



ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA

CURSO BIOMEDICINA

GABRIEL PRATES MARTIENS E PAOLO PRATES MARTINES

Avaliação das técnicas utilizadas para identificação dos agrotóxicos organofosforados comercializados no Brasil: Uma revisão sistemática

SALVADOR – BA

2023

GABRIEL PRATES MARTIENS E PAOLO PRATES MARTINES

Avaliação das técnicas utilizadas para identificação dos agrotóxicos organofosforados comercializados no Brasil: Uma revisão sistemática

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Filipe Ferreira de Almeida Rego.

SALVADOR – BA

2023

GABRIEL PRATES MARTIENS E PAOLO PRATES MARTINES

**AVALIAÇÃO DAS TÉCNICAS UTILIZADAS PARA IDENTIFICAÇÃO DOS AGROTÓXICOS
ORGANOFOSFORADOS COMERCIALIZADOS NO BRASIL: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

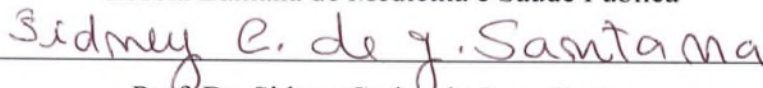
Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado à obtenção do grau de Bacharel em Biomedicina e aprovada em sua forma final pelo Curso de Biomedicina da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

Salvador – BA, 10 de novembro de 2023.



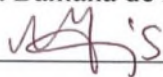
Prof. Dr. Filipe Ferreira de Almeida Rego.

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública



Prof. Dr. Sidney Carlos de Jesus Santana

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública



Prof. Dr. Luana Leandro Gois

Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

RESUMO

Organofosforados (OFs) são agrotóxicos altamente tóxicos que são utilizados amplamente no Brasil que podem causar intoxicações graves, onde o método atual de detecção dessa exposição por OFs apresenta diversas possíveis interferências, então é necessário o estudo de novos métodos para sua detecção mais efetiva em matrizes humanas. Diante disso, novos métodos têm sido desenvolvidos como pela espectrometria de massa e cromatografia gasosa para preencher a lacuna atual. O objetivo do trabalho foi avaliar as técnicas utilizadas para identificação dos agrotóxicos organofosforados comercializados no Brasil, com foco em métodos mais eficazes para a detecção desses compostos em matrizes humanas através de repositórios de produção científica. A partir da revisão bibliográfica, foram encontrados 128 artigos nas bases de dados PubMed (Medline), Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), dentre os quais, 13 foram considerados elegíveis e lidos na íntegra. Os resultados destacaram que o uso de anticorpos como método de extração acoplado com métodos de detecção apresentou ótimos resultados na especificidade e no potencial uso de adutos. No entanto, ainda há necessidade de pesquisas mais aprofundadas para avaliar a qualidade e limitações dos novos métodos pesquisados e propostos, bem como aumentar o número de estudos utilizando matrizes humanas como alvo do método, devido ao elevado número de óbitos e poucas pesquisas para melhorar o padrão atualmente utilizado. Este estudo pode servir como uma primeira etapa na avaliação dos diversos métodos desenvolvidos para propor uma alteração no padrão ouro atual.

Palavras-chave: Organofosforado, Técnicas analíticas, Métodos de detecção.

Evaluation of techniques used for identification of organophosphate pesticides commercialized in Brazil: A systematic review

ABSTRACT

Organophosphates (OPs) are highly toxic pesticides widely used in Brazil, capable of causing severe poisoning. The current method for detecting exposure to OPs presents various possible interferences, necessitating the study of new methods for more effective detection in human matrices. In light of this, new methods have been developed, such as mass spectrometry and gas chromatography, to fill the current gap. The aim of this work was to evaluate the techniques used for the identification of organophosphate pesticides marketed in Brazil, with a focus on more effective methods for detecting these compounds in human matrices through scientific production repositories. From the literature review, 128 articles were found in the databases PubMed (Medline), Scientific Electronic Library Online (SciELO), and Latin American and Caribbean Health Sciences Literature (LILACS), of which 13 were considered eligible and read in full. The results highlighted that the use of antibodies as an extraction method, coupled with detection methods, showed excellent results in terms of specificity and the potential use of adducts. However, further in-depth research is still needed to assess the quality and limitations of the new methods investigated and proposed, as well as to increase the number of studies using human matrices as the method target, due to the high number of deaths and limited research to improve the currently used standard. This study can serve as a first step in evaluating the various methods developed to propose a change in the current gold standard.

Keywords: Organophosphate, Analytical Techniques, Detection Methods.

Evaluación de las técnicas utilizadas para la identificación de pesticidas organofosforados comercializados en Brasil: Una revisión sistemática

RESUMEN

Los organofosforados (OFs) son plaguicidas altamente tóxicos ampliamente utilizados en Brasil que pueden causar intoxicaciones graves. El método actual para detectar la exposición a los OFs presenta diversas posibles interferencias, lo que impulsa la necesidad de estudiar nuevos métodos para su detección más efectiva en matrizes humanas. En este contexto, se han desarrollado nuevos métodos, como la espectrometría de masas y la cromatografía de gases, para abordar esta brecha. El objetivo de este trabajo fue evaluar las técnicas utilizadas para identificar los plaguicidas organofosforados comercializados en Brasil, centrándose en métodos más eficaces para la detección de estos compuestos en matrizes humanas a través de repositórios de producción científica. De la revisión bibliográfica, se encontraron 128 artículos en las bases de datos PubMed (Medline), Scientific Electronic Library Online (SciELO) y Literatura Latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud (LILACS), de los cuales 13 fueron considerados elegibles y leídos en su totalidad. Los resultados resaltaron que el uso de anticuerpos como método de extracción acoplado con métodos de detección mostró excelentes resultados en cuanto a especificidad y al potencial uso de aductos. Sin embargo, aún se requiere investigación más profunda para evaluar la calidad y limitaciones de los nuevos métodos investigados y propuestos, así como para aumentar el número de estudios que utilicen matrizes humanas como objetivo del método, debido al alto número de muertes y la escasa investigación para mejorar el estándar actualmente utilizado. Este estudio puede servir como una primera etapa en la evaluación de los diversos métodos desarrollados para proponer un cambio en el estándar actual.

