

Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA
SERGIO AROUCA
ENSP

Ana Paula das Neves Silva

Metabólitos alquilfosfatos urinários na avaliação de exposição a agrotóxicos organofosforados dos agentes de combate às endemias (ACE)

Rio de Janeiro

2021

Ana Paula das Neves Silva

Metabólitos alquilfosfatos urinários na avaliação de exposição a agrotóxicos organofosforados dos agentes de combate às endemias (ACE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Toxicologia Ambiental.

Orientadora: Prof^o Dr. Sérgio Rabello Alves.

Coorientadora: Prof^a Dra. Ana Cristina Simões Rosa.

Rio de Janeiro

2021

Título do trabalho em inglês: Urinary dialkylphosphate metabolites in the assessment of exposure to organophosphate pesticides of Endemic Workers: an integrative review.

Catálogo na fonte
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde
Biblioteca de Saúde Pública

S586m Silva, Ana Paula Das Neves.
Metabólitos alquilfosfatos urinários na avaliação de exposição a agrotóxicos organofosforados dos agentes de combate às endemias (ACE) / Ana Paula Das Neves Silva. -- 2021.
115 f. : il. color. ; mapas.

Orientador: Sérgio Rabello Alves.
Coorientadora: Ana Cristina Simões Rosa.
Dissertação (mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2021.

1. Inseticidas Organofosforados. 2. Monitoramento Biológico. 3. Métodos de Análise. 4. Urina. 5. Exposição Ocupacional. 6. Estudos Epidemiológicos. 7. Agroquímicos. 8. Alquilfosfatos.
I. Título.

CDD – 23.ed. – 615.902

Ana Paula das Neves Silva

Metabólitos alquilfosfatos urinários na avaliação de exposição a agrotóxicos organofosforados dos agentes de combate às endemias (ACE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, na Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de concentração: Toxicologia Ambiental.

Aprovada em: 18 de agosto de 2021.

Banca Examinadora

Prof.^a Dra. Eline Simões Gonçalves
Universidade Federal Fluminense

Prof.^a Dra. Ariane Leites Larentis
Fundação Oswaldo Cruz - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

Prof.^a Dra. Ana Cristina Simões Rosa
Fundação Oswaldo Cruz - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

Prof. Dr. Sérgio Rabello Alves (Orientador)
Fundação Oswaldo Cruz - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

Rio de Janeiro

2021

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço aos meus pais, Maria de Fátima das Neves e Antônio Silva, que vieram de família nordestina humilde e não tiveram oportunidade de completar o ensino fundamental, mas criaram seus filhos para serem pessoas dignas e honestas, sempre ensinando aos meus irmãos e eu que o estudo e o trabalho honesto são os únicos caminhos que nos levam a uma vida melhor. Minha eterna gratidão por todo amor, apoio, exemplo e incentivo ao longo desses anos.

Gratidão aos meus professores e aos funcionários das diferentes instituições de ensino pelas quais passei, que gentilmente me passaram um pouco de seus conhecimentos e me estimularam a seguir em frente. Agradeço especialmente aos meus queridos orientadores, Sérgio Rabello Alves e Ana Cristina Simões Rosa, que sempre me trataram com muita gentileza e paciência, tornando o processo de aprendizagem muito natural e agradável. À Ana Cristina, que me acompanhou mais de perto, muito obrigada por compartilhar seu tempo e conhecimento comigo.

Gratidão à coordenadora do 'Projeto integrador multicêntrico: Estudo do impacto à saúde de Agentes de Combate às Endemias/Guardas de Endemias pela exposição a agrotóxicos no Estado do Rio de Janeiro', Ariane Leites Larentis, pelas discussões filosóficas e críticas, por me apresentar uma nova forma de "fazer ciência" e por me mostrar a importância da conexão humana no processo científico. Da mesma forma, agradeço a todos os pesquisadores, alunos, colaboradores e trabalhadores que dão vida ao projeto e juntos o fazem se tornar tão gratificante.

Agradeço especialmente aos alunos do projeto Priscila Vidal, Victor Figueiredo, Gabriel Silveira e Marcus Vinícius Santos pelo acolhimento, pela troca de ideias, pela ajuda na escrita dos textos, companheirismo, apoio psicológico e risadas. Vocês tornaram tudo mais leve. Muito obrigada!

Gratidão aos professores, coordenadores e funcionários ligados ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio ambiente/ENSP/Fiocruz pelo suporte e pela troca tão importante no processo de ensino.

E, por fim, agradeço ao Universo, que nunca se engana e move todas as energias para nos levar ao lugar em que precisamos estar. Durante este processo, encontrei muito mais do que o aprendizado acadêmico necessário para escrever uma dissertação, encontrei amigos, questionamentos, respostas, propósito, ideais e um grupo de companheiros que luta unido contra um sistema que desrespeita a vida ambiental e humana.

“Quanto mais um país como os Estados Unidos da América, por exemplo, partir da grande indústria como base pra o seu desenvolvimento, tanto mais rápido será o processo de destruição. Nesse sentido, a produção capitalista somente desenvolve a técnica e a combinação do processo de produção social na mesma medida em que destrói as fontes de toda a riqueza: a terra e os trabalhadores.”

Karl Marx

RESUMO

Atualmente, os agrotóxicos organofosforados são uma das principais classes químicas de agrotóxicos recomendadas pela OMS e utilizadas para o controle químico de vetores urbanos. Trabalhadores que manipulam diariamente estas substâncias, como os Agentes de Combate às Endemias (ACE), vêm sendo expostos aguda e cronicamente. A quantificação de metabólitos alquilfosfatos em urina vem sendo utilizada como biomarcadores de exposição sensíveis e mais específicos no biomonitoramento dos principais organofosforados utilizados atualmente. O objetivo deste trabalho é realizar uma revisão integrativa sobre os métodos analíticos mais utilizados para a quantificação de metabólitos alquilfosfatos em urina no biomonitoramento e em estudos epidemiológicos de avaliação de exposição a organofosforados, discutindo suas vantagens e limitações, os resultados encontrados e aplicabilidade no biomonitoramento dos ACE. Para tal, foram realizadas buscas nas bases de dados Pubmed, Scielo e BDTD com termos e descritores referentes ao tema. Foram selecionados artigos e teses com dados primários realizados entre os anos 2000 e 2021. Foram selecionados 205 estudos, sendo 11 (5%) sobre desenvolvimento de método para quantificação de alquilfosfatos em urina humana, 180 (88%) sobre estudos epidemiológicos que utilizaram esta quantificação e 14 (7%) sobre ambos os temas. Os métodos de extração mais utilizados foram a ELL e a EFS. A cromatografia em fase gasosa é o método de separação mais utilizado para este fim. Dentre os métodos desenvolvidos, 19 (76%) utilizaram a CG, que em 12 (63%) estudos foi acoplada a EM. Já dentre os estudos epidemiológicos que informaram a metodologia utilizada, a CG foi utilizada em 154 (85%) deles, que em 114 (74%) foi acoplada à EM. Entre os estudos epidemiológicos selecionados, 82% tratavam-se de avaliação de população exposta ambientalmente e 18% de avaliação da exposição ocupacional. Somente 9 (4%) estudos foram com trabalhadores de controle vetorial, com destaque para Japão e México. Apesar de poucos, os estudos com esta população trazem resultados interessantes mostrando que os alquilfosfatos são biomarcadores sensíveis e que a exposição a organofosforados é uma realidade na rotina de trabalho desta categoria e pode levar a diversos danos à saúde.

Palavras-chave: Agrotóxicos organofosforados, alquilfosfatos, biomonitoramento, métodos analíticos, urina.

ABSTRACT

Currently, organophosphate insecticides are one of the main classes of pesticides (agrotoxics) recommended by the WHO and used for the chemical control of urban vectors. Workers who handle these substances daily, such as Endemic Workers, have been acutely and chronically exposed. Quantification of dialkylphosphate metabolites in urine has been used as a sensitive and more specific exposure biomarker for organophosphates biomonitoring currently used. The objective of this work is to carry out an integrative review of the most used analytical methods for dialkylphosphate metabolites quantification of in urine for biomonitoring and in epidemiological studies to assess exposure to organophosphates, discussing their advantages and limitations, the results found and applicability in Endemic Workers' biomonitoring. For this purpose, searches were performed in Pubmed, Scielo and BDTD databases using terms and descriptors referring to topic. Articles and thesis with primary data carried out between 2000 and 2021 were selected. 205 studies were selected, 11 (5%) on method development for dialkylphosphate quantification s in human urine, 180 (88%) on epidemiological studies using this quantification and 14 (7%) on both topics. The most used extraction methods were LLE and SPE. Gas chromatography is the most widely used separation method for this purpose. Among developed methods, 19 (76%) used GC, which in 12 (63%) studies was coupled to MS. Among epidemiological studies which informed the used methodology, GC was cited in 154 (85%) of them, which in 114 (74%) was coupled to MS. Among selected epidemiological studies, 82% dealt with an assessment of environmentally exposed population and 18% with an assessment of occupational exposure. Only 9 (4%) studies were with vector control workers, especially in Japan and Mexico. Although in small number, studies with this population brought interesting results showing that dialkylphosphates are sensitive biomarkers and exposure to organophosphates is a reality in this category's work routine and can lead to several damages to health.

Keywords: Organophosphates pesticides, dialkylphosphates, biological monitoring, analytical methods, urine.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1	Classificação toxicológica em função da toxicidade aguda oral (DL ₅₀), cutânea (DL ₅₀) e inalatória (CL ₅₀).....	16
Figura 1	Distribuição global das principais doenças transmitidas por vetores e os vetores associados.....	18
Figura 2	Estrutura molecular geral dos agrotóxicos organofosforados.....	20
Figura 3	Interação do metabólito de organofosforado clorpirifós-oxon com o sítio ativo de AChE.....	21
Figura 4	Efeito dos agrotóxicos organofosforados na transmissão dos impulsos nervosos.....	22
Figura 5	Estrutura molecular dos metabólitos alquilfosfatos.....	29
Figura 6	Exemplos de agrotóxicos organofosforados e os alquilfosfatos formados a partir de suas metabolizações.....	30
Figura 7	Biotransformação hepática do organofosforado malationa	31
Quadro 2	Organofosforados mais utilizados e os alquilfosfatos formados a partir de suas metabolizações	32
Quadro 3	Estratégia de busca na base de dados MEDLINE/Pubmed, Scielo e BDTD.....	37
Figura 8	Fluxograma da pesquisa na base de dados.....	39
Figura 9	Fluxograma dos resultados quantitativos encontrados na pesquisa.....	40
Quadro 4	Limites de detecção para cada analito (em ng L ⁻¹) do método de Weerasekera et al, 2008.....	57
Quadro 5	Recuperação de cada analito do método de Weerasekera <i>et al</i> , 2008.....	57
Quadro 6	Artigos sobre metodologia de quantificação de alquilfosfatos urinários.....	61
Quadro 7	Métodos de extração e métodos de quantificação utilizados nos artigos analisados.....	65
Figura 10	Porcentagem de estudos de cada população categorizada.....	67
Figura 11	Porcentagem de estudos com população ambientalmente exposta Porcentagem de estudos com trabalhadores ocupacionalmente	68

Figura 12	expostos	
	Faixas de concentrações de alquilfosfatos encontrados em cada	73
Quadro 8	população	
	Faixas de concentrações de alquilfosfatos totais encontrados em	75
Quadro 9	cada população.....	
	Estudos epidemiológicos com trabalhadores do controle vetorial	77
Quadro 10		81

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE	Agente de Combate às Endemias
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CESTEH	Centro de Estudos da Saúde do Trabalhador e Ecologia Humana
CG	Cromatografia em fase gasosa
CL ₅₀	Concentração letal 50
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLUE	Cromatografia líquida de ultra eficiência
DBF	Dibutilfosfato
DDT	Diclorodifeniltricloreto
DL ₅₀	Dose letal 50
DEDTP	Dietil ditiofosfato
DEP	Dietil fosfato
DETP	Dietil tiofosfato
DMDTP	Dimetil ditiofosfato
DMP	Dimetil fosfato
DMTP	Dimetil tiofosfato
DVT	Doenças transmitidas por vetores
EFS	Extração em fase sólida
ELL	Extração líquido-líquido
EM	Espectrometria de Massas
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
IARC	International Agency for Research on Cancer
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
OMS	Organização Mundial de Saúde
PEAa	Plano de erradicação do Aedes Aegypti
PNCD	Plano Nacional de Controle de Dengue
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SIM	Sistema de Informação sobre Mortalidade
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
WHO	World Health Organization

LISTA DE SÍMBOLOS

μg	Micrograma
$\mu\text{g L}^{-1}$	Micrograma por litro
$\mu\text{g g}^{-1} \text{ cre}$	Micrograma por grama de creatinina
mg	Miligrama
mg L^{-1}	Miligrama por litro
ng L^{-1}	Nanograma por litro
$\text{nmol g}^{-1} \text{ cre}$	Nanomol por grama de creatinina

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	AGROTÓXICOS NA SAÚDE PÚBLICA	15
2.2	AGROTÓXICOS ORGANOFOSFORADOS	19
2.3	AGENTES DE COMBATE ÀS ENDEMIAS - BIOMONITORAMENTO DE TRABALHADORES EXPOSTOS A AGROTÓXICOS	23
2.4	METABÓLITOS ALQUILFOSFATOS	29
3.	OBJETIVOS	33
3.1	OBJETIVO GERAL.....	33
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
4.	METODOLOGIA	34
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DE ALQUILFOSFATOS EM URINA HUMANA.....	40
5.1.1	Extração líquido-líquido (ELL)	41
5.1.2	Extração em fase sólida (EFS)	47
5.1.3	Extração por liofilização	53
5.1.4	Métodos diretos (sem extração)	58
5.1.5	Extração por destilação azeotrópica	59
5.2	ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS QUE UTILIZARAM QUANTIFICAÇÃO DE ALQUILFOSFATOS EM URINA HUMANA.....	66
5.2.1	Inquéritos e outros desenhos de estudos epidemiológicos com população geral.	67
5.2.2	Estudos epidemiológicos com trabalhadores expostos a agrotóxicos.	73
6.	CONCLUSÃO	82
	REFERÊNCIAS	84
	ANEXO A - ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS QUE UTILIZARAM QUANTIFICAÇÃO DE ALQUILFOSFATOS EM URINA HUMANA ENTRE OS ANOS DE 2000 E 2021 BUSCADOS EM PUBMED, SCIELO E BDTD	110

1. INTRODUÇÃO

Na década de 1950, iniciaram-se profundas mudanças no processo de trabalho agrícola. A chamada “revolução verde” baseou a agricultura em desenvolvimento tecnológico e uso extensivo de agentes químicos (agrotóxicos), causando impactos negativos sobre o ambiente e a saúde humana (PERES; MOREIRA, 2003).

Na mesma época, a Organização Mundial de Saúde (OMS) lançou uma campanha de combate à malária através da utilização destes mesmos agrotóxicos no controle químico de vetores urbanos (mosquitos) que, a partir de então, se tornou o principal método de combate a vetores utilizado no Brasil (BULL; HATHAWAY, 1986).

Desde então, o consumo de agrotóxicos no Brasil aumentou 276,2% entre os anos de 1964 e 1991. Entre 1991 e 2000, houve um aumento de aproximadamente 400% de consumo de agrotóxicos (PERES; MOREIRA, 2007). Em 2008, o país ultrapassou os Estados Unidos e assumiu o posto de maior mercado mundial de agrotóxicos (CARNEIRO et al., 2015). Atualmente, o Brasil é o terceiro maior consumidor de agrotóxicos do mundo, ficando atrás somente da China e dos EUA (FAO, 2021).

Os agrotóxicos são substâncias químicas utilizadas para eliminar alguma forma de vida, porém não possuem toxicidade seletiva para o organismo alvo. Logo, o aumento do consumo de agrotóxicos levou a um inevitável aumento de casos de intoxicações humanas por estas substâncias (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2013). Segundo dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), entre os anos de 2007 e 2020 foram registrados aproximadamente 133.000 casos de intoxicações por agrotóxicos (incluindo raticidas) – cerca de 10.000 por ano, 27 por dia. E segundo o Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM), aproximadamente 9.000 óbitos foram causados por agrotóxicos entre 2007 e 2019 – cerca de 700 por ano, 2 por dia (BRASIL, 2021).

Os casos de intoxicação aguda por agrotóxicos de trabalhadores, como os Agentes de Combate às Endemias, profissionais cujas atribuições envolvem o controle químico e biológico integrado de vetores, são comuns em todo o país. Estes trabalhadores também são expostos cronicamente durante décadas a diversos agrotóxicos de diferentes classes químicas e toxicológicas e apresentam sintomatologia já bem relacionada com os efeitos destas substâncias. Portanto, é de grande importância a realização do monitoramento da exposição dos indivíduos que trabalham utilizando estas substâncias (LIMA et al., 2009; LONDRES, 2012).

A partir da década de 1980, com o Plano de Erradicação do *Aedes Aegypti* (PEAa), atualmente substituído pelo Plano Nacional de Controle de Dengue (PNCD), e a proposta mundial de redução da utilização de poluentes orgânicos persistentes, como os organoclorados, que antes eram a classe mais utilizada para este fim, os inseticidas da classe dos organofosforados passaram a ser os mais utilizados em áreas urbanas e rurais (BRAGA; VALLE, 2007; VALLE; PIMENTA; CUNHA, 2015).

Atualmente, as principais classes químicas de inseticidas e larvicidas recomendadas pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e utilizadas no Brasil para o controle químico de vetores urbanos são piretroides, organofosforados, carbamatos (BRASIL, 2012), e mais recentemente, neonicotinoides (BRASIL, 2020a).

Os organofosforados são inseticidas anticolinesterásicos, muito lipossolúveis, podendo assim, serem absorvidos pelo organismo por via cutânea, respiratória e digestiva. Depois, são metabolizados principalmente no fígado e posteriormente eliminados do organismo pela via urinária (FERNÁNDEZ A.; MANCIPE G.; C., 2010).

Durante o processo de metabolização dos organofosforados são gerados os metabólitos alquilfosfatos. Seis destes metabólitos – dimetil fosfato (DMP), dimetil tiofosfato (DMTP), dimetil ditiofosfato (DMDTP), dietil fosfato (DEP), dietil tiofosfato (DETP) e dietil ditiofosfato (DEDTP) – vêm sendo estudados por serem biomarcadores de exposição sensíveis e interessantes e por não serem específicos de um único organofosforado, mas de uma classe comum aos principais organofosforados utilizados atualmente (DRAPER; BEHNIWAL; WIJEKOON, 2008; ODETOKUN et al., 2010).

Esta dissertação tem como objetivo principal realizar uma revisão integrativa sobre os métodos analíticos utilizados para quantificação de metabólitos alquilfosfatos em urina humana, discutindo suas vantagens e limitações, e em estudos de biomonitoramento de diversos desenhos epidemiológicos, discutindo os resultados encontrados.

Esta pesquisa tem sua relevância justificada uma vez que consolida evidências de que a quantificação de metabólitos alquilfosfatos na urina tem sido empregada como um biomarcador de exposição sensível para a avaliação da exposição a organofosforados e bastante utilizado internacionalmente, porém muito pouco explorado no Brasil. É importante, portanto, nortear a atuação dos laboratórios que realizam o diagnóstico a partir de uma atualização dos métodos de biomonitoramento de exposição a organofosforados, que

atualmente é realizado por meio de exames menos específicos, como a quantificação das atividades de colinesterases eritrocitária (AChE) e plasmática (BChE).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. AGROTÓXICOS NA SAÚDE PÚBLICA

O termo agrotóxico é utilizado como sinônimo de pesticida (do inglês, *pesticide*) e praguicida (do espanhol, *plaguicida*); substâncias que, segundo definição da Organização para Alimentação e Agricultura das Nações Unidas (*Food and Agriculture Organization - FAO*) são:

Produtos químicos ou quaisquer substâncias ou mistura de substâncias destinadas à prevenção, à destruição ou ao controle de qualquer praga, incluindo os vetores de doenças humanas ou de animais, que causam prejuízo ou interferem de qualquer outra forma na produção, na elaboração, na armazenagem, no transporte ou na comercialização de alimentos, para os homens ou os animais, de produtos agrícolas e da madeira, ou que podem ser administrados aos animais para combater insetos, aracnídeos ou outras pragas dentro ou sobre os corpos (FAO; WHO, 2015, p. 9).

No Brasil, define-se agrotóxico como:

Produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou implantadas, e de outros ecossistemas e também de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos (BRASIL, 1989, p. 1).

Agrotóxico é um termo geral para designar diversas classes de substâncias que podem ser classificadas pelo organismo alvo, classificação química ou classificação toxicológica.

A classificação segundo os organismos alvo divide os agrotóxicos de acordo com a espécie alvo, sendo inseticidas (insetos); herbicidas (ervas daninhas); fungicidas (fungos); raticidas ou rodenticidas (ratos/roedores); fumigantes (bactérias do solo); desfoliantes (folhas indesejadas); moluscicidas (moluscos); nematocidas (nematóides); acaricidas (ácaros); e escorpionicidas (escorpiões) (PERES; MOREIRA, 2003).

Segundo a classificação química, os agrotóxicos dividem-se de acordo com as classes químicas das substâncias ativas de sua formulação. Temos os inibidores da colinesterase (anticolinesterásicos) como os carbamatos e os organofosforados; e também piretrinas e piretroides; organoclorados; dipiridilos; triazinas; derivados de ureia; nitrocompostos; dentre muitas outras classes (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

Segundo a classificação toxicológica, os agrotóxicos são separados em classes conforme sua Dose Letal 50 (DL₅₀) e Concentração Letal 50 (CL₅₀), sendo estas a dose de uma substância que é necessário ingerir ou administrar para provocar a morte de pelo menos 50% da população em estudo, como mostrado no quadro 1.

Quadro 1. Classificação toxicológica em função da toxicidade aguda oral (DL₅₀), cutânea (DL₅₀) e inalatória (CL₅₀).

Categoria		Categoria 1	Categoria 2	Categoria 3	Categoria 4	Categoria 5	Não classificado
Nome da categoria		Extremamente tóxico	Altamente tóxico	Medianamente tóxico	Pouco tóxico	Improvável de causar dano agudo	Não classificado
Via de exposição oral (mg/kg p.c.)		≤ 5	> 5 - 50	> 50 - 300	> 300 - 2.000	> 2.000 - 5.000	> 5.000
Via de exposição cutânea (mg/kg p.c.)		≤ 50	> 50 - 200	> 200 - 1.000	> 1.000 - 2.000	> 2.000 - 5.000	> 5.000
Via de exposição inalatória	Gases (ppm/V)	≤ 100	> 100 - 500	> 500 - 2.500	> 2.500 - 20.000	> 20.000 - 50.000	
	Vapores (mg/L)	≤ 0,5	> 0,5 - ≤ 2,0	> 2,0 - ≤ 10	> 10 - ≤ 20	> 20 - 50	
	Produtos sólidos e líquidos (mg/L)	≤ 0,05	> 0,05 - 0,5	> 0,5 - 1,0	> 1,0 - 5,0	> 5,0 - 12,5	

Fonte: Adaptado da RDC Nº 294/ ANVISA. BRASIL, 2019.

Esta classificação toxicológica vem sendo utilizada desde julho de 2019 pela ANVISA, que alega a mudança para alinhamento do país ao padrão internacional estabelecido pelo Sistema Globalmente Harmonizado de Classificação e Rotulagem de Produtos Químicos (GHS, na sigla em inglês), cujos critérios foram estabelecidos no âmbito da Organização das Nações Unidas (ONU). O GHS estabelece critérios harmonizados para classificar substâncias e compostos com relação aos perigos físicos, para a saúde e para o ambiente (relacionados às propriedades intrínsecas das substâncias). Em outros países, o GHS refere-se apenas à classificação de perigo e às informações presentes nos rótulos – o uso dos pictogramas e das frases – não tendo qualquer relação com a adoção de critérios menos protetivos para reclassificar os agrotóxicos de acordo com seus efeitos sobre a saúde, como adota a legislação brasileira. A nova classificação toxicológica ignora os resultados dos estudos toxicológicos de irritação dérmica e ocular e de sensibilização dérmica e inalatória, que servem apenas para estabelecer a comunicação do perigo dos produtos – que é feita mediante a apresentação de informações nos rótulos dos produtos, por exemplo. Assim, produtos que antes eram classificados como “extremamente tóxicos” por provocarem corrosão ou serem irritantes

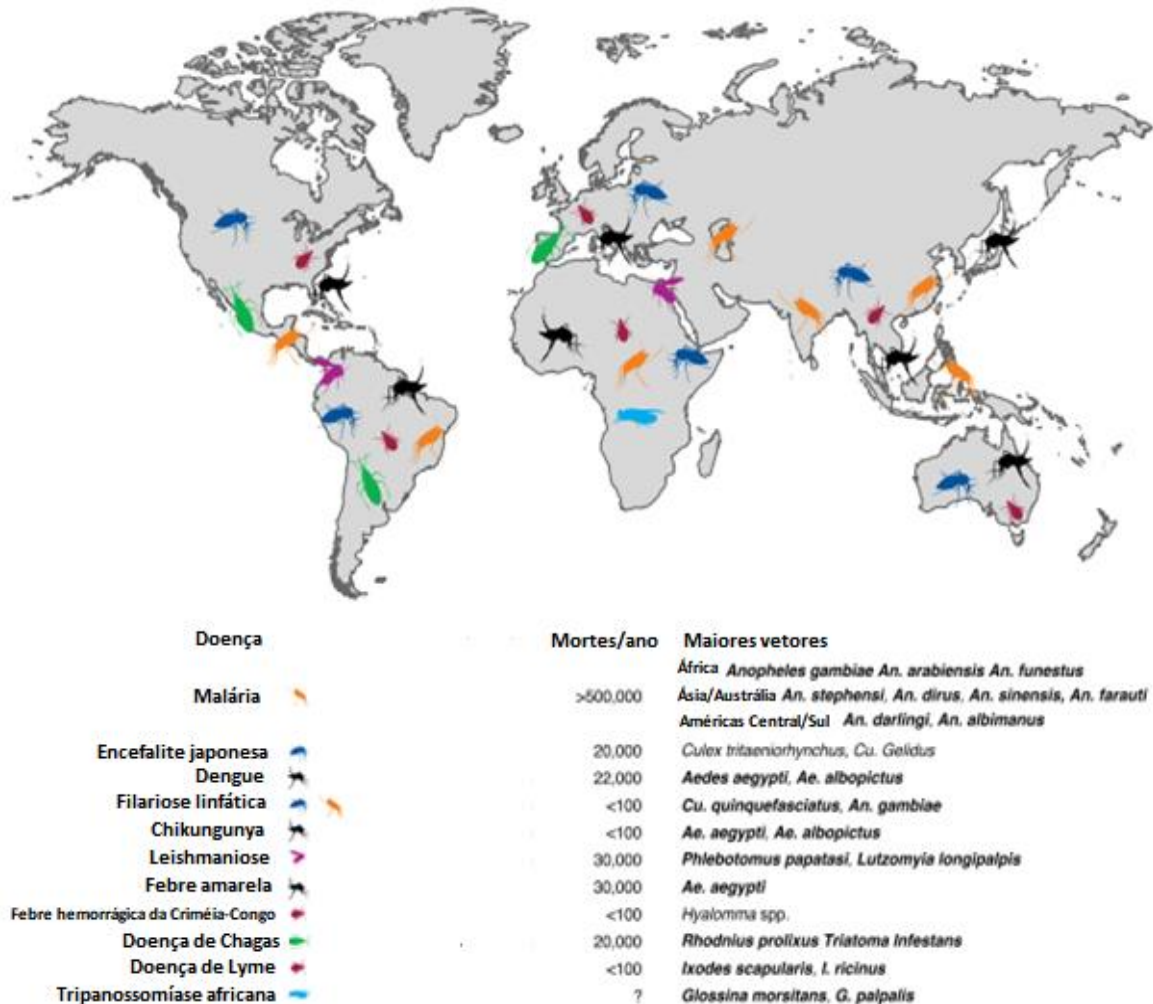
cutâneos ou oculares foram reclassificados em categorias mais brandas, considerando apenas o risco de morte (GT DE AGROTÓXICOS DA FIOCRUZ, 2019).

Na atividade agrícola, a justificativa que normalmente é dada para a utilização excessiva de agrotóxicos é principalmente pela necessidade de produção de alimentos para a crescente população mundial, a preservação de alimentos e materiais, e também a prevenção de doenças nas plantações. Já no meio urbano, os agrotóxicos são utilizados para controle de insetos vetores de doenças, principalmente mosquitos, nas campanhas de saúde pública e nas residências. Seria menos danoso à saúde humana e à saúde do ambiente de forma mais ampla, se os agrotóxicos apresentassem toxicidade para o organismo-alvo em níveis de exposição muito inferiores àqueles capazes de causar efeitos adversos para o homem e para outras espécies “não alvo”. Infelizmente a desejada toxicidade diferencial entre espécies não ocorre para a maioria dos ingredientes ativos disponíveis (SISINNO; OLIVEIRA-FILHO, 2013).

A população da região urbana também está exposta ambientalmente através da ingestão de agrotóxicos em alimentos e água contaminados, em saneantes (produtos como inseticidas e raticidas domésticos e para empresas especializadas, produtos para jardinagem amadora e repelentes), cujas substâncias ativas muitas vezes são as mesmas utilizadas na agricultura e em campanhas de controle de doenças transmitidas por vetores (DTV) (LIMA et al., 2015; LONDRES, 2012; ROSA, 2017).

As DTV são responsáveis por mais de 17% de todas as doenças infecciosas e causam mais de um bilhão de casos e mais de milhão de mortes no mundo anualmente. Apesar de não ser um problema limitado a estas regiões, afetam de forma desproporcional os países das regiões tropical e subtropical do mundo, sendo um complexo dinâmico de fatores ambientais (presença de chuvas e altas temperaturas) e sociais (condições sanitárias e saneamento básico inadequados). A Figura 1 mostra o mapa da distribuição global das principais doenças transmitidas por vetores e os vetores associados (RINKER; PITTS; ZWIEBEL, 2016; WHO, 2014).

Figura 1. Distribuição global das principais doenças transmitidas por vetores e os vetores associados.



Fonte: RINKER; PITTS; ZWIEBEL, 2016.

As principais DTV em situação de controle no Brasil são dengue, zika, chikungunya e febre amarela, transmitidas pelo mosquito *Aedes Aegypti*, e malária, transmitida pelo mosquito *Anopheles*, que desde a década de 1950 vêm tentando ser controladas por um modelo baseado na eliminação dos vetores urbanos com aplicação espacial de agrotóxicos inseticidas em ultrabaixo-volume e de larvicidas nos possíveis criadouros do mosquito. Este modelo “mosquitocêntrico” e químico-dependente mostra-se claramente ineficaz no que se propõe, uma vez que vem sendo utilizado há mais de sete décadas sem nenhum progresso e, além disso, causa exposição da população e de trabalhadores a substâncias nocivas à saúde (GURGEL, 2016; GURGEL GD, 2016).

As exposições podem ocorrer numa única vez a alta dose (ou várias vezes a pequenas doses em até 24 horas) causando intoxicação aguda, ou ainda, por várias vezes a pequenas doses durante meses ou anos, causando exposição crônica. As exposições podem ocorrer também de forma subaguda, devido a exposições repetidas durante um período de até 1 (um) mês; e exposição subcrônica, devido a exposições repetidas durante um período de 1 (um) a 3 meses. (KLAASSEN; WATKINS III, 2012; OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

Os números de intoxicações por agrotóxicos no Brasil são alarmantes. Dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) demonstram que, entre 2007 e 2020, foram mais de 130 mil registros, sendo a tentativa de suicídio a circunstância mais comum dentre as intoxicações por agrotóxicos (53%), seguida pela intoxicação acidental (27%); o uso habitual de agrotóxicos (7,6%); e a exposição ambiental a agrotóxicos (3,8%). Foi observado ainda que 20% foram causadas por exposição ocupacional e 77% foram causadas por exposição aguda a dose única de agrotóxico (BRASIL, 2021).

Dentre os agrotóxicos mais utilizados no controle de vetores no estado do Rio de Janeiro estão os organofosforados malationa, temefós e fenitrotona; os piretroides alfa-cipermetrina, deltametrina e permetrina; piriproxifem (éter piridiloxipropílico); bendiocarbe (carbamato); diflubenzurom (benzoilureia); e *Bacillus thuringiensis var. israelensis* – Bti (larvicida biológico) (AZEVEDO; MEYER, 2017; SILVEIRA, 2020).

2.2. AGROTÓXICOS ORGANOFOSFORADOS

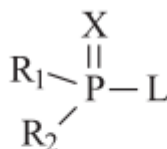
Os primeiros preparados de compostos organofosforados datam na Idade média, mas foi no ano de 1820 que Lassaigne iniciou os estudos sistemáticos destes compostos com a esterificação do ácido fosfórico. Por volta de 1845, Thnard e colaboradores prepararam uma série de derivados de fosfinas e partir de então as pesquisas com estas substâncias ganhou visibilidade. A partir da segunda metade do século XIX, as pesquisas seguiram com Michaelis, A. E. Arbuzov e, mais tarde, pelo seu filho B. A. Arbuzov, além de pesquisadores britânicos e alemães. Suas propriedades tóxicas e inseticidas foram descobertas por Shader e colaboradores, em 1937 (SANTOS et al., 2007).

Os organofosforados são caracterizados por sua neurotoxicidade e alguns como o tabun, o sarin e o soman, ficaram conhecidos por serem amplamente utilizados durante a II Guerra Mundial como armas químicas devido às suas altas neurotoxicidades e letalidades para os mamíferos (SILVA et al., 2012).

A aplicação de compostos organofosforados na agricultura começou em 1941, quando Schrader e colaboradores descobriram o inseticida octametilpirofosforamida (scharadan). Depois deste, um grande número de inseticidas ésteres organofosforados foram sintetizados como o paration, clortiona, fentiona, fenitrotiona, malationa, demetona-S, metamidofós, demifós, fonofós, forato, triclorfom, clorpirifós, temefós, acefato, etc. Apesar da grande similaridade das estruturas das moléculas, a toxicidade deles é menor quando comparada aos agentes químicos neurotóxicos destinados ao uso militar, porém ainda é alta para mamíferos, inclusive seres humanos (SANTOS et al., 2007).

A classe de substâncias dos organofosforados é caracterizada como ésteres ou tióis derivados de ácidos fosfórico, fosfônico, fosfínico ou fosforamídico, tendo sua estrutura básica ilustrada na Figura 2.

Figura 2. Estrutura molecular geral dos agrotóxicos organofosforados.



X = O, S e Se

R₁; R₂ = alquil, SR', OR' ou NHR'

L = halogênios; alquil, aril ou heterocíclicos

Fonte: SANTOS et al., 2007.

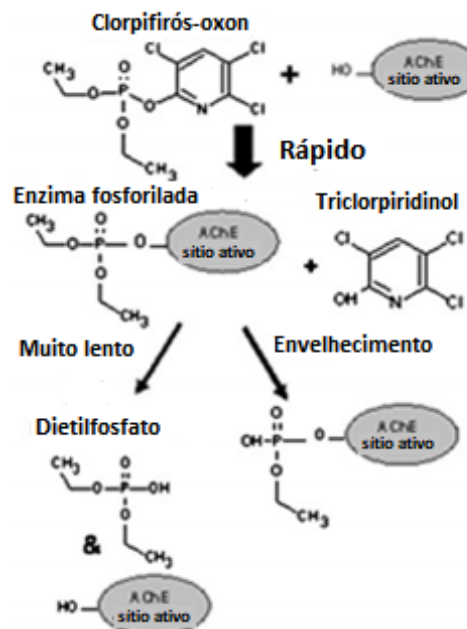
Usualmente, R₁ e R₂ são grupos arilas ou alquilas que são ligados diretamente ao átomo de fósforo, formando fosfinatos, ou através de um átomo de oxigênio ou de enxofre, formando fosfatos e fosforotioatos. R₁ pode também se encontrar diretamente ligado ao átomo de fósforo e R₂ ligado por um átomo de oxigênio ou de enxofre, formando fosfonatos ou tiofosfonatos. Os fosforamidatos apresentam no mínimo um grupo -NH₂ na molécula; os grupos amino dos fosforamidatos podem ser não-substituídos, mono ou di-substituídos, os átomos que podem formar ligação dupla com o fósforo são oxigênio, enxofre, selênio cloro, flúor e os cianofosforados, como, sarin, soman e tabun. O grupo -L pode pertencer a uma variedade de grupos, tais como halogênios, alquila, arila ou heterocíclicos. O grupo -L, ligado através de um oxigênio ou átomo de enxofre, ao átomo de fósforo, é chamado de grupo de saída, que é liberado pelo átomo de fósforo quando o mesmo é hidrolisado pela fosfotriesterase ou pela interação com o sítio da enzima acetilcolinesterase. Os inseticidas

organofosforados são frequentemente encontrados na forma “tio” (P=S), que por dessulfuração metabólica oxidativa produz a forma P=O. Esta forma, presente em sua estrutura molecular ou em seus metabólitos, eleva a toxicidade destes compostos para a espécie humana (HOLLINGWORTH, 1976; CHAMBERS; CARR, 1995; COCKER et al., 2002; KLAASSEN; WATKINS III, 2012).

