas concentrações quando comparados com outros como Fe, Zn, Mn e Co que, em geral, compõem a estrutura dos seres vivos (RASHED; SOLTAM, 2005).

De acordo com Ali et al. (2013), os animais domésticos são considerados biossentinelas da exposição humana a contaminantes ambientais por compartilharem um ambiente de vida em comum. Estudos realizado por Magnusson e Persson (2015) examinaram a associação entre exposição química e doenças em animais de estimação. Desta forma, é de suma importância o biomonitoração destes elementos, tornando-se emergencial o controle de suas concentrações no ambiente e nos seres vivos.

Ashurbekov (1989) afirma que pelos de animais constituem um indicador ambiental melhor que o cabelo humano porque estão expostos a contaminações do solo e alimentos. Estes refletem o acúmulo de concentração dos elementos de interesse através de meses ou anos e por isso representam um processo longo de exposição (RAY et al., 1997). Pontos existentes mais controversos do processo de análise de cabelos humanos e pelos de animais, citados por Bencze (1990), são as várias fases da preparação da amostra, especialmente procedimentos de lavagem.

De acordo com Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação – ABINPET, o Brasil tem a segunda maior população de cães e gatos em todo o mundo e é o terceiro maior país em população total de animais de estimação, o que torna a quantificação de elementos químicos em matrizes não invasivas como pelos, uma ótima alternativa para a avaliação da saúde dos animais. Nesse sentido, o desenvolvimento de metodologias para análise química de pelos de animais tornase essencial para aumentar o conhecimento sobre a exposição dos animais domésticos (mamíferos) a elementos traços.

OBJETIVOS

A presente pesquisa teve como objetivo desenvolver metodologia aplicável para a análise de elementos traços em matriz não invasiva, pelos de animais domésticos pela técnica de Espectrometria de Absorção Atômica.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Testar metodologias para análise química de matriz não invasiva (pelos);
- Verificar a presença dos elementos químicos Cu, Cr, Fe, V e Zn nos pelos por meio da Espectrometria de Absorção Atômica com Chama - FAAS e Forno de Grafite - GFAAS;

ATIVIDADES REALIZADAS

Em resumo, foram realizadas as coletas, preparação e análises das amostras de pelos, utilizando as técnicas analíticas de Espectrofotometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite – GFAAS, e Espectrometria de Absorção Atômica com Chama - FAAS. As técnicas foram aplicadas para a determinação das concentrações dos analitos Cr, Cu, Fe, V e Zn no Laboratório Emergencial de Combate a COVID-19 (LECC) do CRCN-NE.

3.1 Coleta das amostras

Com o auxílio da tesoura de titânio coletou-se 1-2 g de pelos de 2 gatas (fêmeas castradas com idade entre 5 e 10 anos) nas patas, dorso e ventre, totalizando seis amostras-teste (n = 6). As amostras de pelos coletados foram armazenadas em tubos Falcon e transportadas para o LECC/CRCN-NE. Para a análise, as porções de pelos recolhidos foram lavadas, cortadas em fragmentos menores com tesoura de titânio e acondicionada novamente em tubos falcon de 50 mL. Esse trabalho possui aprovação pelo Comitê de Ética de Uso Animal – CEUA/UFPE, processo número 0077/2020.

3.1 Preparação das amostras

Para a análise, as porções de pelos coletados foram lavados e após colocadas em tubos falcon de 50 mL, a fim de remover qualquer contaminação. A lavagem foi realizada com auxílio de 15 ml de acetona e passadas na centrífuga modelo QUIMIS® com rotação de 1500 rpm por três vezes, seguida da lavagem com água ultrapura (Milli-

Q). Posteriormente à lavagem, as amostras de pelos foram secas em estufa de circulação forçada à 40 °C até atingirem os pesos constantes. Porções-teste de 0,1 g foram pesadas em balança analítica com precisão de 0,000001 g para serem tratadas quimicamente e seguir para análise. Branco analítico, contendo somente os reagentes, também foi analisado com as amostras.

