

***EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LA EXPOSICIÓN
LABORAL A FITOSANITARIOS EN MUJERES QUE
RECOGEN VERDURAS. POSIBLES CONSECUENCIAS
SOBRE SU SALUD***



TESIS DOCTORAL. José Martín Reina

Sevilla. Año 2021

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y BROMATOLOGÍA,
TOXICOLOGIA Y MEDICINA LEGAL



**EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LA
EXPOSICIÓN LABORAL A
FITOSANITARIOS EN MUJERES QUE
RECOGEN VERDURAS. POSIBLES
CONSECUENCIAS SOBRE SU SALUD**

**Trabajo que presenta D. JOSÉ MARTIN REINA para optar al
título de Doctor por la Universidad de Sevilla**

Directores:

Dra. Isabel M. Moreno Navarro. Departamento de
Bromatología, Toxicología y Medicina Legal, Área de
Toxicología. Facultad de Farmacia,
Universidad de Sevilla.

Dr. Juan D. Bautista Palomas. Departamento de
Bioquímica y Biología Molecular Facultad de Farmacia,
Universidad de Sevilla.

Sevilla, 2021

“A lo largo de los años hubo muchos momentos en los que el destino me preparó quiebros insospechados, sorpresas y esquinazos imprevistos que hube de afrontar a matacaballo según fueron viniendo. Alguna vez estuve preparada para ellos; muchas otras, no.”

“Por muy duros que fueran los tiempos, jamás se fue de su lado el optimismo con el que apuntaló todos los golpes y al que se acogió para ver siempre el mundo desde el lado por el que el sol luce con más claridad”.

(El Tiempo entre costuras –
María Dueñas-)

A mis hijos, Ana y José, mi
motivación diaria.

AGRADECIMIENTOS

Me preguntaron en Labinsk (Rusia) de manera despectiva, si “sólo era farmacéutico”, y ese viento avivó el rescoldo que, desde hacía años, habitaba en mí.

Acudí a **Juan Bautista**, quien ya me transmitió sus conocimientos y su pasión profesional en mi vida universitaria. Él siempre escuchó mis inquietudes y aconsejó en mis años de estudiante. Cuando le planteé el camino que quería recorrer, no tuvo dudas y me explicó en qué consistiría la aventura: “sangre, sudor y lágrimas” me dijo... MUCHAS GRACIAS. No voy a tener tiempo para poder agradecerte todo lo que has hecho por mí.

De compañera de viaje, me presentó a **Isabel Moreno**. Sin duda, es lo más valioso que he obtenido en este recorrido: conocerla, que me regale su tiempo, su apoyo constante, su confianza, sus enseñanzas, su comprensión en los malos momentos (que también los ha habido) y su manera de entender la vida. No tengo dudas de que, en esta relación, he recibido mayor aportación de la que yo le haya podido dejar en ella. Ella me deja endeudado y yo la dejo aliviada porque, difícilmente encontrará otro alumno con mis carencias. MUCHAS GRACIAS

También conocí a **Rosa**, farmacéutica, que me hizo volver a recordar mis inquietudes y dudas cuando tenía una edad similar a la suya. Su constancia y metódico trabajo la convertirán en una brillante profesional: Muchísimas gracias por toda tu ayuda. Sin ella, no hubiera llegado al final el trayecto.

Gracias infinitas a los tres por compartir conmigo la bancada de copiloto del “autobús” en este camino. Sé lo que significa dedicarle tiempo a alguien. Hay un dicho que dice que “el tiempo es un bien muy preciado. Aquellos que te entregan su tiempo, te entregan algo que no van a recuperar”. MUCHA GRACIAS

Antes de subir al vehículo, **a mis padres y hermanos** les planteé el viaje que pretendía emprender. Debo confesar que, yo, siempre he sido un consentido: mis padres no se han negado nunca a cualquiera de los proyectos que les he planteado. No se puede plasmar con letras el agradecimiento a unos padres. Mucho menos cuando he contemplado su esfuerzo. A mi madre le puedo confirmar hoy que, ya no hay más formación reglada en la que me vaya a matricular.

Para comenzar el trayecto, inicialmente, contacté con en el **Ayuntamiento de Marinaleda**, concretamente con la concejala **Esperanza Saavedra**. Muchas gracias a mi localidad vecina. Cuando le conté la iniciativa, todo fueron facilidades y ayudas. Al igual que, a la **cooperativa de Marinaleda**, donde, gustosamente, me han facilitado los libros de campo y toda la información que se le ha solicitado.

