

# PADRONIZAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA AVALIAÇÃO DA COLINESTERASE PLASMÁTICA

**Aline Carré dos Santos<sup>1</sup>**  
**Clarice Pinheiro Mostardeiro<sup>2</sup>**

## Resumo

O método espectrofotométrico de Ellman et al. (1961) para a avaliação da colinesterase foi adaptado visando à determinação da colinesterase plasmática. O método modificado foi padronizado buscando garantir um teste de qualidade com resultados exatos, precisos e confiáveis. As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro no  $\lambda= 405$  nm e utilizou-se como solução inibidora 500  $\mu$ L de solução de sulfato de quinidina 1%. O método demonstrou linearidade entre as concentrações de 0,08 a 0,40  $\mu$ Moles/L. O coeficiente de variação (CV) nas análises realizadas com amostras de sangue de voluntários hematimetricamente normais e não expostos a agentes anticolinesterásicos foi menor que 15% (n=10), mostrando-se os valores de colinesterase plasmática de acordo com os valores de referência para esta metodologia (1,5 – 3,5 UI/mL). Tanto na precisão intradia quanto interdia o CV foi inferior a 15%, que é o preconizado pela Anvisa. A substituição de solução inibidora salicilato de eserina, por sulfato de quinidina, mostrou-se eficiente para a avaliação da colinesterase plasmática, tendo-se obtido parâmetros de padronização satisfatórios, condizentes com recomendações da literatura e com a legislação sanitária vigente no país. A presente metodologia analítica, portanto, tem sustentação técnica para que possa ser utilizada na determinação plasmática da atividade da colinesterase.

**Palavras-chave:** Colinesterases. Butirilcolinesterase. Compostos Organofosforados. Carbamatos. Exposição Ocupacional.

## Standardization of Analytical Methodologies for Evaluation of Plasma Cholinesterase

### Abstract

The spectrophotometric method of Ellman et al. (1961) for the evaluation of cholinesterase, was adapted, seeking the determination of plasma cholinesterase. The modified method was seeking to ensure a standardized quality test results with accurate, precise and reliable. The readings were performed in the absorbance spectrophotometer at  $\lambda= 405$  nm and was used as a solution inhibiting 500  $\mu$ L of quinidine sulfate solution of 1%. The method has shown linearity between concentrations of 0.08 to 0.40  $\mu$ Moles/L. The coefficient of variation (CV) in the analysis carried out using blood samples from normal hematimetric volunteers and not exposed to anticholinesterase agents was lower than 15% (n= 10), the values of plasma cholinesterase in line with the benchmarks for this methodology (1.5 – 3.5 UI/mL). Both the intra-day precision as the inter-day CV was lower than 15%, which is advocated by Anvisa. The replacement of a solution inhibiting salicylate eserine, for quinidine sulfate, was effective for the evaluation of plasma cholinesterase, and has obtained satisfactory standards of parameters, consistent with recommendations of literature and the health legislation in force in the country. Therefore, this analytical methodology has to technical support that can be used in the determination of plasma cholinesterase activity.

**Keywords:** Cholinesterases. Butrylcholinesterase. Organophosphorus Compounds. Carbamates. Occupational Exposure.

<sup>1</sup> Acadêmica do curso de Farmácia da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. E-mail: cslininha@bol.com.br

<sup>2</sup> Farmacêutica, mestre em Ciência e Tecnologia Farmacêutica. Docente do curso de Farmácia da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí. Autor Responsável. E-mail: claricem@unijui.edu.br

As colinesterases (ChE) são enzimas responsáveis pela hidrólise (degradação) da acetilcolina (ACh), neurotransmissor responsável pela transmissão dos impulsos nervosos. Existem duas enzimas que possuem a capacidade de hidrolisar a acetilcolina: a acetilcolinesterase (AChE) ou colinesterase verdadeira, e a pseudocolinesterase, também denominada butirilcolinesterase (BChE) ou colinesterase inespecífica. A AChE predomina nos eritrócitos, pulmões, baço, neurônios e na matéria cinza do cérebro; e a BChE prepondera no plasma, fígado, pâncreas, intestino delgado e matéria branca do cérebro (Alonzo; Corrêa, 2003; Motta, 2003).

Substâncias anticolinesterásicas inibem as enzimas colinesterases, impedindo, conseqüentemente, a hidrólise da acetilcolina, o que leva a um acúmulo desta na fenda sináptica. Este acúmulo é danoso à saúde, pois causa uma hiperestimulação colinérgica.