3.2 Tratamento químico

Para realização das análises químicas, amostras de pelos passaram tratamento químico com o auxílio de um banho de ultrassom (Elmasonic P 30 H). Também foi adicionado peróxido de hidrogênio – H₂O₂ para ajudar na decomposição da matéria orgânica. Em todas as etapas de tratamento das amostras, foram utilizados ácidos ultrapuros e água padrão Milli-Q. O ácido nítrico usado para o tratamento químico foi destilado para reduzir o risco de contaminação. As pesagens dos pelos foram feitas em balança analítica com precisão de 0,00001 g. Os materiais utilizados, como vidrarias e frascos de plásticos para armazenar as soluções, foram descontaminados por imersão em solução detergente de Extran alcalino a 5% por 8 horas. Posteriormente, os frascos foram enxaguados com água abundante, e imersos em solução de ácido nítrico 10% por 12 horas; enxaguados novamente com água ultrapura e secos em capela de fluxo laminar.

O tratamento químico foi adaptado a partir do trabalho de Lira (2017) que teve como embasamento a metodologia do tratamento químico adaptado a partir do LCA - Universidade de Aveiro (2014) para amostras de tecidos animais. Nesse caso, o banho de ultrassom foi utilizado no tratamento químico para otimizar o processo de decomposição das amostras que consistiu em:

- Adição de 4 ml de HNO₃ p.a. ultrapuro (~65%) destilado para cada 100 mg de amostra já acondicionada em tubos falcon;
- Repouso durante 24 horas em capela de fluxo laminar;
- Movimentação da solução para evitar a adesão das partículas às paredes do tubo;
- Seguindo para o aquecimento no banho de ultrassom até 80°C. As amostras permaneceram durante 1 hora no banho de ultrassom;

- Repouso em capela de fluxo laminar até atingir o equilíbrio térmico a temperatura ambiente;
- Primeira adição de 0,2 ml de peróxido de hidrogênio para cada 100 mg de amostra e aquecimento no banho de ultrassom até 80°C por 1 hora;
- Segunda adição de 0,2 ml de peróxido de hidrogênio para cada 100 mg de amostra e, em seguida, aquecimento em banho de ultrassom por 1 hora;
- Repouso em capela de fluxo laminar até atingir o equilíbrio térmico à temperatura ambiente;
- Filtração das amostras digeridas em papel de filtro quantitativo (filtração lenta). Adição de água ultrapura (Milli-Q) até o volume de 20 ml de solução.

Após este processo, as amostras totalmente digeridas foram reservadas em capela de fluxo laminar até atingir temperatura ambiente, e armazenadas sob refrigeração para conservação até o momento das análises.

3.3. Análises por FAAS e GFAAS

As técnicas analíticas utilizadas para a leitura das amostras foram a Espectrometria de Absorção Atômica a Chama (FAAS) para os elementos químicos Cu, Fe e Zn e a Espectrometria de Absorção Atômica com Forno de Grafite (GFAAS) para Cr e V. Todas as curvas analíticas foram construídas a partir da diluição de soluções-padrão Merck (1.000 mg L^{-1}). Os brancos analíticos e material de referência foram preparados e analisados com as amostras.

Após a compilação dos resultados, a análise de variância (ANOVA) foi utilizada para comparar se a média de mais de duas amostras diferem significativamente das demais em nível de 95% de confiança. A normalidade dos resíduos foi verificada de modo a garantir os requisitos da análise estatística.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para as concentrações dos elementos químicos Cu, Cr, Fe, V e Zn nos pelos dos animais domésticos estudados estão apresentados na Tabela 1. Em todas as amostras, foi detectada a presença dos elementos químicos de interesse.

Tabela 1: Resultados das concentrações dos elementos químicos em mg/kg.