Palabras clave: Organofosforados, Técnicas Analíticas, Métodos de Detección.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	6
2	METODOLOGIA	6
2.1	PERGUNTA INVESTIGATIVA	6
2.2	MÉTODO DE BUSCA	6
2.3	CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	7
2.4	SELEÇÃO DOS ARTIGOS E EXTRAÇÃO DE DADOS	7
3	RESULTADOS	7
4	DISCUSSÃO	12
5	CONCLUSÃO	12
6	AGRADECIMENTOS	13
	REFERÊNCIAS	14

1. Artigo Científico

RESUMO

Organofosforados (OFs) são agrotóxicos altamente tóxicos que são utilizados amplamente no Brasil que podem causar intoxicações graves, onde o método atual de detecção dessa exposição por OFs apresenta diversas possíveis interferências, então é necessário o estudo de novos métodos para sua detecção mais efetiva em matrizes humanas. Diante disso, novos métodos têm sido desenvolvidos como pela espectrometria de massa e cromatografia gasosa para preencher a lacuna atual. O objetivo do trabalho foi avaliar as técnicas utilizadas para identificação dos agrotóxicos organofosforados comercializados no Brasil, com foco em métodos mais eficazes para a detecção desses compostos em matrizes humanas através de repositórios de produção científica. A partir da revisão bibliográfica, foram encontrados 128 artigos nas bases de dados PubMed (Medline), Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), dentre os quais, 13 foram considerados elegíveis e lidos na íntegra. Os resultados destacaram que o uso de anticorpos como método de extração acoplado com métodos de detecção apresentou ótimos resultados na especificidade e no potencial uso de adutos. No entanto, ainda há necessidade de pesquisas mais aprofundadas para avaliar a qualidade e limitações dos novos métodos pesquisados e propostos, bem como aumentar o número de estudos utilizando matrizes humanas como alvo do método, devido ao elevado número de óbitos e poucas pesquisas para melhorar o padrão atualmente utilizado. Este estudo pode servir como uma primeira etapa na avaliação dos diversos métodos desenvolvidos para propor uma alteração no padrão ouro atual.

Palavras-chave: Organofosforado, Técnicas analíticas, Métodos de detecção.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos cinco maiores produtores agrícolas no mundo, sendo assim o país faz um grande uso de agrotóxicos para aumentar a produtividade, renda e qualidade do produto gerado. Porém, devido a essa alta utilização desses produtos por agricultores é possível ver uma grande ocorrência de óbitos causados por intoxicação por agrotóxicos, visto que no período de dez anos, ocorrendo nos anos de 2004 a 2014, ocorreram 1.842 casos de óbitos no Brasil (SINITOX, 2020).

Diante dos agrotóxicos utilizados, os organofosforados (OFs) ganham um maior destaque por apresentarem um alto grau de toxicidade, sendo 70,3% deles classificados como classes I (produto extremamente tóxico) e II (produto altamente tóxico) (BRASIL, 2019; AMARAL, 2007).

Em casos de intoxicação por OFs os sintomas podem variar de leves como náusea, dor de cabeça, tosse, fraqueza ou dor abdominal; até sintomas mais graves como coma, convulsão e dispneia grave. Porém, todos esses sintomas não só são apresentados somente em casos de intoxicação por OFs já que é causado pela inibição da acetilcolinesterase (AChE) que pode ser causada por outros fatores e agrotóxicos (BRASIL, 2000).

Existem diversos métodos para a detecção de OFs no organismo humano, os quais podem ser classificados como colorimétrico, fluorescência, eletroquímico e espectroscópico (BHATTU et al., 2021). Atualmente, o método mais utilizado no Brasil é a dosagem de AChE plasmática e verdadeira (BRASIL, 2006), haja vista que os OFs têm sua toxicidade dada pela inibição da AChE, que atua como um catalisador na hidrólise da acetilcolina (ACh), provocando um acúmulo da ACh na sinapse nervosa, o qual traz uma hiperestimulação dos receptores nicotínicos e muscarínicos (RICHARDSON *et al.*, 2019). A inibição de AChE pelos OFs é dada através de uma fosforilação no sítio ativo da enzima, tendo como foco a porção de hidroxila de serina, semelhante à acetilação da AChE (FUKUTO, 1990). Porém, a ligação entre o OF e a AChE apresenta uma maior estabilidade, visto que a quebra dessa ligação ocorrerá dentro de 1 a 1000 horas, entretanto a enzima acetilada retorna rapidamente ao seu estado original. Devido a essa característica, a inibição da AChE pode ser considerada como irreversível (CARVALHO e RIBEIRO, 2001; FUKUTO, 1990).

Apesar da dosagem de AChE ser o método mais utilizado, ele pode apresentar diversas alterações causadas por patologias como anemias, obesidade, hepatopatias e infecções agudas. Além disso, o uso de medicamentos ou alcoolismo também podem alterar a dosagem além da intoxicação por OFs (BRASIL, 2021). Então, é de interesse para o avanço do conhecimento científico encontrar métodos que apresentem menores alterações e que seja mais específico a essa intoxicação devido as lacunas mencionadas no método atualmente utilizado.

2 METODOLOGIA

Essa revisão sistemática foi realizada de acordo com as orientações presentes no checklist PRISMA.

2.1 Pergunta investigativa

Qual a melhor metodologia para a detecção dos agrotóxicos organofosforados em organismos humanos após revisar a literatura?

2.2 Método de busca

A pesquisa de artigos foi realizada a partir dos repositórios de produção científica PubMed (Medline), Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS). Onde as palavras chaves e operadores booleanos foram utilizados para direcionar a pesquisa da seguinte forma (((Organophosphate) AND (Human)) AND (Detection)) AND (Parathion OR Chlorpyrifos) AND (pesticides).

2.3 Critérios de elegibilidade

Foi utilizado como critérios de inclusão: artigos presentes nos repositórios de produção científica com objetivo de avaliar método de detecção de Ofs, aqueles disponíveis na íntegra; nas línguas portuguesa, espanhola ou inglesa e que abordam a detecção dos Ofs disponíveis no Brasil. Os critérios de exclusão foram: artigos de revisão e artigos utilizando matrizes não humanas.