Os compostos organofosforados e carbamatos são agentes anticolinesterásicos largamente empregados na agricultura como inseticidas, no controle e no combate a pragas, sendo também utilizados em saúde pública para eliminação e controle de vetores transmissores de enfermidades endêmicas.

A intoxicação por esses inseticidas anticolinesterásicos pode ser aguda ou crônica, levando frequentemente ao desenvolvimento de uma série de danos à saúde, muitas vezes irreversíveis. De acordo com estudos realizados por Fukuto (1990), Rosati et al. (1995) e Ferrer (2003), a sintomatologia das intoxicações é decorrente do acúmulo de acetilcolina nos tecidos nervosos e órgãos efetores, gerando sinais e sintomas relacionados com suas ações muscarínicas, nicotínicas e no sistema nervoso central (SNC).

As manifestações muscarínicas incluem miose, sudorese, sialorreia, lacrimejamento, bradicardia, broncoconstrição, secreção brônquica, náusea, vômitos, dor abdominal, incontinência fecal e urinária. As manifestações nicotínicas são fraqueza muscular, fasciculações, paralisia, arreflexia, palidez, taquicardia e hipertensão; já as manifestações no sistema nervoso central incluem ansiedade, confusão mental, psicose, inconsciência, convulsões, sonolên-

cia, letargia, cefaleia, tremores, ataxia, depressão respiratória e cardiovascular (Rosati et al., 1995; Ferrer, 2003; Risher; Mink; Stara, 1987).

Podem aparecer ainda dois quadros clínicos diferentes: síndrome intermediária e neurotoxicidade tardia (polineuropatia tardia). A síndrome intermediária caracteriza-se pelo aparecimento de fraqueza proximal e de paralisia, que ocorre de 12 horas a 7 dias depois da exposição, logo após a resolução dos sintomas colinérgicos e antes da aparição da polineuropatia tardia (Alonzo; Corrêa, 2003).

Já a polineuropatia tardia, sensitivo-motora, é uma complicação rara. Aparece, geralmente, de 6 a 21 dias depois da exposição por qualquer via, com sintomas de parestesias e paralisias motoras nos membros inferiores e eventualmente nos superiores. A recuperação pode ser lenta e incompleta (Alonzo; Corrêa, 2003).

Devido ao uso de agrotóxicos ser intenso e as intoxicações por esses compostos serem bastante prejudiciais à saúde, deve-se realizar o monitoramento ocupacional por meio de exames laboratoriais, o que se constitui em uma forma eficiente de prevenir e diagnosticar as intoxicações por inseticidas. O controle laboratorial da exposição ocupacional é comumente realizado pela determinação da atividade colinesterásica no sangue dos trabalhadores. Esta análise é simples e sensível, sendo empregada como um índice biológico satisfatório, pois sua variação é proporcional à intensidade e duração da exposição aos agentes anticolinesterásicos (Ribeiro, 2007).

Além disso, os testes séricos da colinesterase encontram outras aplicações, entre elas o teste de função hepática e a avaliação de variantes atípicos causadores de apneia prolongada em pacientes cirúrgicos que receberam drogas curarizantes (Trundle; Marcial, 1988; Henry, 2008).

Pode-se avaliar a atividade das duas colinesterases, AChE nos níveis eritrocíticos e a BChE no plasma. A determinação da atividade da AChE é mais valiosa em caso de suspeita de exposição prolongada, dado que as concentrações eritrocitárias levam mais tempo para diminuir do que as concentrações séricas de BChE, e necessitam de mais tem-

po para normalização após a exposição. Já a BChE diminui antes daquela encontrada nas hemácias, sendo, portanto, indicador biológico da exposição aguda. A exposição grave usualmente reflete-se na depressão de ambas as enzimas (Ribeiro, 2007; Funasa, 2001; Henry, 2008).

Considerando que os níveis basais da colinesterase apresentam variações biológicas de uma pessoa para outra, é importante, para melhorar a sensibilidade do teste, realizar o teste basal (pré-exposição) em pessoas que irão ter contato com organofosforados e carbamatos. Estes valores podem ser adotados como referência para comparação com os valores após a exposição (Funasa, 2001; Alonzo; Corrêa, 2003).

