

## Uso de biomarcador cotinina en trabajadores para detectar la Enfermedad del Tabaco Verde\*

Marta Regina Cezar-Vaz<sup>1</sup>

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

Marcia Casaril dos Santos Cargnin<sup>2</sup>

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

Objetivo: certificar, por medio de la tecnología de biomarcador de cotinina urinaria, la ocurrencia de la Enfermedad del Tabaco Verde en trabajadores que cultivan tabaco del tipo Burley. Método: estudio caso-control pareado, con base en el *status* tabáquico y en la proporción 1:4, con la participación de 20 trabajadores-caso y 91 controles. Para la recopilación de datos se realizó una encuesta por medio de cuestionario domiciliar y de recolección de orina para análisis de cotinina. Se utilizaron las siguientes pruebas *t* de Student, Mann-Whitney, chi-cuadrado de Pearson o exacta de Fisher. Resultados: de los 23 casos sospechosos, 20 presentaron niveles elevados de cotinina, señales y síntomas de dolor de cabeza, irritación de la piel, náusea, mareo y malestar general, principalmente por la mañana. La mayoría trabajó con tabaco mojado por el sereno y en un clima caluroso. Conclusión: se certifican señales sugestivas de Enfermedad del Tabaco Verde en los trabajadores del tabaco Burley. Se hace necesaria la actuación de profesionales de la salud en el desarrollo de acciones promotoras de salud y preventivas de esta enfermedad relacionado con el trabajo.

Descriptores: Biomarcadores; Cotinina; Enfermedades Ocupacionales; Tabaco; Nicotina; Trabajadores Rurales.

\* Artículo parte de la tesis de doctorado "Doença da Folha Verde do Tabaco: risco para trabalhadores rurais de um município da Região Sul do Brasil", presentada en la Universidade Federal do Rio Grande, Programa de Pós-Graduação em Enfermagem, Rio Grande, RS, Brasil.

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões - Campus Frederico Westphalen, Frederico Westphalen, RS, Brasil.

### Cómo citar este artículo

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>. mes día año URL

## Introducción

En las investigaciones ya realizadas se demostró la estrecha relación entre los modos de producción del tabaco, los problemas de salud y las condiciones que influyen negativamente en el estado de salud de las familias productoras de tabaco<sup>(1-3)</sup>. Las actividades que fueron desarrolladas en la producción del tabaco exponen a los trabajadores a riesgos de enfermedades, como trastornos osteoarticulares, enfermedades que son provocadas por la radiación solar, intoxicaciones agudas y crónicas por agroquímicos, trastornos respiratorios, enfermedades mentales y la Enfermedad del Hoja Verde de Tabaco (EHVT)<sup>(3-4)</sup>.

Los riesgos para la salud relacionados a la producción del tabaco fueron registrados por Bernadino Ramazzini en 1713, con la descripción de señales y síntomas, como dolores de cabeza y trastornos gastrointestinales en italianos productores de tabaco<sup>(5)</sup>. Pero solamente en 1970, en Florida – Estados Unidos de América (EUA) –, que ha descrito la EHVT como enfermedad específica de los trabajadores rurales del tabaco<sup>(6)</sup>.

La EHVT es una intoxicación aguda, desencadenada por la absorción dérmica y la inhalación de nicotina, y que presenta los siguientes señales y síntomas: náusea, vomito, debilidad, vértigo, cefalea, insomnio y pérdida de apetito<sup>(3,7-8)</sup>. Estas señales y síntomas afectan a los trabajadores principalmente durante la plantación, el cultivo, la cosecha, la curación y el empaquetamiento de la hoja del tabaco<sup>(9-10)</sup>, ocurriendo, sobre todo, cuando las ropas de los trabajadores o las hojas de tabaco quedan mojadas por la lluvia, rocío o sudor<sup>(5)</sup>.

La morbilidad de la EHVT afecta cerca de un cuarto de los trabajadores del tabaco<sup>(11)</sup>. Se hace el diagnóstico en trabajadores con base en el histórico de exposición a la cultura del tabaco, en la presencia de las señales y los síntomas de intoxicación aguda y dosificación de cotinina alterada<sup>(8,12-13)</sup>.

La nicotina que es absorbida es biotransformada en cotinina, su principal metabolito y puede ser detectada en varios fluidos biológicos de los individuos que son expuestos al tabaco, como en la orina, en la saliva y en la sangre, cuya media-vida biológica es de cerca de 20 horas<sup>(5,8)</sup>. En este sentido, debe ser usado uno de esos biomarcadores para comprobar la EHVT<sup>(14)</sup>.

En Brasil se confirmó, por primera vez, la presencia de EHVT en la región de Agreste Alagoano, en el año 2007<sup>(10)</sup>, por medio del análisis de cotinina urinaria en trabajadores con el método de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (CLAE, en inglés, *High Performance Liquid Chromatography*, HPLC). Ese método es el que ha sido adoptado por la mayoría de los estudios nacionales e internacionales, teniendo en cuenta que es específico y sus límites de detección son menores<sup>(15)</sup>. De la misma manera, en 2008, se confirmó la EHVT en trabajadores de

un municipio de la región del Valle del Río Pardo, en Rio Grande do Sul (RS), en un estudio del tipo caso-control<sup>(8)</sup>.