Os organofosforados são conhecidos, juntamente com os carbamatos, como inseticidas anticolinesterásicos, pois possuem como característica farmacodinâmica a ligação com a zona esterásica da enzima colinesterase para formar uma ligação estável que se não é revertida com o tratamento imediato, torna-se irreversível, deixando a enzima inativa para sua função normal (Figura 3) (FERNÁNDEZ A.; MANCIPE G.; C., 2010).

Em relação à biotransformação, numa primeira fase, esses compostos podem sofrer reações de oxidação, catalisadas pelo citocromo P450, principalmente a enzima CYP3A4, redução e hidrólise (COCKER et al., 2002). Por fim, seus metabólitos podem ser conjugados com glutatona, apresentando subsequente catálise através de glutatona-S-transferases (SINGH et al., 2011).

Figura 3. Interação do metabólito de organofosforado clorpirifós-oxon com o sítio ativo de AChE.



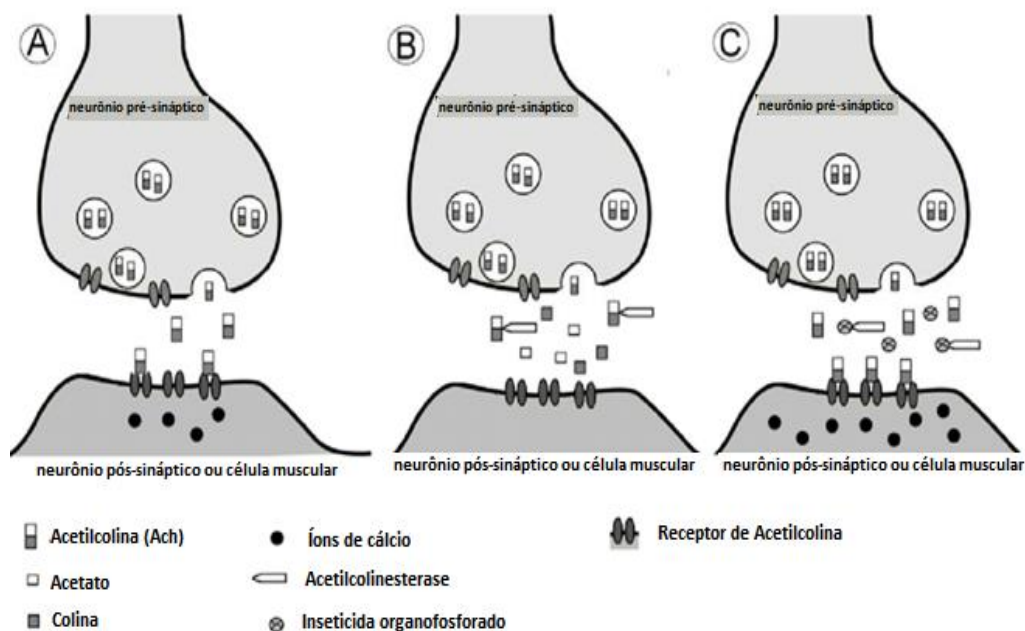
Fonte: Adaptado de GUPTA; MALIK; MILATOVIC, 2011.

Nos insetos, os anticolinesterásicos agem na junção neuromuscular, como mostrado na Figura 4, causando a inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE) cuja função é catalisar a

hidrólise da acetilcolina (ACh) em ácido acético e colina. A acetilcolina é um mediador químico, necessário para transmissão dos impulsos nervosos, e quando a AChE é inibida, ocorre interrupção da transmissão dos impulsos nervosos nas sinapses dos neurônios colinérgicos dos sistemas nervosos central e periférico, levando a paralisia e morte do inseto (SANTOS et al., 2007)

Nos mamíferos, estes compostos têm mecanismo de ação muito semelhante, causando a inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), encontrada nas junções sinápticas e nas hemácias, e a butirilcolinesterase (BChE), encontrada no plasma sanguíneo. Ambas as enzimas são responsáveis pela clivagem da acetilcolina. A inibição da AChE é responsável pelo efeito clinicamente mais significativo desta classe de substâncias, pois leva ao acúmulo de quantidades excessivas de acetilcolina nos receptores do sistema nervoso periférico (muscarínicos e nicotínicos) e do sistema nervoso central, causando síndrome colinérgica já bem caracterizada por broncoespasmo, bradicardia, vômito, diarreia, tremores, fraqueza muscular, miose e sudorese até a morte por insuficiência respiratória (KLAASSEN; WATKINS III, 2012).

Figura 4. Efeito dos agrotóxicos organofosforados na transmissão dos impulsos nervosos.



A - sinalização da acetilcolina na sinapse; B - a acetilcolinesterase interrompe o processo de sinalização; C – organofosforados inibem a acetilcolinesterase. Fonte: LUSHCHAK et al., 2018.

Devido a sua alta lipossolubilidade, a absorção de organofosforados no organismo pode ocorrer por via respiratória, dérmica e digestiva, sendo as duas primeiras comuns em intoxicações ambientais e ocupacionais, e a última mais comum em casos de intoxicação intencional (suicídio e homicídio) (FERNÁNDEZ A.; MANCIPE G.; C., 2010; JUNIOR; ALVES; GUERREIRO, 1999).

Os organofosforados são metabolizados por uma série de enzimas (esterases, transferases e enzimas microssomais), principalmente no fígado, gerando metabólitos específicos de cada substância e alquilfosfatos. Uma vez que entram no organismo, têm meia-vida curta no plasma e um alto volume de distribuição nos tecidos, e posteriormente são eliminados do organismo por via urinária (FERNÁNDEZ A.; MANCIPE G.; C., 2010).

A intoxicação aguda por organofosforados pode causar diversos efeitos neurológicos como ansiedade, confusão, sonolência, instabilidade emocional, convulsões, alucinações, dores de cabeça, insônia, perda de memória e depressão circulatória ou respiratória. O motivo mais comum do óbito causado por estas substâncias é a insuficiência respiratória decorrente de broncoconstrição, broncorreia, depressão respiratória central ou fraqueza/paralisia dos músculos respiratórios. Quando o indivíduo sobrevive à intoxicação aguda, podem apresentar complicações a longo prazo como fraqueza muscular e danos neurológicos como prejuízo na memória, letargia, psicose, irritabilidade e sintomas de Parkinson (ROBB; BAKER, 2020).

A exposição crônica a agrotóxicos, de uma maneira geral, também pode causar diversos danos à saúde, tais como doenças relacionadas à fertilidade, doenças respiratórias, cardiovasculares, hepáticas, renais, gastrointestinais, alérgicas, endócrinas e imunológicas. Alguns podem ter efeito teratogênico, genotóxico, mutagênico e carcinogênico. E os organofosforados são especialmente relacionados a danos neurológicos e alterações no desempenho neurocomportamental, como as disfunções cognitivas, de memória e psicomotora, além de aumento do risco para a doença de Parkinson (BASTOS et al., 2019; HU et al., 2015; ISMAIL et al., 2018; LIMA et al., 2015; LONDRES, 2012; ZEIGELBOIM et al., 2019).

2.3. AGENTES DE COMBATE ÀS ENDEMIAS - BIOMONITORAMENTO DE TRABALHADORES EXPOSTOS A AGROTÓXICOS

Os Agentes de Combate às Endemias (ACE), também conhecidos como guardas de endemias, agentes de saúde pública ou agentes de saúde, dependendo do vínculo trabalhista, e popularmente chamados de “mata-mosquitos”, são servidores públicos ou celetistas que

fazem parte da equipe de vigilância em saúde de secretarias municipais e estaduais de saúde, e atuam na promoção de ações de educação em saúde junto à comunidade e realizam atividades de vigilância, promoção da saúde e ações de prevenção e controle de doenças com a utilização de medidas de “combate” químico e biológico integrado de vetores (BRASIL, 2006a).

Utiliza-se aqui “combate” em oposição a “controle”, pois o termo “combate” remete a uma guerra onde o inimigo são os vetores, as armas são os agrotóxicos e os soldados são os ACE, que, assim como os soldados numa guerra, adoecem e perdem suas vidas em “batalhas”. Essa visão reducionista embasou as estratégias de controle das DTV desde o início e vem se provando ineficaz e obsoleta ao longo do tempo (SAÚDE E TRABALHO MATA MOSQUITO, 2021).

Os casos de intoxicação aguda dos ACE, bem como dos funcionários de empresas “dedetizadoras” e “desratizadoras”, são comuns em todo o país. Estes trabalhadores também vêm sendo expostos cronicamente durante décadas a diversos agrotóxicos de diferentes classes químicas e toxicológicas, sendo alguns destes agrotóxicos utilizados já restritos ou banidos há anos em muitos países europeus e nos Estados Unidos da América (EUA) devido ao seu potencial toxicológico e perigo à saúde. Casos de intoxicações agudas e crônicas com danos como distúrbios neurológicos, transtornos mentais e danos auditivos são alguns exemplos dentre os diversos efeitos deletérios causados por estas substâncias (TEIXEIRA; AUGUSTO; MORATA, 2003; LIMA et al., 2009; LONDRES, 2012; LIMA et al., 2015; AZEVEDO; MEYER, 2017; ISMAIL et al., 2018; BASTOS et al., 2019; ZEIGELBOIM et al., 2019).

A exposição dos ACE do estado do Rio de Janeiro a diversos tipos de riscos (químicos, ergonômicos e de organização do trabalho, sociais, físicos, biológicos, mecânicos e de acidentes) vêm sendo evidenciada pelos próprios trabalhadores e através dos trabalhos do ‘Projeto integrador multicêntrico: Estudo do impacto à saúde de agentes de combate às endemias/guardas de endemias pela exposição a agrotóxicos no estado do Rio de Janeiro’, sendo a exposição química a agrotóxicos uma das maiores preocupações (FIGUEIREDO et al., no prelo; SAÚDE E TRABALHO MATA MOSQUITO, 2018, 2019, 2020; LARENTIS et al., 2020; MEIRELLES et al., 2021; SILVEIRA, 2020; SINDSPREV/RJ, 2019).

A maioria dos trabalhadores desempenha ou já desempenhou função com contato direto com agrotóxicos, como manipulação ou aplicação. Soma-se a isto a inadequação da infraestrutura dos espaços físicos temporariamente utilizados durante as campanhas, chamados de pontos de apoio, onde ficam incorretamente guardados os agrotóxicos e equipamentos, sendo também utilizados para descanso, alimentação e higiene dos

trabalhadores. Além disso, ocorre a manipulação de diversas substâncias tóxicas, muitas vezes sem os equipamentos de proteção individual (EPI) ou com EPI fora da validade ou do prazo de troca por falta de fornecimento por parte do empregador, e treinamentos insuficientes para a realização da atividade, bem como a falta de acompanhamento médico periódico adequado (FIGUEIREDO et al., no prelo; VIDAL, 2021).

Um estudo caso-controle realizado por Azevedo e Meyer (2017) com os ACE atuantes no estado do Rio de Janeiro mostrou a associação positiva de tremor essencial para este grupo de trabalhadores. Os agrotóxicos mais utilizados pelos ACE foram os organofosforados malationa e temefós, e a benzoilureia, diflubenzuron. Destaca-se o predomínio para o sexo masculino e a idade precoce em que os trabalhadores desenvolvem esta doença, quando comparado à média de faixa etária de outros estudos. O tempo de trabalho na aplicação de inseticida/larvicida igual ou superior a 11 anos, a coexposição ocupacional a metais e/ ou solventes e a quantidade de horas trabalhadas diariamente também foram aspectos ocupacionais relevantes para o desenvolvimento da doença (AZEVEDO; MEYER, 2017).

Um bom exemplo para ilustrar a situação-problema discutida é a substância malationa, que é o inseticida organofosforado mais utilizado pelos ACE nos últimos anos (AZEVEDO; MEYER, 2017; SILVEIRA, 2020).

No Brasil, segundo classificação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a malationa é um organofosforado de alta eficácia e menor toxicidade quando comparado com outros organofosforados. É classificado no país como agrotóxico da classe III ou categoria 3 (medianamente tóxico) (BRASIL, 2020b).

As informações sobre a toxicidade e carcinogenicidade da malationa são temas de grande discussão na classe científica. Segundo a Agência de Proteção Ambiental Americana United States Environmental Protection Agency (US EPA, do inglês United States Environmental Protection Agency), agência reguladora responsável por avaliar e classificar os agrotóxicos de acordo com seu perigo para a saúde humana e ambiental, a malationa levanta preocupações quando é utilizado para pulverização aérea, mas não quando é aplicada diretamente no solo; possui baixa a moderada toxicidade aguda para as vias dérmica, oral e inalatória (categoria III/IV); e apresenta evidências sugestivas de carcinogenicidade, mas não suficientes para avaliar potencial carcinogênico em humanos (US EPA, 2013; US EPA, 2016).

A Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC, do inglês *International Agency for Research on Cancer*), agência vinculada a OMS dedicada a pesquisas sobre câncer, classifica as substâncias segundo seus graus de carcinogenicidade em ‘grupo 1:

carcinogênico a humanos’, quando há evidências suficientes de que o agente é carcinogênico para humanos; ‘grupo 2A: provavelmente é carcinogênico a humanos’, quando existem evidências suficientes de que o agente é carcinogênico para animais e evidências limitadas ou insuficientes de que ele é carcinogênico para humanos; ‘grupo 2B: possivelmente carcinogênico a humanos’, quando existem evidências limitadas de que o agente é carcinogênico para humanos e evidências insuficientes de que ele é carcinogênico para animais ou quando não há evidências suficientes em ambos os casos, mas há dados relevantes de que ele possa ser carcinogênico; ‘grupo 3: não classificado como carcinogênico a humanos’, quando as evidências não são adequadas para afirmar que aquele agente é carcinogênico a humanos e animais ou quando o agente não se encaixa em nenhum outro grupo; e ‘grupo 4: provavelmente não é carcinogênico’, quando faltam evidências de que o agente é carcinogênico em humanos ou animais (IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS, 2019)

Em 2017, a IARC alterou a classificação da malationa do grupo 2B para o grupo 2A). Porém, o comitê especializado da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (do inglês *Food and Agriculture Organization - Joint Meeting on Pesticide Residues – FAO/WHO/JMPR*), órgão também vinculado a OMS, criticou a mudança de classificação da malationa pela IARC e minimizou os riscos da substância (IARC WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS, 2017; WHO, 2017).

O fato é que a produção de dados científicos é um processo moroso que precisa cumprir uma série de etapas e requisitos antes de fazer afirmações e, durante este tempo, em meio a este debate entre entidades científicas, os ACE, bem como outras classes trabalhadoras, vêm sendo expostos a uma substância que apresenta grande probabilidade de causar uma doença de tamanha malignidade como o câncer.

Além da malationa, os organofosforados temefós e fenitrothionna também são amplamente utilizados no controle vetorial do estado, sendo o temefós classificado como ‘categoria 3 – medianamente tóxico’ e a fenitrothionna como ‘categoria 2 – altamente tóxico’. Ambos não possuem os graus de carcinogenicidade determinados pela IARC. Os três agrotóxicos têm uso banido ou restrito internacionalmente. Valendo ainda ressaltar que a classificação de substâncias realizada pela IARC e US EPA é um processo contínuo de pesquisa de evidências científicas, portanto, ela pode mudar com o surgimento de novas descobertas (ANVISA, 2020a, 2020b; EUROPEAN COMMISSION, 2021; IARC

WORKING GROUP ON THE EVALUATION OF CARCINOGENIC RISKS TO HUMANS, 2021).

A avaliação da exposição é realizada pelo monitoramento biológico. Dessa forma, a avaliação da magnitude das interações entre o organismo e o agente tóxico pode ser obtida por medições específicas de substâncias biológicas, denominadas bioindicadores ou biomarcadores que, pela comparação dos seus níveis com valores de referência, pode ser usada na avaliação do risco à saúde (OGA; CAMARGO; BATISTUZZO, 2014).

Atualmente o protocolo seguido no país para ações de atenção integral à saúde das populações expostas ocupacionalmente a agrotóxicos preconiza exames hematológicos (hemograma completo com contagem de reticulócitos para avaliar danos a medula óssea e bioquímicos pela avaliação de proteínas totais e frações, eletroforese das globulinas, bilirrubinas totais e frações, fosfatase alcalina, TGO, TGP e GAMAGT para avaliação de danos hepáticos; ureia e creatinina para avaliação de danos renais; TSH, T3 e T4 para avaliação de danos a tireoide; glicemia de jejum (diabetes); exame urinário através de exame de elementos anormais e sedimentoscopia (EAS); e biomarcador de efeito para anticolinesterásicos através da dosagem de acetilcolinesterase plasmática (BChE) quando da suspeita de exposição aguda por organofosforados ou carbamatos e dosagem de acetilcolinesterase verdadeira (AChE) quando da suspeita de exposição crônica por organofosforados ou carbamatos (BRASIL, 2006b). Em termos normativos, o país obedece à Norma Regulamentadora (NR) – 7, que também preconiza como parâmetros para controle biológico da exposição ocupacional a organofosforados e carbamatos a medição da atividade da AChE e da BChE no sangue (BRASIL, 1978).

Estes exames laboratoriais têm como objetivo complementar o acompanhamento periódico anual do estado de saúde geral dos trabalhadores a fim de se descobrir algum possível dano à saúde no início do processo patológico. Embora sejam sensíveis, eles não são específicos para avaliar a exposição a organofosforados, nem mesmo as dosagens das atividades de AChE e BChE, uma vez que se trata de um biomarcador de efeito para agentes anticolinesterásicos (inclui-se aqui os inseticidas carbamatos), tampouco se trata de um exame de caráter preventivo, já que por definição um biomarcador de efeito pressupõe uma alteração bioquímica precoce já existente no organismo para que seja detectado em análise laboratorial. Considera-se que esta alteração bioquímica preceda a um processo patológico, e a detecção desta alteração permite a identificação precoce de uma exposição excessiva e intervenção para prevenir um efeito irreversível. Questiona-se, portanto, se as alterações nas atividades de

AChE e da BChE realmente representam uma alteração ainda reversível e o risco de expor a saúde do trabalhador durante esta alteração (AMORIM, 2003).

Algumas das limitações das dosagens das atividades de BChE e AChE são que estas refletem a absorção de quantidade significativa de organofosforados e pode indicar um possível efeito tóxico, em níveis de exposição elevados, mas não há sensibilidade em baixos níveis de exposição, conseqüentemente, não há sempre uma relação direta e estreita entre o grau de inibição das enzimas e a ocorrência de sintomas do sistema nervoso central, devido a uma considerável variabilidade interindividual nos valores de referência. É prudente comparar o valor obtido em situação de pós-exposição com o valor de referência individual, em situação de pré-exposição, e na ausência de medições pré-exposição, medições em pós-exposição, em diferentes períodos (HE, 1999).

A pesquisa e desenvolvimento de biomarcadores mais específicos melhoram a qualidade da avaliação da exposição aos organofosforados. Uma alternativa relevante aos biomarcadores de efeito são os biomarcadores de exposição (ou dose interna). Trata-se da identificação e quantificação da substância química ou seu produto de biotransformação em fluídos biológicos, como sangue, urina, cabelo, entre outros. Os biomarcadores de exposição refletem a distribuição da substância química ou seu metabólito no organismo. Trata-se da dose interna que foi absorvida pelo organismo diante de uma exposição. Sua quantificação não depende de uma alteração bioquímica e, portanto, oferece mais segurança no que diz respeito à saúde do trabalhador. Uma limitação da utilização desses biomarcadores é o curto tempo entre a exposição e a excreção das substâncias e/ou seus metabólitos, neste caso, que pode ser de algumas horas a poucos dias, portanto, é importante conhecer bem a toxicocinética da substância a ser pesquisada (AMORIM, 2003; OMS, 2011), e também ter a informação precisa sobre a última exposição a esta classe química, sob risco de gerar resultados falso-negativos, caso a exposição tenha ocorrido fora da janela de metabolização-excreção dessas substâncias.

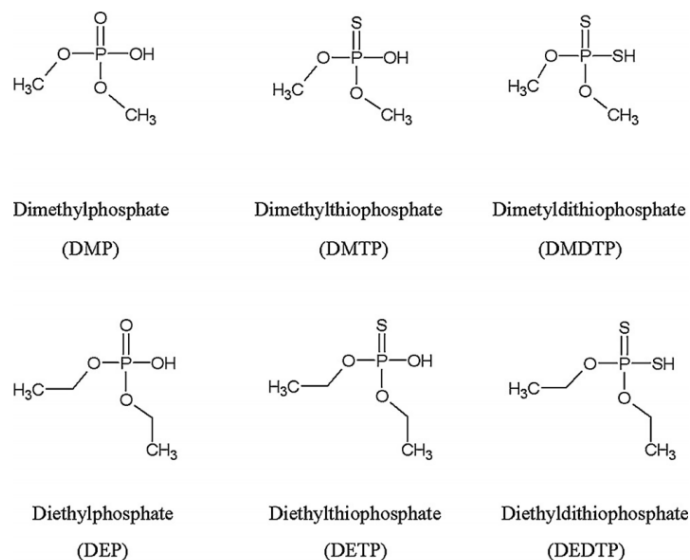
Desde a década de 1970, metodologias de quantificação de alquilfosfatos vêm sendo desenvolvidas e otimizadas, principalmente no Japão e nos EUA (FENSKE; LEFFINGWELL, 1989; SUNAGA et al., 1989a; DRAPER; WIJEKOON; STEPHENS, 1991). Da década de 2000 em diante, esta classe de substâncias passou a ser amplamente estudada e utilizada internacionalmente em pesquisas de desenvolvimento de metodologias de análise simultânea dos 6 alquilfosfatos por cromatografia em fase gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência acopladas a espectrometria de massas; e em biomonitoramento e estudos epidemiológicos (incluindo inquéritos populacionais) no que se trata de exposição a

organofosforados em diversos países, como será amplamente discutido adiante (HERNÁNDEZ; SANCHO; POZO, 2002b; DULAURENT et al., 2006; DRAPER; BEHNIWAL; WIJEKON, 2008; MARGARITI; TSAKALOF; TSATSAKIS, 2007; ODETOKUN et al., 2010a; SUDAKIN; STONE, 2011; THERKORN et al., 2020).

2.4. METABÓLITOS ALQUILFOSFATOS

Durante o processo de metabolização dos inseticidas organofosforados são gerados os metabólitos específicos de cada substância e os metabólitos comuns denominados alquilfosfatos. Seis destes metabólitos – dimetil fosfato (DMP), dimetil tiofosfato (DMTP), dimetil ditiofosfato (DMDTP), dietil fosfato (DEP), dietil tiofosfato (DETP) e dietil ditiofosfato (DEDTP) – vêm sendo estudados por serem biomarcadores de exposição sensíveis e interessantes, por não serem específicos de um único organofosforado, mas ser uma classe comum aos principais organofosforados utilizados atualmente, demonstrados na Figura 5 (DRAPER; BEHNIWAL; WIJEKON, 2008; ODETOKUN et al., 2010),

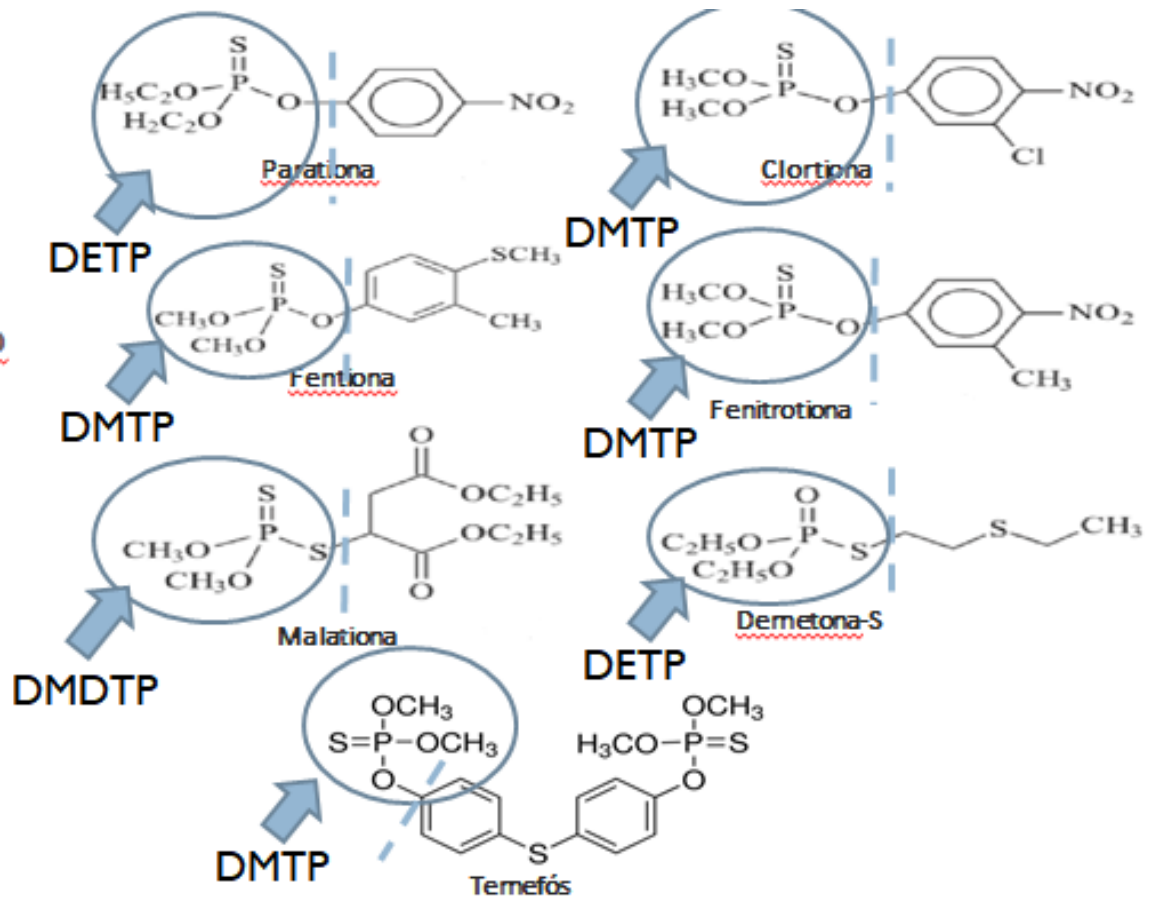
Figura 5. Estrutura molecular dos metabólitos alquilfosfatos.



DMP – dimetil fosfato; DMTP – dimetil tiofosfato; DMDTP – dimetil ditiofosfato; DEP – dietil fosfato; DETP – dietil tiofosfato; DEDTP – dietil ditiofosfato. Fonte: ODETOKUN et al., 2010.

Como exemplo, a Figura 6 demonstra as estruturas de alguns dos organofosforados e dos primeiros alquilfosfatos gerados durante suas metabolizações.

Figura 6. Exemplos de agrotóxicos organofosforados e os alquilfosfatos formados a partir de suas metabolizações.



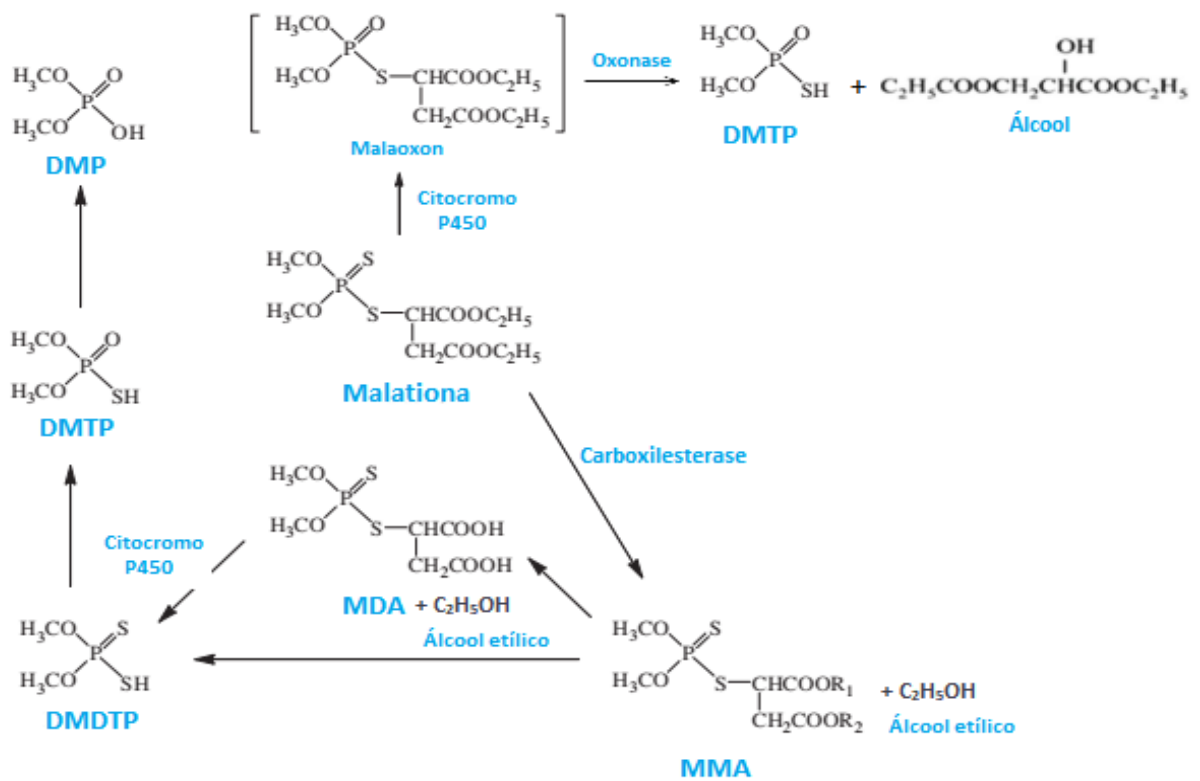
Fonte: Adaptado de SANTOS et al., 2007.

É importante ressaltar que a metabolização de um organofosforado pode gerar mais de um metabólito alquilfosfato. Utilizando como exemplo a malatona (Figura 7), em seu processo de biotransformação hepática, a malatona segue três vias metabólicas: bioativação da molécula pelo citocromo P450 (processo no qual o metabólito gerado é mais tóxico do que a molécula precursora), gerando o metabólito específico malaoxon, que posteriormente será metabolizado por uma oxonase gerando o alquilfosfato DMTP; inativação pela enzima carboxilesterase hepática que catalisa a degradação rápida da malatona a derivados específicos como o malatona ácido monocarboxílico (MMA) e malatona ácido dicarboxílico (MDA); e inativação hepática pelo citocromo P450 gerando o alquilfosfatos DMDTP. Os metabólitos DMTP e DMDTP passam pelo processo de dessulfuração pelo citocromo P450

gerando o alquilfosfato DMP (BADR, 2020; BURATTI et al., 2005; CHEN et al., 2013). Portanto, o biomonitoramento dos metabólitos DMP, DMTP, DMDTP, MMA e MDA envolveriam todas as vias metabólicas possíveis da malationa.

Após a exposição, os alquilfosfatos são excretados na urina em uma proporção de 80 a 90% da dose total dentro de 48 horas, sendo possível detectá-los na urina em até cerca de 96 horas (BICKER et al., 2005; SUNAGA et al., 1989b; WU et al., 2010).

Figura 7. Biotransformação hepática do organofosforado malationa.



Fonte: BADR, 2020; BURATTI et al., 2005; CHEN et al., 2013.

O quadro 2 demonstra todos os alquilfosfatos gerados durante as metabolizações dos principais organofosforados utilizados atualmente.

Quadro 2. Organofosforados mais utilizados e os alquilfosfatos formados a partir de suas metabolizações.

Organofosforado	DMP	DMTP	DMDTP	DEP	DETP	DEDTP
Azinfós metílico	x	x	x			
Cloretoxifós				x	x	
Clorpifirós				x	x	
Clorpirifós metílico	x	x				
Coumafós				x	x	
Diazinona				x	x	
Diclorvós	x					
Dicrotofós	x					
Dimetoato	x	x	x			
Dissulfotona				x	x	x
Etiona				x	x	x
Fenitrotiona	x	x				
Fentiona	x	x				
Fosmete	x	x	x			
Forato				x	x	x
Isazafós metílico	x	x				
Malationa	x	x	x			
Metidationa	x	x	x			
Naled	x					
Oxidemetona metílica	x	x				
Parationa				x	x	
Pirimifós metílico	x	x				
Sulfotepp				x	x	
Temefós	x	x				
Terbufós				x	x	x
Tetraclovifós	x					
Triazofós				x	x	
Triclorfona	x					

Fonte: Adaptado de BRAVO et al., 2004; WESSELS; BARR; MENDOLA, 2003.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é realizar uma revisão integrativa sobre a utilização de métodos analíticos para quantificação de metabólitos alquilfosfatos em urina humana, discutindo suas vantagens e limitações, e em estudos de biomonitoramento de diversos desenhos epidemiológicos, discutindo os resultados encontrados.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar uma revisão integrativa sobre as metodologias analíticas para quantificação de alquilfosfatos em urina humana, discutindo as vantagens e desvantagens de cada uma delas;
- Fazer uma revisão integrativa sobre os estudos epidemiológicos, inclusive os inquéritos populacionais, que utilizaram quantificação de alquilfosfatos em urina humana, discutindo sua comparabilidade ao cenário brasileiro;

4. METODOLOGIA

A revisão de literatura faz parte de todo trabalho científico e pode ser realizada inicialmente a fim de sustentar um estudo ou pode ser a própria finalidade, quando queremos sistematizar o conhecimento já publicado sobre um tema de interesse, conhecendo profundamente o que já é sabido e quais as lacunas no conhecimento do assunto. Consiste em um processo de busca, análise e descrição que permite definir e limitar o problema no qual se está trabalhando, colocar o estudo em uma perspectiva histórica, evitar duplicação desnecessária, avaliar métodos de pesquisa promissores e relacionar as descobertas com conhecimentos anteriores e sugerir pesquisas adicionais (DAVIES, 2011).

As iniciativas recentes de prática baseada em evidências aumentaram a necessidade e a produção de todos os tipos de revisões de literatura. Estas podem ser: revisões sistemáticas, meta-análises, revisões qualitativas ou revisões integrativas (WHITTEMORE; KNAFL, 2005).

A revisão integrativa é a abordagem mais ampla de revisão, pois permite combinar estudos de diversas metodologias (experimental e não experimental) e integrar os resultados, contribuindo desta forma para a apresentação de variadas perspectivas sobre um assunto. O variado quadro de amostragem de revisões integrativas em conjunto com a multiplicidade de propósitos tem o potencial de resultar em um retrato abrangente de conceitos complexos, teorias ou problemas a serem investigados (WHITTEMORE; KNAFL, 2005).

Este tipo de revisão deve ser baseado em critérios e procedimentos explícitos, que sigam rigor metodológico. Para tanto, o método conta com as seguintes etapas: 1) elaborar o tema do estudo (identificação do problema); 2) realizar a pesquisa em bases de dados; 3) organizar os dados coletados; 4) interpretar e avaliar os resultados do estudo; 5) apresentar e divulgar a revisão (BEYEA; NICOLL, 1998; MENDES; SILVEIRA; GALVÃO, 2008).

A identificação do problema surge do fato de que os ACE sofrem exposição ocupacional a agrotóxicos organofosforados e é necessário o biomonitoramento desta exposição através de biomarcadores mais específicos. Porém, atualmente o acompanhamento desta exposição se faz por meio de exames de menor especificidade, como a quantificação da atividade de colinesterases eritrocitária (AChE) e plasmática (BChE). Com o intuito de realizar uma atualização no que se refere a métodos de biomonitoramento de exposição a organofosforados, foi verificado na literatura um vasto material sobre a utilização da quantificação dos metabólitos alquilfosfatos na urina como um biomarcador de exposição

sensível para esta avaliação e que vem sendo bastante utilizado internacionalmente há algumas décadas.

Para guiar a presente revisão integrativa, elaboraram-se as seguintes questões norteadoras: Em que tipo de estudos a quantificação dos metabólitos alquilfosfatos na urina humana vêm sendo utilizados? Os resultados destes estudos demonstram que esta quantificação atende ao propósito do biomonitoramento de exposição a organofosforados? Quais são os métodos analíticos utilizados para a quantificação destes metabólitos?

