



Revista de Toxicología

ISSN: 0212-7113

revista@aetox.es

Asociación Española de Toxicología
España

Luzardo, OP; Henríquez Hernández, LA; Zumbado, M; Boada, LD
Impacto de las instalaciones ganaderas sobre la calidad y seguridad del agua subterránea
Revista de Toxicología, vol. 31, núm. 1, enero-junio, 2014, pp. 39-46
Asociación Española de Toxicología
Pamplona, España

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=91932798005>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica
Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Impacto de las instalaciones ganaderas sobre la calidad y seguridad del agua subterránea

Luzardo OP*, Henríquez Hernández LA, Zumbado M, Boada LD

Unidad de Toxicología. Departamento de Ciencias Clínicas. Facultad de Veterinaria/Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Apartado de correos 550, 35080 Las Palmas de Gran Canaria

Recibido 23 de febrero de 2014 / Aceptado 20 de julio de 2014

Resumen: La posibilidad de que las actividades ganaderas supongan una fuente de contaminación para los recursos hídricos ha sido una preocupación desde hace ya mucho tiempo, en particular en términos de contaminación por nutrientes (carga nitrogenada, fosfatos, salinidad, etc...). Pero desde hace varias décadas el incremento exponencial de la ganadería intensiva ha magnificado este problema, ya que ha aumentado el número de animales en reducido espacio y ha diversificado la cantidad de contaminantes potenciales (por ejemplo, antibióticos y otros medicamentos veterinarios). Según los datos disponibles, las prácticas generalmente aceptadas de gestión de residuos ganaderos, aún en las mejores condiciones, no garantizan una protección efectiva de los recursos hídricos. De esta manera se ha demostrado que las fuentes de agua cercanas a las actividades ganaderas resultan frecuentemente contaminadas con nutrientes excesivos (N, P, Cl⁻), patógenos microbianos, productos farmacéuticos, hormonas, metales pesados, desinfectantes, y otros contaminantes de los clasificados como emergentes. La exposición inadvertida a estos residuos procedentes de las instalaciones ganaderas a través de las aguas de consumo puede tener un impacto real sobre la salud humana y del medio ambiente. Por este motivo este tema constituye un problema de preocupación para las autoridades con responsabilidades en materia de Salud Pública. En esta revisión se identifican los principales riesgos de las operaciones de alimentación de animales confinados (CAFO) sobre la salubridad y calidad de las aguas subterráneas y se detallan cuáles son los efectos documentados sobre la salud humana y medioambiental que dichos residuos tienen.

Palabras clave: Agua subterránea, operaciones de alimentación de animales confinados, ganadería intensiva, contaminantes emergentes, disrupción endocrina.

Abstract: Impact of the livestock facilities on the quality and safety of ground water. The possibility that livestock activities represent a source of contamination for water resources has been a concern, particularly in terms of nutrient pollution (nitrogen load, phosphates, salinity, etc...). But for decades, the exponential increase in intensive farming has magnified this problem as increased the number of animals in confined space and has diversified the number of potential contaminants (eg. antibiotics and other veterinary drugs). According to available data, generally accepted practices of livestock waste management, even in the best conditions, do not guarantee effective protection of water resources. Thus it has been proved that the sources of water near the concentrated animal feeding operations (CAFO) are frequently contaminated with excessive nutrients (N, P, Cl⁻), microbial pathogens, pharmaceuticals, hormones, heavy metals, disinfectant by-products, and other pollutants that are classified as

emerging contaminants. Inadvertent exposure to these residues from livestock facilities through drinking water can have a real impact on human health and the environment. Therefore this issue is a matter of concern for the authorities with responsibility for Public Health. In this review the principal risks of CAFO activities on the safety and quality of groundwater are identified and listed what are the documented effects on human and environmental health of such pollutants.

Key words: Groundwater, confined animal feeding operations, intensive farming, emerging contaminants, endocrine disruption.

Introducción

Desde los años 1950 (aves) y los 1970s-1980s (bovinos y porcino), la mayor parte de la cría de animales para consumo humano se hace bajo sistemas de producción intensiva, en lo que se conoce técnicamente como "operaciones de alimentación de animales confinados" (abreviado como CAFO, que es el acrónimo de la denominación anglosajona Concentrated Animal Feeding Operations). En este tipo de producción los animales se crían en altas densidades en el interior de naves de estilo industrial, en las que permanecen durante toda su vida productiva, hasta que son transportados a las plantas de procesamiento para su sacrificio. La producción de residuos orgánicos es inherente a la actividad ganadera, siendo la producción de estiércol un tema muy preocupante. Así, se estima que la actividad ganadera genera anualmente en España una cantidad de deposiciones que es unas 13 veces superior a la generada en la totalidad de los hogares del país. Las cifras estimadas para dos de las especies más contaminantes son abrumadoras: el porcino genera anualmente en España alrededor de 64 millones de toneladas de estiércol al año (2,37 toneladas/animal/año), y el vacuno lechero sumaría otros 16 millones de toneladas anuales (16,4 toneladas/animal/año) [1] (<http://www.agroenergien.de/summary/summary.htm>). Esto quiere decir que una explotación de tamaño medio de cualquiera de estas dos especies (con un promedio de 90 animales) estaría generando unas 213 toneladas anuales en el caso del porcino, o alrededor de 1500 toneladas si se trata de ganado vacuno.

Una de las formas tradicionales de deshacerse de este tipo de residuos es su utilización como fertilizantes agrícolas. Según la disposición adicional 5ª del artículo 13 de la Ley 10/98, de Residuos [2], la eliminación de estiércol se enmarcaría dentro de aquellas excepciones en las que no se requiere de autorización previa, salvo que la actividad se encuentre ubicada en una zona declarada como vulnerable. No obstante, en el posterior RD 324/2000 que desarrolla parcialmente la mencionada Ley de Residuos [3] se establece varios aspectos que pretenden garantizar la adecuada gestión ambiental de