Se justifica la necesidad de este trabajo por la evidencia encontrada en un estudio<sup>(16)</sup>, en que se identificó, por medio de autorrelato, la presencia de señales y síntomas durante el proceso de producción del tabaco, principalmente en las etapas de cosecha y de la preparación de las hojas, lo que sería sugestivo de EHVT. Además, está la necesidad de profundizarse los conocimientos sobre esa temática en trabajadores que cultivan el tabaco del tipo Burley, ya que hay pocas investigaciones acerca del tema en Brasil.

También reúne la evidencia que ha sido encontrada en un estudio<sup>(11)</sup> en que se identificó que las hojas maduras del tabaco no Virginia (entre ellos el Burley) contienen cerca de tres a cuatro veces más nicotina en comparación con hojas del tabaco Virginia, con lo cual se desarrolló la mayoría de los estudios existentes. Así, la presente investigación, con trabajadores de tabaco del tipo Burley, deberá proporcionar comparaciones entre los demás tipos de tabaco que son producidos en Brasil, puesto que algunas etapas en el proceso de trabajo también difieren entre sí. En la región Sur de Brasil se cultiva el tabaco de las variedades Burley, Comum y Virginia. Los procesos de cultivo de las variedades son los mismos, sin embargo se diferencian solamente en la etapa de la cosecha de las hojas, de curación y de la preparación final.

En este sentido, son relevantes los estudios acerca de EHVT en trabajadores y familias involucradas en el proceso de producción del tabaco para desarrollar acciones interdisciplinarias e intersectoriales de promoción de la salud de la población rural, en una perspectiva socioambiental. La salud y la enfermedad son fenómenos ambientales en las relaciones con la naturaleza y en la interrelación con todos los seres<sup>(17)</sup>. Esas (inter)relaciones desarrollan relaciones de adecuación o inadecuación con el ambiente, lo que puede resultar en desequilibrio, como en el caso del presente estudio, del ser humano al enfermarse y de la tierra para la plantación de tabaco.

De esa manera, como la salud ambiental es un campo de actuación de la enfermería, se hace necesario que el profesional enfermero adquiera conocimientos suficientes acerca del proceso salud-trabajo-ambiente, para poder desarrollar las acciones que son direccionadas a esos trabajadores de manera individual y colectiva. Además, hay la necesidad cada vez más de inserción de esos profesionales en los distintos espacios que abarcan la salud del trabajador, especialmente del campo, con el objetivo de obtener subvenciones científicas para mejorar las condiciones de trabajo, lo que minimizaría los problemas de salud.

En ese sentido, en este estudio se objetiva certificar, por medio de la tecnología de biomarcador de cotinina urinaria, la ocurrencia de la EHVT en trabajadores que cultivan tabaco del tipo Burley.

## Método

Se trata de estudio del tipo caso-control, representado por la proporción 1:4 durante el período de la cosecha de tabaco del tipo Burley, en los meses de diciembre de 2016 a enero de 2017 (cosecha 2016/2017) y, para complementar la muestra, diciembre de 2017 (cosecha 2017/2018), con trabajadores rurales que cultivaban tabaco del tipo Burley, en un municipio localizado en la región noroeste del estado de Rio Grande do Sul, Brasil. Se realizaron cuatro cosechas en diciembre de 2017, a pesar de las condiciones ambientales. Aunque no fueron iguales a la cosecha anterior, el proceso de trabajo fue el mismo y la variabilidad ambiental, mínima, no influyó, significativamente, en los resultados finales.

Se incluyeron en la investigación a los trabajadores rurales que estaban cultivando tabaco del tipo Burley; en la etapa de la cosecha, en el período de la recopilación de datos; que habían trabajado en la labranza del tabaco en los siete días anteriores a la encuesta; que no habían tenido exposición a otras variedades de tabaco en los siete días anteriores a la encuesta; que no habían tenido exposición a los pesticidas en los siete días anteriores a la encuesta; que tenían edad igual o superior a 18 años y se dispusieron a ceder una muestra de orina. Los criterios de exclusión fueron: las trabajadoras que estaban embarazadas y los que presentaron trastornos mentales/psicológicos, autorreferidos por los responsables, que inviabilizaban la comprensión de las preguntas del instrumento de investigación.

Se identificaron 159 personas involucradas con la cultura del tabaco en las cosechas 2016/2017 y 2017/2018 con el auxilio de los agentes comunitarios de salud, teniendo en cuenta el alcance del 100% de la Estrategia Salud de la Familia y la confirmación por medio de los técnicos de Emater/RS-Ascar –institución pública vinculada a la Secretaría de Estado de Agricultura, Ganadería y Abastecimiento de cada estado que presta asistencia técnica y extensión rural a los trabajadores rurales. El cálculo del tamaño de la muestra fue realizado en el programa WinPEPI (Programs for Epidemiologists for Windows) versión 11.43 y con base en estudios nacionales(8,10) e internacional(14). Para un nivel de significancia del 5%, prevalencia de la EHVT estimada en el 20%, proporción de cuatro controles para cada caso y un Odds Ratio mínimo de 4,5; el número mínimo sería de 19 casos y 76 controles, totalizando 95 trabajadores. De los 159 trabajadores con tabaco, no participaron 37, por no atender los criterios de inclusión.