Na etapa seguinte, para localização dos artigos nas referidas bases de dados, foram selecionadas as palavras-chave relacionadas ao tema “inseticidas organofosforados”. Após a seleção, foi realizada consulta aos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) no sítio <https://decs.bvsalud.org> e ao *Medical Subject Headings* (MeSH) no sítio <https://meshb.nlm.nih.gov>, a fim de identificar os descritores controlados. Em ambas as bases, encontraram-se os seguintes descritores: ‘organofosforados’ (em português) bem como seus respectivos correspondentes ‘organophosphorus compounds’ (em inglês) e ‘compuestos organofosforados’ (em espanhol). Outro descritor identificado foi ‘inseticidas organofosforados’ (em português) bem como seus respectivos correspondentes ‘insecticides, organophosphate’ (em inglês) e ‘insecticidas organofosforados’ (em espanhol). Também foi encontrado o descritor ‘urina’ (em português) bem como seus respectivos correspondentes ‘urine’ (em inglês) e ‘orina’ (em espanhol).

Os termos ‘metabólitos/metabolites’, ‘alquilfosfatos/alkylphosphates’, ‘dialquilfosfatos/dialkylphosphates’ e ‘dialquil fosfato/dialkyl phosphates’ não possuem descritores DeCs/MeSH registrados.

As buscas nas bases de dados foram realizadas entre os dias 10 e 14 de maio de 2021.

Para a seleção dos artigos foram utilizados os seguintes critérios:

- Critérios de inclusão:
 - Artigos, dissertações e teses publicados entre os anos de 2000 e 2021;
 - Trabalhos nos idiomas inglês, português e espanhol;
 - Trabalhos com dados primários sobre métodos analíticos, estudos epidemiológicos ou biomonitoramento de alquilfosfatos originados de exposição a organofosforados em urina humana;

- Critérios de exclusão:
 - Monografias, editoriais, manuais, livros, capítulos de livros;

- Trabalhos que tratassem de análise de alquilfosfatos em outras matrizes biológicas senão a urina humana (p.e.: cabelo, sangue, urina de não-humanos);
- Trabalhos publicados em anos anteriores ao ano de 2000;
- Artigos de revisão (dados secundários);
- Artigos sobre retardantes de chamas.

Na base de dados MEDLINE/Pubmed, a fim de combinar os descritores e os termos de forma que fosse possível rastrear o maior número de artigos e identificar quais termos são mais utilizados para o tema da pesquisa, uma vez que existem termos sem descritores registrados, utilizou-se como estratégias de busca os operadores booleanos ‘AND’ a fim incluir os termos de interesse para a pesquisa e ‘NOT’ a fim de excluir o termo ‘retardant’ uma vez que alguns compostos alquilfosfatos (de estruturas químicas diferentes dos originados de inseticidas organofosforados) são encontrados em retardantes de chamas, interferindo negativamente no resultado da busca. Os termos utilizados foram no idioma inglês.

Na base de dados *Scientific Electronic Library Online* (SciELO), devido ao número muito limitado de artigos publicados sobre o tema de interesse, os termos ‘alquilfosfatos/alkylphosphates’, ‘dialquil fosfatos/dialkyl phosphates’ e ‘dialquilfosfatos/dialkylphosphates’ foram pesquisados separadamente sem combinação com outro termo, nos idiomas inglês e português.

Na base de dados Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD) foram pesquisados os termos ‘alkylphosphates/alquilfosfatos’, ‘dialquil fosfatos/dialkyl phosphates’ e ‘dialkylphosphates/dialquilfosfatos’, nos idiomas inglês e português.

A estratégia de busca foi sintetizada no quadro 3 para melhor compreensão.

Quadro 3. Estratégia de busca na base de dados MEDLINE/Pubmed, Scielo e BDTD

Base de dados	Combinação da busca						
MEDLINE/Pubmed	Alkylphosphates	AND	urine	NOT	retardant		
	dialkyl phosphates	AND	urine	NOT	retardant		
	dialkylphosphates	AND	urine	NOT	retardant		
	organophosphorus compounds	AND	metabolites	AND	urine	NOT	retardant
	organophosphate	AND	metabolites	AND	urine	NOT	retardant
Scielo	alquilfosfatos/alkylphosphates						
	dialquil fosfatos/dialkyl phosphates						
	dialquilfosfatos/dialkylphosphates						
	organophosphorus compounds		AND	metabolites			
	Organofosforados		AND	metabólitos			
	organophosphate		AND	metabolites			
BDTD	alkylphosphates/alquilfosfatos						
	dialkylphosphates/dialquilfosfatos						

Fonte: Própria autoria.

Para realização da revisão integrativa foi realizada pré-seleção dos artigos localizados nas referidas bases de dados, por meio da leitura do título e do resumo, e quando surgiram dúvidas em relação ao conteúdo do estudo, o artigo foi pré-selecionado para leitura na íntegra, de modo a decidir quanto à inclusão ou não do mesmo.

Os artigos selecionados foram agrupados de acordo com o delineamento da pesquisa nas categorias “desenvolvimento de metodologia analítica para quantificação de alquilfosfatos urinários” e “estudos epidemiológicos que utilizaram quantificação de alquilfosfatos em urina humana”.

Na categoria “desenvolvimento de metodologia analítica para quantificação de alquilfosfatos urinários” foram selecionados artigos que possuíam como principal foco dissertar sobre o processo de desenvolvimento e validação de metodologia analítica para este escopo.

Na categoria “estudos epidemiológicos que utilizaram quantificação de alquilfosfatos em urina humana” foram selecionados artigos que possuíam como principal foco dissertar sobre um estudo epidemiológico (estudo transversal, estudo de coorte, estudo de caso-controle, estudo de campo ou inquérito populacional) que utilizou determinação dos níveis de alquilfosfatos em urina humana.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

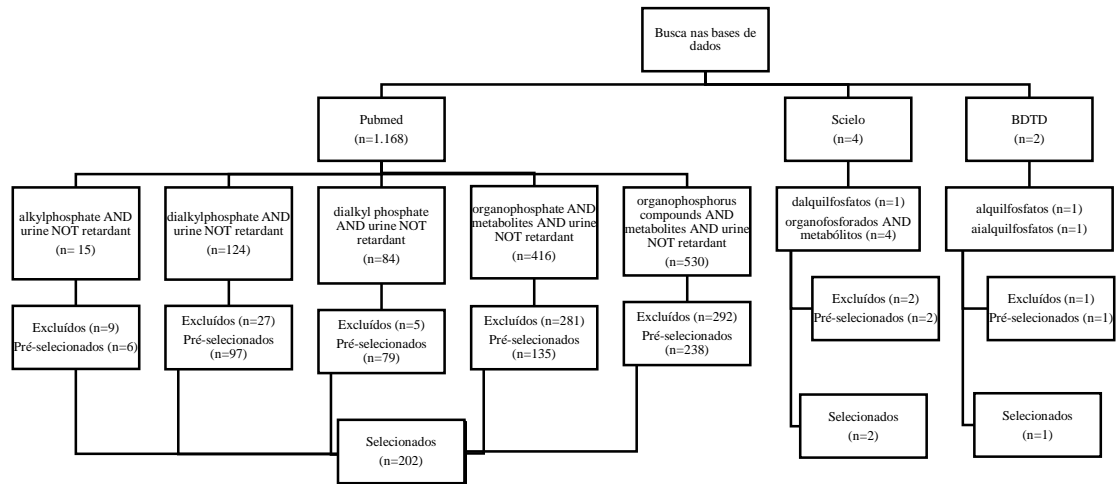
Na base de dados MEDLINE, via portal PubMed, a busca entre os anos de 2000 e 2021, com os descritores “alkylphosphates AND urine NOT retardant” resultou em 15 artigos, sendo 9 excluídos e 6 selecionados para análise. A busca por “dialkyl phosphates AND urine NOT retardant” resultou em 84 artigos, sendo 5 excluídos e 79 selecionados para análise. Já a busca por “dialkylphosphates AND urine NOT retardant” resultou em 124 artigos, sendo 27 excluídos e 97 selecionados para análise. Os termos “organophosphate AND metabolites AND urine NOT retardant” resultou em 416 artigos, sendo 280 excluídos e 136 selecionados para análise. Os termos “organophosphorus compounds AND metabolites AND urine NOT retardant” retornaram 530 artigos, sendo 292 excluídos e 238 selecionados para análise. Após a retirada de artigos pelos critérios de exclusão e dos artigos duplicados, permaneceu um total de 202 artigos que foram selecionados para serem melhor avaliados.

O levantamento na base de dados Scielo (www.scielo.org), entre os anos de 2000 e 2021, não retornou nenhum resultado com os termos “alquilfosfatos/alkylphosphates”, e “dialquilfosfatos/dialkylphosphates”; e retornou 1 resultado com o termo “dialquil fosfatos/dialkylphosphates”, porém este foi excluído por se tratar de quantificação de alquilfosfatos em urina de rato. A busca com os termos "organophosphorus compounds AND metabolites" não retornou nenhum resultado, porém, a busca com os termos “organofosforados AND metabólitos” retornou 4 resultados, 2 artigos foram excluídos e 2 foram selecionados para análise. A busca com os termos "organophosphate AND metabolites" retornou 4 resultados, 2 artigos foram excluídos e 2 foram selecionados para análise. Após a retirada de artigos pelos critérios de exclusão e dos artigos duplicados, a busca retornou um total de 2 artigos que foram selecionados para serem melhor avaliados.

Na base de dados Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD), a busca pelo termo “alquilfosfatos/alkylphosphates” resultou em 1 (um) artigo, que foi excluído por não se tratar do tema de estudo. Já a busca pelo termo “dialquilfosfatos/dialkylphosphates” resultou em 1 (uma) tese, que foi selecionada para a revisão e agrupada à categoria “estudos epidemiológicos que utilizaram quantificação de alquilfosfatos em urina humana”.

A Figura 8 mostra, de forma esquemática, as buscas realizadas e amostragem da revisão integrativa.

Figura 8. Fluxograma da pesquisa na base de dados.

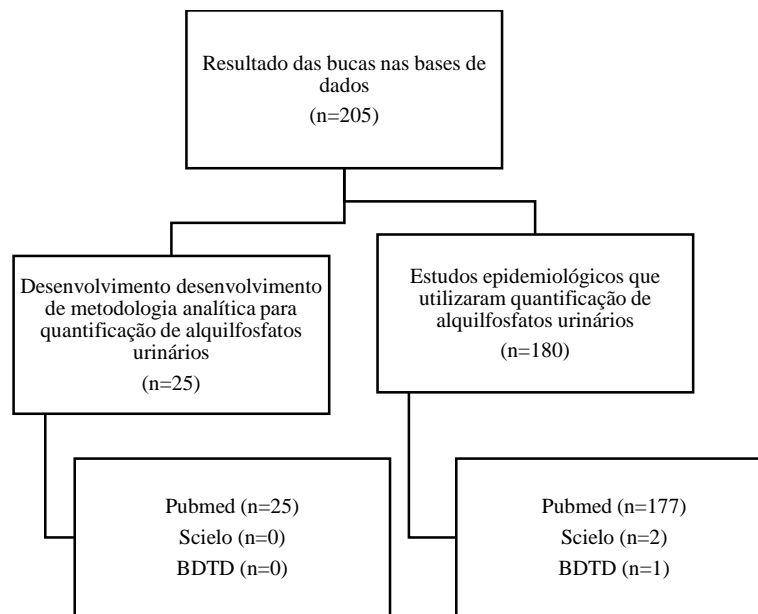


Fonte: Própria autoria.

Na etapa de organização dos dados coletados, procedeu-se uma avaliação geral dos 205 estudos incluídos na revisão, de modo a se produzir um agrupamento inicial dos artigos divididos quanto aos termos e descritores associados ao tema. Após essa avaliação inicial, os artigos selecionados foram agrupados de acordo com o delineamento de pesquisa nas seguintes categorias: desenvolvimento de metodologia analítica para quantificação de alquilfosfatos urinários (n=25) e estudos epidemiológicos que utilizaram quantificação de alquilfosfatos em urina humana (n=180) (Figura 9).

Os resultados de cada categoria serão discutidos separadamente nos subcapítulos a seguir.

Figura 9. Fluxograma dos resultados quantitativos encontrados na pesquisa.



Fonte: Própria autoria.

5.1. DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DE ALQUILFOSFATOS EM URINA HUMANA

O desenvolvimento de qualquer método novo ou aprimorado geralmente adapta as abordagens e instrumentação existentes para o analito atual, bem como para as necessidades ou requisitos finais do método. O desenvolvimento do método geralmente requer a seleção dos requisitos do método e a decisão sobre que tipo de instrumentação utilizar e porquê. No estágio de desenvolvimento, as decisões relativas à escolha da coluna, fase móvel, detector (es) e método de quantificação devem ser abordadas. Uma vez que o instrumental foi escolhido e os parâmetros do analito foram considerados, padrões devem ser usados para o desenvolvimento contínuo, otimização e validação do método. Alguns parâmetros devem ser verificados, incluindo a porcentagem de recuperação do método de extração, sensibilidade, especificidade, reprodutibilidade, limites de detecção, limites de quantificação, linearidade dos gráficos de calibração, robustez, entre outros (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA, 2018; SWARTZ; KRULL, 1997).

Na categoria de artigos de desenvolvimento de metodologia analítica para quantificação de alquilfosfatos em urina humana (n=25) foram analisados os seguintes dados:

autores, país onde o estudo foi realizado, tamanho da amostra de urina, método de concentração da urina, método de identificação e de quantificação, porcentagem de recuperação do método de extração e limites de detecção e quantificação do método, quando disponíveis. Para melhorar organização da categoria, ela foi subdividida quanto aos métodos de extração (pré-concentração) utilizados em cada método.

Alguns destes artigos traziam também resultados de aplicação da metodologia em uma população (n=14). Neste caso, os resultados também serão discutidos na categoria “estudos epidemiológicos que utilizaram quantificação de alquilfosfatos urinários”.

5.1.1. Extração líquido-líquido (ELL)

A ELL baseia-se na partição da amostra entre duas fases imiscíveis (orgânica e aquosa) e na afinidade do analito por cada uma dessas fases. É bastante utilizada pela simplicidade de manipulação e fácil disponibilidade de materiais, não sendo necessário nenhum aparato sofisticado para a sua realização. Porém é um método demorado, que utiliza grandes volumes de amostra, solventes e reagentes, os quais muitas vezes são tóxicos para a saúde humana e ambiental, tem baixo potencial de extração de analitos hidrofílicos, promove a decomposição de compostos instáveis termicamente e é de difícil automação (QUEIROZ; COLLINS; JARDIM, 2001).

A ELL foi utilizada em 9 (36%) artigos (APREA et al., 2000; HARDT; ANGERER, 2000; DULAURENT et al., 2006; UYAMA et al., 2006, 2010b; PRAPAMONTOL et al., 2014; WU et al., 2010; FERNÁNDEZ et al., 2019b).

Aprea e colaboradores (2000) utilizaram em seu estudo uma metodologia desenvolvida anteriormente (APREA; SCIARRA; LUNGHINI, 1996). Foram utilizados 2 mL de urina e 14 mL de acetonitrila para a ELL. A mistura foi agitada sob vórtex e centrifugada por 10 minutos a 2.500 RPM. A fase orgânica foi concentrada por evaporação a 30°C em fluxo de nitrogênio. O resíduo seguiu para derivatização com 1 mL de acetonitrila e 25 µL de brometo de pentafluorobenzil em repouso de 90 minutos. Novamente foi feita evaporação em fluxo de nitrogênio, com adição de pequena quantidade de carbonato de potássio anidro e 5 mL de hexano. O sobrenadante contendo os alquilfosfatos foi separado em outro frasco e concentrado até 1 mL após passar por um *clean up* por EFS em coluna ciano. Nesta etapa do processo foram extraídos os alquilfosfatos DETP, DEDTP, DMTP e DMDTP. Para a extração do DMP e DEP, após a extração com hexano adicionou-se pequena quantidade de carbonato

de potássio anidro, 1 mL de acetonitrila e 25 μL de brometo de pentafluorobenzil em banho-maria a 90°C por 120 minutos. Após resfriamento, adicionou-se 1 mL de água, 7 mL de hexano com agitação em vórtex por 1 minuto. Após centrifugação, os extratos foram misturados e desidratados com sulfato de sódio anidro e o hexano recuperado foi concentrado até cerca de 1 mL e purificado por EFS em coluna ciano. Foi adicionado padrão interno e então a amostra foi analisada por cromatografia em fase gasosa com coluna SPB 20 (30 m x 0,32 mm, 0,25 μm), com gás hélio como fase móvel, acoplada à fotometria de chama. As médias de percentual de recuperação e os limites de detecção do método foram, respectivamente, DMP 100% e 3 $\mu\text{g L}^{-1}$; DEP 87,9% e 3 $\mu\text{g L}^{-1}$, DMTP 85,8% e 2 $\mu\text{g L}^{-1}$, DETP 99,2% e 2 $\mu\text{g L}^{-1}$, DMDTP 90% e 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ e DEDTP 101% e 2 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Hardt e Angerer (2000) realizaram o pré-tratamento em 5 mL de urina com 4 g de cloreto de sódio, 100 μL de dibutilfosfato (padrão interno), 1 mL ácido clorídrico a 6 mol L^{-1} e 5 mL de solução de acetonitrila/dietileter 1:1 (v/v). A mistura foi agitada por 5 minutos e centrifugada por 5 minutos a 1.500g. A fase orgânica foi transferida para outro frasco onde foram adicionados 10 mg de carbonato de potássio. O procedimento foi repetido e as fases orgânicas dos dois extratos adicionadas num mesmo frasco. Posteriormente o extrato foi centrifugado a vácuo a temperatura ambiente até 1 mL. A secagem foi feita por evaporação em fluxo de nitrogênio. 750 μL de acetonitrila foram adicionados ao resíduo que passou por nova evaporação em fluxo de nitrogênio. O resíduo seco foi suspenso em 1,5 mL de acetonitrila e derivatizado com 5 mg de carbonato de potássio e 150 μL de solução de brometo de pentafluorobenzil/acetonitrila 1:2 (v/v). A mistura foi deixada em repouso a 40°C por 15 horas. Posteriormente foi deixada a temperatura ambiente para adição de 5 mL de água e 5 mL de n-hexano. O éster de pentafluorobenzil foi extraído por agitação por 5 minutos seguido de centrifugação por 5 minutos a 1.500g. A extração foi repetida. A fase orgânica foi evaporada em fluxo de nitrogênio até 1 mL. Foram adicionados 200 μL de tolueno. O volume final de 150 μL da amostra foi analisado por cromatografia em fase gasosa com coluna DB-5MS (60 m x 0,25 mm, 0,25 μm), gás hélio como fase móvel, acoplada à espectrometria de massas. O percentual de recuperação foram DMP 88-108%, DEP 100-114%, DMTP 71-89%, DETP 72-88%, DMDTP 75-85% e DEDTP 68-83%. Os limites de detecção foram de 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para DMP e 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ para DEP, DETP, DEDTP, DMTP e DMDTP.

A metodologia de Dulaurent e colaboradores (2006) utilizou 5 mL da amostra de urina, 4 g de cloreto de sódio, 25 μL de solução de padrão interno e 1 mL de ácido clorídrico 6 M. A mistura foi extraída com 5 mL de dietiléter, sob agitação por 15 minutos e centrifugação por 5 minutos a 3.000 RPM. A fase orgânica foi separada e repetiu-se a

extração na fase aquosa com 5 mL de acetato de etila. As fases orgânicas foram misturadas. O extrato foi evaporado em fluxo de nitrogênio a 30°C e o resíduo seco reconstituído com 80 µL de formiato de amônio 2 mM (pH 3.0) /metanol (50/50, v/v). Finalmente, 2 µL da amostra foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência com coluna C₁₈ (150 mm x 1,0 mm, partículas de 5,0 µm) e fase móvel de acetonitrila e formiato de amônio 2mM (pH 3.0) com gradiente de acetonitrila: 0–1 min, 30%; 1–6 min, 30–50%; 6–8 min, 50–70%; 8–9 min, 70–90%; 9–11 min, 90%; 11–12 min decresce de 90 para 30%; 12–22 min, equilíbrio da coluna com 30% de acetonitrila. O sistema era acoplado a um espectrômetro de massas com triplo-quadrupolo (CLAE-EM/EM) em modo negativo. O percentual de recuperação e os limites de detecção do método foram, respectivamente, DMP 13-19,4% e 1,3 µg L⁻¹; DEP 50,2-88,5% e 0,7 µg L⁻¹; DMTP 25,2-96,2% e 1,1 µg L⁻¹; DETP 49,5-99,8% e 0,5 µg L⁻¹; DMDTP 67,5-91,8% e 1,1 µg L⁻¹; DEDTP 58,5-90,6% e 0,9 µg L⁻¹ (DULAURENT et al., 2006).

Já Ueyama e colaboradores (2006) realizaram pré-tratamento com adição de 5 mL de urina, 5g de cloreto de sódio, 25 µL de dibutilfosfato (padrão interno), 1 mL de ácido clorídrico 6M, 50 mg de dissulfeto de sódio e 5 mL de solução de dietiléter em acetonitrila (1:1, v/v). Em seguida a mistura foi agitada por 5 minutos e centrifugada por 5 minutos a 2.000g a 4°C. A fase orgânica foi então transferida para outro tubo contendo 15 mg de carbonato de potássio. A fase aquosa passou por nova extração com 5 mL de solução de dietiléter em acetonitrila (1:1, v/v) e juntas a fase orgânica da segunda extração à primeira. O extrato foi evaporado em fluxo de nitrogênio a 45°C. Na etapa de derivatização, ao extrato seco foram adicionados 50 µL de brometo de pentafluorobenzil, 1 mL de acetonitrila e 15 mg de carbonato de potássio, seguindo para incubação em banho-maria a 80°C por 30 minutos. Em seguida, adicionou-se 4,5 mL de água e 4,5 mL de n-hexano ao extrato com agitação por 5 minutos e centrifugação por 5 minutos a 2.000g. O sobrenadante foi transferido para novo frasco. A fase aquosa passa por nova extração com 4,5 mL de n-hexano. Juntou-se os dois sobrenadantes. O extrato passou por um *clean up* em coluna contendo 0,3g de florissil, 0,1g de bondesil-PSA e 0,5g de sulfato de sódio anidro lavada com 5 mL de solução de acetona/n-hexano (2:98, v/v). A eluição foi realizada com 5 mL de solução de acetona/n-hexano (15:85, v/v) e o extrato foi evaporado em fluxo de nitrogênio a 45°C. O resíduo foi reconstituído com 200 µL tolueno e analisado por cromatografia em fase gasosa com coluna DB-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,1 µm) acoplada à espectrometria de massas. O percentual de recuperação e os limites de detecção do método foram, respectivamente, para DMP 57-68% e 0,3 µg L⁻¹; DEP

78-86% e $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$; DMTP 88-104% e $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$; DETP 84-92% e $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ (UEYAMA et al., 2006).

Em 2010, Ueyama e colaboradores otimizaram seu método reduzindo o volume de amostra para 2,5 mL de urina, 20 μL de dibutilfosfato (padrão interno), 2,5 g de cloreto de sódio, 1 mL de ácido clorídrico 6M, 50 mg de dissulfeto de sódio e 2,5 mL de solução de dietiléter em acetonitrila (1:1, v/v). Após agitação mecânica vigorosa por 5 minutos, o extrato foi centrifugado a 1500g por 5 minutos em temperatura ambiente. O sobrenadante contendo os alquilfosfatos foi passado através de uma coluna de 1 g de sulfato de sódio anidro e coletado em outro tubo contendo 15 mg de carbonato de potássio. A fase aquosa foi reextraída com 2,5 mL de éter dietílico-acetonitrila (1:1, v/v) e depois centrifugada. O sobrenadante obtido da segunda extração foi passado através da coluna de sulfato de sódio anidro e combinado com o primeiro extrato. O extrato resultante foi evaporado a 40°C até a secura em fluxo de nitrogênio por 1 hora. Na etapa de derivatização, ao extrato seco foram adicionados 10 μL de brometo de pentafluorobenzil, 1 mL de acetonitrila e 15 mg de carbonato de potássio e incubados em um bloco de aquecimento a 80°C por 30 minutos com agitação ocasional. Em seguida, adicionou-se 3 mL de água e 3 mL de n-hexano ao extrato que passou por agitação de 5 minutos e centrifugação por 5 minutos a 1.500g. O sobrenadante foi transferido para novo frasco e a mistura passou por nova extração com 3 mL de n-hexano. O sobrenadante da segunda extração foi adicionado ao da primeira extração. O extrato passou por um *clean up* em coluna contendo 0,3g de florisil, 0,1g de bondesil-PSA e 0,5g de sulfato de sódio anidro lavada com 5 mL de solução de acetona/n-hexano (2:98, v/v) para remover o brometo de pentafluorobenzil que não reagiu. A eluição foi realizada com 5 mL de solução de acetona/n-hexano (15:85, v/v). O extrato foi evaporado em fluxo de nitrogênio a 45°C por 15 minutos. O resíduo foi reconstituído com 200 μL tolueno e analisado por cromatografia em fase gasosa com coluna Rtx-65 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm) acoplada à espectrometria de massas. O percentual de recuperação e os limites de detecção do método foram, respectivamente, DMP 63-71% e $0,15 \mu\text{g L}^{-1}$; DEP 86-90% e $0,07 \mu\text{g L}^{-1}$; DMTP 83-88% e $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$; DETP 92-102% e $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$. Os limites de quantificação foram DMP $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$; DEP $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$; DMTP $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$; DETP $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ (UEYAMA et al., 2010b).

Wu e colaboradores desenvolveram o método a partir de 1mL de urina adicionados de 250 μL de um dibutilfosfato a 4 ng L^{-1} e 4 mL de acetonitrila. Após agitação em vórtex por 5 minutos, a amostra foi centrifugada a 1.200g por 5 minutos. O sobrenadante foi transferido para outro tubo e posteriormente evaporado em fluxo de nitrogênio a 70°C para um volume de 0,5 mL. O resíduo foi reextraído com 3 mL de acetonitrila e adicionado de 1 g de sulfato de

sódio, agitado por 10 minutos e centrifugado. O extrato resultante foi evaporado sob um fluxo suave de nitrogênio a 70°C até 0,1 – 0,2 mL. Para a derivatização foram adicionados 20 mg de carbonato de potássio e 25 µL de brometo de pentafluorobenzil e aquecido a 50°C por 16 horas. Os resíduos foram reconstituídos com 100 µL de tolueno para análise por cromatografia em fase gasosa acoplada a detector de fotometria de chama com coluna BP-10 (25 m x 0,33 mm x 0,25 µm). O percentual de recuperação foi DMP 62-76%; DEP 84-95%; DMTP 64-76%; DETP 83-98%; DMDTP 68-78%; e DEDTP 86-95%. Os limites de detecção do método foram entre 2 e 10 µg L⁻¹ (WU et al., 2010).

Prapamontol e colaboradores (2014) realizaram uma validação cruzada comparando dois métodos distintos de quantificação de alquilfosfatos urinários: cromatografia em fase gasosa acoplada a detector de fotometria de chama (CG-DFC) e cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM). Para a preparação da amostra no método CG-DFC a amostra de 5 mL de urina foi misturada a 2 g de cloreto de sódio, em seguida, foram adicionados 50 µL de dibutilfosfato a 1,25 µg L⁻¹ e 1 mL de ácido clorídrico 6N. A amostra foi extraída por ELL com 5 mL de acetona/acetato de etila (1:1, v/v) e após agitação mecânica vigorosa por 5 minutos, a amostra foi centrifugada a 800g por 5 minutos. O sobrenadante foi transferido para um tubo contendo 20 mg de carbonato de potássio e a amostra foi reextraída com 5 mL de acetona/acetato de etila (1:1, v/v). Os sobrenadantes foram combinados. O extrato foi evaporado a 37°C por um evaporador rotativo até 0,5 mL. Em seguida adicionou-se 2 mL de acetonitrila e a amostra foi levada à secura. O resíduo seco foi redissolvido três vezes com 1 mL de acetonitrila e as soluções foram combinadas em um tubo de ensaio contendo 20 mg de carbonato de potássio. Para a derivatização, 50 µL de brometo de pentafluorobenzil foram adicionados e a amostra foi incubada a 50°C por 15 horas. Após a derivatização, 4 mL de água foram adicionados à amostra. Os derivados foram extraídos duas vezes com 5 mL de hexano e as camadas de hexano combinadas. Em seguida, a solução foi evaporada sob fluxo de nitrogênio em banho-maria com temperatura entre 35 e 40°C. Os resíduos secos foram dissolvidos com 200 µL de tolueno para análise por GC-DFC com coluna Agilent HP-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm).

Já para a preparação da amostra para análise pelo método CG-EM, a amostra de urina de 2,5 mL foi misturada a 2 g de cloreto de sódio. Em seguida, 50 µL de dibutilfosfato a 1,25 µg L⁻¹ e 1 mL de ácido clorídrico 6N foram adicionados. A amostra foi extraída por extração líquido-líquido com 3 mL de acetonitrila:éter dietílico (1:1, v/v). Após agitação mecânica vigorosa por 3 minutos, a amostra foi centrifugada a 600g por 2 minutos. Este procedimento foi realizado mais duas vezes e os sobrenadantes combinados foram filtrados em coluna

contendo 1 g de sulfato de sódio anidro e transferida para um tubo de ensaio contendo 25 mg de carbonato de potássio. O extrato foi evaporado a 50°C até 0,5 mL. Em seguida, adicionou-se 1 mL de acetonitrila e a amostra foi então levada à secura. Antes da derivatização, o resíduo seco foi redissolvido com 1,5 mL de acetonitrila e evaporado novamente. Para a derivatização, 150 µL de solução de brometo de pentafluorobenzil:acetonitrila (1:2, v/v) e 20 mg de carbonato de potássio foram adicionados e a amostra foi incubada a 80°C por 30 minutos. Após a derivatização, 3 mL de água e 3 mL de hexano foram adicionados à amostra. A amostra foi então misturada em vórtex por 3 minutos e centrifugado a 600g por 5 minutos. Este procedimento de extração foi realizado mais uma vez e as camadas de hexano combinadas. A mistura foi passada em coluna contendo 0,5 g de sulfato de sódio anidro. Depois disso, a solução foi evaporada até secura e reconstituída com 50 µL de tolueno para análise por CG-EM com coluna HP-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm).

As porcentagens de recuperação do método CG-DFC e do método CG-EM foram, respectivamente, DMP 94-103% e 94-98%; DEP 100-103% e 92-96%; DMTP 110-118% e 98-103%; DETP 103-116% e 98-100%; DMDTP 110-119% e 98-100%; e DEDTP 110% e 97-99%.

Os limites de detecção do método CG-DFC e do método CG-EM foram, respectivamente, DMP 2,5 e 2,5 ng L⁻¹; DEP 0,2 e 0,25 ng L⁻¹; DMTP 0,2 e 0,25 ng L⁻¹; DETP 0,1 e 0,25 ng L⁻¹; DMDTP 0,2 e 0,25 ng L⁻¹; DEDTP 0,2 e 0,25 ng L⁻¹ (PRAPAMONTOL et al., 2014).

Pode-se notar comparando os dois métodos, que os percentuais de recuperação e os limites de detecção foram muito próximos. A diferença entre eles encontra-se no tempo para execução de cada um. Enquanto a etapa de derivatização no método para CG-EM leva apenas 30 minutos, no método para CG-DFC leva 15 horas, o que torna o método muito mais demorado, sendo o ganho de tempo a principal vantagem do primeiro.

Em 2019, Fernández e colaboradores utilizaram uma amostra de 4 mL de urina fortificada com 100 µL da solução dibutilfosfato 200 ng mL⁻¹ (padrão interno). Em seguida, 800 µL de ácido clorídrico 6M foram adicionados à amostra enriquecida. A mistura foi centrifugada a 3.724g a 15°C por 10 minutos. O processo de ELL foi realizado com 4 mL de acetato de etila e 4 mL de éter dietílico e a mistura foi introduzida em banho de gelo por aproximadamente 10 minutos. Depois do resfriamento da mistura, foram adicionados 4 g de sulfato de magnésio anidro e 1 g de cloreto de sódio a fim de aumentar a força iônica e melhorar a partição do analito para a fase orgânica. A mistura foi agitada por 1 minuto e introduzida no banho de gelo novamente e centrifugada a 3.724g a 15°C por 10 minutos. A

camada orgânica foi transferida para novo tubo e evaporada sob fluxo de nitrogênio a 30°C e pressão de 7 bar até secar. O resíduo seco foi então dissolvido em 200 µL de acetato de amônio 10 mM:acetonitrila contendo 5% de acetato de amônio 200 mM (95:5, v/v), colocado em um frasco de 0,2 µm e ultra-centrifugado a 11.363g por 2 minutos a 10°C. O extrato final foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência com coluna *Hypersil GOLD HILIC* (2,1 mm x 100 mm, 3,0 µm), com fases móveis de solução aquosa de acetato de amônio 10 mM (A) e acetonitrila contendo 5% de solução aquosa de acetato de amônio 200 mM (B). O gradiente foi de em 0 a 2 minutos-95% A, 8 minutos-50% A, 12 minutos-50% A, 13 minutos-95% A, 20 minutos-95% A. O fluxo utilizado foi de 200 µL.min⁻¹ e o volume de injeção 10 µL. O sistema foi acoplado a espectrômetro de massa com triplo-quadrupolo, fonte de ionização *electrospray* em modo negativo em modo monitoramento de reação seletiva (MRS). O percentual de recuperação foi DMP 82-117%; DEP 95-116%; DMTP 94-111%; DETP 89-109%; DMDTP 98-115%; e DEDTP 107-117%. O limite de detecção não foi informado. O limite de quantificação foi de 0,5 µg L⁻¹ para os seis alquilfosfatos (FERNÁNDEZ et al., 2019).

De forma geral os métodos por ELL compreenderam as etapas de hidrólise ácida para desconjugação dos alquilfosfatos das proteínas urinárias, extração por solventes orgânicos, adição de sais para estimular o efeito *salting out* e melhorar a partição dos analitos polares na fase orgânica.

5.1.2. Extração em fase sólida (EFS)

A extração em fase sólida é um dos métodos mais utilizados atualmente, por sua rapidez, menor custo, segurança, praticidade e possibilidade de automação. Esta técnica consiste em percorrer a solução a ser separada por membranas, colunas ou cartuchos geralmente compostos de sílica recoberta ou ligada a composto orgânico hidrofóbico formando a fase sólida extratora. Os compostos podem ser apolares, moderadamente polares ou polares. Os grupos funcionais ligados à fase sólida extraem os compostos hidrofóbicos presentes na amostra por meio de interações de Van der Waals e os extraem da solução aquosa. Posteriormente, estas devem ser extraídos da fase sólida por um solvente (SKOOG, 2009).

A escolha do tipo de coluna, volume de amostra e de solventes para ativação dos cartuchos e para a eluição dos analitos são alguns parâmetros que devem ser considerados

conforme as características físico-químicas dos analitos de interesse, da natureza da matriz e dos interferentes a serem removidos. A EFS tem se mostrado recomendada na quantificação de alquilfosfatos por apresentar resultados finais com maior seletividade (CALDAS et al., 2011; UEYAMA et al., 2014).

A EFS também foi utilizada em 9 (36%) artigos (LIN et al., 2002; KUPFERMANN; SCHMOLDT; STEINHART, 2004; DE ALWIS; NEEDHAM; BARR, 2006; LIN; HSIEH; CHANG, 2007; DE ALWIS; NEEDHAM; BARR, 2008, 2009; ODETOKUN et al., 2010; UEYAMA et al., 2014; CEQUIER et al., 2016).