2.4 Seleção dos artigos e extração de dados

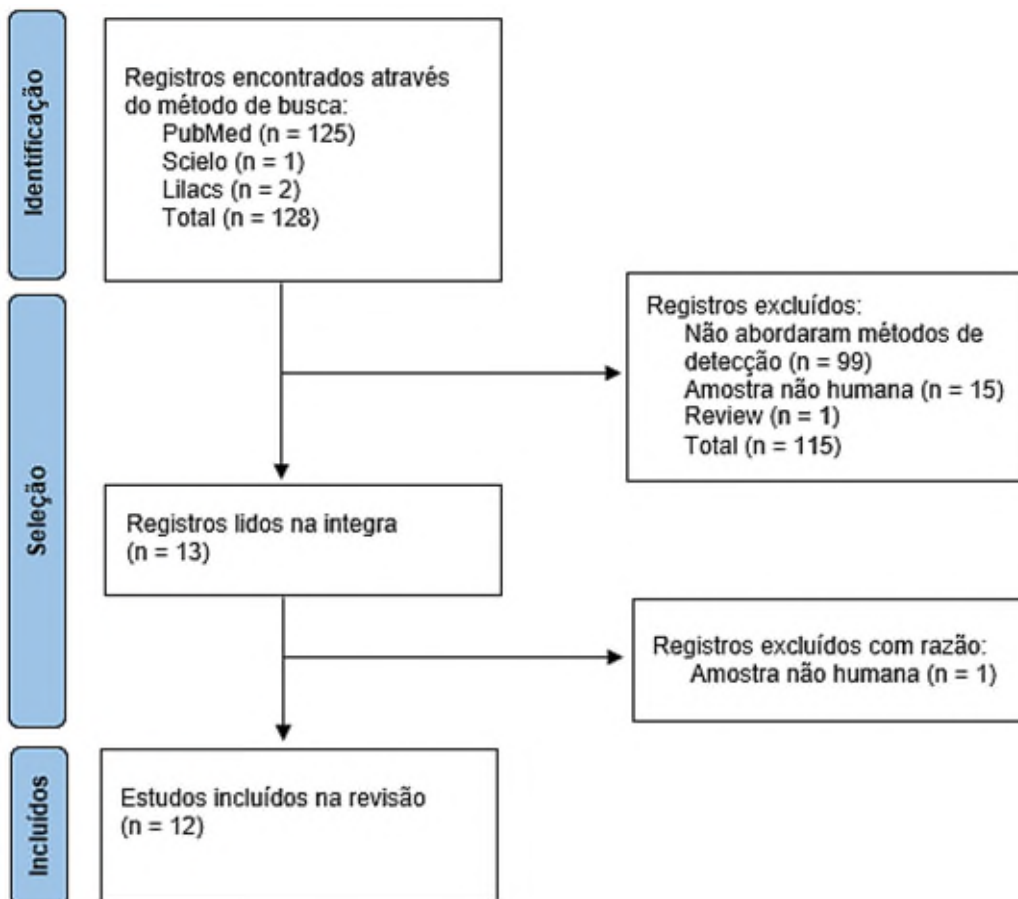
A avaliação de elegibilidade foi feita a partir da leitura do título e resumo por dois autores independentes (G.P.M. e P.P.M.). Onde os artigos lidos na íntegra foram analisados pelos autores e novamente submetidos aos critérios de elegibilidade. Os dados extraídos dos artigos foram: limite de detecção; acurácia; precisão; matriz utilizada; número de amostras; OFs alvos; eficácia da extração e o coeficiente de linearidade (R^2) dos métodos encontrados.

3 RESULTADOS

Utilizando a metodologia descrita, foram encontrados 128 artigos em total nas bases de dados, dentre eles nenhum foi encontrado em duplicata. Dentre esses artigos, após a leitura dos títulos e resumos, 13 foram considerados elegíveis e lidos na íntegra. Diante dessa leitura, foi excluído somente um artigo por não utilizar matriz humana como amostra.

Figura 1 – Aplicação dos métodos de elegibilidade nos artigos encontrados

Figure 1 – Application of eligibility methods on found articles



Dos 13 artigos incluídos nesse estudo 4 apresentaram o método de cromatografia para avaliação, sendo que, o artigo de Warangkana Naksen et al. (2016) avalia a detecção de 11 OF utilizando o método de cromatografia gasosa e detecção fotométrica de chama (GC-FPD), apresentando um limite de detecção (LOD) de 0,18 a 1,36 nas amostras de plasma dependendo do OF e 0,09 a 2,66 nas amostras de leite materno, sendo que o método foi otimizado para o limite de detecção menor para os clorpirifós que tiveram o limite de 0,18 e 0,22 em plasma e leite respectivamente. Além disso, teve uma acurácia aceitável na maioria dos analitos, tanto para as amostras de plasma quanto leite de acordo com o AOAC guidelines, já que estava entre os valores de 70 a 125% (apresentou acurácia de 95,2 a 125%) e valores de precisão abaixo de 20%, visto que os valores de precisão intra-lote foram de 2,3 a 12% e 3,9 a 17% para plasma e leite respectivamente e 7,8 a 19% e 5,8 a 19% inter-lote. A estabilidade de armazenamento das amostras também foi testada, tendo todos os pesticidas considerados estáveis durante o período de 180 dias (estabilidade aceitável de 70 a 125%) com exceção de diazinon e etion.

Em comparação o artigo de Guiyan Yuan et al. (2018) que avalia a detecção de 6 OFs utilizando o método de cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS), apresentou um limite de quantificação (LOQ) de 0,05 µg/mL para todos os OFs. Além disso, apresentou valores de precisão próximos ao estudo anterior tendo a precisão intra-lote de 1,7 a 14,5% e 4,2 a 13,8% para inter-lote. Foi também avaliado a estabilidade de armazenamento das amostras porém em um período menos em comparação ao estudo anterior, sendo que foram considerados estáveis após 2 horas na bancada antes do processamento, dentro do autosampler por 24h após processamento e em armazenamento de -20 °C por 17 dias. Entretanto, o diclorvós somente ficou estável dentro do autosampler por 24h após processamento e se encontrou instável nos outros parâmetros com degradação de 20 a 50%.

Diferente dos anteriores o artigo escrito por Tsagkaris AS et al. (2021) avalia a detecção do OF clorpirifós-oxon de forma qualitativa utilizando o método de cromatografia utilizando fitas com BChE fixado, funcionando como biomarcador do OF. Esse método apresentou um LOD de 10 ng/mL, também foi testado o risco de reação cruzada desse método com outros pesticidas e demonstrou ser altamente específico já que 11 dos 12 testados apresentaram uma reação menor que 1%, sendo que o único que apresentou uma reação cruzada mais elevada, porém mínima (21%) foi o pesticida Clorpirifós methyl-oxon. A característica mais importante desse método é a habilidade de detectar de forma fidedigna as amostras negativas e positivas, a qual foi avaliada e se mostrou capaz de classificar corretamente todas as 40 amostras utilizadas na validação do método (20 brancas e 20 adulteradas).

No artigo de Jerry H. et al. (2010) diferentemente dos outros que utilizaram do mesmo método, ele avalia a possibilidade de utilização de carboxilesterase de porco, BChE utilizando extração por anticorpos anti-BChE acoplados a microesferas magnéticas e acilpeptídeo hidrolase de eritrócitos para a detecção de OFs. Tendo em vista que, todos os métodos propostos no estudo apresentaram uma alteração quando expostos a amostras com OFs, sendo elas fragmentos ou inibição dos biomarcadores propostos.

De acordo com o artigo de Mohamed Khairy et al. (2018) onde avaliou a detecção de paration a partir de sensores eletroquímicos baseados em nanoenzimas utilizando eletrodos modificados com óxido de níquel, sendo o único a utilizar essa metodologia. Ele apresentou um LOD de 0,024 nmol/mL e alta a afinidade pelo paration já que, avaliado a variação de sinal adquirido com possíveis interferentes, o método apresentou variação menor ou igual a 7% na presença de sais inorgânicos, compostos nitroaromáticos e outros pesticidas.

