

Uso de biomarcador cotinina em trabalhadores para detecção da doença da folha verde do tabaco*

Marta Regina Cezar-Vaz¹

 <https://orcid.org/0000-0002-0754-7469>

Marcia Casaril dos Santos Cargnin²

 <https://orcid.org/0000-0003-3759-6939>

Objetivo: verificar, por meio da tecnologia de biomarcador de cotinina urinária, a ocorrência da doença da folha verde do tabaco em trabalhadores que cultivam tabaco do tipo Burley. **Método:** estudo caso-controle pareado, com base no *status* tabágico e na proporção 1:4, com participação de 20 trabalhadores-caso e 91 controles. Para a coleta de dados foi realizada entrevista por meio de inquérito domiciliar e coleta de urina para exame de cotinina. Foram utilizados os testes *t* de Student, Mann-Whitney, qui-quadrado de Pearson ou exato de Fisher. **Resultados:** dos 23 casos suspeitos, 20 apresentaram níveis elevados de cotinina, sinais e sintomas de dor de cabeça, irritação de pele, náusea, enjoo e mal-estar geral, principalmente pela manhã. A maioria trabalhou com tabaco molhado decorrente do sereno e o clima estava quente. **Conclusão:** verificam-se sinais sugestivos da doença da folha verde do tabaco nos trabalhadores do tabaco Burley. Faz-se necessária a atuação de profissionais de saúde no desenvolvimento de ações promotoras de saúde e preventivas sobre essa doença relacionada ao trabalho.

Descritores: Biomarcadores; Cotinina; Doenças Ocupacionais; Tabaco; Nicotina; Trabalhadores Rurais.

* Artigo extraído da tese de doutorado "Doença da Folha Verde do Tabaco: risco para trabalhadores rurais de um município da Região Sul do Brasil", apresentada à Universidade Federal do Rio Grande, Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Rio Grande, RS, Brasil.

¹ Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil.

² Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus Frederico Westphalen, Frederico Westphalen, RS, Brasil.

Como citar este artigo

Cezar-Vaz MR, Cargnin MCS. Use of cotinine biomarker in workers to detect green tobacco sickness. Rev. Latino-Am. Enfermagem. 2019;27:e3194. [Access   ]; Available in:  .DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1518-8345.3141.3194>. mês dia ano  URL

Introdução

Por meio de pesquisas realizadas tem sido demonstrada a estreita relação entre os modos de produção do tabaco, problemas de saúde e condições que influenciam negativamente o estado de saúde das famílias produtoras de tabaco⁽¹⁻³⁾. As atividades desenvolvidas na produção do tabaco expõem os trabalhadores ao risco de adoecimento, como distúrbios osteoarticulares, doenças provocadas pela radiação solar, intoxicações agudas e crônicas por agrotóxicos, distúrbios respiratórios, doenças mentais e a doença da folha verde do tabaco (DFVT)⁽³⁻⁴⁾.

Os riscos para a saúde, associados à produção do tabaco, foram registrados em 1713 por Bernardino Ramazzini, com a descrição de sinais e sintomas, como dores de cabeça e distúrbios gastrointestinais em italianos produtores de tabaco⁽⁵⁾. Somente em 1970, na Flórida, Estados Unidos da América (EUA), a DFVT foi relatada como doença específica dos trabalhadores rurais do tabaco⁽⁶⁾.

A DFVT é uma intoxicação aguda desencadeada pela absorção dérmica e pela inalação de nicotina, cujos sinais e sintomas são: náusea, vômito, fraqueza, tontura, cefaleia, insônia e perda de apetite^(3,7-8). Esses sinais e sintomas afetam os trabalhadores principalmente durante o plantio, cultivo, colheita, cura e enfardamento⁽⁹⁻¹⁰⁾, ocorrendo sobretudo quando as roupas ou folhas de tabaco ficam molhadas com chuva, orvalho ou suor⁽⁵⁾.

A morbidade da DFVT afeta quase um quarto dos trabalhadores do tabaco⁽¹¹⁾. O diagnóstico da DFVT é realizado em trabalhadores com base no histórico de exposição à cultura do tabaco, presença dos sinais e sintomas de intoxicação aguda e dosagem de cotinina alterada^(8,12-13).

A nicotina absorvida é biotransformada em cotinina, seu principal metabólito e pode ser detectada nos vários fluidos biológicos de indivíduos expostos ao tabaco, como na urina, saliva e sangue, cuja meia-vida biológica é de cerca de 20 horas^(5,8). Nesse sentido, deve ser usado um desses biomarcadores para verificar a DFVT⁽¹⁴⁾.

No Brasil foi confirmada, pela primeira vez, a presença da DFVT na região do Agreste Alagoano, no ano de 2007⁽¹⁰⁾, por meio da análise de cotinina urinária de trabalhadores com o método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE ou, em inglês, *High Performance Liquid Chromatography* – HPLC). Esse método é adotado pela maioria dos estudos nacionais e internacionais, tendo em vista que é específico e seus limites de detecção são menores⁽¹⁵⁾. Da mesma forma, em 2008, foi confirmada a DFVT em trabalhadores de

um município da região do Vale do Rio Pardo, no Rio Grande do Sul (RS), em estudo do tipo caso-controle⁽⁸⁾.

Pondera-se a necessidade deste trabalho pela evidência encontrada em estudo⁽¹⁶⁾ em que se identificou, por meio de autorrelato, a presença de sinais e sintomas durante o processo de produção do tabaco, principalmente nas etapas de colheita e preparo das folhas, o que seria sugestivo da DFVT. Além disso, há a necessidade de aprofundar os conhecimentos sobre essa temática em trabalhadores que cultivam o tabaco do tipo Burley, visto que existe número restrito de pesquisas no Brasil.

Também está atrelado à evidência encontrada em estudo⁽¹¹⁾ no qual se identificou que as folhas maduras de tabacos não Virgínia (entre eles o Burley) contêm cerca de três a quatro vezes mais nicotina em comparação com folhas do tabaco Virgínia, com o qual foi desenvolvido a maioria dos estudos existentes. Assim, a presente pesquisa, com trabalhadores de tabaco do tipo Burley, deverá proporcionar comparações entre os demais tipos de tabaco produzidos no Brasil, uma vez que algumas etapas no processo de trabalho também diferem entre si. Na região sul do Brasil é cultivado o tabaco das variedades Burley, Comum e Virgínia. Os processos de cultivo das variedades são os mesmos, diferenciando apenas na etapa da colheita das folhas, cura e preparo final.