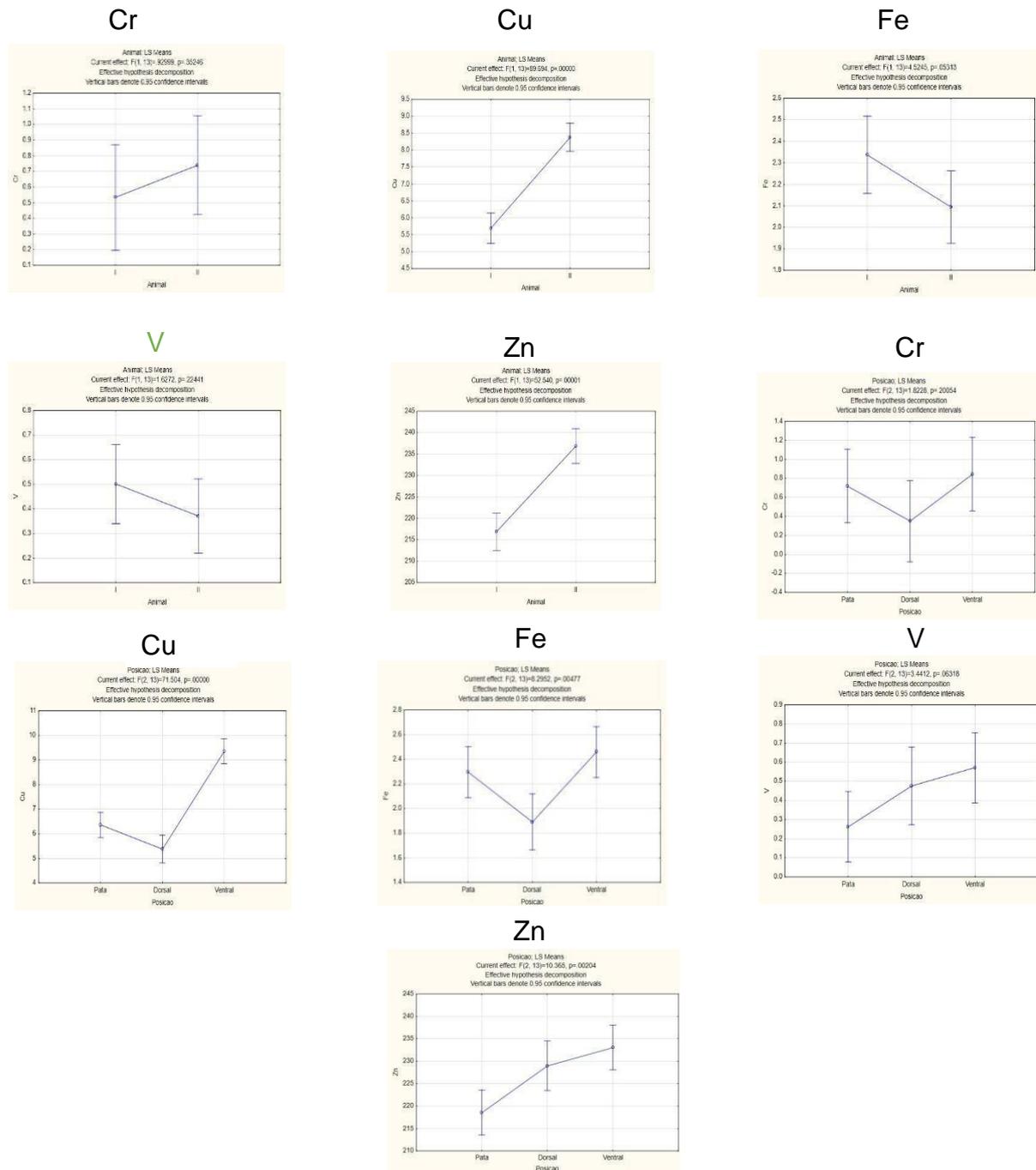
Analitos	Concentração (mg/kg)	
	Mínima	Máxima
Cr	0,28	1,19
Cu	10,6	4,32
Fe	28	102
V	0,13	0,62
Zn	143	167

Fonte: Os autores (2021)

A Figura 1 mostra os resultados da ANOVA para a comparação entre os animais estudados e as áreas de coleta dos pelos, em que foi possível visualizar a relação das médias das concentrações para os elementos químicos Cr, Cu, Fe, V e Zn para cada um desses tratamentos. Identificou-se especificamente que, para Cu e Zn. As medianas dos pelos dos dois animais analisados diferiram entre si em nível de 95% de confiança resultados significativos: desta forma, existindo influência entre os pelos dos animais (Figura 1). Contudo, para Cr, Fe e V, não houve indícios estatísticos de diferenças entre resultados ($p > 0,05$) com relação ao animal analisado (Figura 1).