O estudo de Mohammad FK et al. (2007) avalia a atividade da colinesterase (ChE) a partir da metodologia eletrométrica do plasma, eritrócitos e sangue total, utilizando amostras de 72 homens e 31 mulheres para avaliar a função normal de ChE pelo método sendo estudado e sua alteração pelos OFs e carbamatos usando amostras saudáveis adulteradas com clorpirifós, metidation e carbaril. Sendo ele o único que avaliou esse método descrito.

A maioria dos artigos incluídos avaliaram a presença de adutos a partir da espectrometria de massa, sendo que dos 13 artigos 6 apresentaram essa avaliação. Sendo um deles o artigo de Seda Onder et al. (2018) que avaliou a detecção de clorpirifós oxon através do aduto gerado com a tirosina (diethoxyphospho-tirosina) utilizando o método de espectrometria de massa em lisados celulares, utilizando um anticorpo monoclonal

(depY) acoplado a microesferas de sepharose para a extração do aduto desejado do plasma, devido a sua capacidade de reconhecer somente aduto alvo, não reconhecendo outros adutos de tirosina ou de outros aminoácidos como serina e lisina, o qual foi avaliado durante a pesquisa. Durante a avaliação do método foi testado sua capacidade de detectar o aduto alvo em misturas complexas e teve como resultado uma maior extração de peptídeos diethoxyphosphorilados, sendo ela 280 vezes maior (de 0,06% a 17%) e uma redução no número total de peptídeos de 70 vezes (de 44.921 para 629) do que quando não foi feito o uso do anticorpo depY.

Segundo o estudo de Shi-Jian Ding et al. (2008) ele encontrou que a tirosina 411 (Tyr 411) apresentou uma maior reatividade com OFs, já que quando testado com as outras tirosinas e serinas na albumina apresentou uma maior reatividade com os diversos OFs avaliados. Além disso, mesmo quando a reação foi deixada por um período de tempo prolongado e alta concentração de OFs, os adutos de Tyr 411 estavam em maior concentração (90% dos adutos encontrados). A estabilidade dos adutos é uma característica importante que foi avaliada na pesquisa, tendo como resultado o aduto mais estável após incubação em pHs de 7.4 e 1.5 à 22 °C e em qualquer pH quando refrigerado a -80 °C.

Bin Li et al. (2010 A) avalia a detecção de diclorvós através dos adutos de albumina na tirosina 411, utilizando o método de espectrometria de massa. Durante a avaliação foi encontrado uma ligação de 60% do diclorvós com a albumina a partir da concentração de 0,2 mM e nos testes com amostras de pacientes de tentativa de suicídio ficou claro a relação entre a inibição de BChE e a presença dos adutos, sendo que nos pacientes que apresentaram inibição de 62% a 84% foi possível encontrar-los, porém no caso de exposição acidental onde houve inibição de apenas 8% não foi possível encontrar adutos de albumina devido a sua lenta reatividade. Sendo assim, é possível que seja necessário a utilização de maiores amostras para avaliar casos de exposições leves.

De acordo com outro artigo de Bin Li et al. (2013) que avalia a detecção de clorpirifós utilizando espectrometria de massa a partir da presença do seu aduto com tirosina, esse método foi testado utilizando 5 pacientes de tentativas de suicídio por ingestão de clorpirifós, com 34 amostras coletadas em diferentes intervalos pós ingestão. Durante o estudo foi confirmado que os adutos de OFs em tirosina não envelhecem, proporcionando uma maior facilidade na classificação do OF causador da intoxicação. Entretanto, a presença desses adutos, durante a avaliação em amostras em vivo, apresentou uma variação dependendo do tempo pós ingestão em que a amostra foi coletada, sendo assim, não apresentou uma correlação direta com a inibição de BChE pois em algumas amostras apresentou inibição da BChE e ausência dos adutos.

Em um outro artigo de Bin Li et al. (2010 B) ele avalia a detecção de adutos de BChE com diclorvós, clorpirifós oxon e aldicarb a partir da espectrometria de massa, utilizando amostras de 5 tentativas de suicídio e uma amostra de intoxicação acidental todas coletadas de 7 a 22 horas após a intoxicação. Para aumentar a sensibilidade do método, o espectrômetro de massa apenas avaliou massas específicas, ignorando quaisquer outros íons. Durante o estudo foi possível identificar os adutos desejados em 4 das 6 amostras utilizadas, sendo que as amostras onde os adutos não foram detectados apresentaram inibição de BChE baixa (8% a 22%), portanto o tamanho da amostra utilizado (2 mL) não foi suficiente para casos de intoxicação mais leves. Porém, as dificuldades desse método são a possível reativação espontânea da BChE já que o aduto estudado só é presente nas BChE inibidas e a inabilidade desse método em diferenciar adutos de massas iguais.

Por fim, durante o artigo de Uma K. Aryal et al. (2012) foi avaliado a detecção de adutos BChE por espectrometria de massa, utilizando anticorpos biotin-anti-BChE conjugados a microesferas magnéticas para extração seletiva e facilitada dos adutos. Durante os testes foi possível avaliar a presença de inibição da BChE após adição de paration a partir da presença dos adutos e quantificar essa inibição pela proporção de BChE inativo e ativo.

Tabela 1 – Dados retirados dos artigos

Table 1 – Data extracted from articles

Autor	Ano de publicação	Método	Matriz	Linearidade	Limite de detecção (LOD)	Organofosforados	Amostragem
Warangkana Naksen <i>et al.</i>	2016	Cromatografia gasosa e detecção fotométrica de chama	Plasma	0.998–0.999	0.18 (clorpirifós) a 1.36 (dicrotofos) ng/mL	Dicrotophos, Dimethoate, Diazinon, Paration-methyl, Malation, Clorpirifós, Pirimiphos-ethyl, Protiophos, Profenofos, Ethion e Triazophos.	63
			Leite	0.995–0.999	0.09 (parathion methyl) a 2.66 (dicrotofos) ng/mL		30
Guiyan Yuan <i>et al.</i>	2018	Cromatografia gasosa-espectrometria de massa	Plasma	> 0.99	50 ng/mL (LLOQ)	Diclorvós, Atrazine, Acetoclor, Clorpirifós, α -Endosulfan e β -Endosulfan.	35 (15 pacientes)
Mohamed Khairy <i>et al.</i>	2018	Sensores eletroquímicos com eletrodos modificados com óxido de níquel	Urina	N/A	0.024 nmol/mL	Paration	N/A
Tsagkaris AS <i>et al.</i>	2021	Cromatografia utilizando fitas com BChE fixado	Plasma	N/A	10 ng/mL	Clorpirifós oxon	20 brancas / 20 adulteradas