Nesse sentido, estudos acerca da DFVT em trabalhadores e famílias envolvidos no processo de produção do tabaco tornam-se relevantes para desenvolver ações interdisciplinares e intersetoriais de promoção da saúde da população rural, numa perspectiva socioambiental. A saúde e a doença são fenômenos ambientais nas relações com a natureza e na inter-relação com todos os seres⁽¹⁷⁾. Essas inter-relações desenvolvem situações de adequação ou inadequação com o ambiente, o que pode provocar desequilíbrio, no caso do presente estudo, do ser humano pelo adoecimento e da terra pelo plantio de tabaco.

Dessa forma, sendo a saúde ambiental um campo de atuação da enfermagem, faz-se necessário que o profissional enfermeiro adquira conhecimentos suficientes acerca do processo saúde-trabalho-ambiente, para poder desenvolver ações direcionadas a esses trabalhadores de forma individual e coletiva. Além disso, há a necessidade de, cada vez mais, esses profissionais estarem inseridos nos diferentes espaços que abrangem a saúde do trabalhador, especialmente o rural, a fim de obter subsídios científicos para a melhoria das condições de trabalho, o que minimizaria os problemas de saúde.

Nesse sentido, este estudo objetiva verificar, por meio da tecnologia de biomarcador de cotinina urinária, a ocorrência da DFVT em trabalhadores que cultivam tabaco do tipo Burley.

Método

Trata-se de estudo do tipo caso-controle representado pela proporção 1:4 durante o período da colheita de tabaco do tipo Burley, nos meses de dezembro de 2016 a janeiro de 2017 (safra 2016/2017) e, para complementar a amostra, em dezembro de 2017 (safra 2017/2018), com trabalhadores rurais que cultivavam tabaco do tipo Burley, em um município localizado na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Foram realizadas quatro coletas em dezembro de 2017, apesar das condições ambientais. Mesmo não sendo igual ao da safra anterior, o processo de trabalho foi o mesmo e a variabilidade ambiental, mínima – não influenciou, significativamente, os resultados finais.

Foram incluídos na pesquisa trabalhadores rurais que estavam cultivando tabaco do tipo Burley; na etapa da colheita, no período da coleta de dados; que tinham trabalhado na lavoura nos sete dias anteriores à entrevista; não tinham tido exposição às outras variedades de tabaco nos sete dias anteriores à entrevista; não tinham tido exposição aos pesticidas nos sete dias anteriores à entrevista; tinham idade igual ou superior a 18 anos e dispuseram-se a ceder uma amostra de urina. Os critérios de exclusão foram: as trabalhadoras que estavam grávidas e os que apresentaram transtornos mentais/psicológicos autorreferidos pelos responsáveis e que inviabilizavam a compreensão das perguntas do instrumento de pesquisa.

Foram identificadas 159 pessoas envolvidas com a cultura do tabaco na safra 2016/2017 e 2017/2018 com o auxílio dos agentes comunitários de saúde, tendo em vista a abrangência de 100% da Estratégia Saúde da Família e a confirmação por meio dos técnicos da Emater/RS-Ascar – uma instituição pública vinculada à Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Rio Grande do Sul que presta assistência técnica e extensão rural aos trabalhadores rurais. O cálculo do tamanho da amostra foi realizado no programa WinPEPI (*Programs for Epidemiologists for Windows*) versão 11.43 e baseado em estudos nacionais^(8,10) e internacional⁽¹⁴⁾. Para um nível de significância de 5%, prevalência da DFVT estimada em 20%, proporção de quatro controles para cada caso e um *Odds Ratio* mínimo de 4,5, o número mínimo seria de 19 casos e 76 controles, totalizando 95 trabalhadores. Dos 159 trabalhadores com tabaco, não participaram 37, por não atenderem os critérios de inclusão.

Conforme estudos^(8,10) realizados no Brasil, considerou-se caso suspeito o trabalhador que relatou estar apresentando sinais e sintomas de intoxicação aguda (cefaleia, náusea, vômito, tontura ou fraqueza) nas 48 horas anteriores à coleta de uma amostra de urina. Confirmaram-se os casos suspeitos que

apresentaram nível de cotinina acima dos valores de referência estabelecidos pelo laboratório: <20 ng/mL (nanograma por mililitro) para não fumante; de 20 a 50 ng/mL para fumantes passivos ou ocasionais; >50 ng/mL para fumantes, detectados por meio do exame de urina. Os controles foram trabalhadores que não apresentaram quaisquer sinais e sintomas de intoxicação aguda (cefaleia, náusea, vômito, tontura ou fraqueza) nos sete dias anteriores à entrevista.

Casos e controles foram pareados com base no *status* tabágico, pois o consumo do tabaco pode reduzir a ocorrência da DFVT⁽¹²⁾, devido à constrição dos vasos ocasionada pelo consumo, pela adaptação metabólica ou pela tolerância adquirida sob efeito da nicotina de longo prazo⁽¹⁸⁾. Foi considerado fumante o indivíduo que fuma diariamente qualquer tipo de tabaco por, pelo menos, seis meses⁽¹⁹⁾.

Apesar do questionário que subsidiou a elaboração do instrumento já ter sido aplicado em outra população de trabalhadores, foi realizado teste-piloto do instrumento de coleta com um grupo de dez trabalhadores – sendo a seleção dos participantes por conveniência – objetivando-se assegurar a validade, precisão e reprodutibilidade do instrumento, além de identificar possíveis falhas na sua redação e medir a duração da sua aplicação. A seleção por conveniência e esses instrumentos não fizeram parte da amostra final. Com a aplicação do teste foi possível melhorar a escrita de algumas perguntas, deixando-as mais compreensíveis e objetivas para o trabalhador; além disso, houve exclusão de uma questão e inclusão de três.