De acuerdo con los estudios(8,10) realizados en Brasil, se consideró caso sospechoso el del trabajador que relató presentar señales y síntomas de intoxicación aguda (cefalea, náusea, vomito, vértigo o debilidad) en las 48 horas anteriores a la toma de muestra de orina. Se confirmaron los casos sospechosos que presentaron

nivel de cotinina superior a los valores de referencia que son establecidos por el laboratorio: <20 ng/mL (nanogramo por mililitro) para no fumador; de 20 a 50 ng/mL para fumadores pasivos u ocasionales; >50 ng/mL para fumadores, que fueron detectados por el análisis de orina. Los controles fueron trabajadores que no presentaron cualesquier señales y síntomas de intoxicación aguda (cefalea, náusea, vomito, vértigo o debilidad) en los siete días anteriores a la encuesta.

Los casos y controles fueron pareados con base en el *status* tabáquico, pues el consumo del tabaco puede reducir la ocurrencia de EHVT(12), debido a la constricción de los vasos ocasionada por el consumo, por la adaptación metabólica o por la tolerancia adquirida bajo efecto de la nicotina de largo plazo(18). Se consideró fumador el individuo que fuma diariamente cualquier tipo de tabaco por, por lo menos, seis meses(19).

A pesar de que el cuestionario que auxilió en la elaboración del instrumento ya había sido aplicado en otra población de trabajadores, se realizó una prueba piloto del instrumento de recolección con un grupo de diez trabajadores –siendo la selección de los participantes por conveniencia, con el objetivo de asegurar la validez, la precisión y la reproductibilidad del instrumento, además de identificar posibles fallos en su redacción y medir la duración de la su aplicación. La selección por conveniencia y esos instrumentos no hicieron parte de la muestra final. Con la aplicación de la prueba fue posible mejorar la escritura de algunas preguntas, lo que las dejó más comprensibles y objetivas para el trabajador, además de haber excluido una cuestión y de haber incluido tres.

La recolección de datos se realizó por medio de cuestionario domiciliar, con aplicación de encuesta, utilizándose un instrumento adaptado y autorizado del otro estudio(8) que incluye datos de identificación, variables sociodemográficas, EHVT, exposición al tabaco, características individuales, *status* tabáquico, características del consumo de alcohol, exposición la agroquímicos y otras exposiciones contempladas en 75 cuestiones. La recolección de datos y la toma de orina fueron realizadas por los investigadores y siete auxiliares de investigación que, previamente, fueron seleccionados y fueron capacitados, que iban al domicilio del trabajador, de acuerdo con la programación previa realizada por contacto telefónico, en la mayoría de las veces llevaban un *kit* para la toma de orina, conteniendo caja térmica, gelox, guantes desechables, colector de orina, etiquetas de identificación numérica para fijar en los frascos y en las fichas de controles para cada trabajador. Después de realizar la encuesta con los entrevistados, se les daba el frasco de polietileno para la toma de muestra de orina y posterior análisis de cotinina, así como se les daban orientaciones sobre la recogida, el manoseo y el almacenamiento de la muestra en nevera. Se les aclaraba también que al día siguiente que se debería tomar la muestra de orina, siendo la primera orina de la mañana.

Las muestras de orina para determinar los niveles de cotinina de trabajadores-caso y controles fueron mantenidas congeladas en ultrafreezer (-70 °C) y encaminadas al laboratorio de referencia de Toxicología y Farmacología para analizarla. La verificación de la dosificación de cotinina, por medio de una muestra de orina, es uno de los parámetros para comprobar la EHVT, por ello se utilizó el método de CLAE con detector ultravioleta.

Hay estudio<sup>(10)</sup> que describe el método utilizado por el mismo laboratorio de la presente investigación, mientras que la validación del método de cotinina en orina por CLAE también es descrita en otro estudio<sup>(15)</sup> en que la instrumentación y las condiciones cromatográficas de todos los productos químicos fueron de grado CLAE, conteniendo una cromatografía líquida de alta eficiencia, equipada con una bomba isocrática, detector de ultravioleta, desgasificación y sistema de inyección manual. En las separaciones cromatográficas se utilizó una columna de etapa reversa. La columna fue protegida por una columna de guarda y se mantuvo a la temperatura de 22±2°C. La etapa móvil fue una mezcla de agua ultra pura: metanol: acetato de sodio de la molaridad (M) 0,1 M: acetonitrilo, conteniendo 1 mL (mililitro) de ácido cítrico 0,034 M y 5,0 mL de trietilamina, añadida para cada litro de solución. El límite de detección del método fue de 5 ng/mL y el de cuantificación fue de 10 ng/mL. Para la realización de los análisis, la muestra fue preparada con 2,0 mL de orina tratados con 25 µL (microlitros) de hidróxido de sodio 10 M y 100 µL de estándar interno y 4,0 mL de diclorometano. En la etapa orgánica fueron secadas con nitrógeno y temperatura ambiente. Posteriormente, fueron añadidos 100 µL de la etapa móvil y 20 µL fueron inyectados en CLAE<sup>(10,15)</sup>.

Conviene detallar que el uso de biomarcadores es una tendencia cada vez más frecuente para auxiliar la comprobación del diagnóstico y ayudar en el pronóstico de las enfermedades. Así, la combinación de presentación clínica con medición de nivel de cotinina permite hacer estimativas más precisas, excluyendo otras hipótesis clínicas confundidoras, principalmente de intoxicaciones relacionadas al proceso de trabajo.