* e-mail: octavio.perez@ulpgc.es

este tipo de residuos, tales como: a) que han de aplicarse las medidas necesarias para evitar el riesgo de filtración y la contaminación de las aguas superficiales y subterráneas; b) se exige a los titulares de las explotaciones acreditar que disponen de superficie suficiente para la aplicación del estiércol; y c) se establecen limitaciones a las cantidades máximas de estiércol a aplicar en el terreno (en kg/Ha) de manera que se cumpla la normativa de protección de las aguas frente a la contaminación por nitratos procedentes de fuentes agrarias que se establecen en el RD 261/96 [4]. Sin embargo, como vemos un factor limitante es la disponibilidad de suficiente suelo agrícola para la aplicación de tan elevada cantidad de estiércol, lo que obliga en muchas ocasiones a su almacenamiento para la posterior retirada por gestores autorizados, o bien a la adopción de otro tipo de tratamientos de gestión, como son los tratamientos tecnológicos basados en procesos biológicos y físicos, con el posible uso de aditivos químicos (separación, compostaje, digestión anaeróbica y aireación) [1] que se podrían realizar en la propia explotación. El problema es que este tipo de tecnología es cara y generalmente únicamente es empleada por las grandes explotaciones de nuestro país. Por tanto, aún constituye un gran desafío el encontrar la forma de aplicar estas tecnologías a una escala más amplia y económicamente viable. Mientras tanto la realidad de una gran mayoría de las explotaciones ganaderas españolas es que el alto costo de estas tecnologías, unido a la presión de los mercados para mantener los precios bajos, les impide acceder a la tecnología de procesado del estiércol.

De todo lo anterior se puede afirmar que, a pesar de la existencia de un amplio cuerpo normativo de gestión ambiental y de la existencia de alternativas tecnológicas para el tratamiento de estos residuos, gran parte de las granjas tienen una mala gestión de las deyecciones animales, de manera que estas tienen un impacto directo sobre la cantidad de nitrógeno y contaminantes en el suelo y en su posterior transferencia a los recursos hídricos, tanto superficiales como subterráneos [5].

Por otro lado, se estima que los acuíferos subterráneos proporcionan alrededor del 25% del agua potable mundial [6], si bien en algunos territorios de la UE, como es el caso de las Islas Canarias, puede llegar a suponer hasta un 67% del total de los recursos hídricos disponibles [7]. Estos acuíferos se nutren del agua de lluvia, que llega fácilmente a ellos ya sea por percolación a través del suelo, o bien a partir de las escorrentías superficiales a través de los pozos absorbentes. En general la recarga de estos acuíferos es muy rápida. Evidentemente, el hecho de que la recarga de los acuíferos sea rápida, no quiere decir necesariamente que en todas las circunstancias la accesibilidad de los residuos de sustancias químicas a los acuíferos sea igual, ya que las cuestiones geoclimáticas (tipos de suelo, clima, profundidad de la capa freática, etc...) pueden variar considerablemente de unas regiones a otras y de esta manera establecerse "barreras naturales" que impidan o dificulten extraordinariamente esta contaminación. No obstante, lo contrario también es cierto, en particular en territorios de origen volcánico como las Islas Canarias, donde las barreras geológicas son prácticamente inexistentes, por lo que los acuíferos son altamente vulnerables a contaminaciones químicas y biológicas.

La movilidad y la atenuación de los virus, bacterias y protozoarios en el agua subterránea ha sido investigada desde hace décadas [8], y actualmente se emplean modelos numéricos para evaluar la vulnerabilidad de los acuíferos subterráneos a la contaminación microbiana en condiciones variables de recarga [6,9]. La dinámica de contaminación química de los acuíferos subterráneos también ha sido ampliamente estudiada, y los primeros informes sobre la presencia de pesticidas y fertilizantes (principalmente después de fenómenos

meteorológicos adversos) datan de la década de los 1980s [10]. Desde entonces son también numerosos los trabajos que proponen modelos predictivos para todo tipo de contaminantes químicos [11,12], incluyendo los denominados como contaminantes emergentes (antibióticos, medicamentos veterinarios, desinfectantes y hormonas, entre otros), término que cubriría, no solamente los compuestos recientemente desarrollados, sino también los compuestos recientemente descubiertos en el medio ambiente debido a la evolución de las técnicas analíticas [13]. Si bien es cierto que se ha establecido que muchos de estos contaminantes sufren degradación, bien durante su paso a través del suelo, o bien una vez que alcanzan el propio acuífero [14,15], para otros muchos se ha demostrado que la tasa de degradación es nula o muy baja, y que algunos de ellos pueden llegar a alcanzar concentraciones relevantes en los acuíferos [16-18]. De esta manera diversos estudios han puesto de manifiesto un deterioro de las masas de agua supuestamente vírgenes, y se ha llegado a la conclusión de que, en términos generales, los procesos de biodegradación de contaminantes en el suelo tienen una relevancia menor en términos de contaminación de los acuíferos subterráneos [19]. Por todo ello en Europa, tanto la Directiva Marco del Agua [20], como la Directiva de Aguas Subterráneas [21], establecen objetivos medioambientales para la protección de las aguas subterráneas y las masas de agua y de los ecosistemas dependientes de las mismas. En el marco de la consecución de estos objetivos se indica que las masas de aguas subterráneas tienen que estar en "buen estado". Según estas directivas tienen que definirse tanto los contaminantes potenciales y sus valores umbral, como las actividades generadoras de los mismos que ponen a las masas de agua subterránea en riesgo de no alcanzar los objetivos medioambientales trazados. En las citadas directivas, así como en la práctica totalidad de los estudios científicos acerca de la contaminación de aguas subterráneas, se señala a las actividades ganaderas intensivas como fuentes muy relevantes de contaminación potencial para estos acuíferos [13].

Como hemos visto, existe una cantidad de documentación científica sobre cuáles son los principales impactos de los recursos CAFO sobre los cursos de agua, tanto superficial como subterránea. En esta revisión destacamos los datos científicos más relevantes hasta el momento actual, centrándonos principalmente en los acuíferos subterráneos, dado que estos suponen una fuente muy importante de agua de consumo en España.