A Norma Regulamentadora número 7 (NR-7; Programa de Controle Médico e Saúde Ocupacional) estabelece que o valor de referência para ésteres organofosforados e carbamatos deve ser obtido por meio da determinação da atividade pré-ocupacional, utilizando-se o sangue como material biológico. A dosagem da colinesterase sanguínea em manipuladores desses inseticidas deve ser realizada no mínimo a cada seis meses, podendo, este período, ser reduzido a critério do médico ou mediante negociação coletiva de trabalho (Brasil, 1994).

No caso da colinesterase plasmática o índice biológico máximo permitido (IBMP) é de 50% de depressão da atividade inicial (Brasil, 1994).

O método mais utilizado para medir a atividade da colinesterase em sangue total, eritrócitos ou plasma, é o ensaio enzimático descrito por Ellman et al. (1961). Este se constitui em uma técnica espectrofotométrica para a atividade da colinesterase e pode ser rotineiramente empregado. O método é baseado na capacidade de a colinesterase (presente na amostra) hidrolisar a propioniltiocolina em tiocolina e ácido propiônico. A tiocolina formada reage com o ácido 5,5-ditio-bis-2-nitrobenzoico (DTNB), formando um complexo amarelo mensurável a 405 nm (Ellman et al., 1961; Silva et al., 2001).

A adoção da metodologia analítica para avaliação da colinesterase plasmática visa a atender a comunidade exposta ocupacionalmente a estes inseticidas, em especial a população da região onde

se encontra o município de Ijuí, que tem sua economia ancorada na agricultura. Para isso, no entanto, faz-se necessário a padronização da metodologia, objetivando o aperfeiçoamento das condições de realização da técnica, buscando garantir um teste de qualidade com resultados exatos, precisos e confiáveis. Nesse viés, o presente trabalho teve por objetivo a padronização da metodologia, estabelecendo alguns parâmetros analíticos para a disponibilização aos laboratórios de análises clínicas da região como um método alternativo para a avaliação da BChE.

## Metodologia

### Reagentes

Os reagentes para as soluções de ácido 5,5-ditio-bis-2-nitrobenzoico tamponada (DTNB) (reagente de cor), iodeto de propionil tiocolina  $4,947 \times 10^{-3}$  M (substrato), sulfato de quinidina 1% (solução inibidora) e L- cisteína 0,4  $\mu$ Moles/L (solução padrão), foram adquiridos da Sigma Chemical Company (EUA). Os reagentes fosfato de potássio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), fosfato de sódio bibásico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) e cloreto de sódio (NaCl) foram de grau p.a.

Todas as soluções foram preparadas utilizando-se água destilada como solvente e armazenadas em geladeira, à temperatura de 2°C a 8°C, em recipiente âmbar, exceto a solução padrão de L-cisteína, que era preparada no momento do uso.

A solução de DTNB tamponada foi preparada em balão volumétrico de 250 mL pela adição de 1,125 g de NaCl; 0,025 g de DTNB; 2,108 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,0625 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e água destilada (q.s.p. 250 mL). O pH desta solução deve ser 7,8.

### Equipamento

As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro BioSystems BTS 310®. O perfil hematológico e hemograma foram determinados no sistema automatizado Pentra 80 (ABX).

## Amostras

Para a padronização foram necessários dez voluntários hematimetricamente normais e não expostos a agentes anticolinesterásicos, dos quais coletou-se 10 mL de sangue, por meio de punção venosa, em tubo heparinizado. Para a realização dos hemogramas coletaram-se 3 mL de sangue, por punção venosa, em tubo contendo EDTA como anticoagulante. As amostras foram coletadas e processadas no Laboratório de Análises Clínicas da Unijuí (Unilab).

Os voluntários foram informados do objetivo da pesquisa e convidados a participar, sendo incluídos no estudo após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foram excluídos indivíduos expostos a agentes anticolinesterásicos e que apresentaram parâmetros hematimétricos fora da normalidade.

Todas as amostras foram submetidas à avaliação dos índices hematimétricos mediante a realização de hemograma completo, para confirmar a sua normalidade, sendo posteriormente empregadas para a determinação da colinesterase plasmática. Os testes, em cada amostra, foram realizados em triplicata.

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (Unijuí), sob o protocolo número 0102/2008.

## Padronização do Método de Análise

Os parâmetros avaliados para padronizar a metodologia analítica foram linearidade e precisão intradia e interdía (Brasil, 2003).