Los datos del estudio fueron analizados en el programa estadístico *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versión 21.0. Las variables cuantitativas fueron descritas por promedio y desviación estándar o promedio y amplitud intercuartílica. Las variables categóricas fueron descritas por frecuencias absolutas y relativas. Para comparar los promedios, se aplicaba la prueba *t* de Student. En caso de asimetría, se realizaba la prueba de Mann-Whitney. En la comparación de proporciones, se aplicaban la prueba chi-cuadrado de Pearson o la prueba exacta de Fisher. El nivel de significancia fue del 5% ( $p < 0,05$ ). Se analizó la consistencia interna del instrumento con recurso de la prueba Alpha de Cronbach y se obtuvo el valor de 0,723.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad Regional Integrada del Alto Uruguay y de las Misiones (URI), para apreciación y aprobación bajo Dictamen nº 1.791.798. También obtuvo aprobación del Comité de Ética en Investigación en el Área de la Salud (CEPAS) de la Universidad Federal de Rio Grande (FURG), bajo Dictamen nº 1.887.270 en enero de 2017.

## Resultados

Se consideraron como casos sospechosos y participaron del estudio 23 trabajadores de tabaco Burley; de estos, 20 fueron confirmados por el resultado del análisis de cotinina urinaria. De los casos confirmados, 11 eran hombres, con edad promedio de 43,5 años, predominio de color blanco (18; el 90%) y promedio de 7,3 años de estudio. Cuanto a la ingesta de bebidas alcohólicas, 14 (el 70,0%) refirieron consumir, siendo que cinco (el 35,7%) informaron un consumo de una a dos veces en la semana, de acuerdo con lo descrito en la Tabla 1.

Se puede observar, en la Tabla 1, que la enfermedad no estuvo asociada al sexo, edad, color, escolaridad, consumo de bebida alcohólica y frecuencia de consumo.

Tabla 1 - Características de los trabajadores-caso y controles que cultivan tabaco Burley. Taquaruçu do Sul, RS, Brasil, 2016-2017

Variables	Casos (n=20) n (%)	Controles (n=91) n (%)	p*
Sexo			0,337
Masculino	11 (55,0)	63 (69,2)	
Femenino	9 (45,0)	28 (30,8)	
Edad	43,5±12,9	47,3±12,3	0,214
Color			1,000
Branca	18 (90,0)	78 (85,7)	
Parda	2 (10,0)	13 (14,3)	
Escolaridad (años)	7,3±2,7	7,06±3,33	0,713
Consumo de bebida alcohólica	14 (70,0)	72 (79,1)	0,385
Frecuencia de consumo			0,584
Todos los días	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)	

\*Comparación de promedios utilizando la prueba *t* de Student y de proporciones por medio de las pruebas chi-cuadrado o exacta de Fisher

En relación con el vínculo de los trabajadores con la propiedad donde residen, 18 (el 90,0%) refirieron ser propietarios, y dos (el 10,0%), arrendatarios. Siete desarrollan, como actividades principales, la producción de leche y de tabaco (el 35,0%), respectivamente; tres (el 15,0%), actividades del hogar (mujeres); dos (el 10,0%), la cría de cerdos; uno (el 5%) refirió cultivar maíz.

Los trabajadores empezaron a presentar señales y síntomas de intoxicación mayoritariamente en el período de la mañana (11; el 55,0%); seis (el 30,0%), en el período de la noche; tres (el 15,0%), en el período de

la tarde. De estos, solamente uno (el 5,0%) buscó la atención hospitalaria y lo pusieron en observación por aproximadamente 50 minutos para medicación endovenosa.

Las señales y síntomas referidos fueron: dolor de cabeza en diez ocurrencias (el 50,0%); irritación de la piel en ocho (el 40,0%); náusea y mareo en siete (el 35,0%); malestar general en seis (el 30,0%); sudor excesivo en cuatro (el 20,0%); debilidad en cuatro (el 20,0%); vértigo en tres (el 15,0%); dolor abdominal en tres (el 15,0%); irritación en los ojos en tres (el 15,0%); vomito en dos (el 10,0%); incremento de la salivación en una (el 5,0%); boca muy seca en una (el 5,0%); visión borrosa en una (el 5,0%); amargo en la boca/quemazón en la garganta en una (el 5,0%) y diarrea en una ocurrencia (el 5,0%). Dichas señales y síntomas duraron en promedio 300 (135-2520) minutos – mínimo 15 minutos y máximo siete días (ese último se trata de irritación en la piel)–. Siete participantes (el 35,0%), en el día de la encuesta, todavía sentían las señales y los síntomas.

El día en que sintieron las señales y los síntomas, 14 (el 70,0%) refirieron que el clima estaba caluroso y habían trabajado con tabaco mojado; nueve (el 64,3%), del sereno; siete (el 50,0%), de la lluvia, según consta en la Tabla 2.