Tipos de contaminantes tóxicos generados en la ganadería intensiva

En los residuos generados en las instalaciones ganaderas, principalmente en el estiércol, se pueden encontrar numerosos contaminantes tóxicos de diversa naturaleza. Así es muy relevante la presencia en el estiércol de nutrientes eutrofizantes como los nitratos, fosfatos y diversas sales [22], de microorganismos patógenos [23,24], de productos farmacéuticos veterinarios [25,26], de metales pesados, ya que son añadidos a los piensos como micronutrientes (principalmente zinc y cobre), pero también están presentes en los productos zoonos [27,28], y de las hormonas excretadas por los animales [29,30]. Especialmente preocupante es el grupo de los antibióticos que aparecen en concentraciones relevantes en la orina de los animales ya que son ampliamente utilizados en la ganadería, no sólo para tratar o prevenir las infecciones microbianas de los animales, sino que también se usan comúnmente para promover un crecimiento más rápido en el ganado [28,31]. Pero además este tipo de industria genera otros muchos residuos de sustancias químicas, como es el caso de los productos plaguicidas y desinfectantes, que se usan tanto directamente sobre los animales (para el control de ecto-

endoparásitos) [27,32,33], como en las instalaciones para su desinfección y el control de plagas. Igualmente, otros productos usados en las propias instalaciones, como los hidrocarburos, necesarios para las instalaciones de refrigeración y calefacción, también pueden generar residuos.

En la Tabla 1 se resumen los principales contaminantes derivados de las actividades de ganadería intensiva. Aunque los efectos tóxicos conocidos de la exposición a estos compuestos (a concentraciones ambientales) se detallan más adelante en esta revisión presentamos también en la Tabla 1 sus principales efectos adversos a modo de resumen.

Presencia de contaminantes tóxicos procedentes de la ganadería en las fuentes de agua subterránea

Aunque se ha establecido que la digestión anaeróbica de los desechos en lagunas de almacenamiento superficial puede reducir o destruir efectivamente muchos patógenos y reducir la carga de algunos contaminantes debido a que sufren procesos de degradación, otros muchos pueden estar presentes en el estiércol y los lixiviados, bien en su forma original o bien como metabolitos activos, incluso tras periodos de almacenamiento prolongado. Todos estos contaminantes pueden alcanzar los cursos de agua subterráneos a través de las filtraciones desde los depósitos de estiércol mal impermeabilizados o deteriorados por el paso del tiempo, o durante eventos importantes de precipitación que pueden ocasionar el desbordamiento y escorrentía sobre el terreno desde estos depósitos [34,35]. La magnitud y la dirección del transporte dependen en última instancia de factores tales como las propiedades del suelo, las propiedades físico-químicas de los contaminantes, y de las características de carga hidráulica del acuífero [36]. Por otro lado también hay que tener en cuenta que las instalaciones de ganadería intensiva producen una relevante contaminación del aire. Uno de los principales objetivos del almacenamiento del estiércol es reducir su elevado contenido en N por medio de su volatilización en forma de amoníaco y otras formas volátiles. Se ha demostrado que en los sistemas CAFO hay una transferencia de nutrientes (NH_4 , NO_3 , fósforo,...) al aire adyacente a las instalaciones y una posterior deposición a la superficie del terreno. De esta manera también esta fracción de contaminantes puede entrar a los acuíferos subterráneos vehiculados por el agua tras periodos de precipitaciones [37].

La mayoría de los contaminantes mencionados en el apartado anterior son detectados frecuentemente en las aguas de consumo, en ocasiones en concentraciones muy relevantes, y aunque no siempre es fácil establecer el origen de la contaminación, numerosos trabajos han podido establecer una relación directa con las actividades CAFO como el origen primario de esta contaminación [38-40]. En otros trabajos tal relación ha sido demostrada experimentalmente, bien mediante estimación directa [16,35,41-43], o bien a través de modelos matemáticos [6,22,34]. En cualquier caso, la mayoría de estos trabajos concluyen que el emplazamiento de las operaciones ganaderas en las zonas propensas a inundaciones, en las zonas de recarga de los acuíferos, en cotas elevadas, o donde hay una mesa de agua poco profunda aumenta el potencial de contaminación de las fuentes de agua subterránea.

Impacto de los contaminantes tóxicos en aguas sobre la salud humana

La presencia de contaminantes tóxicos provenientes de actividades CAFO en las aguas subterráneas puede tener numerosos efectos adversos sobre la salud de los consumidores. Hay que tener en cuenta, además, que una buena parte de este agua es consumida directamente,

es decir sin la adición de desinfectantes u otros tratamientos de potabilización (pozos privados, agua de manantial embotellada) [44]. Así, como hemos visto anteriormente, el agua subterránea puede vehicular numerosos microorganismos patógenos que pueden ser causantes directos de enfermedad aguda. Además, la presencia de materia orgánica e inorgánica, así como de algunos contaminantes químicos puede contribuir a la selección y proliferación de cepas de microorganismos especialmente virulentos en el agua. Tal es el caso de las cianobacterias generadoras de microcistinas, que son potentes hepatotoxinas y neurotoxinas, activas a dosis muy bajas (la OMS ha establecido un límite provisional de $1 \mu\text{g/L}$) [38].

Pero por otro lado el suministro de agua subterránea a menudo incluye mezclas de contaminantes químicos a pequeñas concentraciones, cuya composición va variando a lo largo del tiempo y del espacio, y cuyas consecuencias adversas para la salud pueden ser muy relevantes. A fecha de hoy existen numerosos estudios epidemiológicos que arrojan datos concretos sobre la elevada toxicidad que tiene la exposición a dosis bajas de estos contaminantes, bien solos o en mezclas que pueden actuar de forma sinérgica. No obstante hay que destacar que los efectos de esta exposición pueden ser mucho más importantes de lo que actualmente se conoce, ya que la adecuada evaluación epidemiológica y toxicológica de estos contaminantes, y en particular de sus mezclas, está en muchos casos más allá de los límites de los métodos de investigación disponibles actualmente. No obstante, el gran desarrollo de métodos *in vitro* existente a fecha de hoy en los laboratorios de toxicología permite medir la toxicidad global de la mezclas químicas en muestras de agua, que se pueden acoplar a posteriori con un análisis en profundidad de los contaminantes específicos cuando se detecta una mezcla que provoca una respuesta positiva. Así, actualmente es posible determinar a través de ensayos biológicos *in vitro* la mutagenicidad (prueba de Ames), la genotoxicidad (micronúcleos, ensayo cometa), la disrupción endocrina (bioensayo DR-CALUX), o la citotoxicidad de los contaminantes químicos, aislados o en mezclas [45].

En las siguientes líneas destacamos los efectos tóxicos mejor conocidos de los principales grupos de contaminantes asociados con las actividades CAFO. Nos limitamos en esta revisión a aquellos efectos que pudieran ocurrir tras la exposición (aguda o crónica) a las concentraciones de estos contaminantes que se alcanzan en las aguas subterráneas contaminadas por las actividades de ganadería intensiva.