Pelos foram coletados das patas, na região dorsal e ventral, resultando em diferenças significativas em nível de 95% de confiança para Zn, Fe e Cu (Figura 1). As médias de Cr e V não foram diferentes significativamente ($\alpha = 0,05$), mostrando que a posição da região de coleta não proporciona resultados diferenciados para esses elementos químicos. A área ventral foi a que mais demonstrou influência nas concentrações dos elementos químicos Cu, Zn e Fe. Acredita-se que por ser uma região de maior exposição ao solo, os pelos dos ventres dos animais provavelmente sejam mais susceptíveis ao acúmulo desses elementos químicos, dificultando a limpeza.

Figura 1. Comparação entre as concentrações médias em mg/kg de Cr, Cu, Fe, V e Zn dos pelos dos diferentes animais (I e II). As barras de erros são os intervalos de confiança em nível de 95% de confiança.



Fonte: Os autores (2021).

CONCLUSÃO

A metodologia empregada permitiu a determinação de alguns elementos químicos de importância para a saúde dos animais, assim como a análise estatística permitiu avaliar as principais diferenças entre as regiões de amostragem dos pelos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação – ABINPET – Disponível em: http://abinpet.org.br/infos_gerais Acesso em: 30 de junho de 2021.
- AMORIM, F. A. C. et al. Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multi- elementares. *Quim. nova*, Vol. 31, p.1784-1790, 2008.
- ALI, N.; MALIK, R. N.; MEHDI, T.; EQANI, S. A. M. A. S.; JAVEED, A.; NEELS, H.; COVACI, A. Organohalogenated contaminants (OHCs) in the serum and hair of pet cats and dogs: Biosentinels of indoor pollution. *Science of the Total Environment*, v. 449, 29-36p., 2013.
- ASHURBEKOV, T. R.; *Sud. Med. Ekspert.* p. 32-20. 1989.
- BENCZE K.; FRESENIUS J.; *Anal. Chem.* p. 337-867. 1990.
- BRAIT, C. H. H.; FILHO, N. R. A.; FURTADO, M. M. Utilização de pelos de animais silvestres para monitoramento ambiental de Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb e Zn. *Química Nova*. v. 32, p. 1384-1388. 2009.
- BORDIN, D.M.; MONEDEIRO, F.; CAMPOS, E. G.; ALVES, M.; BUENO, L. H. P.; MARTINIS, B.S. Técnicas de preparo de amostras biológicas com interesse forense. et al. *Scientia Chromatographica*. v. 7, p. 125-143. 2015.
- CHYLA, M. A; YRNICKI, W.. Determination of metal concentrations in animal hair by the ICP method: Comparison of various washing procedures. *Biological Trace Element Research*; Vol. 75, p. 192- 193. 2000.
- FRAKER, P.J.; HAAS, S.M.; LUECKE, R.W. Effect of zinc deficiency on the immune response of young adult A / J mice. *The Journal of Nutrition*. p.1889--1895. 1977.
- LUECKE, R.W.; SIMONEL, C.E.; FRAKER, P.J. The effect of restricted dietary intake on the antibody mediated response of the zinc deficiency A / J mouse. *The Journal of Nutrition*. v. 108, p. 881-887. 1978.

LIRA, M. C. C. Análise ambiental e humana do assentamento rural de natuba em vitória de santo antão, Pernambuco. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, p.49-55. 2017.

MAGNUSSON, U.; PERSSON, S. Endocrine disruptors in domestic animal reproduction: A clinical issue? *Reproduction in Domestic Animals*. p.15–19. 2015.