Durante el trabajo con el tabaco, 17 (el 85,0%) trabajadores reportaron tener la ropa húmeda, de estos solamente ocho (el 47,1%) la cambiaron. Estos y los demás datos están descritos en la Tabla 2. El período de la recolección de datos comprendido del 7 de diciembre de 2016 al 19 de enero de 2017, período de frecuentes precipitaciones, totalizando aproximadamente 261 mm (milímetros) de lluvia; ya en la cosecha de diciembre de 2017 no hubo precipitaciones de lluvia, sin embargo, las temperaturas permanecieron elevadas.

Tabla 2 – Condiciones socioambientales de individuos (casos y controles) que cultivan el tabaco Burley. Taquaruçu do Sul, RS, Brasil, 2016-2017

Variables	Casos (n=20) n (%)	Controles (n=91) n (%)	p*
Presencia de herida/corte en las manos	1 (5,0)	†	
Tiempo estaba <sup>‡</sup>			
Caluroso	14 (70,0)	†	
Soleado	13 (65,0)	†	
Húmedo	6 (30,0)	†	
Lluvioso	5 (25,0)	†	
Nublado	2 (10,0)	†	
Trabajó con tabaco mojado <sup>‡</sup>	14 (70,0)	63 (69,2)	1,000
Sereno	9 (64,3)	45 (71,4)	0,748
Lluvia	7 (50,0)	30 (47,6)	1,000
Ropa quedó húmeda <sup>‡</sup>	17 (85,0)	74 (81,3)	1,000
Sudor	13 (76,5)	52 (70,3)	0,769
Sereno	10 (58,8)	30 (40,5)	0,272
Lluvia	2 (11,8)	15 (20,3)	0,513
Cambió de ropa	8 (47,1)	42 (56,8)	0,650

\*Prueba chi-cuadrado o exacta de Fisher; †No se preguntó a trabajadores que no presentaban señales y síntomas de la enfermedad; ‡Múltiple respuesta

Los trabajadores del tabaco dijeron que utilizaban con más frecuencia en el trabajo pantalón, 17 (85,0%); sombrero, 16 (el 80,0%); camisa larga, 14 (el 70,0%); botas, 12 (el 60,0%), y calcetines, nueve (el 45,0%), entre otros, según se presenta en la Tabla 3. Conviene subrayar que uno de los pocos Equipos de Protección Individual (EPI) que fueron utilizados, además de la bota, fue el guante, siendo el del tipo poliuretano, siete (el 35,0%) disponibles/distribuidos por la empresa tabaquera. Hubo una asociación significativa entre la enfermedad y el uso de calcetines.

Tabla 3 – Ropa/vestimenta y/o equipo de protección individual que fueron utilizados por los trabajadores (casos y controles) que cultivan tabaco Burley. Taquaruçu do Sul, RS, Brasil, 2016-2017

Variables	Casos (n=20)	Controles (n=91)	p*
	n (%)	n (%)	
Ropas/EPI <sup>‡</sup>			
Pantalón	17 (85,0)	67 (73,6)	0,392
Sombrero	16 (80,0)	75 (82,4)	0,756
Camisa larga	14 (70,0)	47 (51,6)	0,213
Botas	12 (60,0)	55 (60,4)	1,000
Calcetines	9 (45,0)	14 (15,4)	0,006
Gorra	7 (35,0)	22 (24,2)	0,474
Zapato/Deportivos/botina	7 (35,0)	23 (25,3)	0,543
Camisa corta	6 (30,0)	44 (48,4)	0,213
Chinela	4 (20,0)	28 (30,8)	0,490
Bermuda	3 (15,0)	25 (27,5)	0,380
Protector solar	2 (10,0)	7 (7,7)	0,664
Tipos de guantes			
Poliuretano	7 (35,0)	25 (27,5)	0,689
Algodón	1 (5,0)	1 (1,1)	0,329
Látex	1 (5,0)	3 (3,3)	0,554
Látex con algodón	2 (10,0)	5 (5,5)	0,607

\*Prueba chi-cuadrado o exacta de Fisher; †Múltiple respuesta

Uno de los criterios de inclusión en esta investigación fue no haber tenido contacto con agroquímicos en los últimos siete días. Cuando cuestionados sobre la última vez que tuvieron contacto con agroquímicos, se obtuvo promedio de 30 (9-40) días.

Los trabajadores relataron el tiempo del último contacto que tuvieron con tabaco hasta la hora de la toma de la primera orina de la mañana. Así, se obtuvo promedio de 11,5 (10-15) horas para los trabajadores-caso y 12 (10-15) horas para los trabajadores-control.

En el período de la cosecha del tabaco Burley, fueron identificados 23 trabajadores-caso sospechosos. De estos, tres presentaron valores indetectables de cotinina, mientras que 20 presentaron alteración en los valores de cotinina. En la Tabla 4 se presenta la dosificación de cotinina urinaria de los trabajadores-control, con promedio de 98,5 (30-206,7) ng/mL. Conviene subrayar que 61 trabajadores-control no fumadores y dos trabajadores fumadores pasivos no

presentaron las señales y síntomas de la EHVT, sin embargo, presentaron dosificación de cotinina superior a los valores de referencia.

En los análisis de cotinina urinaria el *status* tabáquico fue estratificado (fumador *versus* no fumador). No hubo diferencia estadísticamente significativa entre los niveles medianos de cotinina en los trabajadores-caso y control, de fumadores ( $p=0,222$ ) y de no fumadores ( $p=0,088$ ), de acuerdo con lo que muestra la Tabla 4.