1. Nitratos

Según la OMS los niveles de nitratos en agua superiores a 10 mg/L se asocian con metahemoglobinemia, especialmente en niños (síndrome del niño azul) [38], además de otros efectos adversos de tipo agudo, tales como diarrea o enfermedad respiratoria [46]. La exposición crónica a niveles altos de nitratos en agua de bebida ($>12 \text{ mg/L}$) se ha asociado también al desarrollo de varias condiciones patológicas no cancerosas, tales como hipertiroidismo por interferencia con la absorción de yodo [47], y la diabetes insulino-dependiente [38], y a niveles más bajos ($<10 \text{ mg/L}$), con anomalías reproductivas y malformaciones en la descendencia e incluso aborto espontáneo [46].

De especial preocupación son los estudios que relacionan la exposición crónica a nitratos a través del agua de bebida con el desarrollo de diversos tipos de cáncer. Al tratarse de una enfermedad a largo plazo, algunos estudios de este tipo aún presentan cierto grado de incertidumbre [47]. No obstante, es un hecho demostrado que los nitratos inorgánicos en presencia de materia orgánica forman con

Tabla 1. Principales contaminantes derivados de las actividades de ganadería intensiva y sus efectos adversos sobre la salud humana y de los ecosistemas

Contaminante	Características	Impactos
Nitrógeno	Formas orgánicas (urea) e inorgánicas (amoníaco y nitratos)	<ul style="list-style-type: none"> Eutrofización y toxicidad derivadas de sobre poblaciones algales. Toxicidad sobre formas de vida acuáticas. Metahemoglobinemia. Incrementa el riesgo de hipertiroidismo y diabetes insulino-dependiente. Incrementa el riesgo de alteraciones reproductivas, incluyendo malformaciones. Evidencias epidemiológicas de carcinogénesis a través de la formación de grupos N-nitroso.
Fósforo	Durante el almacenamiento del estiércol se generan fosfatos inorgánicos	<ul style="list-style-type: none"> Eutrofización y toxicidad derivadas de sobre poblaciones algales. Desórdenes metabólicos, calcificación vascular, alteración de la función renal y osteoporosis por disrupción de la regulación hormonal del fosfato endógeno, el calcio y la vitamina D. Aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular.
Salcs	Cationes y aniones inorgánicos (Na, K, Cl, Mg) y sus sales, provenientes de aditivos usados en la alimentación de los animales (p.e. halita), o de su metabolismo	<ul style="list-style-type: none"> Incremento de la salinidad del suelo y de las aguas. Disminución de la capacidad metabolizadora de los microorganismos del suelo. Aumento de los costes de potabilización
Materia orgánica	Gran concentración de materiales bioquímicos consumidores de oxígeno	<ul style="list-style-type: none"> Eutrofización y toxicidad derivadas de sobre poblaciones algales. Anoxia Selección de bacterias patógenas en el agua
Microorganismos patógenos	Helminths, protozoos, hongos, bacterias, virus y priones patógenos. La presencia de otros contaminantes contribuye fuertemente a la selección de cepas patógenas	<ul style="list-style-type: none"> Principalmente diarrea Dependiendo del organismo/-s patógeno/-s presente/-s: infecciones del tracto urinario, meningitis, neumonía, abscesos hepáticos, botulismo, salmonelosis, brucelosis, listeriosis, leptospirosis, úlceras gástricas y duodenales, peritonitis, bacteriemia, septicemia, etc.
Metales pesados y otros elementos inorgánicos	Algunos de ellos como aditivos alimentarios (Cu, Se, Zn, Ca, F), tratamientos veterinarios (As, I, Br), o contaminantes de los alimentos para animales (Mo, Ni, Pb, Mn, Al, Cd)	<ul style="list-style-type: none"> Contribuyen a la selección de cepas microorganismos patógenos Efectos directos de algunos de ellos: trastornos del desarrollo intelectual (Mn); disrupción endocrina (Cd, Pb); carcinogénesis (As, F). Desconocido el efecto de las mezclas ^a
Antibióticos ^a	Se usan en grandes cantidades, tanto para el tratamiento de infecciones de los animales como, sobre todo, como promotores de crecimiento formulados en la alimentación. Una tercera parte de los antibióticos disponibles en el mercado se usan en ganadería.	<ul style="list-style-type: none"> Selección de cepas patógenas de bacterias en el agua Generación de resistencias Disbiosis bacteriana en la flora gastrointestinal Diarrea
Otros medicamentos veterinarios ^a	Fármacos empleados en el tratamiento médico o profiláctico de las enfermedades de los animales. Multitud de grupos químicos (tranquilizantes, antivirales, glucocorticoides, antimicóticos, beta bloqueantes, ionóforos, etc.). Los productos de degradación pueden ser más tóxicos que los compuestos parentales. <i>Contaminantes emergentes</i>	<ul style="list-style-type: none"> El efecto de las mezclas de estos residuos sobre la salud humana y de los ecosistemas es desconocido, pero los estudios epidemiológicos y de toxicidad in vitro sobre células de mamíferos los vinculan con: <ul style="list-style-type: none"> Mutagenicidad Genotoxicidad Disrupción endocrina Citotoxicidad.
Hormonas ^a	De origen endógeno, eliminadas en grandes cantidades de forma natural por los mamíferos, pero también empleadas en ganadería para sincronización de celos y otras técnicas reproductivas. <i>Contaminantes emergentes</i>	<ul style="list-style-type: none"> Disrupción endocrina y metabólica (de acuerdo con evidencias en animales de experimentación) Se desconocen muchos de los efectos de la exposición a largo plazo
Subproductos de plaguicidas ^a	Resultado de la hidrólisis, oxidación, biodegradación y fotólisis de plaguicidas Usados para el control de plagas en las instalaciones y para el control de parásitos en el ganado. Presentes en concentraciones incluso superiores al compuesto original y dotados en muchas ocasiones de toxicidad	<ul style="list-style-type: none"> El efecto de las mezclas de estos residuos sobre la salud humana y de los ecosistemas es desconocido, pero los estudios epidemiológicos y de toxicidad in vitro sobre células de mamíferos los vinculan con: <ul style="list-style-type: none"> Mutagenicidad Genotoxicidad Disrupción endocrina Citotoxicidad.
Subproductos de desinfectantes ^a	Generados por la reacción de los desinfectantes con la materia orgánica (más de 700 productos identificados)	<ul style="list-style-type: none"> Genotoxicidad Carcinogenicidad Toxicidad reproductiva Disrupción endocrina