A coleta dos dados foi realizada por meio de inquérito domiciliar, com aplicação de entrevista, utilizando-se de um instrumento adaptado e autorizado de outro estudo⁽⁸⁾ que inclui dados de identificação, variáveis sociodemográficas, DFVT, exposição ao tabaco, características individuais, *status* tabágico, características sobre o consumo de álcool, exposição aos agrotóxicos e outras exposições contempladas em 75 questões. A coleta de dados e de urina foi realizada pelos pesquisadores e sete auxiliares de pesquisa, previamente selecionados e capacitados, que iam ao domicílio do trabalhador, conforme agendamento prévio realizado por contato telefônico, na maioria das vezes, portando um *kit* para coleta de urina, contendo caixa térmica, gelox, luvas descartáveis, coletor de urina, etiquetas de identificação numérica para afixar nos frascos e fichas de controles para cada trabalhador. Após a realização da entrevista era disponibilizado o frasco de polietileno para coleta de amostra de urina para exame de cotinina, bem como as orientações sobre a coleta, manuseio e armazenamento da amostra em geladeira. Esclarecia-se também que, no dia seguinte, haveria a busca da amostra de urina, sendo a primeira urina da manhã.

Foram coletadas amostras de urina para determinar os níveis de cotinina de trabalhadores-caso e controles, mantidas congeladas em ultrafreezer (-70°C) e encaminhadas ao laboratório de referência de toxicologia e farmacologia para análise. A verificação da dosagem de cotinina, por meio de uma amostra de urina, é um dos parâmetros para verificação da DFVT, sendo, para tal, utilizado o método de CLAE com detector ultravioleta.

Em estudo⁽¹⁰⁾ descreve-se o método utilizado pelo mesmo laboratório da presente pesquisa, enquanto a validação do método de cotinina em urina por CLAE também é descrita em estudo⁽¹⁵⁾ no qual a instrumentação e as condições cromatográficas de todos os produtos químicos foram de grau CLAE, contendo uma cromatografia líquida de alta eficiência, equipada com uma bomba isocrática, detector de ultravioleta, desgaseificação e sistema de injeção manual. As separações cromatográficas foram realizadas usando uma coluna de fase reversa. A coluna foi protegida por uma coluna de guarda e manteve-se à temperatura de $22\pm 2^{\circ}\text{C}$. A fase móvel foi uma mistura de água ultrapura, metanol, acetato de sódio de Molaridade (M) 0,1 M, acetonitrila, contendo 1 mL (mililitro) de ácido cítrico 0,034 M, e 5,0 mL de trietilamina, adicionada para cada litro de solução. O limite de detecção do método foi de 5 ng/mL e o de quantificação foi de 10 ng/mL. Para a realização das análises, a amostra foi preparada com 2,0 mL de urina tratados com 25 μL (microlitros) de hidróxido de sódio 10 M e 100 μL de padrão interno e 4,0 mL de diclorometano. Na fase orgânica foram secadas com nitrogênio e temperatura ambiente. Posteriormente, foram adicionados 100 μL da fase móvel e 20 μL foram injetados em CLAE^(10,15).

Cabe pontuar que o uso de biomarcadores é tendência cada vez mais frequente para auxiliar a comprovar o diagnóstico e ajudar no prognóstico das doenças. Assim, a combinação de apresentação clínica com medição de nível de cotinina permite estimativas mais precisas, excluindo outras hipóteses clínicas confundidoras, principalmente intoxicações relacionadas ao processo de trabalho.

Os dados do estudo foram analisados no programa estatístico *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 21.0. As variáveis quantitativas foram descritas por média e desvio-padrão ou mediana e amplitude interquartílica. As variáveis categóricas foram descritas por frequências absolutas e relativas. Para comparar médias, o teste *t* de Student foi aplicado. Em caso de assimetria, o teste de Mann-Whitney foi utilizado. Na comparação de proporções, os testes qui-quadrado de Pearson ou exato de Fisher foram aplicados. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$). Analisou-se a consistência interna do instrumento com recurso do teste alfa de Cronbach e o valor obtido foi de 0,723.

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões (URI), para apreciação e aprovação sob Parecer nº 1.791.798. Também obteve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa na Área da Saúde (Cepas) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), sob Parecer nº 1.887.270 em janeiro de 2017.

Resultados

Foram definidos como casos suspeitos e participaram do estudo 23 trabalhadores de tabaco Burley, sendo que desses, 20 foram confirmados pelo resultado do exame de cotinina urinária. Dos casos confirmados, 11 eram homens, com idade média de 43,5 anos, predomínio de cor branca (18; 90%) e média de 7,3 anos de estudo. Quanto à ingestão de bebidas alcoólicas, 14 (70,0%) referiram fazer uso, sendo que cinco (35,7%) relataram consumir de uma a duas vezes na semana, conforme descrito na Tabela 1.

Pode-se observar, na Tabela 1, que a doença não esteve associada ao sexo, idade, cor, escolaridade, uso e frequência de bebidas alcoólicas.

Tabela 1 - Características dos trabalhadores-caso e controles que cultivam tabaco Burley. Taquaruçu do Sul, RS, Brasil, 2016-2017

Variáveis	Casos (n=20) n (%)	Controles (n=91) n (%)	p*
Sexo			0,337
Masculino	11 (55,0)	63 (69,2)	
Feminino	9 (45,0)	28 (30,8)	
Idade	43,5 \pm 12,9	47,3 \pm 12,3	0,214
Cor			1,000
Branca	18 (90,0)	78 (85,7)	
Parda	2 (10,0)	13 (14,3)	
Escolaridade (anos)	7,3 \pm 2,7	7,06 \pm 3,33	0,713
Usa bebida alcoólica	14 (70,0)	72 (79,1)	0,385
Frequência de uso			0,584
Todos os dias	3 (21,4)	10 (13,9)	
Menos de 1x por semana	4 (28,6)	20 (27,8)	
1-2x por semana	5 (35,7)	34 (47,2)	
3-4x por semana	2 (14,3)	4 (5,6)	
5-6x por semana	0 (0,0)	4 (5,6)	

*Comparação de médias por meio do teste *t* de Student e de proporções por meio dos testes qui-quadrado ou exato de Fisher

Em relação ao vínculo dos trabalhadores com a propriedade em que residem, 18 (90,0%) referiram ser proprietários e dois (10,0%), arrendatários. Sete desenvolvem, como atividades principais, a produção de leite e tabaco (35,0%), respectivamente; três (15,0%), atividades do lar (mulheres); dois (10,0%), suinocultura; um (5%) referiu cultivo de milho.