Lin e colaboradores desenvolveram o método a partir de 1 mL de urina diluída em água deionizada 1:1 (v/v). Em seguida foram adicionados 20 mg hidróxido de cálcio a fim de precipitar o fosfato de cálcio e 1 mL de acetonitrila para remoção das proteínas. Após 10 minutos em repouso, a amostra passou por um filtro de fibra de vidro para remoção do precipitado. A amostra teve pH ajustado para 3 adicionando-se ácido clorídrico 0,4 N e em seguida, seguiu para EFS em discos de troca aniônica forte. Os discos foram acomodados em suporte com reservatório de 10 mL e a saída do suporte foi conectada a um coletor de vácuo. O disco foi condicionado com 2 mL de acetona, 2 mL de metanol e 5 mL de água deionizada, respectivamente. A amostra preparada foi colocada no reservatório e passada pelo disco por vácuo em uma taxa de 3-5 mL/min. O disco foi lavado com 3 mL de água deionizada e seco por purga com nitrogênio de alta pureza. O disco seco foi colocado em um frasco para derivatização com 1 mL de acetonitrila e 100 µL de iodeto de metila. O frasco foi lacrado e aquecido em banho-maria a 80°C por 1 hora. Após voltar à temperatura ambiente, o extrato foi analisado por cromatografia em fase gasosa com coluna AT-50 (30 m x 0,53 mm, 1,0 µm) acoplada a detector de fotometria de chama. O percentual de recuperação e os limites de detecção do método foram, respectivamente, para DMTP 23-49% e 9 µg L⁻¹; DETP 36-61% e 12 µg L⁻¹; DMDTP 54-76% e 12 µg L⁻¹; DEDTP 60-82% e 13 µg L⁻¹ (LIN et al., 2002).

Kupfermann e colaboradores adicionaram 200 ng de DBF e dipropiliditiofosfato (DPDTF) (padrões internos), e 750 µL de isopropanol a uma amostra de 250 µL de urina. A mistura foi seca em fluxo de nitrogênio a 65°C (evaporação em condições azeotrópicas). Em seguida, 500 µL de acetonitrila e 25 µL de brometo de benzila foram adicionados ao resíduo mantido a 65°C por 15 minutos. A fase de acetonitrila foi extraída duas vezes com 2 mL hexano e as fases de hexano combinadas foram evaporadas novamente sob fluxo de nitrogênio a 40°C. O resíduo foi então reconstituído com 250 µL de hexano e colocado em uma coluna com 100 mg de sílica pré-condicionada com 5 mL de hexano. A coluna foi lavada com 600 µL de hexano. Os alquilfosfatos contendo enxofre (DETP, DEDTP, DMTP,

DMDTP e DPDTP) foram eluídos com 1 mL metanol/diclorometano (50:50, v/v) (fração 1). A fase de acetonitrila, contendo DMP, DEP e DBF, foi seca sob fluxo de nitrogênio a 40°C. O resíduo foi dissolvido em 500 µL de metanol. Aproximadamente 0,7g de ‘Amberlite (IR) 120’ (gel fortemente de troca catiônica ácida do sulfonado do tipo de poliestireno) foram lavados com metanol e adicionados à solução. Após agitação em vórtex por 5 minutos, o metanol foi recuperado por decantação. Novamente, 250 µL de metanol foram adicionados à resina, a mistura foi agitada em vórtex e a resina foi descartada. Os extratos de metanol combinados foram secos sob fluxo de nitrogênio a 40°C e 500 µL de solução de diazotolueno foram adicionados. A solução foi mantida em temperatura ambiente por 20 minutos e evaporada até seca com nitrogênio a 40°C. O resíduo seco foi dissolvido em 250 µL de hexano e transferido para uma coluna de sílica de 100 mg pré-condicionada com 5 mL de hexano. A coluna foi lavada com 1mL de diclorometano e os ésteres benzílicos foram eluídos com 1 mL de diclorometano/metanol (50:50, v/v) (fração 2). As frações foram combinadas e evaporadas até a seca sob um fluxo suave de nitrogênio em 40°C. Após a reconstituição em 100 µL de tolueno, uma alíquota de 1 µL foi injetada em cromatografia em fase gasosa com coluna Ultra 1 (25 m x 0,2 mm, 0,33 µm) acoplada a espectrômetro de massas. Os limites de detecção foram de 3 a 6 µg L⁻¹ e o limite de quantificação foi de 18 µg L⁻¹ para todos os analitos. Não foi informado o percentual de recuperação do método, porém foi realizado controle externo de amostras de urina com concentrações conhecidas de alquilfosfatos (CQ 1 – 900 µg L⁻¹; CQ 2 – 450 µg L⁻¹; CQ 3 – 225 µg L⁻¹) que tiveram como resultados, respectivamente, para DMP – 855, 454 e 225; DEP – 954, 477 e 213; DMTP – 968, 464 e 220; DETP – 972, 461 e 230; DMDTP – 942, 471 e 233; e DEDTP – 953, 470 e 233 (µg L⁻¹) (KUPFERMANN; SCHMOLDT; STEINHART, 2004).

De Alwis e colaboradores utilizaram 2 mL de urina adicionados com 12,5 µL de analitos isotopicamente marcados (padrão interno) e 50 µL de ácido clorídrico 3 M. Após agitação, a amostra passou por EFS automatizada em cartucho à base de polímero de estireno-divinil benzeno. O cartucho foi condicionado com 4 mL de acetonitrila e 4 mL de ácido clorídrico 0,1 M. Depois o cartucho foi seco com fluxo de nitrogênio 30 psi por 5 minutos e lavado com 1 mL de ácido clorídrico 0,1 M. Em seguida, o cartucho foi seco em fluxo de nitrogênio novamente por 2 minutos. Os analitos foram eluídos com 7 mL de acetonitrila, coletados em frasco contendo 25 mg de carbonato de potássio e evaporados até seca em fluxo de nitrogênio a 50°C a 11 psi por 45 minutos. O resíduo foi ressuspensionado em 1 mL de acetonitrila. Para derivatização, adicionou-se 20 mg de carbonato de potássio e 30 µL de 1-cloro-3-iodopropano. Após agitação, as amostras foram colocadas em banho seco a 65°C por

2 horas. O sobrenadante foi evaporado e a amostra foi reconstituída com 75 μL de tolueno e analisada por cromatografia em fase gasosa com coluna DB-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 μm) acoplada a espectrômetro de massas com triplo-quadrupolo. O percentual de recuperação e os limites de detecção do método foram, respectivamente, DMP 45-68% e 0,06 ng L^{-1} ; DEP 66-115% e 0,05 ng L^{-1} ; DMTP 77-89% e 0,17 ng L^{-1} ; DETP 70-86% e 0,05 ng L^{-1} ; DMDTP 51-68% e 0,05 ng L^{-1} ; DEDTP 48-66% e 0,07 ng L^{-1} (DE ALWIS; NEEDHAM; BARR, 2006).

Outro método desenvolvido por Lin e colaboradores partiu de 1 mL de urina adicionada de hidróxido de prata (para análise de DETP e DMTP), outra alíquota de 1 mL não foi adicionada de hidróxido de prata (para análise de DEDTP e DMDTP). Ambas as misturas foram centrifugadas e 1 mL do sobrenadante foi levado para EFS em discos de troca aniônica forte. Os discos foram acomodados em suporte com reservatório de 10 mL com a saída do suporte conectada a uma câmara de vácuo, lavados e condicionados com 5 mL de ácido clorídrico 0,01M, 5 mL água deionizada, 5 mL de hidróxido de sódio 0,01M, 5 mL de água deionizada e 5 mL de acetona, respectivamente. A amostra foi colocada no reservatório e passou no disco por vácuo num fluxo de 3-5 mL/min. O disco foi seco com nitrogênio de alta pureza, em seguida, foi realizada a derivatização com 900 μL de acetonitrila, 100 μL de iodeto de metila e de trietilfosfato 1.000 $\mu\text{g L}^{-1}$ (padrão interno). O frasco foi aquecido a 90°C por 90 minutos. Quando o frasco chegou à temperatura ambiente, o extrato foi analisado por cromatografia em fase gasosa com coluna DB-17 (30 m x 0,32 mm, 0,5 μm) acoplada a detector de fotometria de chama com filtro de fósforo. Os limites de detecção do método para DMTP, DETP, DMDTP e DEDTP foram 5, 11, 5, e 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ e os limites de quantificação foram 17, 37, 18 e 16 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. O percentual de recuperação foi DMTP 93-96%; DETP 84-98%; DMDTP 80-88%; DEDTP 81-94% (LIN; HSIEH; CHANG, 2007).

Já De Alwis e colaboradores utilizaram 2 mL de urina enriquecida com 12,5 μL dibutilfosfato (padrão interno) e submetida a EFS automatizada em cartucho à base de polímero de estireno-divinil benzeno. O cartucho foi pré-condicionado com 4 mL de acetonitrila e água. Depois de passar a urina, o cartucho foi seco com fluxo de nitrogênio 30 psi por 5 minutos e lavado com 1 mL de ácido clorídrico 0,1 M. Em seguida, o cartucho foi seco em fluxo de nitrogênio novamente. Os analitos foram eluídos com 6 mL de acetonitrila. A amostra foi evaporada até secura em fluxo de nitrogênio. O resíduo seco resultante seguiu para derivatização com 1 mL de acetonitrila, 20 mg de carbonato de potássio e 30 μL de brometo de pentafluorobenzil. Os tubos foram agitados por vórtex e colocados em uma incubadora de banho seco pré-aquecido a 60°C por 4 horas. Após as amostras atingirem a temperatura ambiente, 125 μL de tolueno foram adicionados. As amostras foram concentradas

para 75 μL em um fluxo de nitrogênio 10 psi a 30°C por cerca de 20 minutos, em seguida analisadas por cromatografia em fase gasosa com coluna DB-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 μm) acoplada à espectrometria de massas em modo de monitoramento de íons selecionados. O percentual de recuperação e os limites de detecção do método foram, respectivamente, para DMP 63-71% e 0,1 ng L^{-1} ; DEP 104-125% e 0,1 ng L^{-1} ; DMTP 70-91% e 0,15 ng L^{-1} ; DETP 66-80% e 0,1 ng L^{-1} ; DMDTP 49-74% e 0,1 ng L^{-1} ; e DEDTP 44-66% e 0,1 ng L^{-1} (DE ALWIS; NEEDHAM; BARR, 2008).

Em 2009, De Alwis e colaboradores otimizaram seu método. Foram adicionados 30 μL de ácido clorídrico 3M e 12,5 μL de analitos isotopicamente marcados (padrão interno) a 2 mL de urina. Após agitação por vórtex, a EFS foi realizada de forma automatizada utilizando cartucho Bond Elut PPL 500 mg/3 mL (polímero de estireno-divinilbenzeno) pré-condicionado com 4 mL de acetonitrila e 4 mL de solução de ácido clorídrico diluído (pH 1) a um fluxo de 1 mL/minuto. A amostra de urina foi passada no cartucho a uma taxa de 0,38 mL/minuto. O cartucho foi seco em fluxo de nitrogênio (30 psi) por 5 minutos e, em seguida, passou-se pelo cartucho 0,5 mL de solução de carbonato de potássio aquoso a 15% seguido por 5 minutos de secagem em fluxo de nitrogênio. A amostra foi derivatizada com 0,5 mL de solução de brometo de pentafluorobenzil em acetonitrila 3% aplicada ao cartucho em fluxo de 0,38 mL/minuto e deixada em repouso por 15 minutos. A eluição foi realizada com 4 mL de acetonitrila a um fluxo de 0,5 mL/min em um frasco contendo 2 g de sulfato de sódio anidro. Depois de permanecer cerca de 5 minutos em contato com sulfato de sódio, o sobrenadante foi transferido para outro frasco e concentrado até 0,5 mL. O resíduo foi ressuspensionado com 125 μL de tolueno, reconcentrado para um volume final de cerca de 75 μL e analisado por cromatografia em fase gasosa com coluna DB-5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 μm) acoplada à espectrometria de massas em modo de monitoramento de íons selecionados pelo método de diluição isotópica. O percentual de recuperação e os limites de detecção do método foram, respectivamente, DMTP 60-79% e 0,3 ng L^{-1} ; DETP 57-81% e 0,1 ng L^{-1} ; DMDTP 82-139% e 0,1 ng L^{-1} ; e DEDTP 64-88% e 0,1 ng L^{-1} (DE ALWIS; NEEDHAM; BARR, 2009).

Martins Odetokun e colaboradores utilizaram 600 μL de urina em poço de placa retangular de 96 poços, adicionando 40 μL de ácido fórmico e 12,5 μL analitos isotopicamente marcados (padrão interno). A EFS com cartucho de troca iônica fraca e clean up foi automatizado com objetivo de melhorar o rendimento da amostra e minimizar a intervenção humana no processo de extração. O cartucho foi condicionado com 0,9 mL de ácido fórmico em metanol 1% e 0,9 mL de ácido fórmico em água 1% e lavado com 0,9 mL de água e 0,9 mL de metanol. Posteriormente os analitos foram eluídos com 1,35 mL de

trietilamina em acetonitrila 20%. As amostras foram então concentradas até a secagem em fluxo de nitrogênio a 50°C. O resíduo foi reconstituído com 50 µL de acetonitrila e analisado por cromatografia líquida de alta eficiência com coluna HILIC 2.000A (100 mm x 2,0 mm, partículas de 5 µm) e fase móvel de eluição isocrática de 93% de acetonitrila e 7% de acetato de amônio em água 100mM acoplada a espectrômetro de massas com triplo-quadrupolo em modo íon negativo. O percentual de recuperação e os limites de detecção do método foram, respectivamente, DMP 40% e 0,468 ng L⁻¹; DEP 95% e 0,044 ng L⁻¹; DMTP 90% e 0,066 ng L⁻¹; DETP 85% e 0,110 ng L⁻¹; DMDTP 80% e 0,073 ng L⁻¹; e DEDTP 50% e 1,549 ng L⁻¹ (ODETOKUN et al., 2010).

Já Jun Ueyama e colaboradores partiram de 1 mL de urina, 1 mL de água, 20 µL de analitos isotopicamente marcados (padrão interno) e 20 µL de ácido fórmico 100 mM. A mistura foi incubada por 10 minutos a 37° C e depois centrifugada por 5 minutos a 2.000g. A EFS foi realizada em coluna de troca iônica fraca e para a extração de DMP e DEP, o condicionamento da coluna foi realizado com 1 mL de amônia 2,5%, 1 mL de acetonitrila em água 1:1 (v/v) e 1 mL de ácido fórmico 1 mM. Adicionou-se 1,8 mL do sobrenadante obtido após a centrifugação na coluna para extração e, posteriormente, à 500 µL da amostra obtida é adicionada 500 µL de acetonitrila que seguiu para incubação por 15 minutos a 4° C e centrifugação por 5 minutos a 12.000g. Para a extração de DMTP e DETP, realizou-se em seguida a lavagem da coluna com 1 mL de acetonitrila, eluindo os analitos com 1 mL de amônia 2,5% e acetonitrila em água 1:1 (v/v) e seguido por secagem em fluxo de nitrogênio a 40° C. 300 µL de acetonitrila foram adicionados e feita a sonicação por 10 minutos, e centrifugação por 10 minutos a 2.000g. O sobrenadante foi analisado por CLAE-EM/EM em coluna C18 (100 mm x 2 mm, partículas de 3 µm). Como fase móvel utilizou-se ácido fórmico 1 mmol L⁻¹ em acetonitrila 20:80/ ácido fórmico 10 mmol L⁻¹ e formiato de amônio 10 mmol L⁻¹ em acetonitrila 20:80. O espectrômetro de massas foi ajustado em modo íon positivo para DMP e DEP e modo íon negativo para DMTP e DETP. O percentual de recuperação e os limites de detecção do método foram, respectivamente, DMP 95-100% e 0,4 µg L⁻¹; DEP 81-82% e 0,2 µg L⁻¹; DMTP 64-105% e 0,4 µg L⁻¹; e DETP 93-101% e 0,1 µg L⁻¹. Os limites de quantificação foram DMP 1,2 µg L⁻¹; DEP 0,6 µg L⁻¹; DMTP 1,2 µg L⁻¹; e DETP 0,3 µg L⁻¹ (UEYAMA et al., 2014).

Cequier e colaboradores adicionaram a 300 µL de urina enriquecida com analitos isotopicamente marcados (padrão interno), 300 µL de água e 40 µL de ácido fórmico antes da extração dos alquilfosfatos. A EFS foi automatizada em placa de 96 poços com cartuchos de troca iônica forte condicionados com 0,5 mL de metanol e 0,5 mL de água, ambos contendo

1% de ácido fórmico. As amostras foram carregadas e eluídas por gravidade. Uma etapa de lavagem com 0,5 mL de metanol foi realizada para remover interferências neutras e os alquilfosfatos foram eluídos com 0,5 mL de acetona contendo 5% de trietilamina. O solvente foi evaporado com uma corrente suave de nitrogênio até que restassem poucos microlitros. Finalmente, foram adicionados 90 µL de ácido fórmico/formiato de tripropilamônio 40 mM. A amostra foi analisada por cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE) com coluna C18 (100mm x 2,1 mm, partículas de 1,7 µm). A fase móvel inicial foi de 99% do eluente A (água com fórmico/formiato de tripropilamônio 0,5 mM) e 1% de eluente B (acetonitrila), com fluxo de 0,4 mL/min. 20 µL do extrato foram injetados. A separação dos alquilfosfatos foi alcançada aumentando o eluente B a 1% por minuto por 10 minutos e entre as injeções, a coluna foi lavada por 1 minuto aumentando a percentagem de eluente B para 90%. Acoplado à CLUE havia um espectrômetro de massa de alta resolução (tempo de voo) com fonte de ionização do tipo electrospray trabalhando em modo de ionização negativa. O percentual de recuperação e os limites de detecção do método foram, respectivamente, DMP 0-63% e 1,2 ng L⁻¹; DEP 102-112% e 0,38 ng L⁻¹; DMTP 87-106% e 0,2 ng L⁻¹; DETP 83-100% e 0,33 ng L⁻¹; DMDTP 49-63 e 0,64 ng L⁻¹; e DEDTP 39-44 e 0,15 ng L⁻¹. Os limites de quantificação foram para DMP 4,0 ng L⁻¹; DEP 1,3 ng L⁻¹; DMTP 0,66 ng L⁻¹; DETP 1,0 ng L⁻¹; DMDTP 1,9 ng L⁻¹; e DEDTP 0,5 ng L⁻¹ (CEQUIER et al., 2016).

Os métodos de EFS consistem nas etapas de hidrólise, condicionamento dos cartuchos, aplicação das amostras e eluição, com análise por cromatografia em fase gasosa ou líquida.

Observa-se que os métodos são similares em essência e os que analisam por CG são mais sensíveis do que os analisados por cromatografia líquida.

5.1.3. Extração por liofilização

A liofilização também conhecida como crio desidratação ou crio secagem é um processo de desidratação de amostras no qual a água é removida por sublimação, ou seja, partindo-se de um material previamente congelado e submetendo-se ao alto vácuo a água passa diretamente do estado sólido ao estado de vapor. Este processo tem como vantagens a inibição no desenvolvimento de microrganismos ou eventuais reações enzimáticas que possam contribuir para a alteração química da amostra. Sendo os metabólitos alquilfosfatos inerentemente polares com baixos pKa's, a extração desses metabólitos da fase orgânica é difícil, resultando em recuperações insatisfatórias, fato que é resolvido com o processo de liofilização. Porém é um processo muito demorado e demanda a aquisição de um

equipamento liofilizador, o que o torna de maior custo e complexidade (BRAVO et al., 2004; SADIKOGLU; OZDEMIR; SEKER, 2006).

A extração por liofilização foi utilizada em 5 (20%) artigos e foi o terceiro método mais utilizado no pré-tratamento para quantificação de alquilfosfatos em urina (OGLOBLINE et al., 2001b, 2001a; BRAVO et al., 2004; PETCHUAY et al., 2008; WEERASEKERA et al., 2008).

Alex Oglobine e colaboradores desenvolveram um método com adição de 100 μL de dibutilfosfato (padrão interno) a 2 mL de urina. A mistura foi levada ao liofilizador automático com o ciclo de programação de 1 hora a -50°C ; 30 minutos a 20 mTorr e -40°C ; 6 horas a 20 mTorr a -30°C ; 5 horas a 20 mTorr e 0°C ; e 3 horas a 10 mTorr a 16°C . Após secagem, a amostra passou pelo processo de derivatização recebendo 2 mL de acetonitrila, 50 mg de carbonato de potássio anidro e 100 μL de brometo de pentafluorobenzil. A amostra foi aquecida a 60°C por 4 horas. Após resfriamento para temperatura ambiente, 1 mL do sobrenadante foi transferido para frasco e levado para análise por cromatografia em fase gasosa (CG-EM/EM) com coluna AT-5 (30 m x 0,32 mm, 0,25 μm) acoplada a espectrômetro de massas com triplo-quadrupolo. O percentual de recuperação não foi apresentado pelos autores. Os limites de detecção do método foram para DMP 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$; DEP 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$; DMTP 0,1 $\mu\text{g L}^{-1}$; DETP 0,04 $\mu\text{g L}^{-1}$; DMDTP 0,04 $\mu\text{g L}^{-1}$; DEDTP 0,02 $\mu\text{g L}^{-1}$ (OGLOBLINE et al., 2001b).

Em Oglobine et al. (2001a), utilizou-se o mesmo método de preparo da amostra descrito acima, entretanto o método de quantificação é por cromatografia em fase gasosa acoplada a um detector fotométrico de chama com filtro de fósforo. As colunas utilizadas na CG foram BPX5 (30 m x 0,32 mm, 0,5 μm) e BPX50 (30 m x 0,32 mm, 0,25 μm). Os limites de detecção do método foram para DMP 50 $\mu\text{g L}^{-1}$; DEP 10 $\mu\text{g L}^{-1}$; DMTP 10 $\mu\text{g L}^{-1}$; DETP 5 $\mu\text{g L}^{-1}$; DMDTP 5 $\mu\text{g L}^{-1}$; DEDTP 5 $\mu\text{g L}^{-1}$.

No método desenvolvido por Bravo e colaboradores (2004), adicionou-se a 2 mL de urina, 10 μL de padrão interno isotopicamente marcado, que após agitação, passa pelo liofilizador com o ciclo de 4 horas a -34°C e pressão atmosférica, após congelamento o vácuo foi ajustado para 25.5 mT e a amostra passou 4 horas a -34°C , 2 horas a -20°C , 1 hora a 0°C e 1 hora a 20°C . Adicionou-se 2 mL de acetonitrila e 2 mL de éter etílico e submeteu-se a amostra a agitação por 1 minuto. O sobrenadante foi separado em novo frasco e 1 mL de acetonitrila adicionado à fração não dissolvida e após agitação, o novo sobrenadante foi colocado junto ao primeiro. A amostra foi concentrada até 1 mL com evaporação em fluxo de nitrogênio a 30°C e 10 psi. Adicionaram-se alguns grãos de carbonato de potássio e 50 μL de

1-cloro-3-iodopropano para derivatização. Após agitação, as amostras foram colocadas em banho seco a 60°C por 3 horas. O sobrenadante foi transferido e evaporado, e a amostra foi reconstituída com 75 µL de tolueno e analisado por cromatografia em fase gasosa com coluna DB-5MS (60 m x 0,25 mm, 0,25 µm) acoplada a espectrômetro de massas com triplo-quadrupolo. O percentual de recuperação e os limites de detecção do método foram, respectivamente, para DMP 85-105% e 0,6 µg L⁻¹; DEP 95-103% e 0,2 µg L⁻¹; DMTP 72-111% e 0,2 µg L⁻¹; DETP 76-96% e 0,1 µg L⁻¹; DMDTP 71-104% e 0,1 µg L⁻¹; DEDTP 72-88% e 0,1 µg L⁻¹ (BRAVO et al., 2004).

No ano de 2008, a metodologia de Petchuay e colaboradores consistiu em uma alíquota de 5 mL de urina adicionados 100 µL de dibutilfosfato 10 ng L⁻¹ (padrão interno). Após agitação, as amostras foram liofilizadas a temperatura de -40°C por 6 a 7 horas. Após o processo de liofilização, 2 mL de acetonitrila, 30 mg de carbonato de potássio anidro e 25 µL de brometo de pentafluorobenzil foram adicionados à amostra para derivatização. As amostras foram misturadas e aquecidas a 60°C por 3 horas em banho-maria. Posteriormente, o sobrenadante foi transferido e evaporado até *secura* com um fluxo suave de nitrogênio. As amostras foram resfriadas e armazenadas em refrigeração até a análise. As amostras foram analisadas por cromatografia em fase gasosa com coluna HP5 (30 m x 0,32 mm, 0,25 µm) acoplada a um detector de fotometria de chama. O percentual de recuperação e os limites de detecção do método foram, respectivamente, para DMP 60% e 5 µg L⁻¹; DEP 67% e 3 µg L⁻¹; DMTP 107% e 1 µg L⁻¹; DETP 99% e 1 µg L⁻¹; DEDTP 90% e 3 µg L⁻¹ (PETCHUAY et al., 2008).

Weerasekera e colaboradores fizeram um estudo comparando metodologias que utilizam ELL convencional, ELL imobilizada por sorvente e liofilização na etapa de preparo da amostra e cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrômetro de massa triplo-quadrupolo (CG-EM/EM) e a um espectrômetro de massas único-quadrupolo (CG-EM) na etapa de quantificação. Dois tipos de padrão interno foram também testados: analito isotopicamente marcado e dibutilfosfato (WEERASEKERA et al., 2008).

O preparo da amostra por ELL (tanto para a convencional quanto para a imobilizada por sorvente) consistiu numa alíquota de 2 mL de urina adicionada de 12,5 µL de padrão interno isotopicamente marcado e 12,5 µL de dibutilfosfato (padrão interno). 2 g de cloreto de sódio foram adicionados à urina e agitados por 15 minutos. Em seguida foi adicionado 1 mL de ácido clorídrico 6M e a amostra novamente agitada por 5 minutos.

Prosseguindo para a ELL convencional, 5 mL de solução de éter etílico/acetonitrila (1:1, v/v) foram adicionados à amostra, que foram agitadas por 15 minutos e centrifugadas a

DMP	644	NI	73	117	13	32	0,01	4,1	0,9	1,4	0,3	0,03
DEP	234	NI	49	166	90	132	1,7	2,7	3,0	2,0	2,8	1,5
DMTP	17	NI	55	154	22	90	0,5	1,2	0,2	0,8	1,0	0,07
DETP	30	NI	129	82	55	88	0,05	2,2	0,02	0,5	0,07	0,3
DMDTP	29	NI	58	119	22	68	0,05	1,0	0,02	0,5	0,2	0,2
DEDTP	104	NI	57	62	11	108	0,15	2,2	0,01	0,9	0,4	0,1

AIM - Analitos isotopicamente marcados; DBF - Dibutilfosfato; NI- não calculado devido ao gráfico de calibração deficiente. Fonte: Adaptado de WEERASEKERA et al., 2008.

Pode-se observar que o método GC-EM/EM teve limites de detecção muito mais baixos tanto para liofilização quanto para ELL imobilizada por sorvente, que tiveram um desempenho melhor do que a ELL convencional, independentemente do padrão interno utilizado.

As porcentagens de recuperação de cada método de preparo foram quantificadas somente por CG-EM/EM (Quadro 5).

Quadro 5. Recuperação de cada analito do método de Weerasekera et al, 2008.

Analito/Método	CG-EM/EM		
	ELL convencional	ELL imobilizada	Liofilização
DMP	76-97%	89-96%	88-108%
DEP	85-115%	96-134%	96-106%
DMTP	20-24%	4-6%	80-122%
DETP	26-27%	7-17%	64-131%
DMDTP	22-28%	19-22%	73-78%
DEDTP	18-25%	21-29%	65-119%

Fonte: Adaptado de WEERASEKERA et al., 2008.

Pode-se observar que a liofilização teve as melhores recuperações, seguida pela ELL convencional, que teve boas recuperações principalmente para os analitos DMP e DEP.

A metodologia realizada por liofilização, derivatização química e análise com GC-EM/EM com analitos isotopicamente marcados como padrão interno teve os melhores resultados, caracterizada por baixos níveis de detecção e alta precisão e exatidão. No entanto, esse método é demorado (40 horas por 50 amostras), requer equipamentos e produtos químicos caros, não sendo, portanto, muito acessível (WEERASEKERA et al., 2008).

5.1.4. Método direto (sem extração)

Os métodos diretos não são indicados para análise de traços em matrizes complexas como a urina, podendo ocorrer “efeitos de matriz”, que é uma diferença na resposta espectrométrica de massa para um analito em solução padrão versus a resposta para o mesmo analito em uma matriz biológica. Esses efeitos geralmente resultam de componentes endógenos da matriz e agentes conservantes que podem afetar o comportamento cromatográfico e a ionização de compostos alvo, resultando em supressão ou aumento de íons (PANUWET et al., 2016; WANG et al., 2013).

O método de injeção direta sem extração ou clean up da amostra foi utilizado em 2 (8%) artigos (HERNÁNDEZ; SANCHO; POZO, 2002; BABINA et al., 2012).

Hernández e colaboradores utilizaram em seu experimento 1,5 mL de urina centrifugada por 10 minutos a 3.500 RPM, que em seguida foi adicionada de 100 µL de acetato de tetrabutilamônio 600 nM. 10 µL da amostra foram injetados diretamente para análise por cromatografia líquida de alta eficiência com coluna C18 (50 mm x 2 mm, partículas de 5 µm) e fase móvel de acetonitrila e acetato de tetrabutilamônio 1 mM em água com gradiente de concentração de acetonitrila (0 minutos-5%; 3 minutos-5%; 7-11 minutos-30%; 12-15 minutos-5%). Esta segue acoplada a um espectrofotômetro de massas com triplo-quadrupolo em modo íon negativo (CLAE/ESI-EM/EM). O percentual de recuperação e os limites de detecção do método foram, respectivamente, DEP 82-95% e 1 µg L⁻¹; DMTP 101-119% e 2 µg L⁻¹; DEDTP 82-90% e 1 µg L⁻¹; e DETP 78-87% e 1 µg L⁻¹ (HERNÁNDEZ; SANCHO; POZO, 2002).

Kateryna Babina e colaboradores utilizaram 1 mL de urina, previamente centrifugada por 10 minutos a 2.500 RPM, adicionando 50 µL trietilamina. 10 µL desta mistura foram injetados diretamente para análise por cromatografia líquida de alta eficiência com coluna C18 (50 mm x 2 mm, partículas de 5 µm) e como fase móvel metanol e água (0% metanol de 0 a 2 minutos, aumentando para 10% de metanol até 7 minutos e 100% de metanol até 9 minutos, mantendo em 100% de metanol até 10 minutos, diminuindo para 0% aos 12 minutos, mantendo a 0% até os 17 minutos). O cromatógrafo foi acoplado a um espectrômetro de massas em modo íon negativo. O percentual de recuperação de todos os alquilfosfatos foi de 89 a 103% e o limite de detecção do método foi de 1 µg L⁻¹ para todos os analitos (BABINA et al., 2012).

5.1.5. Extração por destilação azeotrópica

Um azeótropo consiste em um ponto a partir do qual uma mistura se comporta como uma substância pura, com ponto de ebulição constante e fixo, não podendo, portanto, ser separada por destilação simples. A destilação azeotrópica consiste na adição de um terceiro componente, denominado componente de arraste, que forma uma mistura azeotrópica ternária com um ou os dois componentes presentes na mistura inicial, alterando, assim, a volatilidade relativa entre estes, facilitando a separação (PEREIRO et al., 2012). A extração por destilação azeotrópica foi utilizada em somente 1 (4%) artigo (BRAVO et al., 2002).

Bravo e colaboradores desenvolveram uma metodologia em que foram adicionados 4 mL de urina, 25 μL de padrão interno isotopicamente marcado e, pós agitação da mistura, 4 mL de acetonitrila seguido por nova agitação em por vórtex. A amostra foi evaporada em fluxo de nitrogênio por 30 minutos a 50°C até cerca de 4 mL. Repetiu-se mais duas vezes a adição de 4 mL de acetonitrila repetindo o processo até a evaporação. Reconstitui-se o resíduo com 1 mL de acetonitrila seguindo para a etapa de derivatização com 50 μL 1-cloro-3-iodopropano. A amostra foi deixada em repouso por 1 hora a temperatura ambiente e adicionou-se pequena quantidade de carbonato de potássio. A amostra passou então por aquecimento por 2 horas a 80°C em bloco seco. Em seguida foi evaporada em fluxo de nitrogênio por 30 minutos a 50°C até o volume final de 100 μL . Por fim foi armazenada a -20°C até a análise. A análise foi realizada por cromatografia em fase gasosa com coluna DB-5MS (60 m x 0,25 mm, 0,25 μm) acoplada a espectrometria de massas. O percentual de recuperação e os limites de detecção do método foram, respectivamente, DMP 29-68% e 1,0 ng L^{-1} ; DEP 23-68% e 0,72 ng L^{-1} ; DMTP 44-74% e 1,6 ng L^{-1} ; DETP 12-48% e 0,38 ng L^{-1} ; DMDTP 15-58% e 0,78 ng L^{-1} ; DEDTP 28-61% e 0,25 ng L^{-1} (BRAVO et al., 2002).

O quadro 6 foi elaborada com o objetivo de facilitar a comparação de alguns aspectos dos métodos descritos acima. Ela contém informações de referência do artigo, país em que foi desenvolvido o método, método de extração dos alquilfosfatos da urina, métodos de identificação e de quantificação utilizados, porcentagem de recuperação de analitos e limites de detecção do método.

Quadro 6. Artigos sobre metodologia de quantificação de alquilfosfatos urinários.

Países	Método de extração	Métodos de identificação e quantificação	Recuperação (%)	Limites de detecção	Referência
Itália Alemanha Tailândia	ELL	CG-DFC	DMP: 62-103; DEP: 84-103; DMTP: 64-118; DETP: 83-116; DMDTP: 68-119; DEDTP: 86-110.	0,1 ng L ⁻¹ a 10 µg L ⁻¹	APREA et al., 2000; WU et al., 2010; PRAPAMONTOL et al., 2014.
Alemanha EUA Japão	ELL	CG-EM	DMP: 56-108; DEP: 78-114; DMTP: 71-103; DETP: 72-100; DMDTP: 75-102; DEDTP: 68-99.	0,25 ng L ⁻¹ a 5 µg L ⁻¹	HARDT; ANGERER, 2000; UEYAMA et al., 2006; UEYAMA et al., 2010b; PRAPAMONTOL et al., 2014.
França Espanha	ELL	CLAE-EM	DMP: 13-117; DEP: 50-116; DMTP: 25-111; DETP: 49-109; DMDTP: 67-115; DEDTP: 58-117.	0,5 a 1,3 µg L ⁻¹	DULAURENT et al., 2006; FERNÁNDEZ et al., 2019.
EUA	Destilação azeotrópica	CG-EM	DMP: 29-68; DEP: 23-68; DMTP: 44-74; DETP: 12-48; DMDTP: 15-58; DEDTP: 28-61	0,25 a 1,6 ng L ⁻¹	BRAVO et al., 2002;
Austrália	Liofilização	CG- DFC	DMP: 60; DEP: 67; DMTP: 107; DETP: 99; DEDTP: 90	1 a 50 µg L ⁻¹	OGLOBLINE et al., 2001a; PETCHUAY et al., 2008.
Austrália EUA	Liofilização	CG-EM	DMP: 85-108; DEP 95-106; DMTP 72-122; DETP: 64-131; DMDTP: 71-	0,01 ng L ⁻¹ a 0,6 µg L ⁻¹	OGLOBLINE et al., 2001b; BRAVO et al., 2004;

China			104; DEDTP: 65-119.		WEERASEKERA et al., 2008.
Espanha Austrália	Sem método de extração ou <i>clean up</i> .	CLAE-EM	DEP: 82-95; DMTP: 101-119; DEDTP: 82-90; DETP: 78-87; DMDTP: 89-103; DEDTP: 89-103.	1 a 2 $\mu\text{g L}^{-1}$	HERNÁNDEZ; SANCHO; POZO, 2002; BABINA et al., 2012.
China Tailândia	EFS	CG- DFC	DMTP 23-96; DETP: 36-98; DMDTP: 54-88; DEDTP: 60-94.	5 a 13 $\mu\text{g L}^{-1}$	LIN et al., 2002; LIN; HSIEH; CHANG, 2007;
Alemanha EUA	EFS	CG-EM	DMP: 45-71; DEP: 66-125; DMTP: 60-91; DETP: 57-88; DMDTP: 49-139; DEDTP: 44-66.	0,05 ng L^{-1} a 6 $\mu\text{g L}^{-1}$	KUPFERMANN; SCHMOLDT; STEINHART, 2004; DE ALWIS; NEEDHAM; BARR, 2006; DE ALWIS; NEEDHAM; BARR, 2008; DE ALWIS; NEEDHAM; BARR, 2009.
EUA Japão	EFS	CLAE-EM	DMP: 40-100; DEP: 81-95; DMTP: 64-105; DETP: 85-101; DMDTP: 80; DEDTP: 50.	0,04 ng L^{-1} a 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$	ODETOKUN et al., 2010; UEYAMA et al., 2014.
Noruega	EFS	CLUE-EM	DMP: 0-63; DEP: 102-112; DMTP: 87-106; DETP: 83-100; DMDTP: 49-63; DEDTP: 39-44.	0,2 a 1,2 ng L^{-1}	CEQUIER et al., 2016.