MCDOWELL, L.R. Minerals in animal and human nutrition. San Diego: Academic Press, p.524. 1992.

RAY, S. K.; ROYCHOUDHURY, R.; BANDOPADHYAY, S. K.; BASU, S. Studies on 'zinc deficiency syndrome' in black bengal goats (*Capra hircus*) fed with fodder (*Andropogon gayanus*) grown on soil treated with an excess of calcium and phosphorus fertilizer. *Vert. Res. Commun.* p. 541-6. 1997.

APÊNDICE C – QUESTIONÁRIO APLICADO AOS VOLUNTÁRIOS DA PESQUISA



Programa de Pós-Graduação em
Tecnologias Energéticas e Nucleares
PROTEN – DEN/UFPE/CRCN-NE

Laboratório Emergencial de Combate ao COVID-19 – LECC/CRCN INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS (ANIMAIS)

Nome do animal:	
() Gato	() Cachorro
Histórico de doenças:	
() FIV – Imunodeficiência Viral Felina	
() Peritonite Infecciosa Felina	
() Verminoses e outras parasitoses intestinais	
() FeLV – Leucemia Viral Felina	
() Insuficiência Renal	
() Complexo Respiratório Felino	
Outras: _____	
Idade:	
() 0 – 6 meses	() 6 meses – 1 ano
() 1 – 3 anos	() 3 – 5 anos
() 5 – 7 anos	() 7 – 9 anos
() 9 – 11 anos	() 11 – 13 anos
() 13 – 15 anos	
Sexo: () Macho () Fêmea	
Quantos quilos?	
Exames laboratoriais recentes? Quais?	
Animal vacinado?	
Toma algum medicamento? Qual?	

Local de residência?
Quanto tempo na nova residência?
Qual tipo de alimentação?
Origem da água que o animal consome?
Animal criado livre com acesso à rua?
Possui outros animais em casa?
Quais/Quantos?
Local de coleta do pelo:
Coloração dos pelos:

APÊNDICE D – TABELA COM INFORMAÇÃO SOBRE OS ANIMAIS

ID	Nome do Animal	Profissão do Tutor	Local de Coleta	Histórico de doenças
C11	Cacau	Veterinária	Várzea	Sem doenças conhecidas
CD12	Juma	Veterinária	Várzea	Sarna e Leishmania
CD13	Nina	Veterinária	Várzea	Malassezia
G14	Elza	Veterinária	Várzea	Sem doenças conhecidas
GD15	Floquinho	Veterinária	Várzea	Esporotricose
C16	Amora	Veterinária	Várzea	Sem doenças conhecidas
GD17	Velhinho	Veterinária	Várzea	Infecção respiratória e lesão na língua
GD18	Madalena	Veterinária	Várzea	Desidratada e com trauma no nariz
G19	Capitu	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
CD20	Vitória	Servidora	Goiana	Parvovirose (no resgate)
C21	Pequena	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
C22	Cacau	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
G23	Grego	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
G24	Marcelo	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
G25	Nego	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
G26	Belinha	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
GD27	kikina	Servidora	Goiana	Complexo estomatite, Gengivite, Pancreatite
G28	Cebola	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
G29	Bonequinha	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
GD30	Sam	Servidora	Goiana	Complexo respiratório felino
G31	Naomi*	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
G32	Abajourzinho	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
GD33	Maia	Servidora	Goiana	Esporotricose
G34	Milena	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
GD35	Mãezinha	Servidora	Goiana	Esporotricose
G36	Brisa	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
GD37	Fáisca	Servidora	Goiana	Sarna no resgate
G38	Dudu	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
G39	Ame	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
GD40	Mei	Servidora	Goiana	Otite e Sarna grave no resgate
GD41	Mirai	Servidora	Goiana	Otite e Sarna grave no resgate