Seda Onder <i>et al.</i>	2018	Espectrometria de massa em lisados celulares com anticorpo monoclonal	Lisados celulares	N/A	N/A	Clorpirifós oxon	N/A
Bin Li <i>et al.</i>	2010 A	Espectrometria de massa	Plasma	N/A	N/A	Clorpirifós oxon e Diclorvós	4
Bin Li <i>et al.</i>	2013	Espectrometria de massa	Plasma	N/A	N/A	Clorpirifós	34 (5 pacientes)
Mohammad FK <i>et al.</i>	2007	Eletrométrico da matriz	Plasma, Eritrócitos e Sangue total	N/A	N/A	Clorpirifós e Metidation	113 (72 homens e 31 mulheres)
Shi-Jian Ding <i>et al.</i>	2008	Espectrometria de massa	Plasma	N/A	N/A	Clorpirifós oxon e Diclorvós	1
Bin Li <i>et al.</i>	2010 B	Espectrometria de massa	Plasma	N/A	N/A	Clorpirifós oxon e Diclorvós	6
Uma K. Aryal <i>et al.</i>	2012	Espectrometria de massa	Plasma	N/A	N/A	Paraoxon	N/A
Jerry H. <i>et al.</i>	2010	Cromatografia gasosa-espectrometria de massa	Plasma e Sangue total	N/A	N/A	Clorpirifós oxon	N/A

N/A – Não se aplica

N/A – Not applicable

4 DISCUSSÃO

Para a detecção do organofosforado paration foram utilizados os métodos de cromatografia utilizando fitas com BChE fixado, cromatografia gasosa e detecção fotométrica de chama e espectrometria de massa. Após uma avaliação dos artigos, o método mais promissor foi o de cromatografia gasosa e detecção fotométrica de chama por Warangkana Naksen *et al.* (2016), pois apresentou um valor de LOD baixo, sendo ideal para a detecção em casos de intoxicação tanto leves quanto graves e além de possuir uma boa precisão. Sendo que, os demais métodos não apresentaram dados suficientes que poderiam ser considerados como métodos mais precisos para a detecção desse OF.

Na detecção dos clorpirifós e seus metabólitos os métodos avaliados foram o de cromatografia gasosa e detecção fotométrica de chama, cromatografia gasosa-espectrometria de massa, sensores eletroquímicos com eletrodos modificados com óxido de níquel, espectrometria de massa em lisados celulares com anticorpo monoclonal, espectrometria de massa e eletrométrico da matriz. Diante desses métodos, o que se destacou como mais promissor foi também o de cromatografia gasosa e detecção fotométrica de chama por Warangkana Naksen *et al.* (2016), devido a grande diferença de LOD onde seu método apresentou o menor limite quando comparado com os demais métodos.

Por sua vez, para a detecção dos diclorvós os métodos utilizados foram de cromatografia gasosa-espectrometria de massa e espectrometria de massa. Entre esses dois métodos o que utilizou da cromatografia gasosa-espectrometria de massa, realizado por Guiyan Yuan *et al.* (2018), foi o único que apresentou dados referentes às limitações de sua detecção. Entretanto, ele não apresentou valor de LOD e sim o menor limite de quantificação (LLOQ) que todavia se encontra alto e um valor de acurácia confuso.

Por final para os demais OFs descritos na tabela tiveram cromatografia gasosa e detecção fotométrica de chama, cromatografia gasosa-espectrometria de massa e eletrométrico da matriz como métodos de detecção avaliados. O método que novamente se destaca é o de cromatografia gasosa e detecção fotométrica de chama por Warangkana Naksen *et al.* (2016), por apresentar ótima linearidade, valor de LOD baixo e uma boa precisão na sua detecção.

Sendo assim, esses métodos promissores apresentam uma grande vantagem quando comparados ao método atualmente utilizado para avaliar intoxicação por OFs. Devido a presença de diversas lacunas como os seus possíveis interferentes, que alteram o valor de AChE sem a presença da intoxicação como em casos de anemias, obesidade, hepatopatias e infecções agudas, diferentemente dos métodos que avaliam os adutos, sendo eles substâncias resultantes da combinação de dois ou mais compostos ou moléculas, muitas vezes em uma reação química, como marcadores da intoxicação. Além disso, também há uma falta de especificidade para avaliar e identificar a intoxicação por OFs, já que o método atual não apresenta a capacidade de diferenciar entre causadores da inibição da AChE (BRASIL, 2021).

As limitações desta revisão incluem a escassez de artigos que avaliam métodos de detecção de Organofosforados (OFs) em seres humanos, uma vez que a maioria dos estudos se concentra na detecção de OFs em alimentos e no meio ambiente. Além disso, a falta de pesquisas aprofundadas que abordem a qualidade e a eficácia desses novos métodos de detecção representa outra limitação significativa.

5 CONCLUSÃO

Diante do estudo dos métodos descritos é possível verificar que o método de cromatografia gasosa e detecção fotométrica de chama por Warangkana Naksen *et al.* (2016) se encontra como mais promissor por apresentar valores ótimos para a detecção além de sua capacidade de detectar diversos OFs.

Entretanto, ainda se faz necessário realizar pesquisas mais aprofundadas para avaliar a qualidade e limitações dos novos métodos que estão sendo pesquisados e propostos. Além disso, é importante aumentar o

número de estudos utilizando matrizes humanas como alvo, devido ao elevado número de óbitos registrados e detecção de poucas pesquisas para melhorar o padrão atualmente utilizado.

Entretanto, esse estudo pode servir como evidência dessa demanda e como uma primeira etapa na avaliação dos diversos métodos desenvolvidos para propor uma alteração no padrão ouro atual.

6 AGRADECIMENTOS

Queremos agradecer a atenção do nosso orientador Prof. Dr. Filipe Ferreira de Almeida Rego e professora da matéria curricular Prof. Luciane Amorim por nos ajudar e guiar na produção desse trabalho e etapa do nosso processo acadêmico. Também gostaríamos de agradecer aos nossos amigos e família que sempre estiveram dispostos a ajudar de qualquer forma possível durante esse período.