Fonte: Própria autoria.

A etapa pré-analítica (coleta, armazenamento e pré-tratamento da amostra) de um método quantitativo é de extrema importância para garantir o resultado da análise. Os métodos de extração são frequentemente necessários para os métodos analíticos de traços. A análise cromatográfica de substâncias presentes em matrizes biológicas (soro, plasma, urina, etc.), em geral, requer um pré-tratamento da amostra, devido à sua complexidade e à existência de interferentes bioquímicos. A meta final é a obtenção de uma fração da amostra original com maior concentração das substâncias de interesse, de forma que se obtenha uma separação cromatográfica livre de interferentes (QUEIROZ; COLLINS; JARDIM, 2001).

A extração dos metabólitos alquilfosfatos da urina e da fase orgânica é uma tarefa difícil, devido a seus baixos pK_a 's, demandando técnicas trabalhosas e demoradas. A ELL e a EFS foram os métodos de extração mais utilizados para análise de alquilfosfatos na urina.

Observa-se que os métodos que utilizam ELL utilizam aparatos simples, o que torna o método mais acessível, porém são métodos longos, principalmente se o método de quantificação for a cromatografia em fase gasosa, pois a etapa de derivatização necessária nas análises por CG necessitam de repouso da mistura por muitas horas, podendo levar em torno de 17 horas, enquanto as técnicas que utilizam análises por cromatografia líquida levam em torno de 4 a 5 horas. Para a ELL também se utiliza maior quantidade de solventes (entre 20 e 30 mL por amostra) do que para os outros métodos de extração, sendo uma das desvantagens da ELL visto que atualmente há preferência por métodos que utilizem menos solventes a fim de minimizar a poluição ambiental.

As técnicas que utilizam a EFS são mais rápidas do que as que utilizam ELL, levando aproximadamente 3 horas quando o método de separação é a CLAE, e aproximadamente 6 horas quando a análise é por CG. A EFS é de simples execução, porém o custo é um pouco maior devido à necessidade da aquisição dos cartuchos. A EFS utiliza menos solvente do que a ELL, sendo o gasto entre 10 e 20 mL por amostra.

Já os métodos que utilizam como técnica de extração a liofilização utilizam pouca quantidade de solvente quando comparada à ELL e à EFS, sendo gasto entre 2 a 10 mL por amostra. Porém a técnica é mais dispendiosa, devido à necessidade do equipamento liofilizador, e muito demorada devido ao tempo gasto na liofilização e na derivatização das amostras para análise por CG, levando até 22 horas.

Em contrapartida, as técnicas realizadas sem um processo de pré-tratamento da amostra são extremamente rápidas, acessíveis e utilizam pouquíssimo solvente, porém não são

recomendados para análise de traços devido aos ‘efeitos de matriz’ e a deterioração que a matriz urinária pode causar no cromatógrafo.

A técnica de extração por destilação azeotrópica foi pouco utilizada na análise de alquilfosfatos urinários, pois além de demandar aparato específico, utilizar bastante quantidade de solvente (cerca de 20 mL por amostra) e não ser prática nem rápida, ela não apresentou boa porcentagem de recuperação e baixa sensibilidade, com limites de detecção muito altos.

Quanto às técnicas de separação, observa-se que a cromatografia em fase gasosa foi a mais utilizada para análise de alquilfosfatos urinários, sendo a técnica empregada em 19 (76%) artigos. Já a cromatografia líquida foi utilizada em 7 (28%) artigos.

A cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM ou CG-EM/EM) foi utilizada em 12 (48%) artigos (BRAVO et al., 2002, 2004; DE ALWIS; NEEDHAM; BARR, 2006, 2009, 2008; HARDT; ANGERER, 2000; KUPFERMANN; SCHMOLDT; STEINHART, 2004; OGLOBLINE et al., 2001b; PRAPAMONTOL et al., 2014; UEYAMA et al., 2006, 2014; WEERASEKERA et al., 2008). Já a cromatografia em fase gasosa acoplada a um detector fotométrico de chama (CG-DFC) foi utilizada em 7 (28%) artigos (APREA et al., 2000; LIN et al., 2002; LIN; HSIEH; CHANG, 2007; OGLOBLINE et al., 2001a; PETCHUAY et al., 2008; PRAPAMONTOL et al., 2014; WU et al., 2010). A cromatografia líquida - de alta eficiência ou ultra eficiência – acoplada à espectrometria de massa (CLAE-EM, CLAE-EM/EM ou CLUE-EM/EM) foi utilizada em 7 (28%) artigos (BABINA et al., 2012; CEQUIER et al., 2016; DULAURENT et al., 2006; FERNÁNDEZ et al., 2019b; HERNÁNDEZ; SANCHO; POZO, 2002; ODETOKUN et al., 2010; UEYAMA et al., 2014).

Cada uma dessas técnicas de separação tem seus próprios méritos e deméritos. Os deméritos notáveis em métodos baseados em CG para análise de alquilfosfatos são etapas de derivatização trabalhosas e demoradas, e nos métodos baseados em CLAE, os deméritos são sensibilidades mais baixas do que em CG.

Apesar das muitas abordagens, a maioria dos métodos de CG para os alquilfosfatos têm precisão limitada, alguns métodos de derivatização provocam decomposição de tiocompostos ou aumento de fosfato na amostra por decomposição de moléculas endógenas e não são muito reprodutíveis. As recuperações dos alquilfosfatos DMP e DEP são declaradamente baixas devido à derivatização (WEISSKOPF; SEIBER, 1988; DRAPER; BEHNIWAL; WIJEKOON, 2008). Em vista dessas considerações, métodos analíticos por CLAE poderiam oferecer alternativas robustas para análise quantitativa de alquilfosfatos

urinários, uma vez que foi observado que nos últimos anos as análises por CLAE tiveram mais métodos desenvolvidos com boas porcentagens de recuperação e limites de detecção muito baixos.

A EFS seguida por análise por CG acoplada a um detector fotométrico de chama (EFS/CG-DFC) foi a técnica utilizada em 2 (8%) dos artigos (LIN et al., 2002; LIN; HSIEH; CHANG, 2007), seguida por análise por CG acoplada à espectrometria de massa (EFS/CG-EM ou EFS/CG-EM/EM) que foi utilizada em 4 (16%) artigos (KUPFERMANN; SCHMOLDT; STEINHART, 2004; DE ALWIS; NEEDHAM; BARR, 2006, 2008, 2009). Já a análise por cromatografia líquida - de alta eficiência ou ultra eficiência – acoplada à espectrometria de massa (EFS/CLAE-EM, EFS/CLAE-EM/EM ou EFS/CLUE-EM/EM) foi utilizada em 3 (12%) artigos (ODETOKUN et al., 2010; UHEYAMA et al., 2014; CEQUIER et al., 2016).

A ELL seguida por análise por CG acoplada a um detector fotométrico de chama (ELL/CG-DFC) foi a técnica utilizada em 3 (12%) dos artigos (APREA et al., 2000; WU et al., 2010; PRAPAMONTOL et al., 2014), seguida por análise por CG acoplada à espectrometria de massa (ELL/CG-EM ou ELL/CG-EM/EM), utilizada em 4 (16%) dos artigos (HARDT; ANGERER, 2000; UHEYAMA et al., 2006, 2010b; PRAPAMONTOL et al., 2014). Enquanto a análise por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (ELL/CLAE-EM ou ELL/CLAE-EM/EM) foi utilizada em 2 (8%) artigos (DULAURENT et al., 2006; FERNÁNDEZ et al., 2019).

A extração por liofilização seguida por análise por CG acoplada a um detector fotométrico de chama (Liofilização/CG-DFC) foi a técnica utilizada em 2 (8%) dos artigos (OGLOBLINE et al., 2001a; PETCHUAY et al., 2008), seguida por análise por CG acoplada à espectrometria de massas (Liofilização/CG-EM ou CG-EM/EM) foi utilizada em 3 (12%) artigos (OGLOBLINE et al., 2001b; BRAVO et al., 2004; WEERASEKERA et al., 2008).

O método sem técnica de extração seguido por análise por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas (CLAE-EM ou CLAE-EM/EM) foi utilizado em 2 (8%) artigos /CLAE-EM (HERNÁNDEZ; SANCHO; POZO, 2002; BABINA et al., 2012).

E o método de extração por destilação azeotrópica seguido de análise por CG acoplada à espectrometria de massa (CG-EM/EM) foi utilizado em 1 (4%) artigo (BRAVO, 2002).

O quadro 7 auxilia a sistematização dos artigos por técnica de identificação/quantificação e preparo.

Quadro 7. Métodos de extração e métodos de quantificação utilizados nos artigos analisados.

Quantificação/ Extração	EFS	ELL	Liofilização	Sem extração	Destilação azeotrópica	Total
CG-EM	4 (16%) ¹	4 (16%) ²	3 (12%) ³	-	1 (4%) ⁴	12 (48%)
CG-DFC	2 (8%) ⁵	3 (12%) ⁶	2 (8%) ⁷	-	-	7 (28%)
CL-EM	3 (12%) ⁸	2 (8%) ⁹	-	2 (8%) ¹⁰	-	7 (28%)
Total	9 (36%)	9 (36%)	5 (20%)	2 (8%)	1 (4%)	

Fonte: Própria autoria.

É possível observar que, com o passar dos anos, todas as técnicas vêm sendo melhoradas e apresentam evolução, tanto quanto à economia de solventes utilizados quanto ao ganho de robustez, apresentando melhores porcentagens de recuperação do método de extração e limites de detecção e quantificação mais baixos.

Outra observação interessante se refere aos países envolvidos no desenvolvimento de metodologias de quantificação de alquilfosfatos urinários, observa-se que 8 foram desenvolvidas nos EUA, 3 na Austrália, 3 na China, 3 no Japão, 2 na Alemanha, 2 na Espanha, 2 na Tailândia, 1 na Itália, 1 na Noruega e 1 na França. Ou seja, existe maior investimento em desenvolvimento de metodologias em países desenvolvidos que vem aplicando esta metodologia no biomonitoramento da exposição ambiental a organofosforados na população geral.

5.2. ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS QUE UTILIZARAM QUANTIFICAÇÃO DE ALQUILFOSFATOS EM URINA HUMANA

¹ KUPFERMANN; SCHMOLDT; STEINHART, 2004; DE ALWIS; NEEDHAM; BARR, 2006, 2008, 2009.

² HARDT; ANGERER, 2000; UYAMA et al., 2006, 2010b; PRAPAMONTOL et al., 2014.

³ OGLOBLINE et al., 2001b; BRAVO et al., 2004; WEERASEKERA et al., 2008.

⁴ BRAVO, 2002.

⁵ LIN et al., 2002; LIN; HSIEH; CHANG, 2007.

⁶ APREA et al., 2000; WU et al., 2010; PRAPAMONTOL et al., 2014.

⁷ OGLOBLINE et al., 2001a; PETCHUAY et al., 2008

⁸ ODETOKUN et al., 2010; UYAMA et al., 2014; CEQUIER et al., 2016.

⁹ DULAURENT et al., 2006; FERNÁNDEZ et al., 2019.

¹⁰ HERNÁNDEZ; SANCHO; POZO, 2002; BABINA et al., 2012

Os estudos epidemiológicos incluem vigilância, observação, pesquisa analítica e experimento com a finalidade de investigar os determinantes das doenças ou condições relacionadas à saúde em populações com aplicação no controle de problemas de saúde (LAST, 1998). Podem ser classificados quanto ao tipo de investigação em observacionais e experimentais. Os estudos observacionais (em que o pesquisador apenas observa o sujeito da pesquisa, os determinantes e o desfecho sem atuar de maneira a modificar qualquer aspecto que esteja estudando) podem ser um relato de caso ou série de casos, estudos de caso-controle, coorte ou transversais (OLIVEIRA FILHO, 2015).

Grande parte dos artigos selecionados para esta revisão é advinda de estudos longitudinais prospectivos do tipo coorte ou inquérito populacional e estudos transversais nos quais os alquilfosfatos foram quantificados uma vez após a exposição ao organofosforado, antes e após a exposição, ou ao longo de determinado tempo para avaliar as mudanças após a exposição.

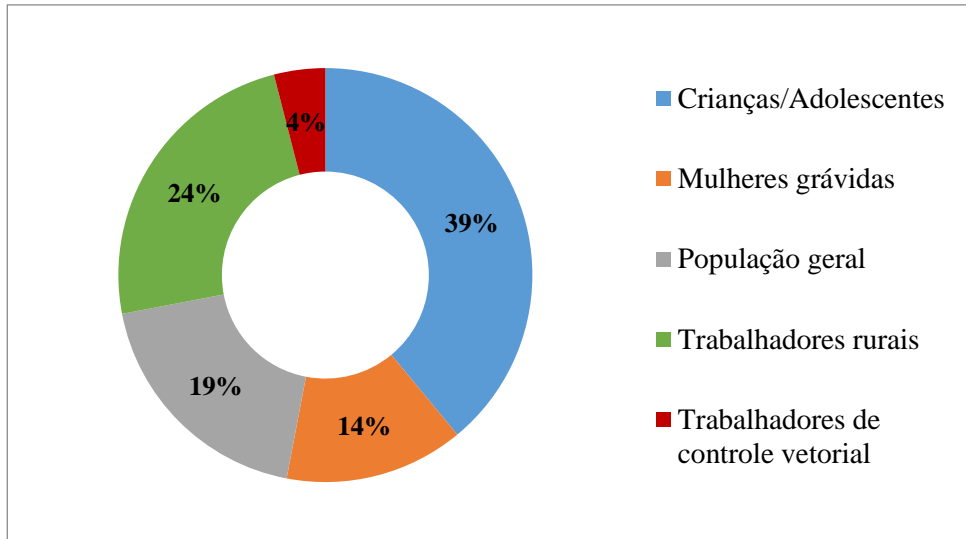
Os estudos de coorte têm como característica o acompanhamento (prospectivo ou retrospectivo) por longo tempo de um grupo de pessoas sem o desfecho investigado (saudáveis) dividido entre “expostos” e “não expostos” a alguma condição suspeita de ser fator de risco. Observa-se então a incidência do desfecho nos dois grupos. Já os estudos transversais observam dados coletados de um grupo de indivíduos em um único momento, analisando o desfecho e a exposição ao mesmo tempo e calculando a prevalência do desfecho na população (OLIVEIRA FILHO, 2015).

E os inquéritos populacionais, em geral, são estudos transversais ou longitudinais com a finalidade de produzir informações em saúde, a partir das respostas obtidas por questionário aplicado de maneira sistemática nas residências de uma amostra probabilística significativa da população analisada. Têm como finalidade orientar o planejamento, a organização, o monitoramento, a avaliação e a qualificação de qualquer serviço ou política de saúde (SILVA, 2020; WALDMAN et al., 2008).

A princípio, foram encontrados 180 artigos de estudos epidemiológicos que utilizaram quantificação de alquilfosfatos urinários humanos, porém alguns artigos de desenvolvimento de metodologia traziam também os resultados da aplicação do método em uma população (n=14). Os resultados também serão incluídos nesta categoria, que passa a ter 194 artigos (Anexo I). Foram analisados as concentrações de alquilfosfatos, as associações encontradas e os países de origem da população estudada, sendo esta subdividida em: crianças/adolescentes, mulheres grávidas, população geral, trabalhadores rurais e trabalhadores do controle vetorial.

Observa-se que 75 (39%) estudos foram com crianças/adolescentes, 48 (24%) com trabalhadores rurais, 36 (19%) foram com população geral, 27 (14%) foram com mulheres grávidas e 9 (4%) com trabalhadores do controle vetorial (Figura 10).

Figura 10. Porcentagem de estudos de cada população categorizada.



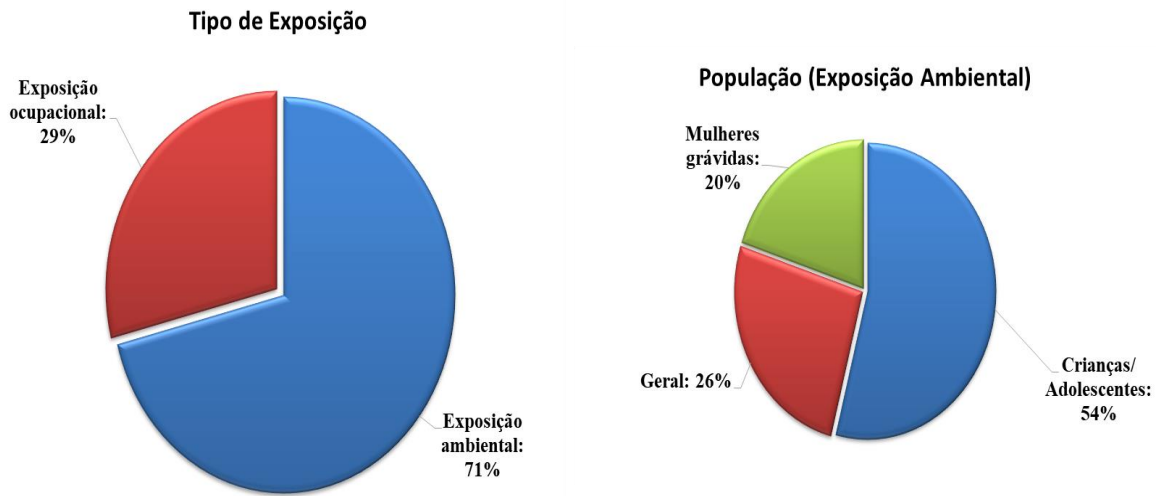
Fonte: Própria autoria.

5.2.1. Inquéritos e outros desenhos de estudos epidemiológicos com população geral

A quantificação de alquilfosfatos urinários com objetivo de avaliar a exposição a agrotóxicos organofosforados vêm sendo utilizada desde a década de 1990 em estudos epidemiológicos, inclusive inquéritos populacionais, de diversos países.

Dos artigos selecionados para esta revisão, 138 (71%) são estudos epidemiológicos em população não ocupacionalmente exposta a organofosforados, ou seja, que são atingidas por exposição ambiental (Figura 11). Tendo como destaques os EUA com 55 (40%) destes estudos, muito mais do que a quantidade do próximo país, a China, com 12 (9%) estudos.

Figura 11. Porcentagem de estudos com população ambientalmente exposta.



Fonte: Própria autoria

Trinta e seis (36), 19%, dos estudos selecionados foram realizados com população geral.

Vale a pena citar alguns destes estudos para demonstrar suas dimensões, como o estudo conduzido pelo órgão americano *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) que realiza desde o ano de 1999 a quantificação de alquilfosfatos urinários no programa *U.S. National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES), inquérito populacional elaborado para avaliar a saúde e o estado nutricional de adultos e crianças nos EUA. A pesquisa examina uma amostra nacionalmente representativa de cerca de 5.000 pessoas a cada ano (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2020).

Dentre os artigos selecionados para esta revisão, 11 são de estudos epidemiológicos originados do NHANES em diversos anos. Todos os artigos utilizaram o método CG/EM para quantificação dos alquilfosfatos. Estudos transversais com objetivo de investigar correlação entre as concentrações de alquilfosfatos urinários e implementação de leis regulatórias para uso de agrotóxicos na agricultura, asma, miopia, doenças cardiometabólicas e câncer foram realizados no NHANES, sendo encontrada resposta positiva nos últimos dois. Os dados mais contundentes são os que demonstram correlação positiva entre o DMTP e o aumento do risco de câncer de mama em mulheres e de câncer de próstata em homens acima dos 60 anos (BARR et al., 2004, 2011; BRAVO et al., 2002b; CLUNE; RYAN; BARR, 2012; GILLEZEAU et al., 2019; JAIN, 2016; MIGNERON-FOISY et al., 2017; OMOIKE; LEWIS; MEEKER, 2015; PERLA et al., 2015; RANJBAR et al., 2015; SUN; SUN; BARR, 2020).

No Canadá, o *Canadian Health Measures Survey* (CHMS) é um inquérito populacional que teve início no ano de 2007 coletando informações sobre a saúde e hábitos de saúde da população, incluindo exposição ambiental a organofosforados (STATISTICS CANADA, 2021). Dois dos artigos com população geral selecionados são oriundos deste estudo (YE et al., 2015, 2016). Já na França, o *Nutrinet-Santé* que é um inquérito populacional (coorte prospectiva) lançado em 2009 com objetivo geral de investigar as relações entre os padrões alimentares, nutrição e questões de saúde e contaminantes ambientais na população adulta teve 1 artigo presente nesta revisão (BAUDRY et al., 2019).

O estudo *Generation R* é um estudo de coorte prospectiva de base populacional realizado na Holanda desde 2002 que acompanha o indivíduo desde a vida fetal até a juventude. Seu objetivo é identificar precocemente causas ambientais e genéticas de crescimento normal e anormal, desenvolvimento e saúde fetal (JADDOE et al., 2006). Este estudo originou 9 artigos selecionados para esta revisão (FERGUSON et al., 2019; JUSKO et al., 2019; MULDER et al., 2019; SPAAN et al., 2015; VAN DEN DRIES et al., 2018, 2019, 2020; YE et al., 2008, 2009).

Na Alemanha, o *German Environmental Surveys* (GerES) é um inquérito populacional iniciado em 1985 e conduzido pela Agência Federal do Meio Ambiente que verifica regularmente a quais substâncias potencialmente nocivas e influências ambientais (como produtos químicos ou ruído) a população está exposta (UMWELT BUNDESAMT, 2017). Apenas um artigo com os resultados deste inquérito foi selecionado para esta dissertação (HEUDORF et al., 2006).

As faixas de concentrações dos alquilfosfatos encontradas serão apresentadas divididas entre ajustadas pela creatinina e não ajustadas pela creatinina, pois são as unidades encontradas nos artigos, devido ao fato de os níveis dos analitos podem ser afetados pela concentração ou diluição da urina, dependendo do balanço de fluidos. A abordagem mais comum para compensar isso envolve a medição da concentração de creatinina na amostra e a expressão da concentração do analito como uma proporção da concentração de creatinina. Esta abordagem não é recomendada para amostras de urina com concentrações muito baixas ($<0,3 \text{ g L}^{-1}$) ou altas ($>3 \text{ g L}^{-1}$) de creatinina (COCKER et al., 2011).

As faixas de níveis de alquilfosfatos encontradas nos estudos com população geral para valores não ajustados pela creatinina foram de alquilfosfatos totais $19 \text{ } (\mu\text{g L}^{-1})$ e $41\text{-}57 \text{ } (\text{nmol L}^{-1})$, dimetil-alquilfosfatos (DMP+DMTP+DMDTP) $34 \text{ } (\text{nmol L}^{-1})$, dietil-alquilfosfatos (DEP+DETP+DEDTP) $12 \text{ } (\text{nmol L}^{-1})$, DMP $1,0\text{-}135 \text{ } (\mu\text{g L}^{-1})$ e $6,0 \text{ } (\text{nmol L}^{-1})$, DEP $1,0\text{-}16 \text{ } (\mu\text{g L}^{-1})$ e $4,0 \text{ } (\text{nmol L}^{-1})$, DMTP $1,0\text{-}160 \text{ } (\mu\text{g L}^{-1})$ e $11,0 \text{ } (\text{nmol L}^{-1})$, DETP $0,4\text{-}2,0 \text{ } (\mu\text{g L}^{-1})$ e

3,0 (nmol L⁻¹), DMDTP 0,07-2,0 (µg L⁻¹) e 2,0 (nmol L⁻¹), DEDTP 0,01-1,0 (µg L⁻¹) e 1,0 (nmol L⁻¹). E para valores ajustados pela creatinina foram de alquilfosfatos totais 20 (µg g⁻¹ cre) e 68-405 (nmol g⁻¹ cre), dimetil-alquilfosfatos 44-200 (nmol g⁻¹ cre), dietil-alquilfosfatos 6,0-100 (nmol g⁻¹ cre), DMP 0,5-27 (µg g⁻¹ cre) e 28 (nmol g⁻¹ cre), DEP 0,3-25 (µg g⁻¹ cre) e 18 (nmol g⁻¹ cre), DMTP 2,0-43 (µg g⁻¹ cre) e 17 (nmol g⁻¹ cre), DETP 0,3-6,0 (µg g⁻¹ cre), DMDTP 0,3-6,0 (µg g⁻¹ cre), DEDTP 0,02-9,0 (µg g⁻¹ cre).

Um dos estudos em destaque com crianças/adolescentes e mulheres grávidas é o *Center for the Health Assessment of Mothers and Children of Salinas (CHAMACOS)*, uma coorte longitudinal de nascimento iniciada no ano de 1999 que avalia exposição de mulheres grávidas e seus filhos a agrotóxicos e outras exposições ambientais em uma comunidade de trabalhadores agrícolas composta principalmente por imigrantes mexicanos na região de *Salinas Valley*, na Califórnia, EUA, uma das regiões agrícolas mais produtivas do país (BERKELEY UNIVERSITY OF CALIFORNIA, 2020). Dezenove dos artigos sobre crianças, adolescentes e mulheres grávidas selecionados são oriundos deste estudo (BRADMAN et al., 2005, 2011, 2013, 2015; BRAVO et al., 2004b; BOUCHARD et al., 2011; CASTORINA et al., 2003; ESKENAZI et al., 2007, 2010, 2014; HARLEY et al., 2011, 2016; MARKS et al., 2010; QUIRÓS-ALCALÁ et al., 2011, 2012; RAANAN et al., 2015, 2016; SAGIV et al., 2018; STEIN et al., 2016; YOUNG et al., 2005).

Já no Canadá, o *Maternal-Infant Research on Environmental Chemicals (MIREC)* é um estudo de coorte que teve início no ano de 2007, cujo objetivo é examinar os efeitos da exposição pré-natal a contaminantes ambientais na saúde de mulheres grávidas e seus bebês (MIREC CANADA, 2021). 3 dos artigos com crianças, adolescentes e mulheres grávidas selecionados são oriundos deste estudo (LEWIN et al., 2017; NTANTU NKINSA et al., 2020; SOKOLOFF et al., 2016).

Setenta e cinco (75), 39%, dos estudos selecionados foram realizados com crianças e/ou adolescentes. A faixa de níveis de alquilfosfatos encontrada nos estudos com crianças e adolescentes para valores não ajustados pela creatinina foi de alquilfosfatos totais 40-107 (µg L⁻¹) e 9-296 (nmol L⁻¹), dimetil-alquilfosfatos 3,0-300 (nmol L⁻¹), dietil-alquilfosfatos 0,03-156 (nmol L⁻¹), DMP 0,3-23 (µg L⁻¹) e 4,8-20 (nmol L⁻¹), DEP 0,3-22 (µg L⁻¹) e 1,3-20 (nmol L⁻¹), DMTP 0,2-55 (µg L⁻¹) e 0,7-250 (nmol L⁻¹), DETP 0,2-7,0 (µg L⁻¹) e 0,6-19 (nmol L⁻¹), DMDTP 0,1-25 (µg L⁻¹) e 0,6-2,0 (nmol L⁻¹), DEDTP 0,04-1,0 (µg L⁻¹) e 0,5-0,6 (nmol L⁻¹). E para valores ajustados pela creatinina foi de alquilfosfatos totais 8-62 (µg g⁻¹ cre) e 58-482 (nmol g⁻¹ cre), dimetil-alquilfosfatos 2-50 (µg g⁻¹ cre) e 27-270 (nmol g⁻¹ cre), dietil-alquilfosfatos 3,0-7,0 (µg g⁻¹ cre) e 3,0-185 (nmol g⁻¹ cre), DMP 0,7-39 (µg g⁻¹ cre) e 5,0-201

(nmol g⁻¹ cre), DEP 0,1-79 (µg g⁻¹ cre) e 4,0-33 (nmol g⁻¹ cre), DMTP 0,6-136 (µg g⁻¹ cre) e 3,0-104 (nmol g⁻¹ cre), DETP 0,1-28 (µg g⁻¹ cre) e 0,8-47 (nmol g⁻¹ cre), DMDTP 0,2-20 (µg g⁻¹ cre) e 0,8-14 (nmol g⁻¹ cre), DEDTP 0,05-6,0 (µg g⁻¹ cre) e 0,2-8,0 (nmol g⁻¹ cre).

Foram observadas maiores concentrações de alquilfosfatos em crianças que residem em áreas agrícolas, áreas com tratamento de controle vetorial recente, em fase oral (entre 3 meses e 1,5 ano) e fase em que as crianças começam a engatinhar, devido ao ato de levar as mãos ao chão contaminado e depois à boca. Os níveis de alquilfosfatos em crianças dos países europeus, como Espanha, França e Dinamarca são menores do que em países de outros continentes como China, EUA, Chile, África do Sul e Japão.

Vinte e sete (27), 14%, dos estudos selecionados foram realizados com mulheres grávidas. A faixa de níveis de alquilfosfatos encontrada nos estudos com mulheres grávidas, para valores não ajustados pela creatinina, foi de alquilfosfatos totais de 39-200 (nmol L⁻¹), dimetil-alquilfosfatos 31-284 (nmol L⁻¹), dietil-alquilfosfatos 0,1-107 (nmol L⁻¹), DMP 1,0-10 (µg L⁻¹) e 26 (nmol L⁻¹), DEP 1,0-12 (µg L⁻¹) e 16 (nmol L⁻¹), DMTP 1,0-10 (µg L⁻¹) e 23 (nmol L⁻¹), DETP 0,6-4,0 (µg L⁻¹) e 3,0 (nmol L⁻¹), DMDTP 0,4-1,0 (µg L⁻¹) e 2,0 (nmol L⁻¹), DEDTP 0,05-1,4 (µg L⁻¹) e 1,6 (nmol L⁻¹). E para valores ajustados pela creatinina foi de alquilfosfatos totais 73-346 (nmol g⁻¹ cre), dimetil-alquilfosfatos 46-269 (nmol g⁻¹ cre), dietil-alquilfosfatos 9,0-43 (nmol g⁻¹ cre), DMP 2,0-24 (µg g⁻¹ cre) e 17-130 (nmol g⁻¹ cre), DEP 0,5-11 (µg g⁻¹ cre) e 4,0-30 (nmol g⁻¹ cre), DMTP 1,0-19 (µg g⁻¹ cre) e 35-94 (nmol g⁻¹ cre), DETP 1,0-8,0 (µg g⁻¹ cre) e 0,03-13 (nmol g⁻¹ cre), DMDTP 0,3-1,0 (µg g⁻¹ cre) e 2,3-11 (nmol g⁻¹ cre), DEDTP 0,05-0,8 (µg g⁻¹ cre) e 0,01-5,0 (nmol g⁻¹ cre).

As observações com relação às mulheres grávidas foram bastante semelhantes às dos estudos com crianças e adolescentes. Maiores concentrações de alquilfosfatos foram observadas em mulheres que residem em áreas agrícolas e logo após o parto. Os países com níveis mais baixos foram Espanha e Canadá e com níveis mais altos foram China, Palestina, EUA e Holanda. A maioria dos estudos tinha como objetivo relacionar os níveis de alquilfosfatos durante a gestação e comprometimento do desenvolvimento neurológico da criança, uma vez que os efeitos neurotóxicos dos organofosforados já são bem conhecidos, e importantes associações positivas foram encontradas (BINTER et al., 2020; CARTIER et al., 2016; ESKENAZI et al., 2007; FERGUSON et al., 2019; GONZÁLEZ-ALZAGA et al., 2020; HU et al., 2020; HARLEY et al., 2016; QUIRÓS-ALCALÁ et al., 2011; STEIN et al., 2016; VAN DEN DRIES et al., 2019; YOLTON et al., 2013)

Em população ambientalmente exposta, destacam-se a Espanha e Suíça com os níveis mais baixos de alquilfosfatos e Alemanha, Japão, China e França com os mais altos. Alguns

resultados interessantes associam o aumento dos níveis de alquilfosfatos ao consumo de frutas e vegetais contaminados (BAUDRY et al., 2019; CURL; FENSKE; ELGETHUN, 2003; GONZÁLEZ-ALZAGA et al., 2020; MUÑOZ-QUEZADA et al., 2012); alimentos não orgânicos (OATES et al., 2014); contato profissional com organofosforados (CURL et al., 2002, SALVATORE et al., 2008); miopia (MIGNERON-FOISY et al., 2017); anormalidades cromossômicas nos espermatozoides (FIGUEROA et al., 2015, 2019; MELGAREJO et al., 2015; YUCRA et al., 2008); e, como já mencionado, aumento do risco de câncer de mama em mulheres e de câncer de próstata em homens acima dos 60 anos (SUN; SUN; BARR, 2020).

Dentre os estudos com estas populações, a quantificação por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas foi o método utilizado em 86 (45%) estudos¹¹. A cromatografia em fase gasosa acoplada a detector fotométrico de chama foi utilizada em 18 (9%) estudos¹². Já o método de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas foi utilizado em 26 (13%) estudos¹³

5.2.2. Estudos epidemiológicos com trabalhadores expostos a agrotóxicos

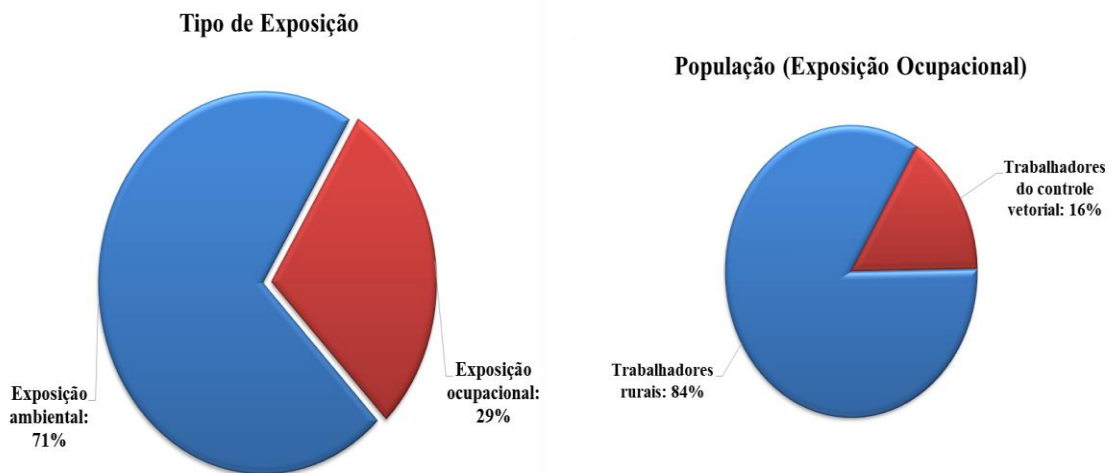
¹¹ABDEEN et al., 2016; ARCURY et al., 2006; BARR et al., 2004; BARR et al., 2011; BERMAN et al., 2013a; BERMAN et al., 2013b; BERMAN et al., 2016; BOUCHARD et al., 2010; BOUCHARD et al., 2011; BRADMAN et al., 2005; BRADMAN et al., 2011; BRADMAN et al., 2013; BRADMAN et al., 2015; BRAVO et al., 2002; BRAVO et al., 2004; CASTORINA et al., 2003; CLUNE; RYAN; BARR, 2012; CURL et al., 2015; DONAUER et al., 2016; EIN-MOR et al., 2018; ENGEL et al., 2007; ENGEL et al., 2011; ESKENAZI et al., 2007; ESKENAZI et al., 2010; ESKENAZI et al., 2014; FERGUSON et al., 2019; FIGUEROA et al., 2015; FIGUEROA et al., 2019; FORDE et al., 2015; FURLONG et al., 2014; GARFITT et al., 2002; GILLEZEAU et al., 2019; GÖEN et al., 2017; GONZÁLEZ-ALZAGA et al., 2015; HARDT; ANGERER, 2000; HARLEY et al., 2011; HARLEY et al., 2016; HEUDORF et al., 2006; HU et al., 2020; JAIN, 2016; JUSKO et al., 2019; KONGTIP et al., 2014; LEWIN et al., 2017; LIU et al., 2016; MARKS et al., 2010; MAT SUTRIS et al., 2016; MELGAREJO et al., 2015; MIGNERON-FOISY et al., 2017; MILLENSON et al., 2017; MULDER et al., 2019; MUÑOZ-QUEZADA et al., 2012; NTANTU NKINSA et al., 2020; OATES et al., 2014; OGLOBLINE et al., 2001b; OMOIKE; LEWIS; MEEKER, 2015; PERLA et al., 2015; PERRY et al., 2011; PIRARD et al., 2020; PRAPAMONTOL et al., 2014; QIN et al., 2020; QUIRÓS-ALCALÁ et al., 2011; QUIRÓS-ALCALÁ et al., 2012; RAANAN et al., 2015; RAANAN et al., 2016; RANJBAR et al., 2015; RAUCH et al., 2012; SAGIV et al., 2018; SALVATORE et al., 2015; SOKOLOFF et al., 2016; SPAAN et al., 2015; STEIN et al., 2016; SUN; SUN; BARR, 2020; VAN DEN DRIES et al., 2018; VAN DEN DRIES et al., 2019; VAN DEN DRIES et al., 2020; WANG et al., 2017a; WANG et al., 2017b; WANG et al., 2020; YE et al., 2008; YE et al., 2009; YE et al., 2015; YE et al., 2016; YOLTON et al., 2013; YOUNG et al., 2005; YU et al., 2016; ZHANG et al., 2020.