A linearidade foi estabelecida utilizando-se solução padrão de L-cisteína em seis concentrações diferentes (zero; 0,08; 0,16; 0,24; 0,32 e 0,40  $\mu$ Moles/L) preparadas em solução de DTNB tamponada, em sextuplicatas, e leitura no comprimento de onda de 420 nm. Estabeleceu-se correlação linear entre concentração, considerada variável independente (x), e as absorvâncias do padrão de L-cisteína, considerada variável dependente (y). Os parâmetros da correlação foram estimados pelo método dos mínimos quadrados.

Visando à modificação e adaptação da metodologia às condições laboratoriais, foram testadas diferentes quantidades de solução inibidora de sulfato de quinidina 1%. As quantidades testadas foram 750  $\mu$ L, 500  $\mu$ L, 300  $\mu$ L, 100  $\mu$ L, 50  $\mu$ L e 25  $\mu$ L, com todas as análises sendo realizadas em triplicata.

A especificidade do método modificado foi testada pela análise em veredura ( $\lambda = 200$  a 1000 nm) de solução tampão e solução inibidora; e água e solução inibidora. Estas soluções foram preparadas de forma a obter o volume final de uma amostra teste.

A precisão em termos de repetibilidade (intradia) foi realizada por meio de 15 dosagens sucessivas, com duas amostras obtidas de voluntários hematimetricamente normais.

A precisão em termos de reprodutibilidade (interdia) foi estudada com duas amostras nas quais foram realizadas seis dosagens em seis dias consecutivos.

Os dados obtidos durante a padronização da metodologia analítica foram tratados estatisticamente utilizando o programa Microsoft Office Excel. Para a análise estatística foi usado o teste qui-quadrado com nível de confiança de 95% (alfa menor ou igual a 0,05).

## Método de Análise

A padronização da metodologia analítica de determinação da colinesterase plasmática foi preconizada por Ellman et al. (1961) e modificada. Primeiramente elaborou-se a curva de calibração e a seguir a metodologia analítica foi aplicada a amostras de sangue.

## Tratamento da amostra

Os procedimentos relativos à metodologia modificada são apresentados a seguir (Figura 1).

Mediram-se as absorvâncias das soluções dos tubos “P” e “PB” no espectrofotômetro em 405 nm contra água destilada.

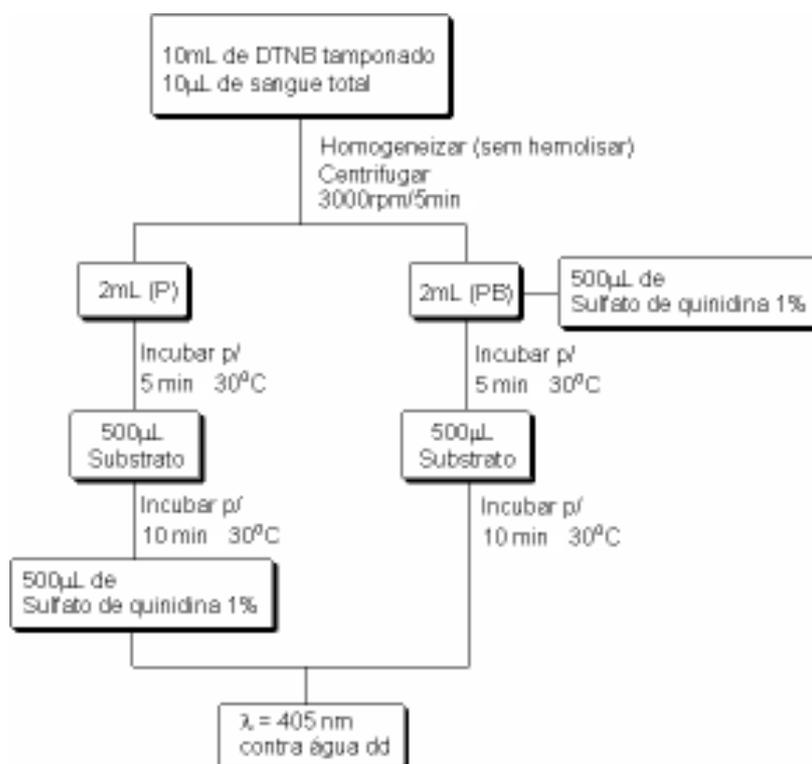


Figura 1: Fluxograma analítico do tratamento da amostra para determinação da colinesterase plasmática (P= amostra; PB = branco; dd = água destilada e deionizada).