Muchas gracias **a las trabajadoras de Marinaleda** que, han puesto el brazo, para la extracción de sangre, durante 4 veces en un año, de manera desinteresada, con el único objetivo de que sus generaciones venideras se aprovecharan del conocimiento que este

estudio pudiera ofrecer. Fue el mejor inicio de la ruta que comenzaba a desarrollarse.

Antes de emprender la marcha, hablé con **Isaías Fernández Montaña**. No soy objetivo si opino de este excelente enfermero que, durante este tiempo se ha convertido en la persona que ha facilitado la realización de los ensayos clínicos en el **Hospital Público Comarcal de La Merced** (perteneciente al Servicio Andaluz de Salud) en Osuna, a cuya dirección también le agradezco el esfuerzo por su colaboración en este proyecto.

Con “el motor” en marcha y la ruta comenzada, **mis amigos** me apoyaron incondicionalmente y me mostraron su preocupación por cómo se iba desarrollando todo. Tengo la suerte de tener buenos amigos, aquellos que, no teniendo al lado, ni hablando con ellos a diario, están ahí siempre. **José María, Inma, Miguel, Francis, Francisco de Asís, Ana, Juan**, muchas gracias a todos porque he sentido vuestro interés, apoyo y ese aliento tan necesario en muchas ocasiones.

Durante el camino, mis compañeros de trabajo, taparon mis carencias. A todos los componentes del Servicio de Prevención **Grupo Procarion SL**, por haberme inculcado la profesión, de manera especial a los fundadores: **Elías, Carlos, Javier, Jesús y Tania**, muchas gracias. A mi compi de **Eusalud Ostippo SL, José Manuel**, muchas gracias también por haber doblado el esfuerzo en mi ausencia.

A mitad de la ruta, conocí a **La Fundación Prevent**, que echó “gasolina” al autobús. Sin su confianza, y apoyo, durante dos años consecutivos, quizás hoy no tendría la conciencia tranquila. Las experiencias vividas en Barcelona serán inolvidables. Muchas gracias

Y llegó el final del camino... donde debo dar GRACIAS a **mi familia**: A **Reme**, y, por supuesto a **José y a Ana**, por no haberles dedicado el tiempo que hubieran merecido durante todos estos años que ha durado esta aventura.

A todos aquellos que me dejasteis vuestro “garaje” para las paradas momentánea, muchas gracias: **Arturo y Ángel**, en el Área de Toxicología de Tenerife; **Daniel** en el área de Toxicología de Sevilla; **Ana y Alfredo**, en el Área de Toxicología de Salamanca; **Pilar, Gonzalo y Raúl** con el laboratorio siempre preparado...

MUCHAS GRACIAS A TODOS!!

INDICE

INDICE

I.-INTRODUCCION.....	1
I.1. CONCEPTO DE PLAGUICIDA Y REGLAMENTACION.....	5
I.2. CLASIFICACION DE PLAGUICIDAS.....	8
I.3. EFECTOS TÓXICOS DE LOS PRINCIPALES PLAGUICIDAS.....	11
I.4 CONSUMO DE PLAGUICIDAS.....	17
I.5. EXPOSICION A PLAGUICIDAS.....	21
I.6. BIBLIOGRAFIA.....	26
II.- JUSTIFICACION Y OBJETIVOS.....	36
II.1. JUSTIFICACION.....	38
II.2. OBJETIVOS.....	41
II.3. BIBLIOGRAFIA.....	43
III.- MATERIAL Y METODO.....	45
III.1. SELECCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	47
III.2. ANÁLISIS HEMATOLÓGICOS.....	50
III.3. ANALISIS BIOQUIMICOS.....	51
III.4. ANÁLISIS DE HORMONAS.....	55
III.5. PEROXIDACION LIPIDICA.....	56
III.6. DETERMINACION DEL GRADO DE EXPOSICION A GLIFOSATO.....	57
III.7. VALIDACION DEL METODO DE DETERMINACION DE GLIFOSATO Y AMPA EN ORINA POR UPLC-MS/MS.....	57