¹² APREA et al., 2000; BALLUZ et al., 2001; CURL; FENSKE; ELGETHUN, 2003; DING et al., 2012; FIEDLER et al., 2015; GUODONG et al., 2012; KISSEL et al., 2005; KOCH et al., 2002; LAMBERT et al., 2005; LU et al., 2001; MUÑOZ; IGLESIAS; LUCERO, 2011; PETCHUAY et al., 2006; PETCHUAY et al., 2008; ROHITRATTANA et al., 2014; SAIEVA et al., 2004; SAPBAMRER; HONGSIBSONG; KHACHA-ANANDA, 2020; ZHANG et al., 2014; ZHANG et al., 2015.

¹³ BABINA et al., 2012; BAUDRY et al., 2019; BICKER et al., 2005; BINTER et al., 2020; CARTIER et al., 2016; CEQUIER et al., 2016a; CEQUIER et al., 2017; DALSAGER et al., 2018; DEBOST-LEGRAND et al., 2016; DULAURENT et al., 2006. FÉRNANDEZ et al., 2020; GONZÁLEZ-ALZAGA et al., 2020; HERNÁNDEZ et al., 2019; HIOKI et al., 2019; ITO et al., 2019; LI; KANNAN, 2020; MCKELVEY et al., 2013; MUÑOZ-QUEZADA et al., 2019; MYRIDAKIS et al., 2016; OSAKA et al., 2016; OYA et al., 2017; OYA et al., 2020; PANUWET et al., 2009; SINHA; BANDA, 2018; UEYAMA et al., 2014; UEYAMA et al., 2015.

Cinquenta e sete (57), 29%, dos artigos selecionados para esta revisão são estudos epidemiológicos em população ocupacionalmente exposta a organofosforados (Figura 12). Sendo 48 (84%) destes, pesquisas com trabalhadores rurais e somente 9 (16%) com trabalhadores de controle vetorial. Tendo como destaques novamente os EUA com 11 (20%) e o México com 10 (18%) destes estudos. Em estudos com trabalhadores de controle vetorial, destacam-se Japão com 4 (7%) estudos e México com 3 (5%) estudos.

Figura 12. Porcentagem de estudos com trabalhadores ocupacionalmente expostos



Fonte: Própria autoria

A faixa de níveis de alquilfosfatos encontrada nos estudos com trabalhadores rurais, para valores não ajustados pela creatinina, foi de alquilfosfatos totais de 1.028-1.071 ($\mu\text{g L}^{-1}$) e 146-206 (nmol L^{-1}), dimetil-alquilfosfatos 108-700 (nmol L^{-1}), dietil-alquilfosfatos 20-38 (nmol L^{-1}), DMP 1,0-208 ($\mu\text{g L}^{-1}$) e 44,6-100 (nmol L^{-1}), DEP 1,0-142 ($\mu\text{g L}^{-1}$) e 9,8-10 (nmol L^{-1}), DMTP 0,7-601 ($\mu\text{g L}^{-1}$) e 31,8-400 (nmol L^{-1}), DETP 0,07-945 ($\mu\text{g L}^{-1}$) e 3,0-14,2 (nmol L^{-1}), DMDTP 0,02-281 ($\mu\text{g L}^{-1}$) e 1,8-20 (nmol L^{-1}), DEDTP 0,05-27 ($\mu\text{g L}^{-1}$) e 0,4 (nmol L^{-1}). E para valores ajustados pela creatinina foram de alquilfosfatos totais 5,0-965 ($\mu\text{g L}^{-1}$) e 168-2.000 ($\text{nmol g}^{-1} \text{ cre}$), dimetil-alquilfosfatos 3,1-9,0 ($\mu\text{g L}^{-1}$) e 90-1.500 ($\text{nmol g}^{-1} \text{ cre}$), dietil-alquilfosfatos 1,0-4,3 ($\mu\text{g L}^{-1}$) e 9,0-43 e 15-900 ($\text{nmol g}^{-1} \text{ cre}$), DMP 0,8-77,9 ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ cre}$) e 600-800 ($\text{nmol g}^{-1} \text{ cre}$), DEP 0,4-16,2 ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ cre}$) e 80-100 ($\text{nmol g}^{-1} \text{ cre}$), DMTP 0,2-707 ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ cre}$) e 200 ($\text{nmol g}^{-1} \text{ cre}$), DETP 0,6-9,6 ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ cre}$) e 80-100 ($\text{nmol g}^{-1} \text{ cre}$), DMDTP 0,1-65 ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ cre}$) e 80-100 ($\text{nmol g}^{-1} \text{ cre}$), DEDTP 0,2-7,3 ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ cre}$) e 40 ($\text{nmol g}^{-1} \text{ cre}$).

As concentrações de alquilfosfatos em trabalhadores rurais são muito mais altas do que as encontradas nas populações não ocupacionalmente expostas em todos os países, destacam-se especialmente a África do Sul, México, EUA, China e Japão. Com os menores níveis destacam-se Reino Unido e Tailândia.

Os estudos demonstram concentrações muito mais altas de alquilfosfatos em trabalhadores quando comparados com população controle e após a jornada de trabalho (ARCURY et al., 2016; KOKKINAKI et al., 2014). Outras observações interessantes demonstram a correlação entre altos níveis de alquilfosfatos e desregulação endócrina (AGUILAR-GARDUÑO et al., 201; BLANCO-MUÑOZ et al., 2010; LACASAÑA et al., 2010a); inibição da atividade da AChE (SILVÉRIO et al., 2017; WONGTA et al., 2018); danos ao DNA (ATHERTON et al., 2009) e neurológicos (SAPBAMRER; HONGSIBSONG; KHACHA-ANANDA, 2020). Demonstrando também menores níveis de alquilfosfatos após treinamento apropriado dos trabalhadores (MCCAULEY et al., 2013) e sob uso de equipamentos de proteção individual (SEESSEN et al., 2020).

Foram encontrados apenas dois trabalhos originados no Brasil, trata-se de uma tese de doutorado e um artigo científico originado desta tese. O estudo foi realizado no estado de Minas Gerais, na Universidade Federal de Alfenas, com trabalhadores rurais da região, com objetivo de avaliar a exposição dos trabalhadores a agrotóxicos organofosforados por meio da determinação de bioindicadores associados à avaliação clínica, visando dar subsídios ao poder público para a implantação de uma rede de atenção primária à saúde. Foram selecionados dois grupos expostos ocupacionalmente à mistura complexa de agrotóxicos, contendo organofosforados, (grupo 1, n = 94) e expostos ocupacionalmente à mistura complexa de agrotóxicos, sem organofosforados, (grupo 2, n = 94), para a aplicação dos bioindicadores atividade de acetilcolinesterase e butirilcolinesterase, alquilfosfatos urinários (DETP e DEDTP), testes de genotoxicidade (ensaios do citoma e do cometa) e análise polimórfica da CYP2C9, comparando esses resultados com aqueles obtidos em um grupo de indivíduos não expostos ocupacionalmente aos agrotóxicos, habitantes de zona urbana (grupo 3, n = 50). A média de concentração de DETP foi de $0,17 \mu\text{g L}^{-1}$ no grupo 1, $0,085 \mu\text{g L}^{-1}$ no grupo 2 e <LQ (limite de quantificação) para o grupo 3. A média de concentração de DEDTP foi de $0,047 \mu\text{g L}^{-1}$ no grupo 1, $0,085 \mu\text{g L}^{-1}$ no grupo 2 e <LQ (limite de quantificação) para o grupo 3. Os alquilfosfatos foram encontrados na urina de mais de 90% do grupo exposto à mistura contendo organofosforados e a diminuição da atividade da AChE relacionou-se a um aumento na concentração de alquilfosfatos na urina (teste Qui-Quadrado, $p < 0,001$). Os alquilfosfatos se mostraram mais sensíveis na detecção de exposição aos organofosforados em

relação à atividade das colinesterases, porém são bioindicadores de exposição recente devido a rápida biotransformação em até 72 horas. Os níveis de alquilfosfatos e os dados encontrados nesta pesquisa são compatíveis com os de trabalhos de outros países (SILVÉRIO, 2016; SILVÉRIO et al., 2017).

A faixa níveis de alquilfosfatos encontrada nos estudos com trabalhadores de controle vetorial, para valores não ajustados pela creatinina, foi de alquilfosfatos totais de 58,5-122,5 ($\mu\text{g L}^{-1}$) e 800 (nmol L^{-1}), DMP 21,8-48,8 ($\mu\text{g L}^{-1}$), DEP 0,3-5,9 ($\mu\text{g L}^{-1}$), DMTP 2,3-29,8 ($\mu\text{g L}^{-1}$), DETP 0,7-1,1 ($\mu\text{g L}^{-1}$). Já para valores ajustados pela creatinina foi de alquilfosfatos totais 945 (nmol g^{-1} cre), dimetil-alquilfosfatos 790 (nmol g^{-1} cre), dietil-alquilfosfatos 77 (nmol g^{-1} cre), DMP 64 (nmol g^{-1} cre), DEP 13,6 (nmol g^{-1} cre).

O quadro 8 demonstra as faixas de concentrações encontradas em cada população, sendo estas, adolescentes e crianças, mulheres grávidas, população geral, trabalhadores rurais e trabalhadores do controle vetorial.

Quadro 8. Faixas de concentrações de alquilfosfatos encontrados em cada população.

População	Alquilfosfatos	Níveis encontrados			
		Não ajustados		Ajustados pela concentração de creatinina	
		$\mu\text{g L}^{-1}$	nmol L^{-1}	nmol g^{-1} cre	$\mu\text{g g}^{-1}$ cre
Crianças e adolescentes	DAP	40-107	9-296	58-482	8-62
	DMAP	NI	3-300	27-270	2-50
	DEAP	NI	0,03-156	3-185	3-7
	DMP	0,3-23	4,8-20	5,0-201	0,7-39
	DEP	0,3-22	1,3-20	4,0-33	0,1-79
	DMTP	0,2-55	0,7-250	3,0-104	0,6-136
	DETP	0,2-7	0,6-19	0,8-47	0,1-28
	DMDTP	0,1-25	0,6-2,0	0,8-14	0,2-20
	DEDTP	0,04-1	0,5-0,6	0,2-8	0,05-6
	Mulheres grávidas	DAP	ND	39-200	73-346
DMAP		ND	31-284	46-269	NI
DEAP		ND	0,1-107	9,0-43,0	NI
DMP		1,0-10	26,0	17-130	2,0-24
DEP		1,0-12	16,0	4,0-30,0	0,5-11
DMTP		1,0-10	23,0	35-94	1,0-19
DETP		0,6-4,0	3,0	0,03-13,0	1,0-8
DMDTP		0,4-1,0	2,0	2,3-11,0	0,3-1,0
DEDTP		0,05-	1,6	0,01-5,0	0,05-0,8

		1,4			
População geral	DAP	19	41-57	68-405	20,0
	DMAP	ND	34,0	44-200	ND
	DEAP	ND	12,0	6,0-100	ND
	DMP	1,0-135	6,0	28,0	0,5-27,0
	DEP	1,0-16	4,0	18,0	0,3-25,0
	DMTP	1,0-160	11,0	17,0	2,0-43,0
	DETP	0,4-2,0	3,0	ND	0,3-6,0
	DMDTP	0,07-2,0	2,0	ND	0,3-6,0
	DEDTP	0,01-1,0	1,0	ND	0,02-9,0
Trabalhadores rurais	DAP	1.028-1.071	146-206	168-2.000	5,0-965
	DMAP	ND	108-700	90-1.500	3,1-9,0
	DEAP	ND	20-38	15,0-900	1,0-4,3
	DMP	1-288	44,6-100	600-800	0,8-77,9
	DEP	1-142	9,8-10	80-100	0,4-16,2
	DMTP	0,7-601	31,8-400	200	0,2-707
	DETP	0,07-945	3-14,2	80-100	0,6-9,6
	DMDTP	0,02-281	1,8-20,0	80-100	0,1-65
	DEDTP	0,05-27	0,4	40	0,2-7,3
Trabalhadores do controle vetorial	DAP	58,5-122,5	800	945	ND
	DMAP	ND	ND	790	ND
	DEAP	ND	ND	77	ND
	DMP	21,8-48,8	ND	64	ND
	DEP	0,3-5,9	ND	13,6	ND
	DMTP	2,3-29,8	ND	ND	ND
	DETP	0,7-1,1	ND	ND	ND
	DMDTP	ND	ND	ND	ND
	DEDTP	ND	ND	ND	ND

Legenda: DAP- dialquilfosfatos; DEAP-dietil-fosfatos; DMAP-dimetil-fosfatos; ND-não determinado.
 Fonte: Própria autoria.

Quadro 9. Faixas de concentrações de alquilfosfatos totais encontrados em cada população.

População	Faixa de níveis de alquilfosfatos totais encontrados			
	Não ajustados		Ajustados pela concentração de creatinina	
	$\mu\text{g L}^{-1}$	nmol L^{-1}	$\text{nmol g}^{-1} \text{cre}$	$\mu\text{g g}^{-1} \text{cre}$
Crianças e adolescentes	40-107	9-296	58-482	8-62
Mulheres grávidas	ND	39-200	73-346	ND
População geral	19	41-57	68-405	20,0
Trabalhadores rurais	1.028-1.071	146-206	168-2.000	5-965
Trabalhadores do controle vetorial	58,5-122,5	800	945	ND

Legenda: ND: não determinado. Fonte: Própria autoria.

Apesar do número muito reduzido de estudos, observa-se que, em geral, os níveis de alquilfosfatos totais em trabalhadores do controle vetorial são muito mais altos do que da população não exposta ocupacionalmente, assim como os níveis dos trabalhadores rurais (Quadro 9).

Os estudos com trabalhadores do controle vetorial mostram a situação de exposição a agrotóxicos e os danos à saúde que podem ser causados por esta exposição (Quadro 10).

Um dos estudos com trabalhadores de controle vetorial demonstrou que após 2 a 3 horas de exposição oral e dérmica à malationa foi possível observar aumento dos níveis de dimetilfosfatos (principalmente DMTP), MDA e MMA e níveis mais altos nos trabalhadores (n=32) do que nos controles (KRIEGER; DINOFF, 2000).

Lee e colaboradores observaram que estes trabalhadores (n=18) em exposição aos organofosforados fenitrotona, diclorvós, clorpirifós e diazinona, ao piretroide permetrina e ao carbamato propoxur, tiveram concentrações de alquilfosfatos totais e DMP associados ao aumento do marcador de estresse oxidativo 8-hidróxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG) mais altos do que nos controles (n=18), demonstrando maior nível de estresse oxidativo nos trabalhadores (LEE et al., 2007).

Ueyama e colaboradores mediram a atividade da glicuronidase plasmática (um candidato a biomarcador sensível para exposição a organofosforados), a atividade de BChE e a concentração de alquilfosfatos urinários em 3 grupos: 32 controles, 21 trabalhadores de controle vetorial e que não tiveram contato com organofosforados nos 3 dias anteriores à coleta de amostra (grupo 1) e 21 trabalhadores que tiveram contato com organofosforados dentro desses 3 dias (grupo 2). Observaram então que os níveis de alquilfosfatos e de atividade da glicuronidase plasmática era maior no grupo 2 do que no grupo 1, que era maior do que no grupo de controle, demonstrando então que a atividade da glicuronidase plasmática e os alquilfosfatos urinários são biomarcadores mais sensíveis do que a atividade de BChE para exposição de baixo nível de organofosforados (UEYAMA et al., 2010a). Em outro estudo, estes pesquisadores demonstraram níveis de DMP, DMTP e DETP maiores nesta categoria de trabalhadores (n=25) do que nos controles (n=23) (UEYAMA et al., 2006a).

Outro estudo desenvolvido por Ueyama e colaboradores avaliou as concentrações de alquilfosfatos urinários, verão e no inverno, distribuidores de alimentos (n=164), produtores de maçã (n=147) e trabalhadores do controle vetorial (n=28), revelando assim concentrações significativamente maiores de DMP, DEP, DMTP e DETP nos grupos de produtores de maçã e trabalhadores do controle vetorial que nos distribuidores de alimentos, em ambas as estações, exceto para o DMTP no inverno. Outra observação importante foi que os níveis de alquilfosfatos totais foram maiores entre os trabalhadores do controle vetorial do que nos outros dois grupos, tanto no inverno quanto no verão (UEYAMA et al., 2012).

Já Kimata e colaboradores realizaram um estudo com trabalhadores do controle vetorial dividindo-os em um grupo exposto a organofosforados durante a semana anterior a coleta da urina (n=45) e outro grupo não exposto nesse período (n=17). Foram analisados níveis dos alquilfosfatos urinários totais, DMP, DMTP, DEP e DETP e a atividade da AChE. Foi constatado que os alquilfosfatos totais, o DMP e o DEP apresentaram níveis mais elevados em indivíduos que foram expostos na semana anterior à coleta, bem como em trabalhadores que trabalhavam mais horas expostos aos organofosforados e, portanto, são biomarcadores eficientes para demonstrar exposição a estes inseticidas (KIMATA et al., 2009).

Herrera-Moreno e colaboradores realizaram uma pesquisa com 186 trabalhadores de controle vetorial (categorizados como exposições altas ou moderadas) e 102 participantes sem exposições ocupacionais a fim de avaliar os perfis de metilação dos genes CDKN2B e CDKN2A (genes envolvidos na oncogênese e supressão de tumores) e sua relação com a exposição ocupacional a agrotóxicos. As exposições agudas e crônicas a agrotóxicos foram

avaliadas por quantificação de alquilfosfatos urinários e um questionário estruturado, respectivamente. A redução da metilação do DNA do gene CDKN2B foi observada no grupo de trabalhadores em comparação com o grupo não exposto. Além disso, o aumento da metilação do promotor CDKN2A foi observado no grupo de exposição moderada em comparação com o grupo não exposto. A análise bivariada mostrou uma associação entre a metilação de CDKN2B e de CDKN2A e a exposição a agrotóxicos. Esses dados sugerem que a exposição a agrotóxicos modifica o padrão de metilação dos genes CDKN2B e CDKN2A e levanta questões importantes sobre o papel que essas mudanças podem desempenhar na regulação das atividades do ciclo celular, senescência e envelhecimento (HERRERA-MORENO et al., 2019).

Paredes-Céspedes e colaboradores conduziram um estudo para determinar a metilação do gene WRAP53 α (referido como um gene "antisense" do gene supressor de tumor p53) em populações mestiças e indígenas, bem como sua relação com fatores internos (idade, sexo e índice de massa corporal) e externos (exposição a agrotóxicos e ingestão de micronutrientes). Foram incluídos 91 indivíduos mestiços sem exposição ocupacional a agrotóxicos, 164 pulverizadores urbanos mestiços e 189 indígenas sem exposição ocupacional a agrotóxicos. A exposição aguda a agrotóxicos foi avaliada pela quantificação de alquilfosfatos urinários e a exposição crônica foi avaliada por meio de um questionário estruturado. O grupo de pulverizadores mestiços apresentou os maiores valores metilação do gene WRAP53 α e maior concentração urinária de alquilfosfatos em relação aos grupos indígenas e de controle. A análise bivariada mostrou uma associação entre estes dois fatores, sendo que mudanças no gene WRAP53 α podem causar um distúrbio importante no processo celular (PAREDES-CÉSPEDES et al., 2019).

Molina-Pintor e colaboradores conduziram um estudo com 208 trabalhadores do controle vetorial em que informações sobre características antropométricas, estilo de vida, sintomas relacionados à exposição a pesticidas, frequência de exposição, e o uso de equipamento de proteção individual foram obtidos a partir de um questionário estruturado e as exposições a agrotóxicos foram avaliadas pela quantificação de alquilfosfatos urinários. A atividade de BChE, os níveis de glicose, ureia, nitrogênio da ureia no sangue, creatinina, ácido úrico, colesterol, triglicerídeos, LDL, VLDL, lipídios totais, índice aterogênico, HDL e albumina testes também foram quantificados. Os participantes foram divididos em grupo controle (n=22), grupo moderadamente exposto (n=126) e grupo altamente exposto (n=60). Os resultados mostraram maior concentração de alquilfosfatos no grupo altamente exposto, seguido do grupo moderadamente exposto e do grupo controle. Além disso, observou-se

variações de glicose, colesterol, albumina, índice aterogênico, creatinina, LDL, VLDL, triglicerídeos e lipídeos totais de acordo com o nível de exposição a agrotóxicos em indivíduos com sobrepeso e obesidade. Além disso, foram observadas correlações positivas entre a atividade BChE e os parâmetros lipídicos. As observações sugerem que os parâmetros bioquímicos e o IMC podem ser influenciados pela exposição a organofosforados com impacto sobre a atividade de BChE. Portanto, a exposição repetida a organofosforados poderia alterar o metabolismo lipídico, trazendo alterações nos parâmetros lipídicos e possivelmente ganho de peso, por sua vez, ocasionando sobrepeso e obesidade (MOLINA-PINTOR et al., 2020).

Dentre os estudos com estas populações, a quantificação por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas foi utilizada em 28 (49%) estudos¹⁴. Já o método de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas foi utilizado em 5 (9%) estudos¹⁵. E a cromatografia em fase gasosa acoplada a detector fotométrico de chama foi utilizada em 22 (39%) estudos¹⁶.

¹⁴AGUILAR-GARDUÑO et al., 2017; APREA et al., 2005^a; ARCURY et al., 2009; ARCURY et al., 2016; BLANCO-MUÑOZ et al., 2012; BOUVIER et al., 2006; COCKER et al., 2002; DALVIE et al., 2011; GRZYWACZ et al., 2010; HERRERA-MORENO et al., 2019; KIM et al., 2018; KOKKINAKI et al., 2014; KOUREAS et al., 2014a; KOUREAS et al., 2014b; LEE et al., 2007; MOLINA-PINTOR et al., 2020; MOTSOENENG; DALVIE, 2015; PAREDES-CÉSPEDES et al., 2019; SALVATORE et al., 2008; SAPBAMRER et al., 2019; SHOMAR; AL-SAAD; NRIAGU, 2014; SILVÉRIO et al., 2017; SILVÉRIO, 2016; TAMARO et al., 2018; UHEYAMA et al., 2006; UHEYAMA et al., 2010a; UHEYAMA et al., 2012).

¹⁵ATHERTON et al., 2009; HERNÁNDEZ; SANCHO; POZO, 2002a; LEE et al., 2017; PANUWET et al., 2009; SALVATORE et al., 2008.

¹⁶AGUILAR-GARDUÑO et al., 2013; APREA et al., 2001; APREA et al., 2005b; BLANCO-MUÑOZ et al., 2010; CURL et al., 2002; FENSKE; CURL; KISSEL, 2003; HATJIAN et al., 2000; HONGSIBSONG; SITTITON; SAPBAMRER, 2017; KRIEGER; DINOFF, 2000; LACASAÑA et al., 2010a; LACASAÑA et al., 2010b; LIN et al., 2002; MCCAULEY et al., 2013; SÁNCHEZ-PEÑA et al., 2004; SAPBAMRER; HONGSIBSONG; KERDNOI, 2017; SEESEN et al., 2020; SUWANNARIN et al., 2020; WONGTA et al., 2018; WU et al., 2010; YUCRA et al., 2006; YUCRA et al., 2008

Quadro 10. Estudos epidemiológicos com trabalhadores do controle vetorial.

País	Ano	Autores	n	Observações
EUA	2000	Krieger; Dinoff	32	Níveis mais altos de DMTP, MDA e MMA em exposição à malationa
Coreia do Sul	2007	Lee et al.	18	Nível de AFt e DMP associados ao aumento do marcador de estresse oxidativo 8-hidróxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG)
Japão	2006	Ueyama et al.	25	Níveis mais altos de DMP, DMTP e DETP do que em controles
Japão	2009	Kimata et al.	62	Maiores níveis de AFt, DMP e DEP em indivíduos expostos na semana anterior à coleta, bem como quem trabalhava mais horas expostos a OF
Japão	2010	Ueyama et al.	42	Níveis de AFt e de atividade da glicuronidase plasmática maior nos trabalhadores com contato recente com OF
Japão	2012	Ueyama et al.	28	Níveis de AFt maiores nos trabalhadores do CV do que nos produtores e transportadores de alimentos
México	2019	Herrera-Moreno et al.	186	Associação entre a metilação dos genes CDKN2A e CDKN2B e nível de AFt (genes envolvidos na oncogênese, supressão de tumores e envelhecimento celular)
México	2019	Paredes-Céspedes et al.	164	Associação entre maiores níveis de AFt e maior metilação do gene WRAP53 α (genes envolvidos à supressão de tumores e envelhecimento celular)
México	2020	Molina-Pintor et al.	208	Maiores níveis de AFt e associação com alterações no metabolismo lipídico (obesidade)

Legenda: AFt: alquilfosfatos totais; CV: controle vetorial; OF: organofosforados; MDA: ácido dicarboxílico da malationa; MMA: ácido monocarboxílico da malationa. Fonte: Própria autoria.

6. CONCLUSÃO

A presente revisão obteve como resultado um total de 205 trabalhos referentes à quantificação de alquilfosfatos originados de exposição a inseticidas organofosforados em urina humana. Este número demonstra que estes metabólitos vêm sendo bastante utilizados em todo mundo como biomarcadores de dose interna para a avaliação a exposição a organofosforados, tanto ambiental quanto ocupacionalmente.

A cromatografia em fase gasosa é o método de separação mais utilizado para este fim. Dentre os métodos desenvolvidos, 19 (76%) utilizaram a CG, que em 12 (63%) estudos foi acoplada a EM e em 7 (37%) a DFC, enquanto a cromatografia líquida foi utilizada em 7 (28%) trabalhos. E dentre os estudos epidemiológicos que informaram a metodologia utilizada, a CG foi utilizada em 154 (85%) deles, que em 114 (74%) foi acoplada à EM e em 40 (26%) acoplada a DFC, enquanto a cromatografia líquida foi utilizada em 31 (17%) estudos, sempre acoplada à espectrometria de massas.

As limitações notáveis em métodos baseados em CG para análise de alquilfosfatos são etapas de derivatização trabalhosas e demoradas, precisão limitada, alguns métodos de derivatização provocam decomposição de tiocompostos e as recuperações dos alquilfosfatos DMP e DEP são declaradamente baixas devido à derivatização. Já nos métodos baseados em cromatografia líquida, as limitações são sensibilidades mais baixas do que em CG.

Dentre os métodos de extração observou-se a EFS e ELL como as técnicas mais utilizadas, sendo a EFS mais econômica em tempo e quantidade de solventes necessários e apresentar melhor porcentagem de recuperação dos analitos, quando comparada com a ELL que é mais econômica no que se refere ao aparato necessário. A liofilização também vem sendo utilizada e apesar de usar pouco solvente e ter bons resultados de recuperação de analitos, é uma técnica dispendiosa e bastante demorada.

As principais limitações observadas a respeito da quantificação de alquilfosfatos se referem a dificuldade no processo de extração destes analitos na matriz urinária e no fato de que o tempo entre a exposição e a coleta não pode exceder 72 horas, pois após este tempo a concentração de alquilfosfatos na urina não é mais representativa da exposição.

Os estudos epidemiológicos com alquilfosfatos em urina humana vêm demonstrando que estes metabólitos são biomarcadores de exposição sensíveis e representativos tanto para exposição ambiental quanto ocupacional embasados em observações positivas referentes a associações estatísticas e efeito dose-resposta entre a magnitude da exposição a organofosforados, a concentração de alquilfosfatos urinário e os desfechos investigados.

Também se pode observar que os países mais envolvidos na utilização destes biomarcadores são os EUA e os países europeus que utilizam esta quantificação principalmente para avaliação de exposição ambiental de população geral a organofosforados, mostrando a falta de estudos com trabalhadores expostos ocupacionalmente. Os EUA, o México e a Tailândia são os países que tem mais estudos com esta população, porém em quantidade muito menor do que com a população geral e, em geral, com trabalhadores rurais e não com trabalhadores do controle vetorial.

Quanto aos trabalhadores do controle vetorial, os países que têm mais estudos com estes biomarcadores são Japão e México, com somente quatro estudos cada, o que mostra a negligência com a saúde desta categoria de trabalhadores também em outros países. Porém, apesar de poucos, os estudos com esta população trazem resultados interessantes, mostrando mais uma vez que os alquilfosfatos são biomarcadores sensíveis e viáveis de utilização, e que a exposição a organofosforados é uma realidade na rotina de trabalho desta categoria e que pode levar a diversos danos à saúde.

Existe, portanto, uma necessidade de mudança no processo de trabalho e de implementação de novas estratégias para lidar com o controle das DTV, estratégias quais não se embasem na utilização de substâncias nocivas à saúde de trabalhadores e população, mas sim na melhoria das condições sanitárias e de saneamento básico e na utilização de métodos alternativos de controle de vetores.

Bombardi (2017, 2021), mostra que o uso massivo de agrotóxicos, seja na agricultura, no ambiente doméstico ou na saúde pública, principalmente em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, vem causando grandes danos à saúde ambiental e humana. A economia destes países depende, principalmente, da exportação de produtos de origem agropecuária, que faz uso massivo de agrotóxicos, os quais são fabricados em países desenvolvidos, onde a legislação é mais rígida e muitos destes são banidos ou têm restrição de uso, e vendidos para países periféricos, como o Brasil, onde são utilizados em grande escala devido à permissividade da legislação. Posteriormente, os produtos agropecuários contaminados por resíduos de agrotóxicos são vendidos, inclusive, para países desenvolvidos e ofertados para toda população, gerando assim um ciclo de exposição a estas substâncias.

REFERÊNCIAS

- ABDEEN, Z. et al. Urinary organophosphate metabolite levels in Palestinian pregnant women: results of the Middle East Regional Cooperation Project. **International journal of environmental health research**, v. 26, n. 3, p. 254–266, 2016.
- AGUILAR-GARDUÑO, C. et al. Changes in male hormone profile after occupational organophosphate exposure. A longitudinal study. **Toxicology**, v. 307, p. 55–65, 10 maio 2013.
- AGUILAR-GARDUÑO, C. et al. Occupational predictors of urinary dialkyl phosphate concentrations in Mexican flower growers. **International journal of occupational and environmental health**, v. 23, n. 2, p. 151–159, abr. 2017.
- AMORIM, L. C. A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 6, n. 2, p. 158–170, jun. 2003.
- ANVISA. **Monografia autorizada da ANVISA - Temefós**, 2020a. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/t/4523json-file-1/@download/file/4523json-file.1.pdf>>. Acesso em: 14 mai. 2021.
- ANVISA. **Monografia autorizada da ANVISA - Fenitrotona**, 2020b. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/f/4330json-file-1/@download/file/4330json-file.1.pdf>>. Acesso em: 14 mai. 2021.
- APREA, C. et al. Biologic monitoring of exposure to organophosphorus pesticides in 195 Italian children. **Environmental health perspectives**, v. 108, n. 6, p. 521–525, jun. 2000.
- APREA, C. et al. Evaluation of respiratory and cutaneous doses and urinary excretion of alkylphosphates by workers in greenhouses treated with omethoate, fenitrothion, and tolclofos-methyl. **AIHAJ: a journal for the science of occupational and environmental health and safety**, v. 62, n. 1, p. 87–95, fev. 2001.
- APREA, C. et al. Evaluation of skin and respiratory doses and urinary excretion of alkylphosphates in workers exposed to dimethoate during treatment of olive trees. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 48, n. 1, p. 127–134, 2004.
- APREA, C. et al. Exposure to omethoate during stapling of ornamental plants in intensive cultivation tunnels: influence of environmental conditions on absorption of the pesticide. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 49, n. 4, p. 577–588, nov. 2005.
- APREA, C.; SCIARRA, G.; LUNGHINI, L. Analytical Method for the Determination of Urinary Alkylphosphates in Subjects Occupationally Exposed to Organophosphorus Pesticides and in the General Population. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 20, n. 7, p. 559–563, 1 nov. 1996.

ARCURY, T. A. et al. Organophosphorus pesticide urinary metabolite levels of children in farmworker households in eastern North Carolina. **American journal of industrial medicine**, v. 49, n. 9, p. 751–760, set. 2006.

ARCURY, T. A. et al. Variation across the agricultural season in organophosphorus pesticide urinary metabolite levels for Latino farmworkers in eastern North Carolina: project design and descriptive results. **American journal of industrial medicine**, v. 52, n. 7, p. 539–550, jul. 2009.

ARCURY, T. A. et al. Organophosphate Pesticide Urinary Metabolites Among Latino Immigrants: North Carolina Farmworkers and Non-farmworkers Compared. **Journal of occupational and environmental medicine**, v. 58, n. 11, p. 1079–1086, nov. 2016.

ATHERTON, K. M. et al. DNA damage in horticultural farmers: a pilot study showing an association with organophosphate pesticide exposure. **Biomarkers : biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals**, v. 14, n. 7, p. 443–451, nov. 2009.

AZEVEDO, M. F. A. DE; MEYER, A. Tremor essencial em guardas de endemias expostos a agrotóxicos: estudo caso-controle. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 33, n. 8, 21 ago. 2017.

BABINA, K. et al. Environmental exposure to organophosphorus and pyrethroid pesticides in South Australian preschool children: A cross sectional study. **Environment International**, v. 48, p. 109–120, nov. 2012a.

BABINA, K. et al. Environmental exposure to organophosphorus and pyrethroid pesticides in South Australian preschool children: a cross sectional study. **Environment international**, v. 48, p. 109–120, 1 nov. 2012b.

BADR, A. M. Organophosphate toxicity: updates of malathion potential toxic effects in mammals and potential treatments. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 21, p. 26036–26057, jul. 2020.

BALLUZ, L. et al. Environmental pesticide exposure in Honduras following hurricane Mitch. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 79, n. 4, p. 288–295, 2001.

BARR, D. B. et al. Concentrations of dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus pesticides in the U.S. population. **Environmental health perspectives**, v. 112, n. 2, p. 186–200, fev. 2004.

BARR, D. B. et al. Urinary concentrations of dialkylphosphate metabolites of organophosphorus pesticides: National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2004. **International journal of environmental research and public health**, v. 8, n. 8, p. 3063–3098, ago. 2011.

BASTOS, M. L. et al. Common mental disorders among workers chronically exposed to pesticides: the case of workers involved in fighting endemic diseases. **Revista Brasileira de Medicina do Trabalho**, v. 17, n. 4, p. 506–510, 2019.

BAUDRY, J. et al. Urinary pesticide concentrations in French adults with low and high organic food consumption: results from the general population-based NutriNet-Santé.

Journal of exposure science & environmental epidemiology, v. 29, n. 3, p. 366–378, abr. 2019.

BENKA-COKER, W. et al. Association of Organophosphate Pesticide Exposure and a Marker of Asthma Morbidity in an Agricultural Community. **Journal of agromedicine**, v. 25, n. 1, p. 106–114, jan. 2020.

BENKA-COKER, W. O. et al. Characterizing the joint effects of pesticide exposure and criteria ambient air pollutants on pediatric asthma morbidity in an agricultural community. **Environmental epidemiology (Philadelphia, Pa.)**, v. 3, n. 3, p. e046, jun. 2019.

BERKELEY UNIVERSITY OF CALIFORNIA. **CHAMACOS Study | CERCH**. Disponível em: <<https://cerch.berkeley.edu/research-programs/chamacos-study>>. Acesso em: 20 mai. 2021.

BERMAN, T. et al. Urinary concentrations of environmental contaminants and phytoestrogens in adults in Israel. **Environment international**, v. 59, p. 478–484, set. 2013a.

BERMAN, T. et al. Urinary concentrations of organophosphate pesticide metabolites in adults in Israel: demographic and dietary predictors. **Environment international**, v. 60, p. 183–189, out. 2013b.

BERMAN, T. et al. Urinary concentrations of organophosphate and carbamate pesticides in residents of a vegetarian community. **Environment international**, v. 96, p. 34–40, nov. 2016.

BEYEA, S. C.; NICOLL, L. H. Writing an integrative review. **AORN Journal**, v. 67, n. 4, p. 877–880, 1998.

BICKER, W. et al. A case study of acute human chlorpyrifos poisoning: novel aspects on metabolism and toxicokinetics derived from liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of urine samples. **Toxicology letters**, v. 159, n. 3, p. 235–251, 15 dez. 2005.