Fonte: Fluxograma construído pelos autores.

Com os resultados das medidas de absorvância das amostras, calculou-se a atividade da colinesterase plasmática ou butirilcolinesterase (Ativ. BChE) por meio da seguinte equação:

$$\text{Ativ. BChE} = \frac{A(P - PB) \times 10}{\Delta} \quad (\text{UI/mL})$$

Onde:

A (P-PB) = Absorvância de “P” menos Absorvância de “PB”

$\Delta$  = Absorvância do ponto 0,40  $\mu\text{Moles}$  (10UI/mL) menos Absorvância do ponto zero da curva de calibração.

Os pontos de concentração 0,40 mMoles e zero da curva de calibração foram feitos em triplicata.

## Resultados e Discussão

De acordo com o método de Ellman et al. (1961), antes de se iniciar o fluxograma analítico propriamente dito, deve-se desenvolver a curva de calibração. Esta é a representação gráfica da relação entre os valores das absorvâncias com os valores das concentrações de um conjunto de soluções padrão. Para sua determinação analisou-se cinco concentrações diferentes e os resultados foram tratados estatisticamente.

O método demonstrou-se linear entre as concentrações de 0,08 a 0,40  $\mu\text{Moles/L}$  (Figura 2). Os coeficientes de variação (CV, n=6) obtidos com as diferentes concentrações foram todos menores que 5%, o que está de acordo com o recomendado quando se trabalha com soluções de analito em água (Brasil, 2003).

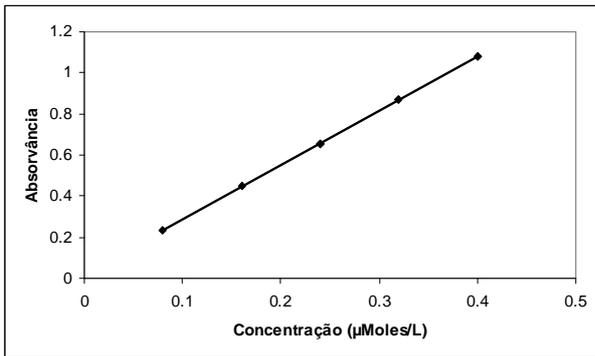


Figura 2: Curva de calibração do método para avaliação da colinesterase plasmática por espectrofotometria na faixa de concentração de 0,08 a 0,40 µMoles/L.

Fonte: Resultados produzidos na pesquisa.

A equação da reta corresponde a  $y = 2,639x - 0,005$ , sendo o coeficiente de correlação linear ( $r$ ) obtido igual a 1. Este valor indica boa correlação e está de acordo com o preconizado na Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003, que indica um coeficiente de correlação linear igual ou superior a 0,99.

Depois de obtida a curva de calibração dentro dos valores adequados, fez-se adaptações no método de análise utilizando amostras de sangue para verificar a atividade enzimática.

O método proposto por Ellman et al. (1961) emprega salicilato de eserina como solução inibidora, contudo testou-se a substituição por solução inibidora de sulfato de quinidina, que é utilizada com êxito nos kits para a determinação da colinesterase plasmática. Após testar diferentes quantidades de solução de sulfato de quinidina 1%, concluiu-se que 500 µL é a quantidade mais adequada para ser utilizada como solução inibidora. Verificou-se também, por meio de análise em varredura, que esta quantidade não interfere no comprimento de onda de leitura do composto corado utilizado para verificar a atividade da enzima BChE, ou seja, em 405 nm.

Assim, a metodologia analítica, utilizando 500 µL de solução inibidora de sulfato de quinidina 1%, foi aplicada a amostras de sangue de dez voluntários hematimetricamente normais e não expostos a agentes anticolinesterásicos.

Para calcular a atividade da colinesterase plasmática é necessário a absorvância de um padrão de concentração conhecida. Deste modo, os pontos de concentração 0,40 mMoles e zero da curva de calibração foram feitos, em triplicata, no início das análises com as amostras de sangue.