Tabla 4 – Niveles medianos de cotinina urinaria en trabajadores (casos y controles) que cultivan tabaco Burley. Taquaruçu do Sul, RS, Brasil, 2016-2017

Variables	n	Promedio	P25-P75*	p†
Casos	20	114,9	(84,3-272,2)	0,092
Control	91	98,5	(30-206,7)	
Fumador				0,222
Casos	1	1484	-	
Control	8	184,9	(97,6-407)	
No fumador/exfumador				0,088
Casos	19	111,7	(83,5-248,9)	
Control	83	89,2	(24-191)	

\*P25-P75 = percentiles 25-75; †Prueba de Mann-Whitney

## Discusión

En este artículo se objetivó comprobar la ocurrencia de EHVT en trabajadores que cultivan tabaco tipo Burley, el que contribuye aproximadamente con el 14% del total que ha producido en la región Sur de Brasil<sup>(20)</sup>. El tabaco Burley posee tonalidad oscura y contiene, en promedio, tres a cuatro veces más nicotina que el tabaco del tipo Virginia<sup>(11)</sup>.

La producción de tabaco desarrollada en las pequeñas propiedades cuenta con el empleo intensivo de la fuerza de trabajo de las familias productoras, en todas las etapas de producción, siendo que algunas, como la siembra de los brotos y la cosecha de las hojas de tabaco, requieren el involucramiento de prácticamente toda la familia<sup>(21)</sup>. Así se evidencia la participación de hombres y mujeres en la presente investigación, siendo la mayoría hombres, tanto en el grupo de casos como en el grupo control. Esos hallazgos son similares a los de otros estudios que fueron desarrollados en Brasil con la misma metodología<sup>(8,10)</sup>. Es importante atender para la sobrecarga de trabajo de las mujeres, pues, además de participar en el proceso de producción del tabaco, tienen los quehaceres del hogar y auxilian sus compañeros en otras actividades de la propiedad, como el ordeño de vacas lecheras.

En un estudio<sup>(9)</sup> transversal, que fue realizado con trabajadores en el cultivo del tabaco, se encontró una mayor prevalencia de EHVT en mujeres (el 11,9%) que en hombres (el 6,6%), lo que estuvo relacionado a las diferencias biológicas, pues las mujeres poseen mayor área dérmica (volumen corporal) para la absorción de nicotina.

Cuanto a la edad de los trabajadores, tanto de casos como controles son adultos considerados “maduros”, al contrario de las investigaciones nacionales publicadas, en que, para los casos, el promedio fue de 21 años<sup>(10)</sup> y promedio de 33 años<sup>(8)</sup>. En un estudio transversal, la edad se mantuvo asociada a la EHVT entre los hombres, siendo que aquellos que tenían entre 30 y 39 años presentaron mayor riesgo<sup>(9)</sup> y se relacionó a la mayor intensidad de trabajo de los trabajadores jóvenes.

Las señales y los síntomas que fueron referidos por los trabajadores en esta investigación (dolor de cabeza, irritación en la piel, náusea y mareo, entre otros) también fueron descritos en otras investigaciones<sup>(1,8,10,14)</sup>. Síntomas similares a los que fueron descritos en un estudio realizado en la región del Valle del Río Pardo, RS, en el período de clasificación del tabaco, en que se manifestó como principales síntomas náusea, cefalea, vértigo, malestar abdominal y debilidad<sup>(22)</sup>. Vomito, náusea, vértigo y dolor de cabeza son causados por la estimulación o inhibición de los receptores colinérgicos en el sistema nervoso central, llevando a la presentación clínica<sup>(4)</sup> referida por los trabajadores.

En el presente estudio, las manifestaciones clínicas duraron un promedio cinco horas (de 15 minutos a siete días), sin embargo, la duración promedio descrita en los estudios fue de uno a tres días<sup>(12,14)</sup>, con variación de 21 horas<sup>(8)</sup> a 23 días<sup>(23)</sup>. Los síntomas pueden variar a partir del contacto con la piel desde minutos hasta horas (intervalo de 3 a 17 horas después del trabajo)<sup>(5)</sup>.

Las señales y los síntomas de EHVT son frecuentemente confundidos con intoxicación por agroquímicos y agotamiento por el calor<sup>(6,8)</sup>. En este trabajo, se puede afirmar que la intoxicación aguda no está relacionada a la exposición al agroquímico, pues la etapa de cosecha implica la menor aplicación de agroquímico<sup>(8)</sup>, además de que los trabajadores están más de siete días sin tener contacto con la planta en la ocasión de la recolección de la muestra.

El día en que los trabajadores de esta investigación presentaron las señales y los síntomas de la intoxicación, habían trabajado con tabaco mojado por el sereno y la lluvia, además de tener en la región un clima caluroso. Ya que es soluble en agua, la nicotina presente en las hojas de tabaco puede ser absorbida en la piel (manos, antebrazos, muslos, espalda y pies), y el agua presente en la planta, proveniente de la lluvia, del rocío o de la transpiración del trabajador, incrementa la absorción transdérmica de dicha sustancia<sup>(6,9-10)</sup>. Esa evidencia fue confirmada en una investigación<sup>(10)</sup> en que se identificó un incremento en el número de personas con señales y síntomas de la EHVT durante los días lluviosos.