REFERÊNCIAS

- Amaral, E. H. Resíduos de agrotóxicos organofosforados: validação de método de cromatografia a gás e quantificação em produtos agrícolas. **Universidade Federal de Minas Gerais**, Belo Horizonte. 2007. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/MBSA-7F9J8D/1/mestrado_dissertacao__eliane_hoopes_amaral.pdf. Acesso em: 2 abr 2023.
- Aryal UK, Lin CT, Kim JS, Heibeck TH, Wang J, Qian WJ, Lin Y. Identification of phosphorylated butyrylcholinesterase in human plasma using immunoaffinity purification and mass spectrometry. **Anal Chim Acta**. 2012 Apr 20;723:68-75.
- Bhattu M, Verma M, Kathuria D. Recent advancements in the detection of organophosphate pesticides: a review. **Anal Methods**. 2021 Oct 8;13(38):4390-4428.
- BRASIL. Centro de controle de intoxicações. **Intoxicações exógenas agudas por carbamatos, organofosforados, compostos biperidílicos e piretróides**. 2000. Disponível em: <https://cvs.saude.sp.gov.br/zip/intoxicacoes%20agudas%20-%20carbamatos%20e%20organoclorados.pdf>. Acesso em 22 out 2023.
- BRASIL. Ceará governo do estado, secretaria da saúde. **Nota informativa**. 2021. Disponível em: https://www.saude.ce.gov.br/wp-content/uploads/sites/9/2018/06/Nota_Tecnica_Colinesterase_atualizado271221.pdf. Acesso em 22 out 2023.
- BRASIL. Ministério da saúde. **Protocolo de Atenção à Saúde dos Trabalhadores Expostos a agrotóxicos**. 2006. Disponível em: https://bvsmis.saude.gov.br/bvsmis/publicacoes/protocolo_atencao_saude_trab_exp_agrotoxicos.pdf. Acesso em 2 mai 2023.
- BRASIL. Ascom/Anvisa. **Marco Regulatório. Publicada reclassificação toxicológica de agrotóxicos**. 2019. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=5578706&_101_type=content&_101_groupId=219201&_101_urlTitle=publicada-reclassificacao-toxicologica-de-agrotoxicos-&inheritRedirect=true. Acesso em: 20 abr 2023.
- Carvalho Gerson. Ribeiro Sérgio L. Intoxicações por agrotóxicos em trabalhadores dos pomares de maçãs. **Universidade Federal de Santa Catarina**. Florianópolis, 2001. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/105000>. Acesso em 22 abr 2023.
- Ding SJ, Carr J, Carlson JE, Tong L, Xue W, Li Y, Schopfer LM, Li B, Nachon F, Asojo O, Thompson CM, Hinrichs SH, Masson P, Lockridge O. Five tyrosines and two serines in human albumin are labeled by the organophosphorus agent FP-biotin. **Chem Res Toxicol**. 2008 Sep;21(9):1787-94.
- Fukuto, T. Roy. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. **Environ Health Perspect**. Jul 1990. Vol 87. Pp. 245-54.
- Khairy M, Ayoub HA, Banks CE. Non-enzymatic electrochemical platform for parathion pesticide sensing based on nanometer-sized nickel oxide modified screen-printed electrodes. **Food Chem**. 2018 Jul 30;255:104-111.
- Kim JH, Stevens RC, MacCoss MJ, Goodlett DR, Scherl A, Richter RJ, Suzuki SM, Furlong CE. Identification and characterization of biomarkers of organophosphorus exposures in humans. **Adv Exp Med Biol**. 2010;660:61-71.

- Li B, Eyer P, Eddleston M, Jiang W, Schopfer LM, Lockridge O. Protein tyrosine adduct in humans self-poisoned by chlorpyrifos. **Toxicol Appl Pharmacol**. 2013 Jun 15;269(3):215-25.
- Li B, Ricordel I, Schopfer LM, Baud F, Mégarbane B, Nachon F, Masson P, Lockridge O. Detection of adduct on tyrosine 411 of albumin in humans poisoned by dichlorvos. **Toxicol Sci**. 2010 A Jul;116(1):23-31.
- Li B, Ricordel I, Schopfer LM, Baud F, Mégarbane B, Masson P, Lockridge O. Dichlorvos, chlorpyrifos oxon and Aldicarb adducts of butyrylcholinesterase, detected by mass spectrometry in human plasma following deliberate overdose. **J Appl Toxicol**. 2010 B Aug;30(6):559-65.
- Mohammad FK, Alias AS, Ahmed OA. Electrometric measurement of plasma, erythrocyte, and whole blood cholinesterase activities in healthy human volunteers. **J Med Toxicol**. 2007 Mar;3(1):25-30.
- Naksen W, Prapamontol T, Mangklabruks A, Chantara S, Thavornnyutikarn P, Robson MG, Ryan PB, Barr DB, Panuwet P. A single method for detecting 11 organophosphate pesticides in human plasma and breastmilk using GC-FPD. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci**. 2016 Jul 1;1025:92-104.
- Onder S, Schopfer LM, Tacal O, Blake TA, Johnson RC, Lockridge O. Mass Spectral Detection of Diethoxyphospho-Tyrosine Adducts on Proteins from HEK293 Cells Using Monoclonal Antibody depY for Enrichment. **Chem Res Toxicol**. 2018 Jun 18;31(6):520-530.
- Richardson JR, Fitsanakis V, Westerink RHS, Kanthasamy AG. Neurotoxicity of pesticides. **Acta Neuropathol**. 2019 Sep;138(3):343-362.
- SINITOX. **Óbitos de intoxicação por agrotóxico de uso agrícola por unidade federada, segundo circunstância registrado em 2017**. Rio de Janeiro. 2020. Disponível em: <https://sinitox.icict.fiocruz.br/sites/sinitox.icict.fiocruz.br/files//2%20-%20Agrotoxico%20Uso%20Agricola6.pdf>. Acesso em: 7 abr 2023.
- Tsagkaris AS, Migliorelli D, Uttl L, Filippini D, Pulkrabova J, Hajslova J. A microfluidic paper-based analytical device (μ PAD) with smartphone readout for chlorpyrifos-oxon screening in human serum. **Talanta**. 2021 Jan 15;222:121535.

1. Proposta de submissão

1.1 REVISTA: REVISTA BRASILEIRA DO MEIO AMBIENTE

1.2 REGRAS PARA SUBMISSÃO:

A língua principal da Revista Brasileira de Meio Ambiente é o Português (BR), os Artigos obrigatoriamente deverão conter: Introdução, Material e Método, Resultado e Discussão, Conclusão, Agradecimentos e Referências. Destacamos aqui que os Resultados e Discussão podem estar separados no texto, caso seja conveniente para o pesquisador (Resultados, Discussão)

O número mínimo de páginas aceitos para a publicação (já na formatação oficial com imagens, gráficos, tabelas e fórmulas) será 10 (dez) páginas para a modalidade Artigos Completos, onde estão incluídas os gráficos, figuras e tabelas. Para modalidade Cotidiano e Meio Ambiente, o número de páginas irão variar de 4 (quatro) a 8 (oito) páginas no máximo. Artigos abaixo de 4 páginas ou acima de 25 páginas serão recusados na íntegra.

Formatação: O trabalho deverá digitado em tamanho A4 (210 por 297 mm) formato de layout retrato; suas margens ajustadas em Superior (2 cm), Inferior (2 cm), Esquerda (2 cm) e Direita (2 cm), texto em uma coluna, espaçamento simples linhas e parágrafo de 1,00 centímetros. A Fonte Times New Roman 11 será usada em todo o texto.

Título: O trabalho deverá iniciar com o Título em português deste, com alinhamento a esquerda e fonte Times New Roman 15; não utilizar o título em caixa alta (maiúsculo).

Resumo: Deve haver um resumo (português), um resumo em inglês (abstract) e um resumo (espanhol). O número máximo de palavras permitido nos resumos é de 250. Palavras-chave serão permitidas no máximo 05 palavras-chave e no mínimo 03, essas palavras-chave serão usadas para fins de indexação. A fonte do resumo é Times New Roman tamanho 9.