ID	Nome do Animal	Profissão do Tutor	Local de Coleta	Histórico de doenças
G42	Kiki	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
G43	Lua	Servidora	Goiana	Sem doenças conhecidas
GD44	Dengoso	Servidora	Goiana	Esporotricose e complexo gengivite
G45	Princesa	Servidora	Goiana	
G51	Sabrina	Dona de casa	Paudalho	Sem doenças conhecidas
C52	Pou	Microempresário	Paudalho	Sem doenças conhecidas
G53	Isabela Nardoni	Dona de casa	Paudalho	Sem doenças conhecidas
C54	Chloe	Agente de Saúde Comunitário	Paudalho	Sem doenças conhecidas
C55	Amora	Pintor Automotivo	Paudalho	Sem doenças conhecidas
CD56	Chico	Pintor Automotivo	Paudalho	Cinomose
G57	Judith	Bióloga/Mestranda	Ipojuca	Sem doenças conhecidas
G58	Bayle	Enfermeira	Jaboatão	Sem doenças conhecidas
G59	Omaley	Enfermeira	Jaboatão	Sem doenças conhecidas
C60	Bento	Enfermeira	Jaboatão	Sem doenças conhecidas
C61	Filó	Estudante de Medicina	Paissandu	Sem doenças conhecidas
G62	Ninjinha	Estudante de Medicina	Paissandu	Sem doenças conhecidas
G63	Lulinha	Estudante de Medicina	Paissandu	Sem doenças conhecidas
C64	Suzy	Enfermeira	Jardim São Paulo	Sem doenças conhecidas
C65	Spike	Enfermeiro	Prazeres	Sem doenças conhecidas
C66	Bob	Enfermeira	Nova Descoberta	Sem doenças conhecidas
CD67	Malu	Filha Enfermeira	Pau Amarelo	Animal ficou doente na época que os donos tiveram COVID (Sintomas gato, muito vômito e sem apetite, animal muito quieto)
CD68	Toby	Filha Enfermeira	Pau Amarelo	Problema no ouvido
CD69	Pixote	Filha Enfermeira	Pau Amarelo	Doença do carrapato
C70	Nina	Filha Enfermeira	Pau Amarelo	Sem doenças conhecidas
CD71	Faruky	Filho trabalha no HOF e Hosp. Infantil	Pau Amarelo	Inflamação nos olhos por motivo dos cílios terem nascidos para dentro do olho (Necessário cirurgia)
CD72	Larissa Manoela	Filho trabalha no HOF e Hosp. Infantil	Pau Amarelo	Não, mas sofreu acidente
CD73	Bilu	Enfermeira	Areias	Não, mas as vezes vomita
CD74	Nina	Enfermeira	Areias	Dermatite desconhecida
C75	Meg	Enfermeira	Areias	Sem doenças conhecidas
CD76	Russo	Mãe enfermeira	Campo Grande/Água Fria	Doença do carrapato em 2017 e recentemente teve febre e sem apetite