III.8. DETERMINACION DE COLINESTERASAS ERITROCITARIA Y PLASMÁTICA.....	61
III.9. DETERMINACION DE OXIDACION PROTEICA.....	61
III.10 DETERMINACION DE OXIDACION DE ADN.....	62
III.11 DETERMINACION DE DAÑO RENAL TEMPRANO.....	62
III.12 DETERMINACION DE METALES.....	63
III.13 BIBLIOGRAFIA.....	63
IV.-RESULTADOS.....	66
Capítulo 1.RELACION ENTRE SALUD Y PLAGUICIDAS EN MUJERES AGRICULTORAS.....	68
1.1 INTRODUCCION.....	70
1.2. METODOLOGÍA.....	75
1.3.MECANISMO TOXICOLÓGICO DE LOS PESTICIDAS MAS COMUNMENTE USADOS.....	78
1.3.1. GLIFOSATO.....	79
1.3.2. PIRETROIDES.....	83
1.3.3. ORGANOFOSFORADOS.....	85
1.3.4. CARBAMATOS.....	87
1.3.5. MANCOZEB.....	89
1.4. EFECTOS EN LA SALUD DE MUJERES AGRICULTORAS.....	90
1.5. BIBLIOGRAFIA.....	95

Capítulo 2.-BIOMARCADORES DE ALTERACION DE DAÑO RENAL TEMPRANO Y SU RELACION CON LA ACTIVIDAD DE LA COLINESTERASA, ESTRÉS OXIDATIVO Y PARAMETROS HEMATOLOGICOS Y BIOQUIMICOS EN MUJERES AGRICULTORAS.....113

2.1. INTRODUCCION.....	115
2.2. MATERIAL Y METODO.....	119
2.3.RESULTADOS.....	127
2.4 DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....	143
2.5. BIBLIOGRAFIA.....	148

Capítulo 3.- VALIDACION DE UN MÉTODO SIMPLE PARA LA DETERMINACION DE GLIFOSATO Y ACIDO AMINOMETILFOSFÓNICO (AMPA) EN ORINA HUMANA POR UPLC MS/MS.....155

3.1. INTRODUCCION.....	157
3.2. MATERIAL Y METODO.....	162
3.3. RESULTADOS Y DISCUSION.....	167
3.4. CONCLUSION.....	176
3.5. BIBLIOGRAFIA.....	177

Capítulo 4.- NIVELES EN SANGRE DE METALES EN MUJERES AGRICULTORAS EN LA PROVINCIA DE SEVILLA190

4.1. INTRODUCCION.....	192
4.2. MATERIAL Y METODO.....	194
4.3. RESULTADOS Y DISCUSION.....	198
4.4. BIBLIOGRAFIA.....	205

V.- DISCUSION.....	214
VI.- CONCLUSIONES.....	239
VII.- ANEXOS.....	244

**INDICES DE ABREVIATURAS,
FIGURAS Y TABLAS**

INDICE DE ABREVIATURAS

ACh.- Acetilcolina

AChE.- Enzima Acetilcolinesterasa

AD.- Alzheimer's Diseases

AMPA.- Aminomethylphosphonic Acid

BOE.- Boletín Oficial del Estado

DDT.- DiCloro-Difenil-Tricloroetano

DFR.- Residuos Foliare Desprendible

DL₅₀.- Dosis Letal Media

ECHA.- Agencia Europea de Sustancias y Mezclas Químicas

EFSA.- Agencia Europea de Seguridad Alimentaria

ELA.- Esclerosis Lateral Amiotrófica

EPSPS.- Enzima 3-enolpiruvil-shikimato-5-fosfato sintasa

FAO.- Food and Agriculture Organization

FAOSTAT.- Statistics Division of Food and Agriculture Organization

FMOC.- 9-fluorenylmethyl chloroformate

GLY.- Glyphosate

HBM.- Human Biomonitoring

HPLC.- High-Performance Liquid Chromatography

IARC.- Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer

ILO.- Organización Internacional del Trabajo

IMA.- Informe de Medioambiente de la Junta de Andalucía

INSHT.- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo

INSST.- Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo

INSSBT.- Instituto Nacional de Seguridad Salud y Bienestar en el trabajo

IRAC.- Insecticide Resistance Action Commitee

KIM-1.- Kidney Injure Molecule 1

LC.- Liquid chromatography

LC-FLD.- Liquid chromatography combitated with fluoescence detection

LC/MS.- Chromatography–mass spectrometry

LMR.- Límite Máximo de Residuos

LPO.- Peroxidación de Lípidos

MAPA.- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación

MDA.- Malondialdhido

NAG.- Nacetil-b-D-glucosaminidasa

NGAL.- Lipocaina asociada a la gelatinasa de neutrofilos

NHL.- Non-Hodgkin's Lymphoma

NOE.- Not Occupationally Exposed

NTP.- Nota Técnica de Prevención.