Para avaliar a precisão intradia quando o método é aplicado à amostra de plasma, foram utilizadas amostras de dois voluntários ( $n=15$ ). Os resultados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Precisão intradia (repetibilidade) referente ao método analítico para avaliação da colinesterase plasmática por espectrofotometria

Amostra	BChE (n=15) UI/mL (± dp)	Coefficiente de variação (%)
I	1,64 (±0,14)	8,64
II	2,79 (±0,24)	8,74

Fonte: Resultados produzidos na pesquisa.

Os resultados obtidos no ensaio de precisão intradia foram satisfatórios, estando dentro dos valores de referência. Segundo Ellman et al. (1961), o valor de referência para a colinesterase plasmática é 1,5 – 3,5 UI/mL. A precisão foi inferior a 9%, tendo em conta que o preconizado pela Anvisa é de até 15% para o coeficiente de variação. Observou-se que nas 15 réplicas nenhuma das amostras apresentou variação de atividade  $\pm 2$  x desvio padrão. Este parâmetro pode ser utilizado como critério de aceitação do resultado analítico na análise de amostras em triplicatas.

A precisão interdia é obtida por meio de alteração de condições, como mudança de analista, reagentes ou equipamento, ou utilização do método durante vários dias, semanas ou meses (Causon, 1997).

A precisão interdia foi avaliada utilizando-se duas amostras de sangue nas quais foram realizadas seis dosagens de colinesterase plasmática, em triplicata, em seis dias consecutivos. O coeficiente de variação foi calculado entre as médias obtidas nos seis dias consecutivos em que foram realizadas as análises. Os valores obtidos são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Precisão interdia (reprodutibilidade) referente ao método analítico para avaliação da colinesterase plasmática por espectrofotometria

Amostra	BChE (n=6) UI/mL ( $\pm$ dp)	Coefficiente de variação (%)
I	1,86 ( $\pm$ 0,12)	6,63
II	2,41 ( $\pm$ 0,22)	9,12

Fonte: Resultados produzidos na pesquisa.

As análises de reprodutibilidade obtiveram resultados dentro dos valores de referência. O coeficiente de variação foi inferior a 15%, que é o preconizado pela Anvisa. Em nenhuma das seis réplicas obteve-se variação de atividade  $\pm 2$  x desvio padrão.

A estabilidade da amostra também pôde ser verificada nessa etapa. Observou-se que as amostras de sangue se mantiveram estáveis por seis dias, sob refrigeração (2°C a 8°C).

A metodologia analítica foi aplicada a amostras de dez voluntários não expostos a agentes anticolinesterásicos. Os resultados da atividade da colinesterase plasmática obtidos são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Resultados da atividade da colinesterase plasmática de amostras de sangue de voluntários obtidos com o método de Ellman et al. (1961) modificado

Amostra	BChE (n=3) UI/mL ( $\pm$ dp)	Coefficiente de variação (%)
1	2,43 ( $\pm$ 0,098)	4,04
2	2,13 ( $\pm$ 0,271)	12,77
3	1,98 ( $\pm$ 0,276)	13,95
4	3,48 ( $\pm$ 0, 444)	12,79
5	1,66 ( $\pm$ 0,241)	14,50
6	2,96 ( $\pm$ 0,220)	7,44
7	1,63 ( $\pm$ 0,138)	8,53
8	2,20 ( $\pm$ 0,271)	12,35
9	1,75 ( $\pm$ 0,172)	9,86
10	1,58 ( $\pm$ 0,133)	8,45

Fonte: Resultados produzidos na pesquisa.

Quando se utiliza sangue como amostra, o coeficiente de variação deve ser inferior a 15% (Brasil, 2003). Nas análises realizadas com as dez amostras de sangue, de diferentes voluntários, o coeficiente de variação foi menor que 15%, e o resultado

obtido para a colinesterase plasmática apresentou-se de acordo com os valores de referência para esta metodologia.

Vale destacar que além dos trabalhadores rurais, que entram em contato com os agrotóxicos (substâncias inibidoras da ChE) de maneira direta durante a aplicação e indireta nas atividades de plantio, capina e colheita, outros profissionais, como os operários das indústrias de produtos químicos, os trabalhadores que transportam ou comercializam esses produtos e os empregados de firmas desinsetizadas também estão expostos e apresentam riscos de intoxicação. A população em geral também está sujeita à exposição por meio de resíduos que permanecem nos alimentos e no meio ambiente.