Ya otro estudio<sup>(24)</sup> realizado en Malasia, se constató que los trabajadores en el cultivo del tabaco que trabajaban en condiciones de humedad presentaban, con más frecuencia, palidez, erupción cutánea y debilidad muscular. El clima es un factor importante para el desarrollo de EHVT, pues

días lluviosos y húmedos incrementan, especialmente, la absorción dérmica de nicotina, resultando en el incremento de las tasas de morbilidad<sup>(23)</sup>.

El rocío presente en las hojas de tabaco generalmente dejan húmedas las ropas de los trabajadores después que inician su trabajo en la labranza<sup>(6)</sup>. Además del rocío, los trabajadores en esta investigación dijeron que la lluvia y el sudor también dejan húmedas sus vestimentas, sin embargo, la mayoría no cambian la ropa húmeda, siendo esa una condición asociada a la EHVT, ya que ropas húmedas pueden incrementar la exposición a la nicotina por medio de la absorción dérmica<sup>(14)</sup>. Por lo tanto, para reducir la EHVT se recomienda utilizar EPI<sup>(24)</sup>. En el estudio caso-control realizado en el este de Carolina del Norte, Estados Unidos, se demostró que el uso de ropa de lluvia, mientras se trabaja con tabaco húmedo, puede reducir significativamente el riesgo de la EHVT entre los trabajadores<sup>(18)</sup>; sin embargo generalmente no se utilizan esos equipos de protección, debido a que dificultan el trabajo en la cosecha<sup>(4)</sup>.

En esta investigación fue posible evidenciar que los trabajadores hacen el uso de sombrero, pantalón y camisa de mangas largas para trabajar con el tabaco. Estos les confieren protección solar, pero no son impermeables. Los guantes de poliuretano usados por algunos trabajadores les protegen de la humedad solamente en las palmas de las manos (faz palmar y punta de los dedos) y en el dorso, con hilos de *nylon* (poliamida), favoreciendo la ventilación para un mayor confort térmico, sin embargo, no son impermeables. Los guantes de algodón son los que menos ofrecen protección (el 78,5%), mientras tanto son más cómodos y de baja durabilidad, ya las de goma ofrecen el 93% de protección<sup>(25)</sup>.

El uso de guantes puede reducir significativamente la absorción de la nicotina, comprobado por las bajas tasas de excreción de nicotina y cotinina<sup>(25)</sup> y en la consecuente reducción de los síntomas de la enfermedad. Ya en el estudio<sup>(24)</sup> en que los agricultores no usaron botas o guantes de goma durante el trabajo y realizaron su trabajo en condiciones húmedas, hubo una manifestación de síntomas subjetivos como nervosismo, vértigo, palidez, erupción cutánea, adormecimiento y debilidad muscular.

En una investigación realizada en la región central y sur de Rio Grande do Sul, se evaluó la eficacia de una vestimenta estándar con tejido impermeable (camisa de mangas largas, pantalón y guantes de nitrilo) durante la cosecha de las hojas del tabaco Virginia. Los resultados indican que la vestimenta les ofreció protección en torno al 98%<sup>(25)</sup>. Ya en lo que se refiere al uso de calcetines como factor de riesgo para la EHVT no hay consenso en la literatura, siendo un factor de riesgo así como de protección<sup>(13)</sup> al factor de riesgo existe, pues las altas temperaturas en el período de la cosecha del tabaco, asociadas al manejo con el tabaco húmedo/mojado y al uso de botas y calcetines, incrementan la sudoración y la transpiración, favoreciendo la absorción de nicotina

transdérmica<sup>(6,9)</sup>, así como la hipótesis de absorción por los pies<sup>(9)</sup>. En contraste, el efecto protector sería el uso de calcetines, asociado con los demás equipos de protección, que reduciría la exposición a la nicotina y, consecuentemente, a las chances de desarrollar la EHVT<sup>(13)</sup>.

La medición de cotinina, por medio de marcador biológico, permite estimativas más precisas. Tanto la nicotina cuanto la cotinina pueden ser investigadas en la orina, en la sangre y en la saliva, siendo el material orgánico de más fácil utilización en la rutina<sup>(14)</sup>. La cotinina urinaria, además de ser más fácil para la toma de una muestra, posee concentraciones de cuatro a seis veces mayores que otras formas<sup>(26)</sup>.

En esta investigación, los valores de los análisis de cotinina urinaria en los casos (promedio 114,9 ng/mL) indican la presencia de EHVT. Los resultados de los trabajadores-control que fueron superiores a los de referencia indicada por el laboratorio pueden estar relacionados, de acuerdo con evidencias divulgadas en el estudio<sup>(24)</sup>, con la absorción dérmica de nicotina contenida en las hojas de tabaco. El promedio de cotinina urinaria entre trabajadores-caso fue mayor que la de trabajadores-control (98,5 ng/mL), así como entre los no fumadores. Los resultados que aquí fueron presentados son similares a los datos de la literatura<sup>(10,24)</sup>.