OMS.- Organización Mundial de la Salud

PD.- Parkinson´s Diseases

PPE.- Personal Protective Equipment

PPP.- Plants Products Protection

PRL.- Prevención de Riesgos Laborales

ROESB.- Registro Oficial de Establecimientos y Servicios de Biocidas

ROPO.- Registro Oficial de Proveedores y Operadores (fitosanitarios)

ROS.- Especie Reactiva de Oxígeno

TC.- Coeficiente de Transferencia

TPRL.- Técnico en Prevención de Riesgos Laborales

UE.- Unión Europea

VGSC.- Canales de Calcio voltaje dependientes

INDICE DE FIGURAS

I. Introducción

Figura 1.- Mecanismo de activación e inhibición de la colinesterasa (Tomado de [Caro-Gamboa y col., 2020](#))

Figura 2.- Estructura de los piretroides tipo I y tipo II. (Tomado de [Corcellas y col, 2014](#))

Figura 3.- Consumo en Toneladas de Fitosanitarios 2017. Ámbito: España. IMA18

Figura 4.- Consumo en Toneladas de Fitosanitarios 2017. Ámbito: Andalucía. IMA18

Figura 5.- Consumo en la Provincia de Sevilla, en relación al resto de Andalucía y el territorio nacional. IMA18

II. Justificación y Objetivos

Figura1.- Localización de Marinaleda. (SIGPAC. MINISTERIO DE AGRICULTURA PESCA Y ALIMENTACION)

Figura 2.- Fig. 7. Distancia Marinaleda-El Humoso y detalle en satélite de las parcelas agrícolas. (SIGPAC. MINISTERIO DE AGRICULTURA PESCA Y ALIMENTACION)

II. Material y Método

Figura 1.- Reacción de derivatización entre glifosato y FMOC.

Capitulo 2. Biomarcadores de alteración de daño renal temprano y su relación con la actividad de la Colinesterasa, estrés oxidativo y parámetros hematológicos y bioquímicos en mujeres agricultoras.

Figure1.- Activities of AcChE in erythrocyte and BuChE in serum

Figure 2.- The activity of the biomarkers of oxidative stress studied

Figure 3.- Urinary levels of the different biomarkers of early kidney damage and predisposition to kidney damage evaluated at different sampling times

Capitulo 3. Validación de un método para la determinación de glifosato y AMPA en orina por UPLC-MS/MS

Figure 1. (Gly) Huber plot for assessing the linear range of GLY (a) and AMPA (b) in urine

Figure 2. (Gly) UPLC-MS/MS chromatogram for GLY from one urine sample extract

INDICE DE TABLAS

I.Introducción

Tabla 1. Clasificación de los plaguicidas según la OMS, basada en la DL₅₀.

Tabla 2.- Mecanismo de acción de los diferentes plaguicidas

III.Material y Método

Tabla 1.- Condiciones de operación de la fuente de ionización

Tabla 2.- Ion molecular, valores de m/z de los fragmentos, voltajes de cono y energías de colisión para cada compuesto específico.

Capítulo 1. Revisión.

Tabla1.-Pesticide classification according to BPR and IRAC

Capitulo 2. Biomarcadores de alteración de daño renal temprano y su relación con la actividad de la Colinesterasa, estrés oxidativo y parámetros hematológicos y bioquímicos en mujeres agricultoras.

Table1.- Pesticides most used for these crops are listed in

Table 2.- Characteristics of the study population

Table 3.- Biochemical parameters

Table 4.- Hormonal parameters

Table 5.- Results of the correlation study carried out between the urinary biomarkers evaluated and some blood parameters of exposure to pesticides

Capitulo 3. Validación de un método para la determinación de glifosato y AMPA en orina por UPLC-MS/MS

Table 1 (GLY). Detailed steps of the procedures under study.

Table2 (Gly). The m/z values for the precursor and fragment for each specific compound along with their respective cone voltages and collision energy values

Table 3. (Gly) Estimations of within-condition repeatability (S_w), between-condition repeatability (S_B), intermediate precision (intra-laboratory reproducibility, S_{IP}) and its relative standard deviations (%RSD_{IP}), and recoveries of GLY and AMPA assayed in human urine, at three concentration levels, in three different days. Reference RSD values and recovery percentages by AOAC. Limits of detection (LOD) and quantitation (LOQ) for both compounds.