^a Bajo la denominación de *contaminantes emergentes* se engloba una miscelánea de productos químicos que, no estando regulada su presencia en agua de consumo, son altamente preocupantes para la comunidad científica internacional debido a que son frecuentemente detectados en el agua y los estudios de evaluación del riesgo no los han valorado adecuadamente [30].

facilidad compuestos N-nitroso, que son carcinógenos. Existen en la literatura científica numerosos estudios epidemiológicos que encuentran una asociación positiva entre los niveles de nitratos en agua de bebida y diversos tipos de cáncer: linfoma no-Hodking, y cánceres de estómago, vejiga, esófago, nasofaringe, útero y cerebro. Sin embargo otros estudios se han asociado negativamente con cánceres de ovario, útero, recto y cerebro [38], evidenciando que se necesitan más estudios epidemiológicos para conocer con detalle cual es la implicación de la exposición a nitratos en el desarrollo de cáncer. En cualquier caso, la ingestión de nitratos bajo condiciones que puedan resultar en nitrosación endógena ha sido clasificada en el grupo 2 (probables carcinógenos humanos) por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer [48].

2. Fósforo

A pesar de que el fósforo inorgánico se fija fuertemente al suelo, la elevada concentración de este elemento que se produce en los residuos de las actividades CAFO puede ocasionar que concentraciones significativas de este elemento o sus sales pasen al agua subterránea [49]. Diversos estudios han relacionado una ingesta excesiva de fósforo con diversas patologías renales, óseas y cardiovasculares. Una ingesta dietética excesiva de fósforo puede alterar significativamente la regulación hormonal de los fosfatos, el calcio y la vitamina D, lo que contribuye a desórdenes del metabolismo mineral y a la pérdida de masa ósea [50].

Por otra parte, distintos estudios epidemiológicos sugieren que pequeñas elevaciones del fosfato sérico se relacionan con enfermedad cardiovascular, si bien no está del todo establecido que la ingesta de niveles altos de fósforo tengan una influencia directa en la variación del fósforo sérico. En cualquier caso, diversos estudios sugieren que el exceso de fósforo en la dieta podría estar relacionado con daño tisular, específicamente por la modificación en la secreción y efecto del factor de crecimiento de fibroblastos y de la hormona paratiroidea. De esta manera, niveles altos de fósforo en la dieta podrían ser factores clave el desarrollo de insuficiencia renal, enfermedades cardiovascular y osteoporosis [50].

3. Microorganismos patógenos

Los estudios disponibles indican que las aguas subterráneas próximas a instalaciones ganaderas pueden contener una enorme diversidad de microorganismos [24,51,52]. Si bien es cierto que muchas de las bacterias presentes en el estiércol realizan una serie de transformaciones bioquímicas y metabólicas que son fundamentales en los procesos de biotransformación y detoxificación de este material, hay que tener en cuenta que una pequeña pero nada despreciable fracción de estos microorganismos puede pasar a contaminar las fuentes de agua superficial y profunda, y como consecuencia tener efectos muy nocivos para la salud del medio ambiente, los animales y los seres humanos. Además, la abundancia de contaminantes químicos que pueden coexistir simultáneamente en los lixiviados del estiércol (metales pesados, desinfectantes, productos farmacéuticos y, en particular, los antibióticos), pueden ejercer un potente efecto selectivo sobre las comunidades microbianas, la conformación de su estructura y composición, y la modulación de sus genomas, de manera que se seleccionan aquellas cepas más virulentas y con resistencia a los antibióticos [53]. De hecho se han identificado centenares de genes codificadores de resistencia a antibióticos en las aguas residuales de las instalaciones ganaderas [54].

Si bien la mayoría de los gérmenes patógenos que se detectan en el agua subterránea se clasifican dentro del grupo 2 de riesgo

(microorganismos con un riesgo moderado para el individuo y un riesgo bajo de la comunidad), también hay que destacar que existen estudios en los que se detectan en el agua gérmenes del grupo 3 de riesgo (microorganismos con altos riesgos individuales), tales como *Mycobacterium* (*M. africanum*, *M. bovis*, *M. leprae*, *M. microti* y *M. tuberculosis*), *Bacillus* (*B. anthracis*), *Salmonella* (*S. paratyphi* y *S. typhi*) y *Yersinia* (*Y. pestis*) [9,23,24,51,53]. Por consiguiente no se puede excluir la posibilidad de que estas bacterias presentes en el agua puedan transmitirse a los seres humanos provocando diversas patologías. De hecho es bien conocida la existencia de una serie de enfermedades bacterianas que son habitualmente transmitidas por los alimentos y/o el agua, tales como la campilobacteriosis, la salmonelosis, la shigelosis, la legionelosis o las infecciones por *E. coli* [51]. Además de ello, y en virtud de la batería de gérmenes patógenos que han sido detectados en el agua, existe el riesgo de infecciones del tracto urinario, meningitis, neumonía, abscesos hepáticos, botulismo, brucelosis, listeriosis, leptospirosis, úlceras gástricas y duodenales, peritonitis, bacteriemia, septicemia, etc. [53]. Por todo ello debe aplicarse el principio de precaución y aplicarse todas aquellas medidas que eviten la contaminación de los acuíferos con gérmenes patógenos.

4. Antibióticos

Algunos autores han postulado que la presencia de residuos de antibióticos procedentes de la ganadería en el agua no representa un riesgo real para la salud de los consumidores, dado que los antimicrobianos administrados a seres humanos generalmente no son los mismos que se utilizan en veterinaria. Sin embargo se ha demostrado que esto no es así, ya que por ejemplo estreptococos y los estafilococos que han desarrollado resistencia a tilosina (comúnmente utilizado en actividades CAFO), también presentaban resistencia a la eritromicina (de uso en medicina humana). Es decir, que las estructuras químicas de los antimicrobianos veterinarios y los de uso humano pueden ser lo suficientemente similares como para generar resistencias cruzadas [41].