Title in inglês (Times New Roman 13) before abstract.

Tabela: Todas as tabelas devem ser numeradas com algarismos arábicos (1,2,3, ...). Os títulos devem ser colocados acima das tabelas, centralizados (Fonte 10) em português e em inglês. Somente linhas horizontais devem ser usadas dentro de uma tabela, para distinguir os cabeçalhos das colunas do corpo tabela. As tabelas devem ser incorporadas no texto e não fornecidas separadamente.

Imagens: Todas as figuras devem ser numeradas com algarismos arábicos (1,2,3, ...) onde cada figura deve ter uma legenda em português e em inglês. Todas as fotografias, esquemas, gráficos e diagramas devem ser referidos como figuras. O número e a legenda da figura devem ser digitados abaixo da ilustração em Times New Roman 10, sendo centralizado ou justificados e em português e em inglês.

Referências:

Para Artigo em revistas: [Autores (separados por ponto e vírgula), Ano, Título, Revista, volume, número, número de páginas]. Negrito no Nome do Periódico;

Para Artigo em anais: [Autores (Separados por ponto e vírgula), Ano, título, nome do evento, local do evento, número de páginas]. Negrito no nome do evento;

Monografias, Dissertações e Teses (Autor, Ano, título, produto, curso de formação, Universidade, Cidade, número de páginas, País). Negrito no título do trabalho;

Livro [Autores (Separados por ponto e vírgula), Ano, título, cidade, editora, número de páginas];

Leis (Instituição, título, Documento, disponível em: acesso em e ano). Negrito no título do texto;

Notícias Eletrônicas (Instituição ou autor, Ano original da publicação, título, local, disponível em: < link >. Acesso em: data de coleta da informação). Negrito no título do texto;

Notícias Impresas (Instituição ou autor, Ano, título, local). Negrito no título do texto;

Documentos impressos (pareceres) (Instituição, Ano, título, documento). Negrito no nome do banco de dados da informação;

2. Anexo

Avaliação das técnicas utilizadas para identificação dos agrotóxicos organofosforados comercializados no Brasil: Uma revisão sistemática

Gabriel Prates Martines¹, Paolo Prates Martines¹, Filipe Ferreira de Almeida Rego¹.

¹Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

RESUMO

Organofosforados (OFs) são agrotóxicos altamente tóxicos que são utilizados amplamente no Brasil que podem causar intoxicações graves, onde o método atual de detecção dessa exposição por OFs apresenta diversas possíveis interferências, então é necessário o estudo de novos métodos para sua detecção mais efetiva em matrizes humanas. Diante disso, novos métodos têm sido desenvolvidos como pela espectrometria de massa e cromatografia gasosa para preencher a lacuna atual. O objetivo do trabalho foi avaliar as técnicas utilizadas para identificação dos agrotóxicos organofosforados comercializados no Brasil, com foco em métodos mais eficazes para a detecção desses compostos em matrizes humanas através de repositórios de produção científica. A partir da revisão bibliográfica, foram encontrados 128 artigos nas bases de dados PubMed (Medline), Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Literatura Latino-americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), dentre os quais, 13 foram considerados elegíveis e lidos na íntegra. Os resultados destacaram que o uso de anticorpos como método de extração acoplado com métodos de detecção apresentou ótimos resultados na especificidade e no potencial uso de adutos. No entanto, ainda há necessidade de pesquisas mais aprofundadas para avaliar a qualidade e limitações dos novos métodos pesquisados e propostos, bem como aumentar o número de estudos utilizando matrizes humanas como alvo do método, devido ao elevado número de óbitos e poucas pesquisas para melhorar o padrão atualmente utilizado. Este estudo pode servir como uma primeira etapa na avaliação dos diversos métodos desenvolvidos para propor uma alteração no padrão ouro atual.

Palavras-chave: Organofosforado, Técnicas analíticas, Métodos de detecção

Evaluation of techniques used for identification of organophosphate pesticides commercialized in Brazil: A systematic review

ABSTRACT

Organophosphates (OPs) are highly toxic pesticides widely used in Brazil, capable of causing severe poisoning. The current method for detecting exposure to OPs presents various possible interferences, necessitating the study of new methods for more effective detection in human matrices. In light of this, new methods have been developed, such as mass spectrometry and gas chromatography, to fill the current gap. The aim of this work was to evaluate the techniques used for the identification of organophosphate pesticides marketed in Brazil, with a focus on more effective methods for detecting these compounds in human matrices through scientific production repositories. From the literature review, 128 articles were found in the databases PubMed (Medline), Scientific Electronic Library Online (SciELO), and Latin American and Caribbean Health Sciences Literature (LILACS), of which 13 were considered eligible and read in full. The results highlighted that the use of antibodies as an extraction method, coupled with detection methods, showed excellent results in terms of specificity and the potential use of adducts. However, further in-depth research is still needed to assess the quality and limitations of the new methods investigated and proposed, as well as to increase the number of studies using human matrices as the method target, due to the high number of deaths and limited research to improve the currently used standard. This study can serve as a first step in evaluating the various methods developed to propose a change in the current gold standard.

Keywords: Organophosphate, Analytical Techniques, Detection Methods.

Evaluación de las técnicas utilizadas para la identificación de pesticidas organofosforados comercializados en Brasil: Una revisión sistemática

RESUMEN

Los organofosforados (OFs) son plaguicidas altamente tóxicos ampliamente utilizados en Brasil que pueden causar intoxicaciones graves. El método actual para detectar la exposición a los OFs presenta diversas posibles interferencias, lo que impulsa la necesidad de estudiar nuevos métodos para su detección más efectiva en matrices humanas. En este contexto, se han desarrollado nuevos métodos, como la espectrometría de masas y la cromatografía de gases, para abordar esta brecha. El objetivo de este trabajo fue evaluar las técnicas utilizadas para identificar los plaguicidas organofosforados comercializados en Brasil, centrándose en métodos más eficaces para la detección de estos compuestos en matrices humanas a través de repositorios de producción científica. De la revisión bibliográfica, se encontraron 128 artículos en las bases de datos PubMed (Medline), Scientific Electronic Library Online (SciELO) y Literatura Latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud (LILACS), de los cuales 13 fueron considerados elegibles y leídos en su totalidad. Los resultados resaltaron que el uso de anticuerpos como método de extracción acoplado con métodos de detección mostró excelentes resultados en cuanto a especificidad y al potencial uso de aductos. Sin embargo, aún se requiere investigación más profunda para evaluar la calidad y limitaciones de los nuevos métodos investigados y propuestos, así como para aumentar el número de estudios que utilicen matrices humanas como objetivo del método, debido al alto número de muertes y la escasa investigación para mejorar el estándar actualmente utilizado. Este estudio puede servir como una primera etapa en la evaluación de los diversos métodos desarrollados para proponer un cambio en el estándar actual.