Capitulo 4. Niveles en Sangre de metales en mujeres agricultoras en la provincia de Sevilla

Table1.- Main Characteristics of studied population

Table 2.- First Samples (October 17). Descriptive statics of metal concentrations in blood. Concentrations are in $\mu\text{g/Kg}$ unless otherwise noted

Table 3.- Second Sample (February 18). Descriptive statics of metal concentrations in blood. Concentrations are in $\mu\text{g/kg}$ unless otherwise noted

Table 4.- Third Sample (June 18). Descriptive statics of metal concentrations in blood. Concentrations are in $\mu\text{g/kg}$ unless otherwise noted

Table 5.- Fourth Sample (October 18). Descriptive statics of metal concentrations in blood. Concentrations are in $\mu\text{g}/\text{kg}$ unless otherwise noted

I. INTRODUCCIÓN

La exposición del ser humano a mezclas complejas de contaminantes medioambientales es una realidad en la sociedad actual. Por contaminantes ambientales se entienden aquellos factores exógenos, no esenciales para los humanos, que, cuando se liberan al medio ambiente, pueden ser perjudiciales para la salud humana y/o el medio ambiente (Vabre et al., 2017). Dentro de este grupo de contaminantes, destacan los denominados contaminantes emergentes, como los plaguicidas (Pereira et al., 2015).

Sin embargo, el uso de plaguicidas por el hombre viene de antaño, así los sumerios ya aplicaban compuestos azufrados para combatir los insectos (Želježić & Perković, 2011). Aunque el desarrollo de los plaguicidas y su uso, podrían encuadrarse en tres etapas, a lo largo de la historia:

Una primera etapa, meramente accidental y empírica, basada en la acción plaguicida de algunos compuestos químicos como el azufre, arsénico o sulfato de cobre.

Una segunda etapa, pre-científica, a partir del 1922, cuando en Holanda comienza la utilización de aceites con propiedades insecticidas.

Y una tercera etapa, científica, marcada por el descubrimiento de las propiedades del dicloro-difenil-tricloroetano (DDT), conocido desde años atrás, pero cuyo éxito, al ser efectivo frente a los piojos que transmitían el tifus exantémico en los soldados de la II Guerra Mundial, lo convirtió en el inicio del

desarrollo de nuevos productos frente a distintas plagas (**Casas Maya, 2017**)

A partir de aquí, y hasta nuestros días, numerosos productos químicos se han ido desarrollando, cada vez más específicos, con la finalidad de eliminar las distintas plagas que pudieran aparecer, con dos objetivos fundamentales:

1. Obtener alimentos que duraran más en el tiempo, y así poder llegar a la población mundial, con el consiguiente rendimiento económico del cultivo, y
2. Lograr beneficio para la salud humana porque evita enfermedades transmitidas por insectos (vectores) (**Ortiz Hernández et al., 2017**)

Intentar cubrir estos objetivos ha contribuido a que haya aumentado la variedad de sustancias en el mercado, cada vez más específicas y también a que distintas administraciones lleven a cabo su control, dado su potencial daño para la salud humana y animal.

Pero, no podría haber beneficio sin perjuicio. Hay una peligrosidad intrínseca en los plaguicidas o sus metabolitos, por ser compuestos biocidas y, por tanto, actuar contra los seres vivos (**Doménech, 2004**). Así la población en general, a lo largo de toda su vida, está expuesta a pequeñas concentraciones de plaguicidas a través de la dieta y el medio ambiente (**González-Alzaga et al., 2014**)

Revisemos brevemente, algunos aspectos relacionados con nomenclatura, reglamentación, clasificación y exposición laboral a estos compuestos.

1. Concepto de plaguicida y Reglamentación.

En relación con la nomenclatura, sin duda la terminología utilizada es frecuentemente complicada de entender para el lego en la materia. Así la Food and Agriculture Organization (FAO) define a los plaguicidas como *“cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicio o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, o que pueden administrarse a los animales para combatir insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladoras del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o agentes para evitar la caída prematura de la fruta, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra la deterioración durante el almacenamiento y transporte”* (FAO, 2014). Sin embargo, el concepto plaguicida, es definido por el Reglamento Europeo N° 528/2012 del Parlamento Europeo y del Consejo del 22 de mayo del 2012 relativo a la comercialización y el

uso de biocidas ([UE, 2014](#)) como un grupo de biocidas, destinados, según el tipo de producto al que pertenezcan, al control de roedores, aves, peces, moluscos, insectos, ácaros, etc.