A pesar de la existencia de legislación específica destinada a minimizar el impacto ambiental de los medicamentos veterinarios, como hemos visto diferentes estudios de monitorización demuestran que frecuentemente se detectan pequeñas concentraciones de algunos de ellos en las aguas, tanto superficiales como subterráneas. Así pues la exposición a antibióticos a través del agua potable, aunque sea a concentraciones bajas ($\mu\text{g/L}$ o ng/L), representa la ingestión inadvertida de pequeñas dosis de sustancias de uso terapéutico indispensables para el tratamiento y/o profilaxis de numerosas enfermedades. Tal y como vimos en el apartado anterior, la presencia de antibióticos en los líquidos de desecho de las actividades CAFO se relaciona con la expresión de múltiples genes de resistencia [54], por lo que es lógico pensar que si la exposición del consumidor es continuada (como puede producirse a través del consumo de alimentos y/o agua), se podría producir también en él la selección de cepas resistentes. Lo que resulta más grave aún es que estas resistencias se mantendrían aunque desaparezca la presión selectiva (exposición al antibiótico) [55]. Por último, con respecto a este grupo también habría que destacar que además de la resistencia a patógenos, también preocupa el que puedan ser responsables de genotoxicidad directa y así comportarse como otros contaminantes emergentes (apartado 4.5.). Así por ejemplo, en un estudio realizado en efluentes hospitalarios el grupo de las fluoroquinolonas fue la clase química que más contribuyó a la toxicidad global de ADN en ensayos *in vitro* de genotoxicidad [55].

5. Miscelánea de otros contaminantes emergentes

En relación con las actividades CAFO en este apartado se incluye una multitud de sustancias químicas que pueden aparecer como microcontaminantes en las aguas subterráneas. Este grupo incluye una gran variedad de medicamentos veterinarios y sus metabolitos (tranquilizantes, antivirales, glucocorticoides, antimicóticos, β -bloqueantes, ionóforos, etc...), así como hormonas naturales o sintéticas, o los subproductos de desinfectantes, entre otros. La mayoría de estas sustancias aún quedan fuera de las regulaciones sobre la presencia de contaminantes en agua potable, pero sin embargo cada vez preocupan más a la comunidad científica internacional. Si bien la mayoría de estas sustancias están presentes en el agua a concentraciones tan bajas que únicamente son detectables gracias al gran desarrollo actual del instrumental analítico (rango de ng/L), el motivo principal de preocupación radica en el hecho de que están habitualmente presentes en forma de mezclas complejas, de manera que podrían actuar de forma sinérgica. Este hecho fue demostrado por primera vez por Arnold y cols. para mezclas de compuestos con capacidad estrogénica a concentraciones muy bajas [56]. Estas mezclas demostraron poseer una capacidad estrogénica varios órdenes de magnitud superior al esperable por la suma de los efectos individuales de los compuestos. A partir de entonces otros muchos trabajos han demostrado este efecto para diferentes grupos de contaminantes, entre ellos algunos de nuestro grupo de investigación [57].

Muchos de los contaminantes emergentes han demostrado capacidad genotóxica, mutagénica y citotóxica [45]. No obstante, la mayoría de los efectos adversos atribuidos a este tipo de contaminantes generados en las actividades CAFO (ya sea individualmente o en forma de mezclas) se relacionan con el fenómeno conocido como disrupción endocrina. Según la definición de la Agencia para la Protección del Medioambiente un disruptor endocrino es una sustancia exógena que causa efectos adversos sobre la salud de un organismo intacto o su progenie como consecuencia de cambios en la función endocrina mediante interferencia con la síntesis, secreción, transporte, unión o eliminación de hormonas naturales en el cuerpo responsables del mantenimiento de la homeostasis, reproducción, desarrollo y/o comportamiento [58]. Existe un enorme cuerpo de literatura científica y excelentes revisiones que recogen los efectos adversos para la salud humana y del medioambiente de los disruptores endocrinos [58-62]. A modo de resumen de los efectos conocidos más relevantes destacamos los recogidos en la primera declaración científica de la Endocrine Society: efectos sobre la reproducción masculina y femenina; desarrollo de cáncer de mama y de próstata; efectos neuroendocrinológicos; efectos sobre el tiroides; efectos sobre el metabolismo; capacidad obesogénica y alteraciones cardiovasculares [59]. Todos estos efectos adversos responden a mecanismos de acción que implican vías divergentes incluyendo la mediación de receptores nucleares (con efectos estrogénicos, antiandrogénicos, tiroideos, mediados por la activación de receptor de retinoides o del activador de peroxisomas); enzimas esteroideogénicas; receptores y sistemas de neurotransmisores, y muchas otras vías que son altamente coincidentes tanto en la fauna silvestre como en los seres humanos, y que pueden ser estudiadas en modelos *in vitro* e *in vivo* [59]. Todos estos estudios coinciden en que la exposición a pequeñas dosis de estas sustancias durante periodos de tiempo prolongados pueden tener efectos adversos de una enorme trascendencia sobre la salud de los seres humanos y otras especies.

Conclusiones

Las operaciones de alimentación de animales confinados representan una fuente muy relevante de contaminación de los acuíferos subterráneos. La elevada concentración de animales en espacios reducidos no solo incrementa el volumen de residuos, sino que las prácticas ganaderas empleadas implican la aparición de una mayor variedad de contaminantes, entre ellos los denominados contaminantes emergentes. Numerosos estudios científicos han demostrado que en las fuentes de agua próximas a este tipo de actividades ganaderas pueden detectarse concentraciones muy importantes de la mayoría de los contaminantes generados en el estiércol y sus lixiviados, bien en su forma nativa o bien en forma de metabolitos dotados de actividad biológica. En la medida que la exposición a estos compuestos, aún a dosis muy bajas, ha demostrado poseer efectos adversos sobre la salud humana y de los ecosistemas (genotoxicidad, mutagenicidad, citotoxicidad, disrupción endocrina, generación de resistencias a antibióticos, y diversas patologías agudas), este hecho constituye una importante preocupación en materia de salud pública. La mayoría de los trabajos que han estudiado este tema concluyen que debe evitarse el emplazamiento de las instalaciones ganaderas, en particular de las intensivas, en las proximidad de zonas propensas a inundaciones, en las zonas de recarga de los acuíferos o donde hay una mesa de agua poco profunda, y en el caso de los acuíferos subterráneos en cotas de altitud elevada.