Os trabalhadores começaram a apresentar sinais e sintomas de intoxicação majoritariamente no período da manhã (11; 55,0%); seis (30,0%), no período da noite; três (15,0%), no período da tarde. Desses,

somente um (5,0%) procurou o hospital, ficando em observação por aproximadamente 50 minutos para medicação endovenosa.

Os sinais e sintomas referidos foram: dor de cabeça em dez ocorrências (50,0%); irritação de pele em oito (40,0%); náusea e enjojo em sete (35,0%); mal-estar geral em seis (30,0%); suor excessivo em quatro (20,0%); fraqueza em quatro (20,0%); tontura em três (15,0%); dor abdominal em três (15,0%); irritação nos olhos em três (15,0%); vômito em duas (10,0%); aumento da salivagem em uma (5,0%); boca muito seca em uma (5,0%); visão embaçada em uma (5,0%); amargo na boca/queimação na garganta em uma (5,0%) e diarreia em uma ocorrência (5,0%). Esses sinais e sintomas duraram em mediana 300 (135-2520) minutos – mínimo 15 minutos e máximo sete dias (nesse último tratou-se de irritação na pele). Sete participantes (35,0%), no dia da entrevista, ainda sentiam os sinais e sintomas.

No dia em que sentiram os sinais e sintomas, 14 (70,0%) referiram que o clima estava quente e tinham trabalhado com tabaco molhado; nove (64,3%), no sereno; sete (50,0%), na chuva, conforme consta da Tabela 2.

Durante o trabalho com o tabaco, 17 (85,0%) trabalhadores relataram ter ficado com a roupa molhada, sendo que apenas oito (47,1%) realizaram a troca. Esses e os demais dados estão descritos na Tabela 2. O período da coleta de dados, compreendido de 7 de dezembro de 2016 a 19 de janeiro de 2017, foi um período de precipitações frequentes, totalizando aproximadamente 261 mm (milímetros) de chuva; já na coleta de dezembro de 2017 não houve precipitações de chuva, porém, as temperaturas permaneceram elevadas.

Tabela 2 – Condições socioambientais de indivíduos (casos e controles) que cultivam tabaco Burley. Taquaruçu do Sul, RS, Brasil, 2016-2017

Variáveis	Casos (n=20) n (%)	Controles (n=91) n (%)	p*
Presença de machucado/corte nas mãos	1 (5,0)	†	
Tempo estava†			
Quente	14 (70,0)	†	
Ensolarado	13 (65,0)	†	
Úmido	6 (30,0)	†	
Chuvoso	5 (25,0)	†	
Nublado	2 (10,0)	†	
Trabalhou com tabaco molhado‡	14 (70,0)	63 (69,2)	1,000
Sereno	9 (64,3)	45 (71,4)	0,748
Chuva	7 (50,0)	30 (47,6)	1,000
Roupa ficou molhada‡	17 (85,0)	74 (81,3)	1,000
Suor	13 (76,5)	52 (70,3)	0,769
Sereno	10 (58,8)	30 (40,5)	0,272
Chuva	2 (11,8)	15 (20,3)	0,513
Trocou de roupa	8 (47,1)	42 (56,8)	0,650

*Teste qui-quadrado ou exato de Fisher; †Não foi questionado para trabalhadores que não apresentavam sinais e sintomas da doença; ‡Múltipla resposta

Trabalhadores do tabaco referiram utilizar com mais frequência para trabalhar calça comprida, 17 (85,0%); chapéu, 16 (80,0%); camisa longa, 14 (70,0%); botas, 12 (60,0%) e meias, nove (45,0%), entre outros, conforme apresentado na Tabela 3. Cabe destacar que um dos poucos Equipamentos de Proteção Individual (EPI) utilizados, além da bota, foi a luva, sendo a do tipo poliuretano, sete (35,0%), disponibilizada/distribuída pela empresa fumageira. Houve associação significativa entre a doença e o uso de meias.

Tabela 3 – Roupa/vestimenta e/ou equipamento de proteção individual utilizados pelos trabalhadores (casos e controles) que cultivam tabaco Burley. Taquaruçu do Sul, RS, Brasil, 2016-2017

Variáveis	Casos (n=20)	Controles (n=91)	p*
	n (%)	n (%)	
Roupas/EPI†			
Calça comprida	17 (85,0)	67 (73,6)	0,392
Chapéu	16 (80,0)	75 (82,4)	0,756
Camisa longa	14 (70,0)	47 (51,6)	0,213
Botas	12 (60,0)	55 (60,4)	1,000
Meias	9 (45,0)	14 (15,4)	0,006
Boné	7 (35,0)	22 (24,2)	0,474
Sapato/tênis/botina	7 (35,0)	23 (25,3)	0,543
Camisa curta	6 (30,0)	44 (48,4)	0,213
Chinelo	4 (20,0)	28 (30,8)	0,490
Bermuda	3 (15,0)	25 (27,5)	0,380
Protetor solar	2 (10,0)	7 (7,7)	0,664
Tipos de luvas			
Poliuretano	7 (35,0)	25 (27,5)	0,689
Algodão	1 (5,0)	1 (1,1)	0,329
Látex	1 (5,0)	3 (3,3)	0,554
Látex com algodão	2 (10,0)	5 (5,5)	0,607

*Teste qui-quadrado ou exato de Fisher; †Múltipla resposta

Um dos critérios de inclusão nesta pesquisa era não ter tido contato com agrotóxicos nos últimos sete dias. Quando questionados sobre a última vez que tiveram contato com agrotóxicos, obteve-se mediana de 30 (9-40) dias.