ID	Nome do Animal	Profissão do Tutor	Local de Coleta	Histórico de doenças
CD77	Zeus	Enfermeira	Ibura	Irritação no rabo, estava sendo acompanhado porém faz 6 meses que não voltou para tratamento
CD78	Princesa	Enfermeira/Coordenadora	Boa Viagem	Doença do carrapato, Pneumonia, Otite
G79	Denis	Enfermeiro/Professor	Jaboatão	Sem doenças conhecidas
G80	Polo	Enfermeiro/Professor	Jaboatão	Sem doenças conhecidas
CD81	Tufinho	Enfermeira	Jaboatão	Sinomose e Ehrlichia
C82	Pitoco	Enfermeira	Jaboatão	Sem doenças conhecidas
CD83	Pandora	Enfermeira	Jaboatão	Ehrlichia
G84	Malevola	Professor	Boa Viagem	Sem doenças conhecidas
G85	Aurora	Professor	Boa Viagem	Sem doenças conhecidas
G86	Simba	Professor	Boa Viagem	Sem doenças conhecidas
CD87	Laila	Enfermeira	San Martin	Caroço no seio e atualmente diminuindo de tamanho
C88	Segurança	Aluna IC	Barro	Sem doenças conhecidas
G89	Princesa	Aluna IC	Barro	Sem doenças conhecidas
G90	Aurora	Enfermeira	Água Fria	Sem doenças conhecidas
G91	Larissa Manoela	Enfermeira	Água Fria	Sem doenças conhecidas
CD92	Scooby-Doo	Aluno IC	São Lourenço	Virose (2018), infecção (2019)
G93	Shuri	Aluno IC	São Lourenço	Sem doenças conhecidas
CD94	Mel	Aluno IC	São Lourenço	Sintomas de virose, desanimo e falta de apetite. Doença causou paralisia (2019)
C95	Meggy	Servidora	Camaragibe	Sem doenças conhecidas
C96	Jade	Servidora	Camaragibe	Sem doenças conhecidas
C97	Athos	Servidora	Camaragibe	Sem doenças conhecidas
CD98	Nina R.	Servidora	Camaragibe	1-Coração inchado; 2-Edema no pulmão; 3-Retenção de líquido; 4Soprano coração; 5- 4 Tumor
GD99	Ansinho	Servidor	Santo Amaro	Alergia
GD100	Bartô	Servidor	Santo Amaro	Problema estomacal (Não consegue eliminar as bolas de pelo)
G101	Mumu	Servidor	Santo Amaro	Sem doenças conhecidas
GD102	Cach	Servidor	Santo Amaro	Problemas de dermatite quando filhote
G103	Jaqueline	Servidor	Santo Amaro	Sem doenças conhecidas
G104	Pim	Servidor	Santo Amaro	Sem doenças conhecidas
C105	Amora	Veterinária	Várzea	Sem doenças conhecidas
CD106	Nina	Veterinária	Várzea	Malassezia/Sarna demodécica

ID	Nome do Animal	Profissão do Tutor	Local de Coleta	Histórico de doenças
CD107	Juma	Veterinária	Várzea	Leishmania e Sarna demodécica
CD108	Cacau	Veterinária	Várzea	Peridontia e Gengivite
G109	Elza	Veterinária	Várzea	Sem doenças conhecidas
GD110	Bibi	Servidor	Várzea	Animal internado no momento da coleta
GD111	Coelhinho	Servidor	Tabajara	No momento com ferida na patinha (animal em acompanhamento veterinário)
C112	Thor	Servidor	Tabajara	Sem doenças conhecidas
G113	Buxudo	Servidor	Tabajara	Sem doenças conhecidas
GD114	Striknina	Biólogo/Doutorando	Prazeres	Verminoses e outras parasitoses intestinais
GD115	Máscarada	Biólogo/Doutorando	Prazeres	Verminoses e outras parasitoses intestinais

ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA PARA USO DE ANIMAIS – CEUA/UFPE



Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Biociências
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50670-420 / Recife – PE – Brasil
 Fones: 2126 8842
 ceua@ufpe.br

Recife, 27 de outubro de 2021

Ofício nº 78/21

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: Prof. Elvis Joacir de França
 Departamento de Bioquímica/CB
 processo nº0077/2020

Certificamos que a proposta intitulada “Susceptibilidade de infecção por sars-cov-2 em animais domésticos: biomonitoração dos elementos químicos presentes nos pelos e a relação com a imunidade”, registrado com o nº0077/2020 sob a responsabilidade da Prof. Elvis Joacir de França. Que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 26/10/2021

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	27/10/2021 a 31/12/2023
Espécie/linhagem/raça	<i>Felis catus</i> (gato doméstico) e <i>Lupus familiaris</i> (cão doméstico)
Nº de animais	60 gatos e 60 cães= 120
Peso/Idade	Gatos 1-5Kg ; Cão: 5-30Kg
Sexo	Macho e Fêmea
Origem: Biotério de Criação	Casas dos tutores (profissionais de saúde que atuam na linha de frente no enfrentamento do SARS-COV-2)
Destino: Biotério de Experimentação	O projeto dispensa a necessidade de manter os animais em locais específicos, já que são animais domésticos particulares e as coletas serão realizadas na sua própria residência.

Atenciosamente


 Prof. Sebastião R. F. Silva
 Presidente CEUA/UFPE
 SIAPE 2345691