Bibliografía

1. Calderón del Cid, NF Technical and Financial Feasibility Study of Anaerobic Digestion Plants in Spain and Italy, from Dairy Cattle and Swine Manure. 2010.
2. BOE (1998) Ley 10/98 de Residuos. 1998: BOE nº 96 de 22 de abril. p. 13372-13384.
3. BOE (2000) Real Decreto 324/2000, de 3 de marzo, por el que se establecen normas básicas de ordenación de las explotaciones porcinas. 2000, BOE nº 58, de 8 de marzo. p. 9505-9512.
4. BOE (1996) Real Decreto 261/1996, de 16 de febrero sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos procedente de fuentes agrarias. 1996, BOE, 11 de marzo. p. 9734-9737.
5. Martínez J, Dabert P, Barrington S, Burton C (2009) Livestock waste treatment systems for environmental quality, food safety, and sustainability. *Bioresour Technol* 100: 5527-5536.
6. Morasch B (2013) Occurrence and dynamics of micropollutants in a karst aquifer. *Environ Pollut* 173: 133-137.
7. Delgado-Díaz S, González-Cabrera E, Martiín Calero A Evaluación de tecnologías potenciales de reducción de la contaminación de las aguas de Canarias. Proyecto TECNOAGUA. Informe final. 2011.
8. Mahler BJ, Personné JC, Lods GF, Drogue C (2000) Transport of free and particulate-associated bacteria in karst. *Journal of Hydrology* 238: 179-193.
9. Butscher C, Auckenthaler A, Scheidler S, Huggenberger P (2011) Validation of a numerical indicator of microbial contamination for karst springs. *Ground Water* 49: 66-76.
10. Hallberg GR (1989) Pesticides pollution of groundwater in the humid United States. *Agriculture, Ecosystems & Environment*

- 26: 299-367.
11. Rodríguez-Galiano V, Mendes MP, García-Soldado MJ, Chica-Olmo M, Ribeiro L (2014) Predictive modeling of groundwater nitrate pollution using Random Forest and multisource variables related to intrinsic and specific vulnerability: A case study in an agricultural setting (Southern Spain). *Sci Total Environ* 476-477C: 189-206.
 12. Paradelo M, Soto-Gomez D, Perez-Rodriguez P, Pose-Juan E, Lopez-Periago JE (2013) Predicting release and transport of pesticides from a granular formulation during unsaturated diffusion in porous media. *J Contam Hydrol* 158C: 14-22.
 13. Lapworth DJ, Baran N, Stuart ME, Ward RS (2012) Emerging organic contaminants in groundwater: A review of sources, fate and occurrence. *Environ Pollut* 163: 287-303.
 14. Heinz B, Birk S, Liedl R, Geyer S, Straub K, Andresen J, Bester K, Kappler A (2009) Water quality deterioration at a karst spring (Gallusquelle, Germany) due to combined sewer overflow: evidence of bacterial and micro-pollutant contamination. *Environ Geol* 57: 797-808.
 15. Kolpin DW, Thurman EM, Linhart SM (2000) Finding minimal herbicide concentrations in ground water? Try looking for their degradates. *Sci Total Environ* 248: 115-22.
 16. Bartelt-Hunt S, Snow DD, Damon-Powell T, Miesbach D (2011) Occurrence of steroid hormones and antibiotics in shallow groundwater impacted by livestock waste control facilities. *J Contam Hydrol* 123: 94-103.
 17. Fatta-Kassinos D, Meric S, Nikolaou A (2011) Pharmaceutical residues in environmental waters and wastewater: current state of knowledge and future research. *Anal Bioanal Chem* 399: 251-275.
 18. Fatta-Kassinos D, Kalavrouziotis IK, Koukoulakis PH, Vasquez MI (2011) The risks associated with wastewater reuse and xenobiotics in the agroecological environment. *Sci Total Environ* 409: 3555-3563.
 19. Einsiedl F, Radke M, Maloszewski P (2010) Occurrence and transport of pharmaceuticals in a karst groundwater system affected by domestic wastewater treatment plants. *J Contam Hydrol* 117: 26-36.
 20. EC (2008) Directive 2008/56/EC of the European Parliament and of the Council of 17 June 2008 establishing a framework for community action in the field of marine environmental policy (Marine Strategy Framework Directive), Official Journal of the European Union. 2008.
 21. EC (2006) Directiva 2006/118/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 12 de diciembre de 2006 relativa a la protección de las aguas subterráneas contra la contaminación y el deterioro, Diario Oficial de la Unión Europea. 2006.
 22. Infascelli R, Pelorosso R, Boccia L (2009) Spatial assessment of animal manure spreading and groundwater nitrate pollution. *Geospat Health* 4: 27-38.
 23. Ziemer CJ, Bonner JM, Cole D, Vinje J, Constantini V, Goyal S, Gramer M, Mackie R, Meng XJ, et al. (2010) Fate and transport of zoonotic, bacterial, viral, and parasitic pathogens during swine manure treatment, storage, and land application. *J Anim Sci* 88: E84-94.
 24. Venglovsky J, Sasakova N, Placha I (2009) Pathogens and antibiotic residues in animal manures and hygienic and ecological risks related to subsequent and application. *Bioresour Technol* 100: 5386-5391.
 25. Slana M, Dolenc MS (2013) Environmental Risk Assessment of antimicrobials applied in veterinary medicine-A field study and laboratory approach. *Environ Toxicol Pharmacol* 35: 131-141.
 26. Boxall AB (2010) Veterinary medicines and the environment. *Handb Exp Pharmacol*: 291-314.
 27. Khan SJ, Roser DJ, Davies CM, Peters GM, Stuetz RM, Tucker R, Ashbolt NJ (2008) Chemical contaminants in feedlot wastes: concentrations, effects and attenuation. *Environ Int* 34: 839-859.
 28. Bradford SA, Segal E, Zheng W, Wang Q, Hutchins SR (2008) Reuse of concentrated animal feeding operation wastewater on agricultural lands. *J Environ Qual* 37: S97-S115.
 29. Combalbert S, Hernandez-Raquet G (2010) Occurrence, fate, and biodegradation of estrogens in sewage and manure. *Appl Microbiol Biotechnol* 86: 1671-1692.
 30. Hanselman TA, Graetz DA, Wilkie AC (2003) Manure-borne estrogens as potential environmental contaminants: a review. *Environ Sci Technol* 37: 5471-5478.
 31. Cromwell GL (2002) Why and how antibiotics are used in swine production. *Anim Biotechnol* 13: 7-27.
 32. Litskas VD, Karamanlis XN, Batzias GC, Tsiouris SE (2013) Are the parasiticidal avermectins resistant to dissipation in the environment? The case of eprinomectin. *Environ Int* 60: 48-55.
 33. Hernández Sánchez C, Luis González G, Rubio Armendáriz C, Caballero Mesa JM, Ben-Charki El-Mousati N, Hardisson de la Torre A (2011) Trihalometanos en aguas de consumo humano. *Rev Toxicol* 28: 109-114.
 34. Baram S, Kurtzman D, Ronen Z, Peeters A, Dahan O (2014) Assessing the impact of dairy waste lagoons on groundwater quality using a spatial analysis of vadose zone and groundwater information in a coastal phreatic aquifer. *J Environ Manage* 132: 135-144.
 35. Dolliver HA, Gupta SC (2008) Antibiotic losses from unprotected manure stockpiles. *J Environ Qual* 37: 1238-1244.
 36. Brown CD, van Beinum W (2009) Pesticide transport via subsurface drains in Europe. *Environ Pollut* 157: 3314-3324.
 37. Aneja VP, Nelson DR, Roelle PA, Walker JT (2003) Agricultural ammonia emissions and ammonium concentrations associated with aerosols and precipitation in the southeast United States. *J Geophys Res* 108: 1-11.
 38. Burkholder J, Libra B, Weyer P, Heathcote S, Kolpin D, Thorne PS, Wichman M (2007) Impacts of waste from concentrated animal feeding operations on water quality. *Environ Health Persp* 115: 308-312.
 39. Campagnolo ER, Johnson KR, Karpati A, Rubin CS, Kolpin DW, Meyer MT, Esteban JE, Currier RW, Smith K, et al. (2002) Antimicrobial residues in animal waste and water resources proximal to large-scale swine and poultry feeding operations. *Sci Total Environ* 299: 89-95.
 40. Kolpin DW, Furlong ET, Meyer MT, Thurman EM, Zaugg SD, Barber LB, Buxton HT (2002) Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: a national reconnaissance. *Environ Sci Technol* 36: 1202-