Os trabalhadores relataram o tempo do último contato que tiveram com tabaco até a hora em que coletaram a primeira urina da manhã. Assim, obteve-se mediana de 11,5 (10-15) horas para os trabalhadores-caso e 12 (10-15) horas para os trabalhadores-controle.

No período da colheita do tabaco Burley, foram identificados 23 trabalhadores-caso suspeitos. Desses, três apresentaram valores indetectáveis de cotinina, enquanto 20 tiveram exame de cotinina alterado. Na Tabela 4 apresenta-se a dosagem de cotinina urinária dos trabalhadores-controle, com mediana de 98,5 (30-206,7) ng/mL. Cabe destacar que 61 trabalhadores-controle não fumantes e dois trabalhadores fumantes passivos não apresentaram os sinais e sintomas da DFVT, porém, apresentaram dosagem de cotinina acima dos valores de referência.

Na análise de cotinina urinária o *status* tabágico foi estratificado (fumante *versus* não fumante). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os níveis médios de cotinina nos trabalhadores-caso e controle, de fumantes ($p=0,222$) e de não fumantes ($p=0,088$), conforme mostrado na Tabela 4.

Tabela 4 – Níveis medianos de cotinina urinária em trabalhadores (casos e controles) que cultivam tabaco Burley. Taquaruçu do Sul, RS, Brasil, 2016-2017

Variáveis	n	Mediana	P25-P75*	p†
Casos	20	114,9	(84,3-272,2)	0,092
Controle	91	98,5	(30-206,7)	
Fumante				0,222
Casos	1	1484	-	
Controle	8	184,9	(97,6-407)	
Não fumante/ex-fumante				0,088
Casos	19	111,7	(83,5-248,9)	
Controle	83	89,2	(24-191)	

*P25-P75 = percentis 25-75; †Teste de Mann-Whitney

Discussão

Neste artigo objetivou-se verificar a ocorrência da DFVT em trabalhadores que cultivam tabaco tipo Burley, o qual contribui para aproximadamente 14% do total produzido na região sul do Brasil⁽²⁰⁾. O tabaco Burley possui tonalidade escura e contém, em média, de três a quatro vezes mais nicotina do que o tabaco do tipo Virgínia⁽¹¹⁾.

A produção de tabaco desenvolvida nas pequenas propriedades envolve o emprego intensivo da força de trabalho das famílias produtoras em todas as etapas de produção, sendo que algumas, como plantio das mudas e colheita das folhas de tabaco, requerem o envolvimento de praticamente toda a família⁽²¹⁾. Assim, evidencia-se a participação de homens e mulheres na presente pesquisa, sendo a maioria homens, tanto no grupo de casos como no de controle. Esses achados são semelhantes aos de outros estudos desenvolvidos no Brasil com a mesma metodologia^(6,10). É importante atentar para a sobrecarga de trabalho das mulheres, pois, além da participação no processo de produção do tabaco, elas têm os afazeres do lar e auxiliam seus companheiros em outras atividades da propriedade, como a ordenha de vacas leiteiras.

Em estudo⁽⁹⁾ transversal, realizado com trabalhadores no cultivo do tabaco, encontrou-se maior prevalência da DFVT em mulheres (11,9%) do que em homens (6,6%), o que esteve relacionado às diferenças biológicas, pois as mulheres possuem maior área dérmica (volume corporal) para a absorção de nicotina.

Quanto à idade dos trabalhadores, tanto de casos como de controles são adultos considerados "maduros", ao contrário das investigações nacionais publicadas, em que, para os casos, a mediana foi de 21 anos⁽¹⁰⁾ e

a média de 33 anos⁽⁸⁾. Em estudo transversal, a idade manteve-se associada à DFVT entre os homens, sendo que aqueles que tinham entre 30 e 39 anos apresentaram maior risco⁽⁹⁾, estando relacionado à maior intensidade de trabalho dos trabalhadores jovens.

Os sinais e sintomas referidos pelos trabalhadores nesta pesquisa (dor de cabeça, irritação na pele, náusea e enjoo, entre outros) também foram descritos em outras pesquisas^(1,8,10,14). Sintomas similares foram descritos em estudo realizado na região do Vale do Rio Pardo, RS, no período de classificação do tabaco, em que os principais sintomas manifestados foram náusea, cefaleia, tontura, desconforto abdominal e fraqueza⁽²²⁾. Vômito, náusea, tontura e dor de cabeça são causados pela estimulação ou inibição dos receptores colinérgicos no sistema nervoso central, levando à apresentação clínica⁽⁴⁾ referida pelos trabalhadores.

No presente estudo, as manifestações clínicas duraram em mediana cinco horas (de 15 minutos a sete dias), porém, a duração média descrita nos estudos foi de um a três dias^(12,14), com variação de 21 horas⁽⁸⁾ a 23 dias⁽²³⁾. Os sintomas podem variar de minutos, a partir do contato com a pele, a horas (intervalo de 3 a 17 horas após o trabalho)⁽⁵⁾.

Os sinais e sintomas da DFVT são frequentemente confundidos com intoxicação por agrotóxicos e exaustão pelo calor^(6,8). Neste trabalho, pode-se afirmar que a intoxicação aguda não está relacionada à exposição ao agrotóxico, pois a fase de colheita implica a menor aplicação de agrotóxico⁽⁸⁾, além dos trabalhadores estarem há mais de sete dias sem contato com a planta na ocasião da coleta da amostra.

No dia em que os trabalhadores desta pesquisa apresentaram os sinais e sintomas da intoxicação, haviam trabalhado com tabaco molhado pelo sereno e chuva, além do clima estar quente. Solúvel em água, a nicotina presente nas folhas de tabaco é absorvida por meio da pele (mãos, antebraços, coxas, costas e pés), sendo que a água presente na planta, proveniente da chuva, orvalho ou pela transpiração do trabalhador, aumenta a absorção transdérmica de nicotina^(6,9-10). Essa evidência foi confirmada em investigação⁽¹⁰⁾ em que foi identificado o aumento no número de pessoas com sinais e sintomas da DFVT durante os dias chuvosos.