En un estudio<sup>(5)</sup> desarrollado en Corea del Sur con cinco muestras de orina tomadas en intervalos distintos, se identificó una mayor concentración de cotinina en las muestras del turno de la mañana (promedio de 500,71 ng/mL) y menor en el período de no trabajo, después de la cena (promedio de 135,40 ng/mL). En un estudio que describió por primera vez la EHVT en Brasil, con trabajadores en el cultivo de tabaco del tipo cuerda, fueron encontrados niveles de cotinina en la orina de trabajadores fumadores-caso, promedio de 811 ng/mL, y control 1.293 ng/mL; ya entre los no fumadores-caso, 288 ng/mL, y el control, 156 ng/mL<sup>(10)</sup>. En una investigación realizada en la región del Valle del Río Pardo, RS, los trabajadores con el tabaco del tipo Virginia presentaron niveles promedios de cotinina en la orina de 432 ng/mL en los trabajadores-casos y 353 ng/mL en los trabajadores-controles<sup>(8)</sup>. En la región norte de Rio Grande do Sul, con trabajadores no fumadores, los niveles de cotinina variaron de entre 20,5 a 515,0 ng/mL<sup>(27)</sup>.

La diferencia en los niveles de cotinina urinaria puede apuntar a las diferencias en las metodologías empleadas entre las investigaciones, así como, según los estudios<sup>(5,27)</sup>, al tiempo de exposición al tabaco, a las diferencias de raza, al tiempo de la toma de orina y al tabaquismo. Todavía, por la acción de la enzima CYP 2A6 (citocromo P450, Familia 2, Subfamilia A, Polipéptido 6) responsable de la degradación de la nicotina en el hígado<sup>(27)</sup> y distribuida en la sangre, saliva y orina<sup>(26)</sup>.

La dosificación de cotinina urinaria elevada entre los trabajadores-control también fue descrita en un estudio realizado en Brasil, en que apuntó a la absorción

dérmica de nicotina, contenida en el tabaco<sup>(10)</sup>. Las consecuencias del contacto con la nicotina del tabaco en promedio y largo plazo todavía no fueron estudiadas<sup>(1)</sup>.

En este contexto, se percibe que hay relación socioambiental entre el proceso laboral de los trabajadores en el cultivo del tabaco y las condiciones de trabajo, que influyen en las condiciones de salud y enfermedad de los trabajadores, así como en las funciones del ecosistema como un todo, teniendo consecuencias incluso para el medioambiente. La planta del tabaco en sí es una fuente de riesgo en comparación con otras culturas, por estar asociada a varias tareas de producción del tabaco, exponiendo a los trabajadores al riesgo de desarrollar EHVT<sup>(28)</sup>.

Como limitación del estudio, se subraya la no realización de la observación no participante, lo que permitiría acompañar la exposición a los factores de riesgo y la posibilidad de los trabajadores del tabaco en enfermarse durante el proceso de trabajo. No obstante, se espera que las evidencias que fueron encontradas puedan impulsar nuevos y necesarios estudios en el área, con el objetivo de que los análisis puedan categorizar con mayor claridad los determinantes relacionados a las especificidades del proceso de trabajo y del ambiente y la relación con la enfermedad, incluyendo estudios prospectivos para evaluar los factores biológicos y externos que puedan influenciar.

## Conclusión

A partir de los resultados de esta investigación se indica la presencia de la EHVT en los trabajadores en la cultura del tabaco Burley, siendo que la utilización de la tecnología de biomarcador fue apropiada y de extrema relevancia para la evaluación y elucidación de los casos sospechosos. Así conviene subrayar a los gestores municipales que disponen e incluyan esta tecnología en la Atención Básica, pues el coste-beneficio les proporciona a los trabajadores y profesionales de la salud un examen confirmatorio.

Se comprueba la necesidad de actuación de profesionales de la salud y de otras áreas –agrícola por ejemplo–, para desarrollar acciones preventivas de la enfermedad y sensibilizar a los trabajadores a lo que se refiere a la importancia del uso de guantes y de vestimenta de protección impermeable, así como del período y manejo adecuado para trabajar con la planta, con el objetivo de evitar los factores que contribuyen al desarrollo de EHVT, como trabajar en condiciones húmedas (tabaco mojado y ropa húmeda).

## Referencias

- 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>
- 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>
- 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 Saude Pública*. [Internet]. 2017 [cited 2018 Jun 8];33 Supl 3:e00080516. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/0102-311x00080516>
- 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>
- 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
- 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/ijocem.IJOEM\\_160\\_17](http://doi.org/10.4103/ijocem.IJOEM_160_17)
- 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/jpmp.2014.47.3.144>
- 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>
- 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/>
- Oliveira PPV, Sihler CB, Moura L, Malta DC, Torres MCA, Lima SMCP, et al. First reported outbreak of green tobacco sickness in Brazil. *Cad Saude Pública*. [Internet]. 2010 [cited 2018 Jun 10];26(12):2263-69. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/csp/v26n12/05.pdf>
- 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/](http://wydawnictwa.pzh.gov.pl/roczniki_pzh/)
- 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](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=MundiSB&page=article&op=view](http://periodicos.ifpr.edu.br/index.php?journal=MundiSB&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>

Recibido: 08.12.2018

Aceptado: 18.06.2019

Autor correspondiente:

Marcia Casaril dos Santos Carginin

E-mail: [marciacasaril@hotmail.com](mailto:marciacasaril@hotmail.com) <https://orcid.org/0000-0003-3759-6939>