- 1211.
41. Kuchta SL, Cessna AJ (2009) Lincomycin and spectinomycin concentrations in liquid swine manure and their persistence during simulated manure storage. *Arch Environ Contam Toxicol* 57: 1-10.
 42. Johnson AC, Williams RJ, Matthiessen P (2006) The potential steroid hormone contribution of farm animals to freshwaters, the United Kingdom as a case study. *Sci Total Environ* 362: 166-178.
 43. Laegdsmand M, Andersen H, Jacobsen OH, Halling-Sorensen B (2009) Transport and fate of estrogenic hormones in slurry-treated soil monoliths. *J Environ Qual* 38: 955-964.
 44. Serra Majem L, Armas Navarro A, Ribas Barba L (2000) Food consumption and food sources of energy and nutrients in Canary Islands (1997-98). *Arch Latinoam Nutr* 50: 23-33.
 45. Villanueva CM, Kogevinas M, Cordier S, Templeton MR, Vermeulen R, Nuckols JR, Nieuwenhuijsen MJ, Levallois P (2014) Assessing Exposure and Health Consequences of Chemicals in Drinking Water: Current State of Knowledge and Research Needs. *Environ Health Perspect* <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.1206229>.
 46. Ward MH, deKok TM, Levallois P, Brender J, Gulis G, Nolan BT, VanDerslice J (2005) Workgroup report: Drinking-water nitrate and health--recent findings and research needs. *Environ Health Perspect* 113: 1607-1614.
 47. Fawell J (2012) Chemicals in the water environment. Where do the real and future threats lie? *Ann Ist Super Sanita* 48: 347-353.
 48. IARC (2010) Ingested nitrate and nitrite, and cyanobacterial peptide toxins. *IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans* 94.
 49. Calvo MS, Uribarri J (2013) Contributions to total phosphorus intake: all sources considered. *Semin Dial* 26: 54-61.
 50. Calvo MS, Uribarri J (2013) Public health impact of dietary phosphorus excess on bone and cardiovascular health in the general population. *Am J Clin Nutr* 98: 6-15.
 51. Newell DG, Koopmans M, Verhoef L, Duizer E, Aidara-Kane A, Sprong H, Opsteegh M, Langelaar M, Threfall J, et al. (2010) Food-borne diseases - the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *Int J Food Microbiol* 139 Suppl 1: S3-15.
 52. Topp E, Scott A, Lapen DR, Lyautey E, Duriez P (2009) Livestock waste treatment systems for reducing environmental exposure to hazardous enteric pathogens: some considerations. *Bioresour Technol* 100: 5395-5398.
 53. Varela AR, Manaia CM (2013) Human health implications of clinically relevant bacteria in wastewater habitats. *Environ Sci Pollut Res Int* 20: 3550-3569.
 54. Zhang XX, Zhang T, Fang HH (2009) Antibiotic resistance genes in water environment. *Appl Microbiol Biotechnol* 82: 397-414.
 55. Daughton CG, Ternes TA (1999) Pharmaceuticals and personal care products in the environment: agents of subtle change? *Environ Health Perspect* 107 Suppl 6: 907-938.
 56. Arnold SF, Klotz DM, Collins BM, Vonier PM, Guillette LJ, Jr., McLachlan JA (1996) Synergistic activation of estrogen receptor with combinations of environmental chemicals. *Science* 272: 1489-1492.
 57. Valeron PF, Pestano JJ, Luzardo OP, Zumbado ML, Almeida M, Boada LD (2009) Differential effects exerted on human mammary epithelial cells by environmentally relevant organochlorine pesticides either individually or in combination. *Chem Biol Interact* 180: 485-491.
 58. EPA U.S. Environmental Protection Agency: International workshop on endocrine disruptors. 1997.
 59. Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, Zoeller RT, Gore AC (2009) Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev* 30: 293-342.
 60. Kortenkamp A (2007) Ten years of mixing cocktails: a review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals. *Environ Health Persp* 115 Suppl 1: 98-105.
 61. Kortenkamp A, Faust M, Scholze M, Backhaus T (2007) Low-level exposure to multiple chemicals: reason for human health concerns? *Environ Health Persp* 115 Suppl 1: 106-114.
 62. Bergman A, Heindel JJ, Jobling S, Kidd KA, Zoeller RT World Health Organization: State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals - 2012. *UNEP Monographs*, 2012