Em outro estudo⁽²⁴⁾, realizado na Malásia, constatou-se que os trabalhadores no cultivo do tabaco que desenvolviam o trabalho em condições de umidade apresentavam, com mais frequência, palidez, erupção cutânea e fraqueza muscular. O clima é um fator importante para o desenvolvimento da DFVT, pois dias chuvosos e úmidos aumentam, especialmente, a absorção dérmica de nicotina, resultando no aumento das taxas de morbidade⁽²³⁾.

O orvalho encontrado nas folhas de tabaco geralmente molha as roupas dos trabalhadores logo após o início do trabalho na lavoura⁽⁶⁾. Além do orvalho, os trabalhadores, nesta pesquisa, referiram que a chuva e o suor molham suas vestimentas, porém, a maioria não realiza a troca da roupa molhada – sendo essa uma condição associada à DFVT, pois roupas molhadas podem aumentar a exposição à nicotina por meio da absorção dérmica⁽¹⁴⁾. Em razão disso, para reduzir a DFVT indica-se o uso de EPI⁽²⁴⁾. Em estudo caso-controle, realizado no leste da Carolina do Norte, EUA, foi mostrado que o uso de roupa de chuva, enquanto se trabalha com tabaco úmido, pode reduzir significativamente o risco da DFVT entre os trabalhadores⁽¹⁸⁾, porém, na maioria das vezes, esses equipamentos de proteção não são utilizados, pois dificultam a colheita⁽⁴⁾.

Nesta pesquisa foi possível evidenciar que os trabalhadores fazem uso de chapéu, calça e camisa de mangas longas para trabalhar com o tabaco. Esses conferem proteção solar, uma vez que não são impermeáveis. As luvas de poliuretano usadas por alguns trabalhadores conferem proteção de umidade apenas nas palmas das mãos (face palmar e ponta dos dedos) e no dorso, com fios de *nylon* (poliamida), favorecendo a ventilação para maior conforto térmico, porém, não são impermeáveis. As luvas de algodão são as que conferem menos proteção (78,5%), entretanto são mais confortáveis e de baixa durabilidade, já as de borracha oferecem 93% de proteção⁽²⁵⁾.

O uso de luvas causa redução significativa na absorção da nicotina, refletida nas baixas taxas de excreção de nicotina e cotinina⁽²⁵⁾ e na consequente redução dos sintomas da doença. Já no estudo⁽²⁴⁾ em que os agricultores não usaram botas ou luvas de borracha durante o trabalho e realizaram-no em condições úmidas, houve a manifestação de sintomas subjetivos como nervosismo, tontura, palidez, erupção cutânea, dormência e fraqueza muscular.

Em outra investigação, realizada na região central e sul do Rio Grande do Sul, avaliou-se a eficácia de uma vestimenta-padrão com tecido impermeável (camisa de mangas longas, calça comprida e luvas de nitrila) durante a colheita das folhas do tabaco Virgínia. Os resultados apontam que a vestimenta conferiu proteção em torno de 98%⁽²⁵⁾. Já no que se refere ao uso de meia como fator de risco para a DFVT, não há consenso na literatura, sendo fator de risco bem como de proteção⁽¹³⁾; o fator de risco existe pois as altas temperaturas no período da colheita do tabaco, aliadas à lida do tabaco úmido/molhado e ao uso de botas e meias, aumentam a sudorese e a transpiração, favorecendo a absorção de nicotina transdérmica^(6,9), bem como a hipótese de absorção pelos pés⁽⁹⁾. Em contraponto, o efeito protetor seria o uso de meias, associado com

os demais equipamentos de proteção, o que reduziria a exposição à nicotina e, conseqüentemente, as chances de desenvolver a DFVT⁽¹³⁾.

A medição de cotinina, por meio de marcador biológico, permite estimativas mais precisas. Tanto a nicotina quanto a cotinina podem ser pesquisadas na urina, no sangue e na saliva, sendo o material orgânico de mais fácil utilização na rotina⁽¹⁴⁾. A cotinina urinária, além de ser mais fácil para coletar, possui concentrações de quatro a seis vezes maiores do que outras formas⁽²⁶⁾.

Nesta pesquisa, os valores dos exames de cotinina urinária nos casos (mediana 114,9 ng/mL) sugerem a presença da DFVT. Os trabalhadores-controle que apresentaram valores acima da referência indicada pelo laboratório podem estar relacionados, de acordo com evidências divulgadas em estudo⁽²⁴⁾, com a absorção dérmica de nicotina contida nas folhas de tabaco. A mediana de cotinina urinária entre trabalhadores-caso foi maior do que a de trabalhadores-controle (98,5 ng/mL), bem como entre os não fumantes. Os resultados aqui apresentados são similares aos dados da literatura^(10,24).

Em estudo⁽⁵⁾ desenvolvido na Coreia do Sul, com cinco coletas de urina em intervalos diferentes, identificou-se maior concentração de cotinina nas amostras do turno da manhã (média de 500,71 ng/mL) e menor no período de não trabalho, depois do jantar (média de 135,40 ng/mL). Em estudo no qual se descreveu pela primeira vez a DFVT no Brasil, com trabalhadores no cultivo de tabaco do tipo corda, foram encontrados níveis de cotinina na urina de trabalhadores fumantes-caso, mediana de 811 ng/mL e controle 1.293 ng/mL; já entre os não fumantes-caso, 288 ng/mL e controle, 156 ng/mL⁽¹⁰⁾. Em estudo realizado na região do Vale do Rio Pardo, RS, trabalhadores de tabaco do tipo Virgínia apresentaram níveis médios de cotinina na urina de 432 ng/mL nos casos e 353 ng/mL nos controles⁽⁸⁾. Na região norte do Rio Grande do Sul, com trabalhadores não fumantes, os níveis de cotinina variaram de 20,5 a 515,0 ng/mL⁽²⁷⁾.

A diferença nos níveis de cotinina urinária pode estar relacionada às diferenças nas metodologias utilizadas nas pesquisas, bem como, de acordo com estudos^(5,27), ao tempo de exposição ao tabaco, diferenças de raça, tempo de coleta de urina e tabagismo. Ainda, pela ação da enzima CYP 2A6 (citocromo P-450, Família 2, Subfamília A, Polipeptídeo 6), responsável pela degradação da nicotina no fígado⁽²⁷⁾ e distribuída no sangue, saliva e urina⁽²⁶⁾.