Segundo Chomchau (2005) e Larini (1999), no entanto, a análise da atividade das colinesterases não deve ser feita de maneira isolada, sendo útil quando empregada como exame auxiliar, tanto para o diagnóstico quanto para as ações de vigilância e acompanhamento clínico. É de grande importância conhecer os fatores que podem interferir na atividade da enzima, como idade, raça, sexo, estado de saúde, medicamentos; além dos fatores que dizem respeito aos métodos analíticos, para uma correta interpretação dos resultados. Também devem ser levados em consideração os sinais e sintomas clínicos e a resposta ao tratamento.

## Conclusão

Após a realização de todas as análises é possível concluir que a substituição da solução inibidora salicilato de eserina por sulfato de quinidina na metodologia estabelecida por Ellman et al. (1961) mostrou-se eficiente para a avaliação da colinesterase plasmática, tendo-se obtido parâmetros de padronização satisfatórios, condizentes com recomendações da literatura e com a legislação sanitária vigente no país.

A técnica apresentou excelente linearidade, além de boa precisão intradia e interdia, com coeficientes de variação menores que 15%.

Assim, a presente metodologia analítica tem sustentação técnica para que possa ser utilizada na determinação plasmática da atividade da colinesterase em sujeitos que entrem em contato com substâncias anticolinesterásicas, principalmente em casos de intoxicação por organofosforados e carbamatos, e, também, em casos de monitoramento ocupacional. A determinação da atividade plasmática da colinesterase também pode ser útil no teste da função hepática, bem como na avaliação de variantes atípicas causadores de apneia prolongada em pacientes cirúrgicos que receberam drogas curarizantes.

## Referências

- ALONZO, Herling G. A.; CORRÊA, Cristina I. Praguicidas. In: OGA, Seizi. *Fundamentos de Toxicologia*. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 437–458.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”. *Diário Oficial da União*, Poder Executivo, Brasília, DF, 2 de junho de 2003.
- BRASIL. Ministério do Trabalho e Emprego. NR-7 – Norma Regulamentadora n. 7. Segurança e Medicina do Trabalho. Programa de Controle Médico de Saúde Ocupacional – Alteração Portaria GM/SSSTb, n. 24, de 29 de dezembro de 1994 – *Diário Oficial da União*, Brasília, 30 dez. 1994.
- CAUSON, Roger. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis viewpoint and discussion. *Journal of Chromatography B*, v. 689, p. 175-180, 1997.
- CHOMCHAU, Summmon M. D. Inseticidas: Organofosforados e carbamatos. In: LING, L. J. et al. *Segredos em Toxicologia*. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- ELLMAN, G. L. et al. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol.*, v. 7, p. 88-95, 1961.
- FERRER, A. Intoxicación por plaguicidas. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, Pamplona, v. 26, supl.1, p. 155-171, 2003.
- FUKUTO, T. R. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environmental Health Perspectives*, v. 87, p. 245-254, jul. 1990.
- FUNASA. Fundação Nacional de Saúde. Avaliação da colinesterase sanguínea humana. Brasília, 2001. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ipcv\\_012.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ipcv_012.pdf)>.
- HENRY, John Bernard. *Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais*. 20. ed. São Paulo: Manole, 2008.
- LARINI, Lourival. *Toxicologia dos praguicidas*. São Paulo: Manole, 1999.
- MOTTA, Valter T. *Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações*. 4. ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau; São Paulo: Robe Editorial; Educs, 2003.
- RIBEIRO, Amanda Cavalari Cotrim; MELLA, Eliane Aparecida Campesatto. Intoxicação ocupacional por organofosforados: a importância da dosagem de colinesterase. *Iniciação Científica Cesumar*, Maringá, v. 9, n. 2, 2007.
- RISHER, J. F.; MINK, F. L.; STARA, J. F. The toxicologic effects of the carbamate insecticide aldicarb in mammals: a review. *Environmental Health Perspectives*, v. 72, p. 267-281, jun. 1987.
- ROSATI, J. L. R. et al. Intoxicação por carbamatos e organofosforados. *Jornal Brasileiro de Medicina*, v. 73, n. 3, p. 73-97, set. 1995.
- SILVA, J. F. O. et al. Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 35, n. 2, p. 130-135, 2001.
- TRUNDLE, D.; MARCIAL, G. Detection of cholinesterase inhibition: the significance of cholinesterase measurements. *Clinical and Laboratory Science*, v. 18, p. 345-352, 1988. Disponível em: <<http://www.annclinlabsci.org>>.