BINTER, A. C. et al. Exposure of pregnant women to organophosphate insecticides and child motor inhibition at the age of 10-12 years evaluated by fMRI. **Environmental research**, v. 188, p. 109859, set. 2020.

BLANCO-MUÑOZ, J. et al. Exposure to organophosphate pesticides and male hormone profile in floriculturist of the state of Morelos, Mexico. **Human reproduction (Oxford, England)**, v. 25, n. 7, p. 1787–1795, jul. 2010.

BLANCO-MUÑOZ, J. et al. Effect of exposure to p,p'-DDE on male hormone profile in Mexican flower growers. **Occupational and environmental medicine**, v. 69, n. 1, p. 5–11, jan. 2012.

BOMBARDI, L. M. **Geografia do Uso de Agrotóxicos no Brasil e Conexões com a União Europeia**. p. 296, 2017.

BOMBARDI, L. M. **Geography of Asymmetry: Circle of Poison and Molecular Colonialism in the Commercial Relationship Between Mercosur and the European Union**, 2021. Disponível em:

<https://pedlowski.files.wordpress.com/2021/05/bra_pestizidatlas_lbombardi_geography-of-asymmetry-2021.pdf>

BOUCHARD, M. et al. Determination of biological reference values for chlorpyrifos metabolites in human urine using a toxicokinetic approach. **Journal of occupational and environmental hygiene**, v. 2, n. 3, p. 155–168, mar. 2005.

BOUCHARD, M. F. et al. Attention-deficit/hyperactivity disorder and urinary metabolites of organophosphate pesticides. **Pediatrics**, v. 125, n. 6, p. e1270-1277, jun. 2010.

BOUCHARD, M. F. et al. Prenatal exposure to organophosphate pesticides and IQ in 7-year-old children. **Environmental health perspectives**, v. 119, n. 8, p. 1189–1195, ago. 2011.

BOUVIER, G. et al. Environmental and biological monitoring of exposure to organophosphorus pesticides: application to occupationally and non-occupationally exposed adult populations. **Journal of exposure science & environmental epidemiology**, v. 16, n. 5, p. 417–426, set. 2006.

BRADMAN, A. et al. Organophosphate urinary metabolite levels during pregnancy and after delivery in women living in an agricultural community. **Environmental health perspectives**, v. 113, n. 12, p. 1802–1807, dez. 2005.

BRADMAN, A. et al. Determinants of organophosphorus pesticide urinary metabolite levels in young children living in an agricultural community. **International journal of environmental research and public health**, v. 8, n. 4, p. 1061–1083, abr. 2011.

BRADMAN, A. et al. Variability of organophosphorous pesticide metabolite levels in spot and 24-hr urine samples collected from young children during 1 week. **Environmental health perspectives**, v. 121, n. 1, p. 118–124, jan. 2013.

BRADMAN, A. et al. Effect of Organic Diet Intervention on Pesticide Exposures in Young Children Living in Low-Income Urban and Agricultural Communities. **Environmental health perspectives**, v. 123, n. 10, p. 1086–1093, out. 2015.

BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 16, n. 2, p. 113–118, jun. 2007.

BRASIL. **Norma Regulamentadora 7 - Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional**. Brasília, DF, 1978.

BRASIL. **Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989**. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Ministério da Agricultura. Brasília, DF, 11 jul. 1989.

BRASIL. **Lei nº 11.350, de 05 de outubro de 2006**. Regulamenta o § 5º do art. 198 da Constituição, dispõe sobre o aproveitamento de pessoal amparado pelo parágrafo único do art.

2º da Emenda Constitucional nº 51, de 14 de fevereiro de 2006, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Congresso Nacional, Brasília, DF, 5 out. 2006. 2006 a.

BRASIL. Diretrizes para atenção integral à saúde do trabalhador de complexidade diferenciada: protocolo de atenção à saúde dos trabalhadores expostos a agrotóxicos. Ago. 2006. Ministério da Saúde, 2006b. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_atencao_saude_trab_exp_agrotoxicos.pdf>. Acesso em: 29 abr. 2021.

BRASIL. II Seminário internacional para avaliação de ações de controle químico de Aedes Aegypti no Brasil, 2012. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/dezembro/16/Resumo-Executivo-II-Semin-rio-Aedes-aegypti-final.pdf>>. Acesso em: 4 jul. 2020.

BRASIL. RDC Nº 294, de 29 de julho de 2019. Dispõe sobre os critérios para avaliação e classificação toxicológica, priorização da análise e comparação da ação toxicológica de agrotóxicos, componentes, afins e preservativos de madeira, e dá outras providências. Diário Oficial da União, Ministério da Saúde/ANVISA, Brasília, DF, 2019.

BRASIL. NOTA TÉCNICA Nº 1/2020-CGARB/DEIDT/SVS/MS. Apresenta as características gerais relacionadas ao produto atualmente preconizado para as arboviroses de controle químico a Ultra Baixo Volume (UBV), CIELO ULV. Ministério da Saúde/ANVISA. 2020. Disponível em: <[https://dive.sc.gov.br/conteudos/zoonoses/dengue/SEI_MS%20-%200013726537%20-%20Nota%20T%C3%A9cnica%20\(1\).pdf](https://dive.sc.gov.br/conteudos/zoonoses/dengue/SEI_MS%20-%200013726537%20-%20Nota%20T%C3%A9cnica%20(1).pdf)>. Acesso em : 4 dez. 2020a.

BRASIL. Monografia autorizada da ANVISA – Malationa. Ministério da Saúde/ANVISA. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/m-n-o/4418json-file-1/@@download/file/4418json-file.1.pdf>>. Acesso em: 4 jul. 2020b.

BRASIL. DATASUS. Dados epidemiológicos e morbidade: Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN)/ Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM). Disponível em: <<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=02>>. Acesso em: 11 mar. 2021.

BRAVO, R. et al. Quantitation of Dialkyl Phosphate Metabolites of Organophosphate Pesticides in Human Urine Using GC-MS-MS with Isotopic Internal Standards. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 26, n. 5, p. 245–252, 1 jul. 2002a.

BRAVO, R. et al. Quantitation of dialkyl phosphate metabolites of organophosphate pesticides in human urine using GC-MS-MS with isotopic internal standards. **Journal of analytical toxicology**, v. 26, n. 5, p. 245–252, ago. 2002b.

BRAVO, R. et al. Measurement of dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus pesticides in human urine using lyophilization with gas chromatography-tandem mass spectrometry and isotope dilution quantification. **Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology**, v. 14, n. 3, p. 249–259, maio 2004a.

BRAVO, R. et al. Measurement of dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus pesticides in human urine using lyophilization with gas chromatography-tandem mass

spectrometry and isotope dilution quantification. **Journal of exposure analysis and environmental epidemiology**, v. 14, n. 3, p. 249–259, maio 2004b.

BULL, D.; HATHAWAY, D. **Pragas e venenos: agrotóxicos no Brasil e no Terceiro Mundo** Petropolis: Editora Vozes/OXFAM/FASE, , 1986.

BURATTI, F. M. et al. MALATHION BIOACTIVATION IN THE HUMAN LIVER: THE CONTRIBUTION OF DIFFERENT CYTOCHROME P450 ISOFORMS. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 33, n. 3, p. 295–302, mar. 2005.

CALDAS, S. S. et al. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1604–1617, set. 2011.

CARNEIRO, F. F. et al. (EDS.). **Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. Rio de Janeiro : São Paulo: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio ; Expressão Popular, 2015.

CARTIER, C. et al. Organophosphate Insecticide Metabolites in Prenatal and Childhood Urine Samples and Intelligence Scores at 6 Years of Age: Results from the Mother-Child PELAGIE Cohort (France). **Environmental health perspectives**, v. 124, n. 5, p. 674–680, maio 2016.

CASTORINA, R. et al. Cumulative organophosphate pesticide exposure and risk assessment among pregnant women living in an agricultural community: a case study from the CHAMACOS cohort. **Environmental health perspectives**, v. 111, n. 13, p. 1640–1648, out. 2003.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **NHANES - About the National Health and Nutrition Examination Survey**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/nchs/nhanes/about_nhanes.htm>. Acesso em: 20 maio. 2021.

CEQUIER, E. et al. Development of an ion-pair liquid chromatography-high resolution mass spectrometry method for determination of organophosphate pesticide metabolites in large-scale biomonitoring studies. **Journal of chromatography. A**, v. 1454, p. 32–41, 8 jul. 2016a.

CEQUIER, E. et al. Development of an ion-pair liquid chromatography-high resolution mass spectrometry method for determination of organophosphate pesticide metabolites in large-scale biomonitoring studies. **Journal of chromatography. A**, v. 1454, p. 32–41, 8 jul. 2016b.

CEQUIER, E. et al. Exposure to organophosphorus pesticides in Norwegian mothers and their children: Diurnal variability in concentrations of their biomarkers and associations with food consumption. **The Science of the total environment**, v. 590–591, p. 655–662, 15 jul. 2017.

CHAMBERS, J. E.; CARR, R. L. Biochemical mechanisms contributing to species differences in insecticidal toxicity. **Toxicology**, v. 105, n. 2–3, p. 291–304, dez. 1995.

CHEN, L. et al. Absorption and excretion of organophosphorous insecticide biomarkers of malathion in the rat: Implications for overestimation bias and exposure misclassification from

environmental biomonitoring. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 65, n. 3, p. 287–293, abr. 2013.

CLUNE, A. L.; RYAN, P. B.; BARR, D. B. Have regulatory efforts to reduce organophosphorus insecticide exposures been effective? **Environmental health perspectives**, v. 120, n. 4, p. 521–525, abr. 2012.

COCKER, J. et al. Biological monitoring of exposure to organophosphate pesticides. **Toxicology letters**, v. 134, n. 1–3, p. 97–103, 5 ago. 2002.

COCKER, J. et al. Creatinine adjustment of biological monitoring results. **Occupational Medicine**, v. 61, n. 5, p. 349–353, 1 ago. 2011.

CURL, C. L. et al. Evaluation of take-home organophosphorus pesticide exposure among agricultural workers and their children. **Environmental health perspectives**, v. 110, n. 12, p. A787-792, dez. 2002.

CURL, C. L. et al. Estimating pesticide exposure from dietary intake and organic food choices: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). **Environmental health perspectives**, v. 123, n. 5, p. 475–483, maio 2015.

CURL, C. L.; FENSKE, R. A.; ELGETHUN, K. Organophosphorus pesticide exposure of urban and suburban preschool children with organic and conventional diets. **Environmental health perspectives**, v. 111, n. 3, p. 377–382, mar. 2003.

DALSAGER, L. et al. Associations of maternal exposure to organophosphate and pyrethroid insecticides and the herbicide 2,4-D with birth outcomes and anogenital distance at 3 months in the Odense Child Cohort. **Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)**, v. 76, p. 53–62, mar. 2018.

DALVIE, M. A. et al. Urinary dialkyl phosphate levels before and after first season chlorpyrifos spraying amongst farm workers in the Western Cape, South Africa. **Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes**, v. 46, n. 2, p. 163–172, 2011.

DAVIES, M. **Study skills for international postgraduates**. Houndmills, Basingstoke, Hampshire ; New York: Palgrave Macmillan, 2011.

DE ALWIS, G. K. H.; NEEDHAM, L. L.; BARR, D. B. Measurement of human urinary organophosphate pesticide metabolites by automated solid-phase extraction derivation and gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 843, n. 1, p. 34–41, 20 out. 2006a.

DE ALWIS, G. K. H.; NEEDHAM, L. L.; BARR, D. B. Measurement of human urinary organophosphate pesticide metabolites by automated solid-phase extraction derivation and gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 843, n. 1, p. 34–41, 20 out. 2006b.

DE ALWIS, G. K. H.; NEEDHAM, L. L.; BARR, D. B. Determination of dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus pesticides in human urine by automated solid-phase

extraction, derivatization, and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of analytical toxicology**, v. 32, n. 9, p. 721–727, dez. 2008.

DE ALWIS, G. K. H.; NEEDHAM, L. L.; BARR, D. B. Automated solid phase extraction, on-support derivatization and isotope dilution-GC/MS method for the detection of urinary dialkyl phosphates in humans. **Talanta**, v. 77, n. 3, p. 1063–1067, 15 jan. 2009a.

DE ALWIS, G. K. H.; NEEDHAM, L. L.; BARR, D. B. Automated solid phase extraction, on-support derivatization and isotope dilution-GC/MS method for the detection of urinary dialkyl phosphates in humans. **Talanta**, v. 77, n. 3, p. 1063–1067, 15 jan. 2009b.

DEBOST-LEGRAND, A. et al. Prenatal exposure to persistent organic pollutants and organophosphate pesticides, and markers of glucose metabolism at birth. **Environmental research**, v. 146, p. 207–217, abr. 2016.

DING, G. et al. Increased levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine are attributable to organophosphate pesticide exposure among young children. **Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)**, v. 167, p. 110–114, ago. 2012.

DONAUER, S. et al. An Observational Study to Evaluate Associations Between Low-Level Gestational Exposure to Organophosphate Pesticides and Cognition During Early Childhood. **American journal of epidemiology**, v. 184, n. 5, p. 410–418, 1 set. 2016.

DRAPER, W. H.; WIJEKON, D.; STEPHENS, R. D. Determination of malathion urinary metabolites by isotope dilution ion trap GC/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, n. 10, p. 1796–1801, out. 1991.

DRAPER, W. M.; BEHNIWAL, P.; WIJEKON, D. Direct determination of dialkyl phosphates by strong anion-exchange liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry using a quadrupole ion trap instrument. **Rapid Commun Mass Spectrom**, v. 22, n. 17, p. 2613–20, jul. 2008.

DULAURENT, S. et al. Simultaneous determination of six dialkylphosphates in urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 831, n. 1–2, p. 223–229, fev. 2006.

EIN-MOR, E. et al. Decreasing urinary organophosphate pesticide metabolites among pregnant women and their offspring in Jerusalem: Impact of regulatory restrictions on agricultural organophosphate pesticides use? **International journal of hygiene and environmental health**, v. 221, n. 5, p. 775–781, jun. 2018.

ENGEL, S. M. et al. Prenatal organophosphate metabolite and organochlorine levels and performance on the Brazelton Neonatal Behavioral Assessment Scale in a multiethnic pregnancy cohort. **American journal of epidemiology**, v. 165, n. 12, p. 1397–1404, 15 jun. 2007.

ENGEL, S. M. et al. Prenatal exposure to organophosphates, paraoxonase 1, and cognitive development in childhood. **Environmental health perspectives**, v. 119, n. 8, p. 1182–1188, ago. 2011.

ESKENAZI, B. et al. Organophosphate pesticide exposure and neurodevelopment in young Mexican-American children. **Environmental health perspectives**, v. 115, n. 5, p. 792–798, maio 2007.

ESKENAZI, B. et al. PON1 and neurodevelopment in children from the CHAMACOS study exposed to organophosphate pesticides in utero. **Environmental health perspectives**, v. 118, n. 12, p. 1775–1781, dez. 2010.

ESKENAZI, B. et al. Organophosphate pesticide exposure, PON1, and neurodevelopment in school-age children from the CHAMACOS study. **Environmental research**, v. 134, p. 149–157, out. 2014.

EUROPEAN COMMISSION. **EU Pesticides Database (v.2.2) Search Active substances, safeners and synergists**. Disponível em: <<https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/active-substances/?event=search.as>>. Acesso em: 7 jul. 2021.

FAO. Food and Agriculture Organization. **FAOSTAT**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/RP>>. Acesso em: 1 jun. 2021.

FAO; WHO. Food and Agriculture Organization/ World Health Organization. **International Code of Conduct on Pesticide Management - Guidelines on Pesticide Legislation**, 2015. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/a-i5008e.pdf>>. Acesso em: 25 nov. 2020.

FENSKE, R. A. et al. Biologic monitoring to characterize organophosphorus pesticide exposure among children and workers: an analysis of recent studies in Washington State. **Environmental health perspectives**, v. 113, n. 11, p. 1651–1657, nov. 2005.

FENSKE, R. A.; CURL, C. L.; KISSEL, J. C. The effect of the 14-day agricultural restricted entry interval on azinphosmethyl exposures in a group of apple thinners in Washington state. **Regulatory toxicology and pharmacology : RTP**, v. 38, n. 1, p. 91–97, ago. 2003.

FENSKE, R. A.; LEFFINGWELL, J. T. Method for the determination of dialkyl phosphate metabolites in urine for studies of human exposure to malathion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 37, n. 4, p. 995–998, jul. 1989.

FERGUSON, K. K. et al. Organophosphate Pesticide Exposure in Pregnancy in Association with Ultrasound and Delivery Measures of Fetal Growth. **Environmental health perspectives**, v. 127, n. 8, p. 87005, ago. 2019.

FERNÁNDEZ A., D. G.; MANCIPE G., L. C.; C., D. INTOXICACIÓN POR ORGANOFOSFORADOS. **Revista Med**, n. 1, p. 84–92, jun. 2010.

FERNÁNDEZ, S. F. et al. Development of a novel methodology for determination of dialkyl phosphates in human urine using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 1130–1131, p. 121810, 1 nov. 2019.

FERNÁNDEZ, S. F. et al. Biomonitoring of non-persistent pesticides in urine from lactating mothers: Exposure and risk assessment. **The Science of the total environment**, v. 699, p. 134385, 10 jan. 2020.

FIEDLER, N. et al. Neurobehavioral effects of exposure to organophosphates and pyrethroid pesticides among Thai children. **Neurotoxicology**, v. 48, p. 90–99, maio 2015.

FIGUEIREDO, V. O. et al. Adoecimento e mortes de agentes de combate às endemias no estado do RJ expostos a agrotóxicos: crítica ao processo de trabalho e construção coletiva de estratégias de enfrentamento. In: PINA, J.A.; JACKSON FILHO, J. M.; SOUZA, K.R.; TAKAHASHI, M. (Orgs.). **Trabalho, saúde e proteção social: construção do conhecimento e intervenção entre trabalhadores, profissionais dos serviços e pesquisadores**. São Paulo: Hucitec (no prelo).

FIGUEROA, Z. I. et al. Dialkyl phosphate urinary metabolites and chromosomal abnormalities in human sperm. **Environmental research**, v. 143, n. Pt A, p. 256–265, nov. 2015.

FIGUEROA, Z. I. et al. Pesticide interactions and risks of sperm chromosomal abnormalities. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 222, n. 7, p. 1021–1029, ago. 2019.

FORDE, M. S. et al. Evaluation of exposure to organophosphate, carbamate, phenoxy acid, and chlorophenol pesticides in pregnant women from 10 Caribbean countries. **Environmental science. Processes & impacts**, v. 17, n. 9, p. 1661–1671, set. 2015.

FURLONG, M. A. et al. Prenatal exposure to organophosphate pesticides and reciprocal social behavior in childhood. **Environment international**, v. 70, p. 125–131, set. 2014.

GARFITT, S. J. et al. Exposure to the organophosphate diazinon: data from a human volunteer study with oral and dermal doses. **Toxicology letters**, v. 134, n. 1–3, p. 105–113, 5 ago. 2002.

GILLEZEAU, C. et al. Urinary Dialkylphosphate Metabolite Levels in US Adults-National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2008. **International journal of environmental research and public health**, v. 16, n. 23, 20 nov. 2019.

GÖEN, T. et al. Efficiency control of dietary pesticide intake reduction by human biomonitoring. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 220, n. 2 Pt A, p. 254–260, mar. 2017.

GONZÁLEZ-ALZAGA, B. et al. Pre- and postnatal exposures to pesticides and neurodevelopmental effects in children living in agricultural communities from South-Eastern Spain. **Environment international**, v. 85, p. 229–237, dez. 2015.

GONZÁLEZ-ALZAGA, B. et al. Urinary levels of organophosphate pesticides and predictors of exposure in pre-school and school children living in agricultural and urban communities from south Spain. **Environmental research**, v. 186, p. 109459, jul. 2020.

GRIFFITH, W. et al. Organophosphate pesticide metabolite levels in pre-school children in an agricultural community: within- and between-child variability in a longitudinal study. **Environmental research**, v. 111, n. 6, p. 751–756, ago. 2011.

GRZYWACZ, J. G. et al. Job demands and pesticide exposure among immigrant Latino farmworkers. **Journal of occupational health psychology**, v. 15, n. 3, p. 252–266, jul. 2010.

GUODONG, D. et al. Organophosphate pesticide exposure and neurodevelopment in young Shanghai children. **Environmental science & technology**, v. 46, n. 5, p. 2911–2917, 6 mar. 2012.

GUPTA, R. C.; MALIK, J. K.; MILATOVIC, D. Organophosphate and carbamate pesticides. In: **Reproductive and Developmental Toxicology**, p. 471–486. 2011.

GURGEL, A. Enfoques ecossistêmicos para o enfrentamento das arbovirozes: construindo um modelo possível de controle vetorial sem o uso de venenos. In: Jose Esteban Castro e André Monteiro Costa (Org.). **WATERLAT-GOBACIT Network Working Papers Thematic Area Series SATAGSA – TA5 - Water and Health**, Vol. 3, Nº 9, 2016.

GURGEL GD, I. Controle de doenças transmitidas por vetores: um contrassenso na saúde coletiva. In: Jose Esteban Castro e André Monteiro Costa (Org.). **WATERLAT-GOBACIT Network Working Papers Thematic Area Series SATAGSA – TA5 - Water and Health**, Vol. 3, Nº 9, 2016.

HANCHENLAKSH, C. et al. Urinary DAP metabolite levels in Thai farmers and their families and exposure to pesticides from agricultural pesticide spraying. **Occupational and environmental medicine**, v. 68, n. 8, p. 625–627, ago. 2011.

HARDT, J.; ANGERER, J. Determination of Dialkyl Phosphates in Human Urine using Gas Chromatography-Mass Spectrometry. **Journal of Analytical Toxicology**, v. 24, n. 8, p. 678–684, 1 nov. 2000a.

HARDT, J.; ANGERER, J. Determination of dialkyl phosphates in human urine using gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of analytical toxicology**, v. 24, n. 8, p. 678–684, dez. 2000b.

HARLEY, K. G. et al. Association of organophosphate pesticide exposure and paraoxonase with birth outcome in Mexican-American women. **PloS one**, v. 6, n. 8, p. e23923, 2011.

HARLEY, K. G. et al. Prenatal Exposure to Organophosphorous Pesticides and Fetal Growth: Pooled Results from Four Longitudinal Birth Cohort Studies. **Environmental health perspectives**, v. 124, n. 7, p. 1084–1092, jul. 2016.

HATJIAN, B. A. et al. Cytogenetic response without changes in peripheral cholinesterase enzymes following exposure to a sheep dip containing diazinon in vivo and in vitro. **Mutation research**, v. 472, n. 1–2, p. 85–92, 20 dez. 2000.

HE, F. Biological monitoring of exposure to pesticides: current issues. **Toxicology Letters**, v. 108, n. 2–3, p. 277–283, 5 set. 1999.

HERNÁNDEZ, A. F. et al. Biomonitoring of common organophosphate metabolites in hair and urine of children from an agricultural community. **Environment international**, v. 131, p. 104997, out. 2019.

HERNÁNDEZ, F.; SANCHO, J. V.; POZO, O. J. Direct determination of alkyl phosphates in human urine by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. **Rapid communications in mass spectrometry : RCM**, v. 16, n. 18, p. 1766–1773, 2002a.

HERNÁNDEZ, F.; SANCHO, J. V.; POZO, O. J. Direct determination of alkyl phosphates in human urine by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry: LC/MS/MS determination of phosphates in urine. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 16, n. 18, p. 1766–1773, 30 set. 2002b.

HERRERA-MORENO, J. F. et al. Modified CDKN2B (p15) and CDKN2A (p16) DNA methylation profiles in urban pesticide applicators. **Environmental science and pollution research international**, v. 26, n. 15, p. 15124–15135, maio 2019.

HEUDORF, U. et al. Reference values for metabolites of pyrethroid and organophosphorous insecticides in urine for human biomonitoring in environmental medicine. **International Journal of Hygiene and Environmental Health**, v. 209, n. 3, p. 293–299, maio 2006.

HIOKI, K. et al. Intra-individual variations of organophosphate pesticide metabolite concentrations in repeatedly collected urine samples from pregnant women in Japan. **Environmental health and preventive medicine**, v. 24, n. 1, p. 7, 17 jan. 2019.

HOLLINGWORTH, R. M. The Biochemical and Physiological Basis of Selective Toxicity. In: WILKINSON, C. F. (Ed.). . **Insecticide Biochemistry and Physiology**. Boston, MA: Springer US, 1976. p. 431–506.

HONGSIBSONG, S.; SITTITOON, N.; SAPBAMRER, R. Association of health symptoms with low-level exposure to organophosphates, DNA damage, AChE activity, and occupational knowledge and practice among rice, corn, and double-crop farmers. **Journal of occupational health**, v. 59, n. 2, p. 165–176, 28 mar. 2017.

HU, P. et al. Urinary Organophosphate Metabolite Concentrations and Pregnancy Outcomes among Women Conceiving through in Vitro Fertilization in Shanghai, China. **Environmental health perspectives**, v. 128, n. 9, p. 97007, set. 2020.

HU, R. et al. Long- and Short-Term Health Effects of Pesticide Exposure: A Cohort Study from China. **PLOS ONE**, v. 10, n. 6, p. e0128766, 4 jun. 2015.

HYLAND, C. et al. Organophosphate pesticide dose estimation from spot and 24-hr urine samples collected from children in an agricultural community. **Environment international**, v. 146, p. 106226, jan. 2021.

IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. **Some organophosphate insecticides and herbicides**. 2017. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK436774/>>. Acesso em: 20 jun. 2021.

IARC Working Group On The Evaluation Of Carcinogenic Risks To Humans. **Preamble**. Disponível em: <<https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2019/07/Preamble-2019.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2021.

IARC Working Group On The Evaluation Of Carcinogenic Risks To Humans. **Agents Classified by the IARC Monographs**, 2021. Disponível em: <<https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications>>. Acesso em: 20 jun. 2021.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**, jul. 2018. Disponível em:

<http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/pesquisa_link.asp?seq_tipo_documento=5&cod_uo_numero=00581&num_documento=008>. Acesso em: 20 jun. 2021.

ISMAIL, A. A. et al. Pesticide Application and Khat Chewing as Predictors of the Neurological Health Outcomes among Pesticide Applicators in a Vector Control Unit, Saudi Arabia. **The International Journal of Occupational and Environmental Medicine**, v. 9, n. 1, p. 32–44, 1 jan. 2018.

ITO, Y. et al. Within-individual and interlaboratory variability analyses of urinary metabolites measurements of organophosphorus insecticides. **Journal of exposure science & environmental epidemiology**, v. 30, n. 4, p. 721–729, jul. 2020.

JADDOE, V. W. V. et al. The Generation R Study: Design and cohort profile. **European Journal of Epidemiology**, v. 21, n. 6, p. 475, 7 jul. 2006.

JAIN, R. B. Levels of dialkylphosphate metabolites in urine among general U.S. population. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 43, p. 74–82, abr. 2016.

JUNIOR, J. F.; ALVES, M. E.; GUERREIRO, A. S. Intoxicação por Organofosforados: A propósito de 14 casos da Unidade de cuidados médicos especiais. **Medicina Interna**. v. 6, n. 2, 1999.

JUSKO, T. A. et al. Organophosphate Pesticide Metabolite Concentrations in Urine during Pregnancy and Offspring Nonverbal IQ at Age 6 Years. **Environmental health perspectives**, v. 127, n. 1, p. 17007, jan. 2019.

KIM, S. et al. Exploring Associations Between Postural Balance and Levels of Urinary Organophosphorus Pesticide Metabolites. **Journal of occupational and environmental medicine**, v. 60, n. 2, p. 174–179, fev. 2018.

KIMATA, A. et al. Relationship between urinary pesticide metabolites and pest control operation among occupational pesticide sprayers. **Journal of occupational health**, v. 51, n. 1, p. 100–105, 2009.

KISSEL, J. C. et al. Comparison of organophosphorus pesticide metabolite levels in single and multiple daily urine samples collected from preschool children in Washington State. **Journal of exposure analysis and environmental epidemiology**, v. 15, n. 2, p. 164–171, mar. 2005.

KLAASSEN, C. D.; WATKINS III, J. B. **Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull**. 2^a ed. Porto Alegre: AMGH, 2012.

KOCH, D. et al. Temporal association of children's pesticide exposure and agricultural spraying: report of a longitudinal biological monitoring study. **Environmental health perspectives**, v. 110, n. 8, p. 829–833, ago. 2002.

KOKKINAKI, A. et al. Biomonitoring of dialkylphosphate metabolites (DAPs) in urine and hair samples of sprayers and rural residents of Crete, Greece. **Environmental research**, v. 134, p. 181–187, out. 2014.

KONGTIP, P. et al. Organophosphate urinary metabolite levels during pregnancy, delivery and postpartum in women living in agricultural areas in Thailand. **Journal of occupational health**, v. 55, n. 5, p. 367–375, 2014.

KOUREAS, M. et al. Biomonitoring of organophosphate exposure of pesticide sprayers and comparison of exposure levels with other population groups in Thessaly (Greece). **Occupational and environmental medicine**, v. 71, n. 2, p. 126–133, fev. 2014a.

KOUREAS, M. et al. Increased levels of oxidative DNA damage in pesticide sprayers in Thessaly Region (Greece). Implications of pesticide exposure. **The Science of the total environment**, v. 496, p. 358–364, 15 out. 2014b.

KRIEGER, R. I.; DINOFF, T. M. Malathion deposition, metabolite clearance, and cholinesterase status of date dusters and harvesters in California. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 38, n. 4, p. 546–553, maio 2000.

KUPFERMANN, N.; SCHMOLDT, A.; STEINHART, H. Rapid and sensitive quantitative analysis of alkyl phosphates in urine after organophosphate poisoning. **Journal of analytical toxicology**, v. 28, n. 4, p. 242–248, jun. 2004.

LACASAÑA, M. et al. Association between organophosphate pesticides exposure and thyroid hormones in floriculture workers. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 243, n. 1, p. 19–26, 15 fev. 2010a.

LACASAÑA, M. et al. Interaction between organophosphate pesticide exposure and PON1 activity on thyroid function. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 249, n. 1, p. 16–24, 15 nov. 2010b.

LAMBERT, W. E. et al. Variation in organophosphate pesticide metabolites in urine of children living in agricultural communities. **Environmental health perspectives**, v. 113, n. 4, p. 504–508, abr. 2005.

LARENTIS, A. et al. **Nota técnica: Agentes de combate as endemias, uma população em risco frente à COVID-19**. CESTE/ENSP/Fiocruz, Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: <https://drive.google.com/file/d/1Rr2cZS_44gOiq35K2pnhGF4jy1UoqPP6/view>. Acesso em: 24 mai. 2021.

LAST, J. **A Dictionary of Epidemiology**. 3ª ed. Oxford University Press, 1998.

LEE, C.-H. et al. 8-Hydroxydeoxyguanosine levels in human leukocyte and urine according to exposure to organophosphorus pesticides and paraoxonase 1 genotype. **International archives of occupational and environmental health**, v. 80, n. 3, p. 217–227, jan. 2007.

LEE, K. M. et al. Pesticide metabolite and oxidative stress in male farmers exposed to pesticide. **Annals of occupational and environmental medicine**, v. 29, p. 5, 2017.

LEWIN, A. et al. Univariate predictors of maternal concentrations of environmental chemicals: The MIREC study. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 220, n. 2 Pt A, p. 77–85, mar. 2017.

LI, A. J.; KANNAN, K. Profiles of urinary neonicotinoids and dialkylphosphates in populations in nine countries. **Environment international**, v. 145, p. 106120, dez. 2020.

LIMA, E. P. et al. Exposição a pesticidas e repercussão na saúde de agentes sanitários no Estado do Ceará, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 14, n. 6, p. 2221–2230, dez. 2009.

LIMA, E. P. et al. Níveis de colinesterase como marcador de risco de distúrbios neurológicos em agentes de endemias. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 3, n. 2, p. 73, 26 jun. 2015.

LIN, W. C. et al. Method for the determination of dialkyl phosphates in urine by strong anion exchange disk extraction and in-vial derivatization. **Journal of analytical toxicology**, v. 26, n. 3, p. 176–180, abr. 2002.

LIN, W.-C.; HSIEH, C.-Y.; CHANG, H.-Y. Improved analysis of dialkylphosphates in urine using strong anion exchange disk extraction and in-vial derivatization. **Journal of separation science**, v. 30, n. 9, p. 1326–1333, jun. 2007.

LIU, P. et al. Adverse Associations of both Prenatal and Postnatal Exposure to Organophosphorous Pesticides with Infant Neurodevelopment in an Agricultural Area of Jiangsu Province, China. **Environmental health perspectives**, v. 124, n. 10, p. 1637–1643, out. 2016.

LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Rede Brasileira de Justiça Ambiental : Articulação Nacional de Agroecologia, 2012.

LU, C. et al. Biological monitoring survey of organophosphorus pesticide exposure among pre-school children in the Seattle metropolitan area. **Environmental health perspectives**, v. 109, n. 3, p. 299–303, mar. 2001.

LUSHCHAK, V. I. et al. Pesticide toxicity: a mechanistic approach. **EXCLI Journal**; **17:Doc1101**; ISSN 1611-2156, 2018.

MARGARITI, M. G.; TSAKALOF, A. K.; TSATSAKIS, A. M. Analytical Methods of Biological Monitoring for Exposure to Pesticides: Recent Update: **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 29, n. 2, p. 150–163, abr. 2007.

MARKS, A. R. et al. Organophosphate pesticide exposure and attention in young Mexican-American children: the CHAMACOS study. **Environmental health perspectives**, v. 118, n. 12, p. 1768–1774, dez. 2010.

MAT SUTRIS, J. et al. Predictors of Detected Organophosphorus Pesticides Among Orang Asli Children Living in Malaysia. **Annals of global health**, v. 82, n. 5, p. 770–778, out. 2016.

MCCAULEY, L. et al. Oregon indigenous farmworkers: results of promotor intervention on pesticide knowledge and organophosphate metabolite levels. **Journal of occupational and environmental medicine**, v. 55, n. 10, p. 1164–1170, out. 2013.

MCCAULEY, L. A. et al. Analysis of pesticide exposure and DNA damage in immigrant farmworkers. **Journal of agromedicine**, v. 13, n. 4, p. 237–246, 2008.

MCKELVEY, W. et al. Population-based biomonitoring of exposure to organophosphate and pyrethroid pesticides in New York City. **Environmental health perspectives**, v. 121, n. 11–12, p. 1349–1356, dez. 2013.

MEIRELLES, L. et al. Agentes de combate às endemias expostos a agrotóxicos no estado do Rio de Janeiro: relação entre saúde, trabalho e ambiente. In: Luiz Carlos Fadel de Vasconcellos et al. (Orgs.). **Saúde do trabalhador em tempos de desconstrução: caminhos de luta e resistência**. Rio de Janeiro: Cebes, 2021.

MELGAREJO, M. et al. Associations between urinary organophosphate pesticide metabolite levels and reproductive parameters in men from an infertility clinic. **Environmental research**, v. 137, p. 292–298, fev. 2015.

MENDES, K. D. S.; SILVEIRA, R. C. DE C. P.; GALVÃO, C. M. Revisão integrativa: método de pesquisa para a incorporação de evidências na saúde e na enfermagem. **Texto & Contexto - Enfermagem**, v. 17, n. 4, p. 758–764, dez. 2008.

MIGNERON-FOISY, V. et al. Myopia and Exposure to Organophosphate and Pyrethroid Pesticides in the General United States Population. **Investigative ophthalmology & visual science**, v. 58, n. 11, p. 4915–4924, 1 set. 2017.

MILLENSON, M. E. et al. Urinary organophosphate insecticide metabolite concentrations during pregnancy and children's interpersonal, communication, repetitive, and stereotypic behaviors at 8 years of age: The home study. **Environmental research**, v. 157, p. 9–16, ago. 2017.

MIREC CANADA. **MIREC Canada Maternal-Infant Research on Environmental Chemicals**. Disponível em: <<http://www.mirec-canada.ca/en/about>>. Acesso em: 20 mai. 2021

MOLINA-PINTOR, I. B. et al. Relationship between butyrylcholinesterase activity and lipid parameters in workers occupationally exposed to pesticides. **Environmental science and pollution research international**, v. 27, n. 31, p. 39365–39374, nov. 2020.

MOLOMO, R. N. et al. Relation between organophosphate pesticide metabolite concentrations with pesticide exposures, socio-economic factors and lifestyles: A cross-sectional study among school boys in the rural Western Cape, South Africa. **Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)**, v. 275, p. 116660, 15 abr. 2021.