A dosagem de cotinina urinária elevada entre os trabalhadores-controle também foi descrita em estudo realizado no Brasil, em que se sugeriu a absorção dérmica de nicotina, contida no tabaco⁽¹⁰⁾. As conseqüências do contato com a nicotina do tabaco em médio e longo prazo ainda não foram exploradas⁽¹⁾.

Diante do contexto, percebe-se que há relação socioambiental entre o processo de trabalho dos trabalhadores no cultivo do tabaco e as condições de trabalho, que influenciam as condições de saúde e doença daqueles, bem como as funções do ecossistema como um todo, produzindo consequências inclusive para o meio ambiente. A planta do tabaco em si é uma fonte de risco, em comparação com outras culturas, associada às várias tarefas que envolvem a produção do tabaco, expondo os trabalhadores ao risco para desenvolver a DFVT⁽²⁸⁾.

Como limitação do estudo, destaca-se a não realização da observação não participante, o que permitiria acompanhar a exposição dos fatores de risco e adoecimento dos trabalhadores do tabaco durante o processo de trabalho. Porém, espera-se que as evidências encontradas possam alavancar o interesse de novos e necessários estudos na área, a fim de que as análises possam categorizar com maior clareza os determinantes relacionados às especificidades do processo de trabalho e ambiente, e sua relação com a doença, incluindo estudos prospectivos para avaliar fatores biológicos e externos que possam influenciar.

Conclusão

Com os resultados desta pesquisa pode-se sugerir presença da DFVT nos trabalhadores na cultura do tabaco Burley, sendo que a utilização da tecnologia de biomarcador foi apropriada e de extrema relevância para a avaliação e elucidação dos casos suspeitos. Assim, cabe destacar aos gestores municipais que disponibilizem e incluam essa tecnologia na Atenção Básica, pois o custo-benefício proporciona aos trabalhadores e profissionais da saúde o exame confirmatório.

Verifica-se a necessidade da atuação de profissionais da saúde e de outras áreas (por exemplo, agrícola), desenvolvendo ações preventivas sobre a doença e sensibilizando os trabalhadores a respeito da importância do uso de luvas e de vestimenta de proteção impermeável, bem como de período e manejo adequado para trabalhar com a planta, a fim de evitar fatores que contribuem para o desenvolvimento da DFVT, por exemplo, trabalhar em condições úmidas (tabaco molhado e roupa molhada).

Referências

1. Riquinho DL, Hennington EA. Tobacco cultivation in the south of Brazil: green tobacco sickness and other health problems. *Cienc Saude Coletiva*. [Internet]. 2014 [cited 2018 Jun 8];19(12):4797-808. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1413-812320141912.19372013>
2. Rodrigues A H, Stadler ST, Xavier CR. Health and its meanings to tobacco grower families of Irati (PR):

contingencies and contradictions. *Saúde Debate*. [Internet]. 2016 [cited 2018 Jun 10];40(111):220-9. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-1104201611117>

3. Reis MM, Oliveira APN, Turci SRB, Dantas RM, Silva VSP, Gross C, et al. Knowledge, attitudes, and practices of women farmers concerning tobacco agriculture in a municipality in Southern Brazil. *Cad Saúde Pública*. [Internet]. 2017 [cited 2018 Jun 8];33 Supl 3:e00080516. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0102-311x00080516>
4. Riquinho DL, Hennington EA. Health, environment and working conditions in tobacco cultivation: a review of the literature. *Cienc Saude Coletiva*. [Internet]. 2012 [cited 2018 Jul 11];17(6):1587-600. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232012000600022>
5. Park S-J, Lim H-S, Lee K, Yoo S-J. Green Tobacco Sickness Among Tobacco Harvesters in a Korean Village. *Saf Health Work*. [Internet]. 2018 [cited 2018 Jun 8];9(1):71-4. doi: 10.1016/j.shaw.2017.06.007
6. Fotedar S, Fotedar V. Green Tobacco Sickness: A Brief Review. *Indian J Occup Environ Med*. [Internet]. 2017 [cited 2018 Jun 8];21(3):101-4. doi: http://doi.org/10.4103/ijoom.IJOEM_160_17
7. Yoo SJ, Park SJ, Kim BS, Lee K, Lim HS, Kim JS, et al. Airborne Nicotine Concentrations in the Workplaces of Tobacco Farmers. *J Prev Med Public Health*. [Internet]. 2014 [cited 2018 Jun 10];47:144-9. doi: <http://dx.doi.org/10.3961/jpmph.2014.47.3.144>
8. Bartholomay P, Iser BP, Oliveira PP, Santos TE, Malta DC, Sobel J, et al. Epidemiologic investigation of an occupational illness of tobacco harvesters in southern Brazil, a worldwide leader in tobacco production. *Occup Environ Med*. [Internet]. 2012 [cited 2018 Jun 8];69(7):514-18. Available from: <http://dx.doi.org/10.1136/oemed-2011-100307>
9. Fassa AG, Faria NM, Meucci RD, Fiori NS, Miranda VI, Facchini LA. Green Tobacco Sickness Among Tobacco Farmers in Southern Brazil. *Am J Ind Med*. [Internet] 2014 [cited 2018 Jun 8];57(6):223-300. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4112803/>
10. Oliveira PPV, Sihler CB, Moura L, Malta DC, Torres MCA, Lima SMCP, et al. First reported outbreak of green tobacco sickness in Brazil. *Cad Saúde Pública*. [Internet]. 2010 [cited 2018 Jun 10];26(12):2263-69. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/csp/v26n12/05.pdf>
11. Saleeon T, Siriwong W, Maldonado-Pérez HL, Robson MG. Salivary cotinine levels as a biomarker for green tobacco sickness in dry tobacco production among thai traditional tobacco farmers. *Rocz Panstw Zakl Hig*. [Internet]. 2016 [cited 2018 Jun 10];67(2):121-30. Available from: http://wydawnictwa.pzh.gov.pl/roczniki_pzh/
12. Rao P, Quandt SA, Arcury TA. Hispanic Farmworker Interpretations of Green Tobacco Sickness. *J Rural Health*. [Internet]. 2002 [cited 2018 Jun 10];18(4):