Palabras clave: Organofosforados, Técnicas Analíticas, Métodos de Detección.

Apresentação do artigo

Esse artigo busca avaliar os métodos recém publicados para buscar o novo caminho para se detectar intoxicações por organofosforados. Sendo que, o método atual apresenta diversas lacunas na própria identificação e precisão de sua avaliação.

Agradecimentos

Queremos agradecer a atenção do nosso orientador Prof. Dr. Filipe Ferreira de Almeida Rego e professora da matéria curricular Prof. Luciane Amorin por nos ajudar e guiar na produção desse trabalho e etapa do nosso processo acadêmico. Também gostaríamos de agradecer a nossos amigos e família que sempre estiveram dispostos a ajudar de qualquer forma possível durante esse período.

Referencias

- Amaral, E. H. Resíduos de agrotóxicos organofosforados: validação de método de cromatografia a gás e quantificação em produtos agrícolas. **Universidade Federal de Minas Gerais**, Belo Horizonte. 2007. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/MBSA-7F9J8D/1/mestrado_dissertacao__eliane_hoopes_amaral.pdf. Acesso em: 2 abr 2023.
- Aryal UK, Lin CT, Kim JS, Heibeck TH, Wang J, Qian WJ, Lin Y. Identification of phosphorylated butyrylcholinesterase in human plasma using immunoaffinity purification and mass spectrometry. **Anal Chim Acta**. 2012 Apr 20;723:68-75.
- Bhattu M, Verma M, Kathuria D. Recent advancements in the detection of organophosphate pesticides: a review. **Anal Methods**. 2021 Oct 8;13(38):4390-4428.

BRASIL. Centro de controle de intoxicações. **Intoxicações exógenas agudas por carbamatos, organofosforados, compostos biperidílicos e piretróides**. 2000. Disponível em: <https://cvs.saude.sp.gov.br/zip/intoxicacoes%20agudas%20-%20carbamatos%20e%20organoclorados.pdf>. Acesso em 22 out 2023.

BRASIL. Ceará governo do estado, secretaria da saúde. **Nota informativa**. 2021. Disponível em: https://www.saude.ce.gov.br/wp-content/uploads/sites/9/2018/06/Nota_Tecnica_Colinesterase_atualizado271221.pdf. Acesso em 22 out 2023.

BRASIL. Ministério da saúde. **Protocolo de Atenção à Saúde dos Trabalhadores Expostos a agrotóxicos**. 2006. Disponível em: https://bvsm.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_atencao_saude_trab_exp_agrotoxicos.pdf. Acesso em 2 mai 2023.

BRASIL. Ascom/Anvisa. **Marco Regulatório. Publicada reclassificação toxicológica de agrotóxicos**. 2019. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=5578706&_101_type=content&_101_groupId=219201&_101_urlTitle=publicada-reclassificacao-toxicologica-de-agrotoxicos-&inheritRedirect=true. Acesso em: 20 abr 2023.

Carvalho Gerson. Ribeiro Sérgio L. Intoxicações por agrotóxicos em trabalhadores dos pomares de maçãs. **Universidade Federal de Santa Catarina**. Florianópolis, 2001. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/105000>. Acesso em 22 abr 2023.

Ding SJ, Carr J, Carlson JE, Tong L, Xue W, Li Y, Schopfer LM, Li B, Nachon F, Asojo O, Thompson CM, Hinrichs SH, Masson P, Lockridge O. Five tyrosines and two serines in human albumin are labeled by the organophosphorus agent FP-biotin. **Chem Res Toxicol**. 2008 Sep;21(9):1787-94.

Fukuto, T. Roy. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. **Environ Health Perspect**. Jul 1990. Vol 87. Pp. 245-54.

Khairy M, Ayoub HA, Banks CE. Non-enzymatic electrochemical platform for parathion pesticide sensing based on nanometer-sized nickel oxide modified screen-printed electrodes. **Food Chem**. 2018 Jul 30;255:104-111.

Kim JH, Stevens RC, MacCoss MJ, Goodlett DR, Scherl A, Richter RJ, Suzuki SM, Furlong CE. Identification and characterization of biomarkers of organophosphorus exposures in humans. **Adv Exp Med Biol**. 2010;660:61-71.

Li B, Eyer P, Eddleston M, Jiang W, Schopfer LM, Lockridge O. Protein tyrosine adduct in humans self-poisoned by chlorpyrifos. **Toxicol Appl Pharmacol**. 2013 Jun 15;269(3):215-25.

Li B, Ricordel I, Schopfer LM, Baud F, Mégarbane B, Nachon F, Masson P, Lockridge O. Detection of adduct on tyrosine 411 of albumin in humans poisoned by dichlorvos. **Toxicol Sci**. 2010 A Jul;116(1):23-31.

Li B, Ricordel I, Schopfer LM, Baud F, Mégarbane B, Masson P, Lockridge O. Dichlorvos, chlorpyrifos oxon and Aldicarb adducts of butyrylcholinesterase, detected by mass spectrometry in human plasma following deliberate overdose. **J Appl Toxicol**. 2010 B Aug;30(6):559-65.

Mohammad FK, Alias AS, Ahmed OA. Electrometric measurement of plasma, erythrocyte, and whole blood cholinesterase activities in healthy human volunteers. **J Med Toxicol**. 2007 Mar;3(1):25-30.

Naksen W, Prapamontol T, Mangklabruks A, Chantara S, Thavornnyutikarn P, Robson MG, Ryan PB, Barr DB, Panuwet P. A single method for detecting 11 organophosphate pesticides in human plasma and breastmilk using GC-FPD. **J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.** 2016 Jul 1;1025:92-104.

Onder S, Schopfer LM, Tacal O, Blake TA, Johnson RC, Lockridge O. Mass Spectral Detection of Diethoxyphospho-Tyrosine Adducts on Proteins from HEK293 Cells Using Monoclonal Antibody depY for Enrichment. **Chem Res Toxicol.** 2018 Jun 18;31(6):520-530.

Richardson JR, Fitsanakis V, Westerink RHS, Kanthasamy AG. Neurotoxicity of pesticides. **Acta Neuropathol.** 2019 Sep;138(3):343-362.

SINITOX. **Óbitos de intoxicação por agrotóxico de uso agrícola por unidade federada, segundo circunstância registrado em 2017.** Rio de Janeiro. 2020. Disponível em: <https://sinitox.icict.fiocruz.br/sites/sinitox.icict.fiocruz.br/files//2%20-%20Agrotoxico%20Uso%20Agricola6.pdf>. Acesso em: 7 abr 2023.

Tsagkaris AS, Migliorelli D, Uttl L, Filippini D, Pulkrabova J, Hajslova J. A microfluidic paper-based analytical device (μ PAD) with smartphone readout for chlorpyrifos-oxon screening in human serum. **Talanta.** 2021 Jan 15;222:121535.