MOTSOENENG, P. M.; DALVIE, M. A. Relationship between Urinary Pesticide Residue Levels and Neurotoxic Symptoms among Women on Farms in the Western Cape, South Africa. **International journal of environmental research and public health**, v. 12, n. 6, p. 6281–6299, 2 jun. 2015.

MULDER, T. A. et al. Organophosphate pesticides exposure in pregnant women and maternal and cord blood thyroid hormone concentrations. **Environment international**, v. 132, p. 105124, nov. 2019.

MUÑOZ, M. Q.; IGLESIAS, V.; LUCERO, B. **Exposición a organofosforados y desempeño cognitivo en escolares rurales chilenos: un estudio exploratorio**. Disponível em: <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-386X2011000300006&lang=pt>. Acesso em: 30 mar. 2021.

MUÑOZ-QUEZADA, M. T. et al. Predictors of exposure to organophosphate pesticides in schoolchildren in the Province of Talca, Chile. **Environment international**, v. 47, p. 28–36, 15 out. 2012.

MUÑOZ-QUEZADA, M. T. et al. An educational intervention on the risk perception of pesticides exposure and organophosphate metabolites urinary concentrations in rural school children in Maule Region, Chile. **Environmental research**, v. 176, p. 108554, set. 2019.

MYRIDAKIS, A. et al. Exposure of Preschool-Age Greek Children (RHEA Cohort) to Bisphenol A, Parabens, Phthalates, and Organophosphates. **Environmental science & technology**, v. 50, n. 2, p. 932–941, 19 jan. 2016.

NAGAMI, H.; SUENAGA, T.; NAKAZAKI, M. Pesticide exposure and subjective symptoms of cut-flower farmers. **Journal of rural medicine : JRM**, v. 12, n. 1, p. 7–11, maio 2017.

NTANTU NKINSA, P. et al. Organophosphate pesticides exposure during fetal development and IQ scores in 3 and 4-year old Canadian children. **Environmental research**, v. 190, p. 110023, nov. 2020.

OATES, L. et al. Reduction in urinary organophosphate pesticide metabolites in adults after a week-long organic diet. **Environmental research**, v. 132, p. 105–111, jul. 2014.

ODETOKUN, M. S. et al. Quantification of dialkylphosphate metabolites of organophosphorus insecticides in human urine using 96-well plate sample preparation and high-performance liquid chromatography–electrospray ionization-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 878, n. 27, p. 2567–2574, out. 2010a.

ODETOKUN, M. S. et al. Quantification of dialkylphosphate metabolites of organophosphorus insecticides in human urine using 96-well plate sample preparation and high-performance liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. **Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 878, n. 27, p. 2567–2574, 1 out. 2010b.

OGA, S.; CAMARGO, M. M. DE A.; BATISTUZZO, J. A. DE O. **Fundamentos de Toxicologia**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2014.

OGLOBLINE, A. N. et al. Routine gas chromatographic determination of dialkylphosphate metabolites in the urine of workers occupationally exposed to organophosphorus insecticides. **Journal of analytical toxicology**, v. 25, n. 3, p. 153–157, abr. 2001a.

OGLOBLINE, A. N. et al. Negative ion chemical ionization GC/MS-MS analysis of dialkylphosphate metabolites of organophosphate pesticides in urine of non-occupationally exposed subjects. **The Analyst**, v. 126, n. 7, p. 1037–1041, jul. 2001b.

OLIVEIRA FILHO, P. F. DE. **Epidemiologia e bioestatística: fundamentos para a leitura crítica**. 1. ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2015.

OMOIKE, O. E.; LEWIS, R. C.; MEEKER, J. D. Association between urinary biomarkers of exposure to organophosphate insecticides and serum reproductive hormones in men from NHANES 1999-2002. **Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)**, v. 53, p. 99–104, jun. 2015.

OMS. **Biomarcadores e biomonitoramento humano**, 2011. Disponível em: <https://www.who.int/ceh/capacity/v1_biomarcadores_biomonitoramento_humano.pdf?ua=1>. Acesso em: 17 dez. 2020

OSAKA, A. et al. Exposure characterization of three major insecticide lines in urine of young children in Japan-neonicotinoids, organophosphates, and pyrethroids. **Environmental research**, v. 147, p. 89–96, mai. 2016.

OYA, N. et al. Quantitative analysis of organophosphate insecticide metabolites in urine extracted from disposable diapers of toddlers in Japan. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 220, n. 2 Pt A, p. 209–216, mar. 2017.

OYA, N. et al. Exposure levels of organophosphate pesticides in Japanese diapered children: Contributions of exposure-related behaviors and mothers' considerations of food selection and preparation. **Environment international**, v. 134, p. 105294, jan. 2020.

PANUWET, P. et al. Urinary paranitrophenol, a metabolite of methyl parathion, in Thai farmer and child populations. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 57, n. 3, p. 623–629, out. 2009.

PANUWET, P. et al. Biological Matrix Effects in Quantitative Tandem Mass Spectrometry-Based Analytical Methods: Advancing Biomonitoring. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 46, n. 2, p. 93–105, 3 mar. 2016.

PAREDES-CÉSPEDES, D. M. et al. Pesticide Exposure Modifies DNA Methylation of Coding Region of WRAP53 α , an Antisense Sequence of p53, in a Mexican Population. **Chemical research in toxicology**, v. 32, n. 7, p. 1441–1448, 15 jul. 2019.

PEREIRO, A. B. et al. Ionic liquids in separations of azeotropic systems – A review. **The Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 46, p. 2–28, mar. 2012.

PERES, F.; MOREIRA, J. C. (EDS.). **E veneno ou é remédio? agrotóxicos, saúde e ambiente**. Rio de Janeiro, RJ: Editora Fiocruz, 2003.

PERES, F.; MOREIRA, J. C. Saúde e ambiente em sua relação com o consumo de agrotóxicos em um pólo agrícola do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 23, n. suppl 4, p. S612–S621, 2007.

PERLA, M. E. et al. Biomarkers of Insecticide Exposure and Asthma in Children: A National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2008 Analysis. **Archives of environmental & occupational health**, v. 70, n. 6, p. 309–322, 2015.

PERRY, M. J. et al. Organophosphorous pesticide exposures and sperm quality. **Reproductive toxicology (Elmsford, N.Y.)**, v. 31, n. 1, p. 75–79, jan. 2011.

PETCHUAY, C. et al. Biological monitoring of organophosphate pesticides in preschool children in an agricultural community in Thailand. **International journal of occupational and environmental health**, v. 12, n. 2, p. 134–141, jun. 2006.

PETCHUAY, C. et al. Analytical method developed for measurement of dialkylphosphate metabolites in urine collected from children non-occupationally exposed to organophosphate

pesticides in an agricultural community in Thailand. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 81, n. 4, p. 401–405, out. 2008.

PIRARD, C. et al. Assessment of children's exposure to currently used pesticides in wallonia, Belgium. **Toxicology letters**, v. 329, p. 1–11, 1 set. 2020.

PRAPAMONTOL, T. et al. Cross validation of gas chromatography-flame photometric detection and gas chromatography-mass spectrometry methods for measuring dialkylphosphate metabolites of organophosphate pesticides in human urine. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 217, n. 4–5, p. 554–566, maio 2014.

QIN, K. et al. Prenatal organophosphate pesticide exposure and reproductive hormones in cord blood in Shandong, China. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 225, p. 113479, abr. 2020.

QUEIROZ, S. C. N.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, v. 24, n. 1, fev. 2001.

QUIRÓS-ALCALÁ, L. et al. Maternal prenatal and child organophosphate pesticide exposures and children's autonomic function. **Neurotoxicology**, v. 32, n. 5, p. 646–655, out. 2011.

QUIRÓS-ALCALÁ, L. et al. Organophosphorous pesticide breakdown products in house dust and children's urine. **Journal of exposure science & environmental epidemiology**, v. 22, n. 6, p. 559–568, nov. 2012.

RAANAN, R. et al. Early-life exposure to organophosphate pesticides and pediatric respiratory symptoms in the CHAMACOS cohort. **Environmental health perspectives**, v. 123, n. 2, p. 179–185, fev. 2015.

RAANAN, R. et al. Decreased lung function in 7-year-old children with early-life organophosphate exposure. **Thorax**, v. 71, n. 2, p. 148–153, fev. 2016.

RANJBAR, M. et al. The Influence of Urinary Concentrations of Organophosphate Metabolites on the Relationship between BMI and Cardiometabolic Health Risk. **Journal of obesity**, v. 2015, p. 687914, 2015.

RAUCH, S. A. et al. Associations of prenatal exposure to organophosphate pesticide metabolites with gestational age and birth weight. **Environmental health perspectives**, v. 120, n. 7, p. 1055–1060, jul. 2012.

RINKER, D. C.; PITTS, R. J.; ZWIEBEL, L. J. Disease vectors in the era of next generation sequencing. **Genome Biology**, v. 17, n. 1, p. 95, dez. 2016.

ROBB, E. L.; BAKER, M. B. Organophosphate Toxicity. In: **StatPearls**. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020.

ROHITRATTANA, J. et al. Organophosphate pesticide exposure in school-aged children living in rice and aquacultural farming regions of Thailand. **Journal of agromedicine**, v. 19, n. 4, p. 406–416, 2014.

ROSA, A. C. S. **Avaliação dos níveis basais de metabólitos de agrotóxicos piretroides na população adulta da cidade do Rio de Janeiro**: Contribuição para a vigilância em saúde no país - Tese. ENSP/Fiocruz. Rio de Janeiro, RJ, 2017. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/20502/2/ve_Rosa_Ana_Cristina_Sim%c3%b5es_ENSP_2017.pdf>. Acesso em: 25 jan. 2021.

SADIKOGLU, H.; OZDEMIR, M.; SEKER, M. Freeze-Drying of Pharmaceutical Products: Research and Development Needs. **Drying Technology**, v. 24, n. 7, p. 849–861, ago. 2006.

SAGIV, S. K. et al. Prenatal Organophosphate Pesticide Exposure and Traits Related to Autism Spectrum Disorders in a Population Living in Proximity to Agriculture. **Environmental health perspectives**, v. 126, n. 4, p. 047012, 25 abr. 2018.

SAIEVA, C. et al. Twenty-four-hour urinary excretion of ten pesticide metabolites in healthy adults in two different areas of Italy (Florence and Ragusa). **The Science of the total environment**, v. 332, n. 1–3, p. 71–80, 1 out. 2004.

SALVATORE, A. L. et al. Occupational behaviors and farmworkers' pesticide exposure: findings from a study in Monterey County, California. **American journal of industrial medicine**, v. 51, n. 10, p. 782–794, out. 2008.

SALVATORE, A. L. et al. Home-based community health worker intervention to reduce pesticide exposures to farmworkers' children: A randomized-controlled trial. **Journal of exposure science & environmental epidemiology**, v. 25, n. 6, p. 608–615, dez. 2015.

SÁNCHEZ-PEÑA, L. C. et al. Organophosphorous pesticide exposure alters sperm chromatin structure in Mexican agricultural workers. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 196, n. 1, p. 108–113, 1 abr. 2004.

SANTOS, V. M. R. DOS et al. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 159–170, fev. 2007.

SAPBAMRER, R. et al. DNA damage and adverse neurological outcomes among garlic farmers exposed to organophosphate pesticides. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 72, p. 103241, nov. 2019.

SAPBAMRER, R.; HONGSIBSONG, S.; KERDNOI, T. Urinary dialkylphosphate metabolites and health symptoms among farmers in Thailand. **Archives of environmental & occupational health**, v. 72, n. 3, p. 145–152, 4 maio 2017.

SAPBAMRER, R.; HONGSIBSONG, S.; KHACHA-ANANDA, S. Urinary organophosphate metabolites and oxidative stress in children living in agricultural and urban communities. **Environmental science and pollution research international**, v. 27, n. 20, p. 25715–25726, jul. 2020.

SAÚDE E TRABALHO MATA MOSQUITO. **Boletim Saúde&Trabalho Mata Mosquitos - Estudo do Impacto à Saúde de Agentes de Combate às Endemias - RJ Ano I - 01**, 2018. Disponível em: <http://www.cesteh.ensp.fiocruz.br/sites/default/files/boletim_no_1_-_guardas_de_endemias.pdf>. Acesso em: 14 jun. 2021.

SAÚDE E TRABALHO MATA MOSQUITO. **Boletim Saúde&Trabalho Mata Mosquitos - Estudo do Impacto à Saúde de Agentes de Combate às Endemias - RJ Ano II - 02**, 2019. Disponível em: <http://www.cesteh.ensp.fiocruz.br/sites/default/files/boletim_no_2_0.pdf>. Acesso em: 14 jun. 2021.

SAÚDE E TRABALHO MATA MOSQUITO. **Boletim Saúde&Trabalho Mata Mosquitos - Estudo do Impacto à Saúde de Agentes de Combate às Endemias - RJ Ano III . 03**, 2020. Disponível em: <http://www.cesteh.ensp.fiocruz.br/sites/default/files/informativo_agentes_de_combate_a_endemias2020_1.pdf>. Acesso em: 14 jun. 2021.

SAÚDE E TRABALHO MATA MOSQUITO. **Boletim Saúde&Trabalho Mata Mosquitos - Estudo do Impacto à Saúde de Agentes de Combate às Endemias - RJ Ano IV - 04**, 2021. Disponível em: <http://www.cesteh.ensp.fiocruz.br/sites/default/files/informativo_ano4_03_08_final.pdf>

SEESSEN, M. et al. Association between Organophosphate Pesticide Exposure and Insulin Resistance in Pesticide Sprayers and Nonfarmworkers. **International journal of environmental research and public health**, v. 17, n. 21, 4 nov. 2020.

SHOMAR, B.; AL-SAAD, K.; NRIAGU, J. Mishandling and exposure of farm workers in Qatar to organophosphate pesticides. **Environmental research**, v. 133, p. 312–320, ago. 2014.

SILVA, G. R. et al. Defesa química: histórico, classificação dos agentes de guerra e ação dos neurotóxicos. **Química Nova**, v. 35, n. 10, p. 2083–2091, 2012.

SILVA, V. S. T. M. **Inquéritos domiciliares nacionais de base populacional em saúde: uma revisão narrativa**. Disponível em: <<http://www.cienciaesaudecoletiva.com.br/artigos/inqueritos-domiciliares-nacionais-de-base-populacional-em-saude-uma-revisao-narrativa/17780?id=17780>>. Acesso em: 20 mai. 2021.

SILVEIRA, G. **Histórico dos agrotóxicos de ação inseticida utilizados pelos agentes de combate às endemias nas campanhas de saúde pública do estado e município do Rio de Janeiro**. Dissertação—Rio de Janeiro: ENSP. Fundação Oswaldo Cruz., 2020.

SILVÉRIO, A. C. P. **Aplicação de bioindicadores e avaliação clínica em trabalhadores rurais expostos aos praguicidas organofosforados visando subsidiar a implantação de uma rede de atenção primária à saúde**. Alfenas/MG: Universidade Federal de Alfenas, 2016. Disponível em: <<https://bdtd.unifal-mg.edu.br:8443/bitstream/tede/1100/5/Tese%20de%20Alessandra%20Cristina%20Pupin%20Silv%C3%A9rio.pdf>>. Acesso em: 20 mai. 2021.

SILVÉRIO, A. C. P. et al. Assessment of exposure to pesticides in rural workers in southern of Minas Gerais, Brazil. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 55, p. 99–106, out. 2017.

SINDSPREV/RJ. **Guardas e agentes de combate às endemias no estado do rio de janeiro: condições precárias de trabalho. Processos de trabalho. Riscos ocupacionais, adoecimento e mortes**, 2019.

SINGH, S. et al. Role of genetic polymorphisms of CYP1A1, CYP3A5, CYP2C9, CYP2D6, and PON1 in the modulation of DNA damage in workers occupationally exposed to organophosphate pesticides. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 257, n. 1, p. 84–92, nov. 2011.

SINHA, S. N.; BANDA, V. R. Correlation of pesticide exposure from dietary intake and bio-monitoring: The different sex and socio-economic study of children. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 162, p. 170–177, 30 out. 2018.

SISINNO, C. L. S.; OLIVEIRA-FILHO, E. C. **Princípios de toxicologia ambiental: conceitos e aplicações**. Rio de Janeiro, RJ: Interciência, 2013.

SKOOG, D. A. **Fundamentos de química analítica**. São Paulo: Cengage Learnin, 2009.

SOKOLOFF, K. et al. Determinants of urinary concentrations of dialkyl phosphates among pregnant women in Canada - Results from the MIREC study. **Environment international**, v. 94, p. 133–140, set. 2016.

SPAAN, S. et al. Reliability of concentrations of organophosphate pesticide metabolites in serial urine specimens from pregnancy in the Generation R Study. **Journal of exposure science & environmental epidemiology**, v. 25, n. 3, p. 286–294, maio 2015.

STATISTICS CANADA. **Canadian Health Measures Survey (CHMS)**. Disponível em: <<https://www.statcan.gc.ca/eng/survey/household/5071>>. Acesso em: 20 mai. 2021.

STEIN, L. J. et al. Early childhood adversity potentiates the adverse association between prenatal organophosphate pesticide exposure and child IQ: The CHAMACOS cohort. **Neurotoxicology**, v. 56, p. 180–187, set. 2016.

SUDAKIN, D. L.; STONE, D. L. Dialkyl phosphates as biomarkers of organophosphates: The current divide between epidemiology and clinical toxicology. **Clinical Toxicology**, v. 49, n. 9, p. 771–781, nov. 2011.

SUN, H.; SUN, M. L.; BARR, D. B. Exposure to organophosphorus insecticides and increased risks of health and cancer in US women. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 80, p. 103474, nov. 2020.

SUNAGA, M. et al. Urinary alkylphosphate levels as an index of exposure to organophosphorus insecticides in pest control operators. v. 44, n. 3, p. 763–770, 1989a.

SUNAGA, M. et al. [Relationship between exposure to chlorpyrifos and concentration of urinary alkylphosphates in termite control workers]. **Sangyo igaku. Japanese journal of industrial health**, v. 31, n. 3, p. 142–149, maio 1989b.

SUWANNARIN, N. et al. Characteristics of Exposure of Reproductive-Age Farmworkers in Chiang Mai Province, Thailand, to Organophosphate and Neonicotinoid Insecticides: A Pilot Study. **International journal of environmental research and public health**, v. 17, n. 21, 27 out. 2020.

SWARTZ, M.; KRULL, I. S. **Analytical method development and validation**. New York: M. Dekker, 1997.

TAMARO, C. M. et al. Characterization of organophosphate pesticides in urine and home environment dust in an agricultural community. **Biomarkers : biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals**, v. 23, n. 2, p. 174–187, mar. 2018.

TEIXEIRA, C. F.; AUGUSTO, L. G. DA S.; MORATA, T. C. Saúde auditiva de trabalhadores expostos a ruído e inseticidas. **Revista de Saúde Pública**, v. 37, n. 4, p. 417–423, ago. 2003.

THERKORN, J. et al. Review of Biomarkers and Analytical Methods for Organophosphate Pesticides and Applicability to Nerve Agents. **Military medicine**, v. 185, n. 3–4, p. e414–e421, 2 mar. 2020.

UEYAMA, J. et al. Simultaneous determination of urinary dialkylphosphate metabolites of organophosphorus pesticides using gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 832, n. 1, p. 58–66, fev. 2006a.

UEYAMA, J. et al. Simultaneous determination of urinary dialkylphosphate metabolites of organophosphorus pesticides using gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 832, n. 1, p. 58–66, 17 fev. 2006b.

UEYAMA, J. et al. Beta-glucuronidase activity is a sensitive biomarker to assess low-level organophosphorus insecticide exposure. **Toxicology letters**, v. 193, n. 1, p. 115–119, 1 mar. 2010a.

UEYAMA, J. et al. Revised method for routine determination of urinary dialkyl phosphates using gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 878, n. 17–18, p. 1257–1263, 15 maio 2010b.

UEYAMA, J. et al. Urinary concentrations of organophosphorus insecticide metabolites in Japanese workers. **Chemosphere**, v. 87, n. 11, p. 1403–1409, jun. 2012.

UEYAMA, J. et al. A revised method for determination of dialkylphosphate levels in human urine by solid-phase extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry: application to human urine samples from Japanese children. **Environ Health Prev Med**, v. 19, n. 6, p. 405–13, out. 2014a.

UEYAMA, J. et al. A revised method for determination of dialkylphosphate levels in human urine by solid-phase extraction and liquid chromatography with tandem mass spectrometry: application to human urine samples from Japanese children. **Environmental health and preventive medicine**, v. 19, n. 6, p. 405–413, nov. 2014b.

UEYAMA, J. et al. Temporal Levels of Urinary Neonicotinoid and Dialkylphosphate Concentrations in Japanese Women Between 1994 and 2011. **Environmental science & technology**, v. 49, n. 24, p. 14522–14528, 15 dez. 2015.

UMWELT BUNDESAMT. **German Environmental Survey, GerES**. Disponível em: <<https://www.umweltbundesamt.de/en/topics/health/assessing-environmentally-related-health-risks/german-environmental-survey-geres>>.

US EPA. United States Environmental Protection Agency. **Malathion: Overviews and Factsheets**. Disponível em: <<https://www.epa.gov/mosquitocontrol/malathion>>. Acesso em: 8 maio. 2020.

US EPA. United States Environmental Protection Agency. **Human Health Draft Risk Assessment for Registration Review**. Disponível em: <<https://www3.epa.gov/pesticides/Malathion-Human-Health-Draft-Risk-Assessment-for-Registration-Review.pdf>>. Acesso em: 8 maio. 2020.

VALCKE, M. et al. Biological monitoring of exposure to organophosphate pesticides in children living in peri-urban areas of the Province of Quebec, Canada. **International archives of occupational and environmental health**, v. 79, n. 7, p. 568–577, ago. 2006.

VALLE, D.; PIMENTA, D. N.; CUNHA, R. V. DA (EDS.). **Dengue: teorias e práticas**. Rio de Janeiro, RJ: Editora FIOCRUZ, 2015.

VAN DEN DRIES, M. A. et al. Determinants of organophosphate pesticide exposure in pregnant women: A population-based cohort study in the Netherlands. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 221, n. 3, p. 489–501, abr. 2018.

VAN DEN DRIES, M. A. et al. Organophosphate pesticide metabolite concentrations in urine during pregnancy and offspring attention-deficit hyperactivity disorder and autistic traits. **Environment international**, v. 131, p. 105002, out. 2019.

VAN DEN DRIES, M. A. et al. Prenatal exposure to organophosphate pesticides and brain morphology and white matter microstructure in preadolescents. **Environmental research**, v. 191, p. 110047, dez. 2020.

VIDAL, P. J. **Estudo dos transtornos mentais comuns em um grupo de agentes de combate às endemias do estado do Rio de Janeiro**. Dissertação-ENSP/Fiocruz, 2021.

WALDMAN, E. A. et al. Inquéritos populacionais: aspectos metodológicos, operacionais e éticos. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 11, n. suppl 1, p. 168–179, maio 2008.

WANG, D. et al. Matrix effects in analysis of dialkyl phosphate metabolites of organophosphate pesticides in urine by gas chromatography/tandem mass spectrometer. **Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes**, v. 48, n. 3, p. 177–182, 2013.

WANG, Y. et al. Association Between Organophosphate Pesticide Exposure and Thyroid Hormones in Pregnant Women. **Epidemiology (Cambridge, Mass.)**, v. 28 Suppl 1, p. S35–S40, out. 2017a.

WANG, Y. et al. Prenatal and postnatal exposure to organophosphate pesticides and childhood neurodevelopment in Shandong, China. **Environment international**, v. 108, p. 119–126, nov. 2017b.

WANG, Y. et al. Prenatal exposure to organophosphate pesticides, maternal paraoxonase 1 genotype, and childhood neurodevelopment at 24 months of age in Shandong, China. **Environmental science and pollution research international**, v. 27, n. 2, p. 1969–1977, jan. 2020.

WEERASEKERA, G. et al. A rapid, cost-effective method for analyzing organophosphorus pesticide metabolites in human urine for counter-terrorism response. **Journal of analytical toxicology**, v. 32, n. 1, p. 106–115, fev. 2008.

WEISSKOPF, C. P.; SEIBER, J. N. New Approaches to Analysis of Organophosphate Metabolites in the Urine of Field Workers. In: WANG, R. G. M. et al. (Eds.). . **Biological Monitoring for Pesticide Exposure**. ACS Symposium Series. Washington, DC: American Chemical Society, 1988. v. 382p. 206–214.

WESSELS, D.; BARR, D. B.; MENDOLA, P. Use of biomarkers to indicate exposure of children to organophosphate pesticides: implications for a longitudinal study of children's environmental health. **Environmental Health Perspectives**, v. 111, n. 16, p. 1939–1946, dez. 2003.

WHITTEMORE, R.; KNAFL, K. The integrative review: updated methodology. **Journal of Advanced Nursing**, v. 52, n. 5, p. 546–553, dez. 2005.

WHO. World Health Organization. **A global brief on vector-borne diseases**. 2014. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/111008/WHO_DCO_WHD_2014.1_eng.pdf;jsessionid=22A933562918A4984A8199257FAC5D7E?sequence=1>. Acesso em: 24 jun. 2021.

WHO. World Health Organization. **Use of malathion for vector control report of a who meeting Geneva**, de 17 de maio de 2016. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/207475/9789241510578_eng.pdf?sequence=1>. Acesso em: 11 mai. 2020.

WONGTA, A. et al. The Pesticide Exposure of People Living in Agricultural Community, Northern Thailand. **Journal of toxicology**, v. 2018, p. 4168034, 2018.

WU, C. et al. GC-FPD measurement of urinary dialkylphosphate metabolites of organophosphorous pesticides as pentafluorobenzyl derivatives in occupationally exposed workers and in a general population in Shanghai (China). **Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences**, v. 878, n. 27, p. 2575–2581, 1 out. 2010.

YE, M. et al. Associations between dietary factors and urinary concentrations of organophosphate and pyrethroid metabolites in a Canadian general population. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 218, n. 7, p. 616–626, out. 2015.

YE, M. et al. Urinary Dialkyl Phosphate Concentrations and Lung Function Parameters in Adolescents and Adults: Results from the Canadian Health Measures Survey. **Environmental health perspectives**, v. 124, n. 4, p. 491–497, abr. 2016.

YE, X. et al. Urinary metabolite concentrations of organophosphorous pesticides, bisphenol A, and phthalates among pregnant women in Rotterdam, the Netherlands: the Generation R study. **Environmental research**, v. 108, n. 2, p. 260–267, out. 2008.

YE, X. et al. Levels of metabolites of organophosphate pesticides, phthalates, and bisphenol A in pooled urine specimens from pregnant women participating in the Norwegian Mother

and Child Cohort Study (MoBa). **International journal of hygiene and environmental health**, v. 212, n. 5, p. 481–491, set. 2009.

YOLTON, K. et al. Impact of low-level gestational exposure to organophosphate pesticides on neurobehavior in early infancy: a prospective study. **Environmental health : a global access science source**, v. 12, n. 1, p. 79, 13 set. 2013.

YOUNG, J. G. et al. Association between in utero organophosphate pesticide exposure and abnormal reflexes in neonates. **Neurotoxicology**, v. 26, n. 2, p. 199–209, mar. 2005.

YU, C.-J. et al. Increased risk of attention-deficit/hyperactivity disorder associated with exposure to organophosphate pesticide in Taiwanese children. **Andrology**, v. 4, n. 4, p. 695–705, jul. 2016.

YUCRA, S. et al. Dialkyl phosphate metabolites of organophosphorus in applicators of agricultural pesticides in Majes - Arequipa (Peru). **Journal of occupational medicine and toxicology (London, England)**, v. 1, p. 27, 19 dez. 2006.

YUCRA, S. et al. Semen quality in Peruvian pesticide applicators: association between urinary organophosphate metabolites and semen parameters. **Environmental health : a global access science source**, v. 7, p. 59, 17 nov. 2008.

ZEIGELBOIM, B. S. et al. The Importance of Otoneurological Evaluation in Brazilian Workers Exposed to Pesticides: A Preliminary Study. **International Archives of Otorhinolaryngology**, v. 23, n. 04, p. e389–e395, out. 2019.

ZHANG, Y. et al. Prenatal exposure to organophosphate pesticides and neurobehavioral development of neonates: a birth cohort study in Shenyang, China. **PloS one**, v. 9, n. 2, p. e88491, 2014.

ZHANG, Y. et al. Household pesticide exposure and the risk of childhood acute leukemia in Shanghai, China. **Environmental science and pollution research international**, v. 22, n. 15, p. 11755–11763, ago. 2015.

ZHANG, Y. et al. Exposure to Organophosphate Pesticides and Menstrual Cycle Characteristics in Chinese Preconceptional Women. **American journal of epidemiology**, v. 189, n. 5, p. 375–383, 5 maio 2020.

ANEXO A – ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS QUE UTILIZARAM QUANTIFICAÇÃO DE ALQUILFOSFATOS EM URINA HUMANA ENTRE OS ANOS DE 2000 E 2021 BUSCADOS EM PUBMED, SCIELO E BDTD

País/População	Crianças/Adolescentes	Mulheres grávidas	População geral	Trabalhadores rurais	Trabalhadores no controle vetorial	Total
Alemanha			HARDT; ANGERER, 2000; HEUDORF et al., 2006.			2
Itália	APREA et al., 2000.		SAIEVA et al., 2004.	APREA et al., 2001;APREA et al., 2004; APREA et al., 2005.		5
EUA	LU et al., 2001; KOCH et al., 2002; CURL; FENSKE; ELGETHUN, 2003; FENSKE et al., 2005; KISSEL et al., 2005; LAMBERT et al., 2005; YOUNG et al., 2005; ARCURY et al., 2006; ESKENAZI et al., 2007; BOUCHARD et al., 2010; ESKENAZI et al., 2010; MARKS et al., 2010; BOUCHARD et	CASTORINA et al., 2003; BRADMAN et al., 2005; ENGEL et al., 2007; HARLEY et al., 2011; RAUCH et al., 2012; HARLEY et al., 2016.	BRAVO et al., 2002; BRAVO et al., 2004;BARR et al., 2004; BARR et al., 2011; CLUNE; RYAN; BARR, 2012; MCKELVEY et al., 2013; CURL et al., 2015; FIGUEROA et al., 2015; OMOIKE;	CURL et al., 2002; FENSKE; CURL; KISSEL, 2003; MCCAULEY et al., 2008; SALVATORE et al., 2008; ARCURY et al., 2009; GRZYWACZ et al., 2010; MCCAULEY et al., 2013; ARCURY et al., 2016; KIM et al., 2018; TAMARO et al., 2018.	KRIEGER; DINOFF, 2000.	66

al., 2011; BRADMAN et al., 2011; ENGEL et al., 2011; GRIFFITH et al., 2011; QUIRÓS-ALCALÁ et al., 2011; QUIRÓS-ALCALÁ et al., 2012; BRADMAN et al., 2013; ESKENAZI et al., 2014; FURLONG et al., 2014; BRADMAN et al., 2015; PERLA et al., 2015; RAANAN et al., 2015; SALVATORE et al., 2015; DONAUER et al., 2016; RAANAN et al., 2016; STEIN et al., 2016; MILLENSON et al., 2017; SAGIV et al., 2018; BENKA-COKER et al., 2019; BENKA-COKER et al., 2020; HYLAND et al., 2021.

LEWIS; MEEKER, 2015; RANJBAR et al., 2015; JAIN, 2016; MIGNERON-FOISY et al., 2017; FIGUEROA et al., 2019; GILLEZEAU et al., 2019; LI; KANNAN, 2020; SUN; SUN; BARR, 2020.

Países Caribenhos	FORDE et al., 2015.			1
Honduras	BALLUZ et al., 2001.			1
França	CARTIER et al., 2016; BINTER et al., 2020.	DEBOST-LEGRAND et al., 2016.	DULAURENT et al., 2006; BAUDRY et al., 2019.	BOUVIER et al., 2006. 6

Grécia	MYRIDAKIS et al., 2016.		KOKKINAKI et al., 2014; KOUREAS et al., 2014a; KOUREAS et al., 2014b.	4
Reino unido		GARFITT et al., 2002.	COCKER et al., 2002; ATHERTON et al., 2009; HANCHENLAKSH et al., 2011.	4
Tailândia	PETCHUAY et al., 2006; PETCHUAY et al., 2008; PANUWET et al., 2009; ROHITRATTANA et al., 2014; FIEDLER et al., 2015; SAPBAMRER; HONGSIBSONG; KHACHA-ANANDA, 2020.	KONGTIP et al., 2014; PRAPAMONTOL et al., 2014.	PANUWET et al., 2009; SAPBAMRER; HONGSIBSONG; KERDNOI, 2017; HONGSIBSONG; SITTITON; SAPBAMRER, 2017; WONGTA et al., 2018; SAPBAMRER et al., 2019; SEESEN et al., 2020; SUWANNARIN et al., 2020.	15
Índia	SINHA; BANDA, 2018.			1
Coreia do Sul			LEE et al., 2017. LEE et al., 2007.	2
Qatar			SHOMAR; AL-SAAD; NRIAGU, 2014.	1
Austrália	BABINA et al., 2012.	OGLOBLINE et	HATJIAN et al.,	4

			al., 2001b; OATES et al., 2014.	2000.	
Canadá	VALCKE et al., 2006.	SOKOLOFF et al., 2016; LEWIN et al., 2017; NTANTU NKINSA et al., 2020; YOLTON et al., 2013.	BOUCHARD et al., 2005; YE et al., 2015; YE et al., 2016.		7
Bélgica	PIRARD et al., 2020.				1
Dinamarca	DALSAGER et al., 2018.				1
Holanda	JUSKO et al., 2019; VAN DEN DRIES et al., 2019; VAN DEN DRIES et al., 2020.	YE et al., 2008; YE et al., 2009; SPAAN et al., 2015; VAN DEN DRIES et al., 2018; FERGUSON et al., 2019; MULDER et al., 2019.			9
Noruega	CEQUIER et al., 2016a; CEQUIER et al., 2017.				2
Suíça			GÖEN et al., 2017.		1
Japão	UEYAMA et al., 2014; OSAKA et al., 2016; OYA et al., 2017; ITO et al., 2020; OYA et al.,	(HIOKI et al., 2019)	UEYAMA et al., 2015.	UEYAMA et al., 2012; NAGAMI; SUENAGA; NAKAZAKI, 2017.	UEYAMA et al., 2006; UYAMA et al., 2010a;

	2020.				UEYAMA et al., 2012 (repetido); KIMATA et al., 2009.	
China	DING et al., 2012; GUODONG et al., 2012; ZHANG et al., 2015; LIU et al., 2016; WANG et al., 2017b; WANG et al., 2020.	ZHANG et al., 2014; WANG et al., 2017a; HU et al., 2020; QIN et al., 2020.	ZHANG et al., 2020; PERRY et al., 2011.	WU et al., 201.		13
Malásia	MAT SUTRIS et al., 2016.					1
Taiwan	YU et al., 2016.				LIN et al., 2002.	2
Espanha	GONZÁLEZ- ALZAGA et al., 2015; HERNÁNDEZ et al., 2019; GONZÁLEZ- ALZAGA et al., 2020.	FERNÁNDEZ et al., 2020.	MELGAREJO et al., 2015.		HERNÁNDEZ; SANCHO; POZO, 2002a.	6
Áustria				BICKER et al., 2005.		1
Palestina		ABDEEN et al., 2016.				1
Israel	EIN-MOR et al., 2018.			BERMAN et al., 2013a; BERMAN et al., 2013b; BERMAN et al., 2016.		4
Brasil					SILVÉRIO, 2016; SILVÉRIO et al., 2017.	2
Chile	MUÑOZ; IGLESIAS;					3

	LUCERO, 2011; MUÑOZ-QUEZADA et al., 2012; MUÑOZ- QUEZADA et al., 2019.					
México				SÁNCHEZ-PEÑA et al., 2004; BLANCO-MUÑOZ et al., 2010; LACASAÑA et al., 2010a; LACASAÑA et al., 2010b; BLANCO- MUÑOZ et al., 2012; AGUILAR- GARDUÑO et al., 2013; AGUILAR- GARDUÑO et al., 2017.	HERRERA- MORENO et al., 2019; PAREDES- CÉSPEDES et al., 2019; MOLINA- PINTOR et al., 2020.	10
Peru				YUCRA et al., 2006; YUCRA et al., 2008.		2
África do Sul	MOLOMO et al., 2021.			DALVIE et al., 2011; MOTSOENENG; DALVIE, 2015.		3
Total	75	27	36	48	9	

Fonte: Própria autoria