- 503-11. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1748-0361.2002.tb00917.x>
13. Achalli S, Shetty SR, Babu SG. The Green Hazards: A Meta-Analysis of Green Tobacco Sickness. *Int J Occup Saf Health*. [Internet]. 2012 [cited 2018 Jun 10];2(1):11-14. doi: <http://dx.doi.org/10.3126/ijosh.v2i1.4963>
14. Saleeon T, Siriwong W, Maldonado-Pérez HL, Robson MG. Green tobacco sickness among Thai traditional tobacco farmers, Thailand. *Int J Occup Environ Med*. [Internet]. 2015 [cited 2018 Jun 1];6(3):169-76. doi: [10.15171/ijoem.2015.540](https://doi.org/10.15171/ijoem.2015.540)
15. Cattaneo R, Alegretti AP, Sagebin FR, Abreu CM, Petersen GO, Chatkinc JM, et al. Validation of a high-performance liquid chromatography method for the determination of cotinine in urine. *Rev Bras Toxicol*. [Internet] 2006 [cited 2018 Jun 8];19(1):25-31.
16. Carginin MCS, Teixeira CC, Mantonavi VM, Lucena F, Echer IC. Tobacco growing versus the health of tobacco growers. *Texto Contexto Enferm*. [Internet]. 2016 [cited 2018 Jun 7];25(2):e2940014. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0104-07072016002940014>
17. Cezar-Vaz MR, Soares MCF, Martins SR, Sena J, Santos LR, Rubira LT, et al. Environmental knowledge as interdisciplinary instrument for the production of health. *Texto Contexto Enferm*. [Internet] 2005 [cited 2018 Jun 8];14(3):391-7. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-07072005000300010>
18. Arcury TA, Quandt SA, Garcia DI, Preisser JS Jr, Norton D, Rao P. Clinic-based, case-control comparison of green tobacco sickness among minority farmworkers: clues for prevention. *South Med J*. [Internet]. 2002 [cited 2018 Jun 8];95(9):1008-11. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12356099>
19. Silva RLF, Carmes ER, Schwartz AF, Blaszkowski DS, Cirino RHD, Ducci RDP. The Prevalence and Risk Factors of Smoking among High School Students in a City in Northeastern Brazil. *Port J Public Health*. [Internet]. 2017 [cited 2019 Abr 8];35:44-51. Available from: <http://dx.doi.org/10.1159/000477649>
20. Sinditabaco. Sindicato Interestadual da Indústria do Tabaco. Sobre o Setor - Tipos de Tabaco [Internet]. Santa Cruz do Sul/RS; 2018 [cited 2018 Mai 1]. Available from: <http://www.sinditabaco.com.br/sobre-o-setor/tipos-de-tabaco/>
21. Silveira RLL. Tobacco culture in the South Region of Brazil: production dynamics, spatial organization and socioeconomic characteristics. *Geografia Ens Pesqui*. [Internet]. 2015 [cited 2018 Jun 7];19(2):23-40. doi: <http://dx.doi.org/10.5902/2236499413087>
22. Martins VA, Renner JDP, Corbelini VA, Pappen M, Krug SBF. Green tobacco sickness during the tobacco leaf classification period: sociodemographic and occupational profile of tobacco farmers in a city in the countryside of the state of Rio Grande do Sul. *Rev Epidemiol Controle Infecç*. [Internet]. 2016 [cited 2018 Jun 8];6(4):1-5. doi: <http://dx.doi.org/10.17058/reci.v6i4.8198>
23. Satora L, Goszcz H, Gomółka E, Biedroń W. Green tobacco sickness in Poland. *Pol Arch Med Wewn*. [Internet]. 2009 [cited 2018 Jun 8];119(3):184-6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19514650>.
24. Onuki M, Yokoyama K, Kimura K, Sato H, Nordin RB, Naing L, et al. Assessment of urinary cotinine as a marker of nicotine absorption from tobacco leaves: a study on tobacco farmers in Malaysia. *J Occup Health*. [Internet]. 2003 [cited 2018 Jun 8];45:140-5. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/joh/45/3/45_3_140/_pdf/-char/en
25. Selmi GFR, Correa CL, Zambrone FAD. Evaluation of the standard protection clothing used during tobacco harvest and implications for the Green Tobacco Sickness (GTS) prevention. *Rev Bras Med Trab*. [Internet]. 2016 [cited 2018 Jun 6];14(3):184-91. doi: <http://dx.doi.org/10.5327/Z1679-443520163315>
26. Raja M, Garg A, Yadav P, Jha K, Handa S. Diagnostic methods for detection of cotinine level in tobacco users: a review. *J Clin Diagn Res*. [Internet]. 2016 [cited 2018 Jun 7];10(3):ZE04-ZE06. doi: [10.7860/JCDR/2016/17360.7423](https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/17360.7423)
27. Berté VD, Ehrhardt A. Evaluation of urinary levels of cotinine in tobacco growers workers in the northern area of Rio Grande do Sul State (Brazil). *Rev Mundi*. [Internet] 2016 [cited 2018 Jun 8];1(1):1-5. Available from: periodicos.ifpr.edu.br/index.php?journal=MundiS&page=article&op=view.
28. Mcknight RH, Spiller HA. Green Tobacco Sickness in Children and Adolescents. *Public Health Rep*. [Internet]. 2005 [cited 2017 Jun 10];120(6):602-6. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1497768/pdf/phr00104000602.pdf>

Recebido: 08.12.2018

Aceito: 18.06.2019

Autor correspondente:

Marcia Casaril dos Santos Carginin

E-mail: marciacasaril@hotmail.com

 <https://orcid.org/0000-0003-3759-6939>

Copyright © 2019 Revista Latino-Americana de Enfermagem

Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da Licença Creative Commons CC BY.

Esta licença permite que outros distribuam, remixem, adaptem e criem a partir do seu trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que lhe atribuam o devido crédito pela criação original. É a licença mais flexível de todas as licenças disponíveis. É recomendada para maximizar a disseminação e uso dos materiais licenciados.