En la actualidad, el reglamento europeo por el que se regula la normativa de existencia y uso de plaguicidas es la N° 528/2012 del Parlamento Europeo y del Consejo del 22 de mayo del 2012 relativo a la comercialización y el uso de biocidas ([UE, 2014](#)). Esta norma establece que los plaguicidas son necesarios para controlar organismos que puedan ser dañinos para animales y humanos y puedan causar daños a los recursos naturales. También expone que estos plaguicidas suponen un riesgo para humanos, debido a sus propiedades y el uso que se hace de ellos. Como es evidente, todos ellos deben ser usados según la normativa y asegurando un alto nivel de protección para la salud de humanos, animales y medio ambiente.

En España, el uso de biocidas (y por tanto de los plaguicidas afectados) y la exposición y los riesgos que estos suponen está controlada por el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, encargado de publicar las distintas normativas relacionadas con estos. La reglamentación española además de acogerse a la autorización según la normativa europea, también incluye un registro de plaguicidas según un Registro Nacional (Real Decreto 3349/83) y un listado de productos insecticidas y repelentes comercializados para enfermedades como son el Dengue, Chikunguya y Zika ([BOE, 1984](#)).

A lo mencionado anteriormente, desarrollado por “el canal de salud”, hay que unir, por otro lado “el canal de agricultura”. Relacionado con la agricultura y la alimentación, el Reglamento (CE) nº 1107/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo de 21 de Octubre de 2009 relativo a la comercialización de productos fitosanitarios y por el que derogan las directivas 79/117/CEE y 91/414/CEE del Consejo, junto a la Directiva 2009/128/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 21 de Octubre de 2009 por la que se establece el marco de la actuación comunitaria para conseguir un uso sostenible de los plaguicidas, marcan lo indicado en el RD 1311/2012, de 14 de Septiembre, por el que se establece el marco de actuación para conseguir un uso sostenible de los productos fitosanitarios (**BOE, 2012; EU, 2009**)

Se podría resumir de forma que “un raticida”, si se utiliza por el “canal salud”, como biocida, se le aplica una normativa y si se utiliza “por el canal agrícola”, como fitosanitario, se le aplica otra normativa: siendo el mismo producto. En el Ministerio de Sanidad, y en el Ministerio de Agricultura, se indican las distintas normativas para autorizar los productos y, en las comunidades autónomas, en las consejerías de sanidad y de agricultura se indican las distintas normativas para que una entidad pueda aplicar un producto: Deben estar inscritas en un registro: ROPO (Registro Oficial de Proveedores y Operadores) y ROESB (Registro Oficial de Establecimientos y Servicios de Biocidas) (**BOE, 2002; BOE, 2012**), según la finalidad del producto a emplear.

En cualquier caso, se podría indicar que los plaguicidas, son productos químicos, con función específica, dentro del grupo de los fitosanitarios (cuando se aplican en el mundo agrícola) y dentro del grupo de los biocidas (cuando se aplican en ámbitos distintos al mundo agrícola).

2. Clasificación de plaguicidas

Los plaguicidas se pueden clasificar de diferentes maneras atendiendo a sus características. Normalmente, los plaguicidas se clasifican según el tipo de plaga al que estén destinados, siendo los más importantes de esta clasificación los fungicidas, herbicidas, rodenticidas e insecticidas.(Aktar et al., 2009; Martín-Reina et al., 2017)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) realiza una clasificación centrada en la capacidad de producir daño tras una exposición aguda a uno de ellos, que también podríamos definir como el daño en la salud de una persona tras una o varias exposiciones en 24 horas. Esta clasificación se realiza basándose siempre en el concepto de dosis letal media (DL_{50}), siendo ésta la estimación estadística de la cantidad de una sustancia tóxica por peso corporal (mg/kg), necesaria para matar al 50% de animales de experimentación (usualmente ratas de laboratorio) en los que se ensaya el efecto letal (Tabla 1).

Tabla 1. Clasificación de los plaguicidas según la OMS, basada en la DL_{50} .

		DL50 para la rata (mg/kg peso)		
Clase		Oral	Dermal	Ejemplo
Clase IA	Extremadamente peligrosos	< 5	< 50	Bromadiolona Parathion
Clase IB	Altamente peligrosos	5-50	50-200	Warfarina Methiocarb
Clase II	Moderadamente peligrosos	50-2000	200-2000	Lambda-cyhalothrin Cipermetrina
Clase III	Ligeramente peligrosos	> 2000	> 2000	Glifosato
Clase U	Improbable que presente peligros agudos	>5000		Mancozeb

Otras clasificaciones que se realizan de los plaguicidas son según su estructura química, dando lugar a diversas familias como pueden ser los organoclorados o los organofosforados, siendo estos

algunos de los más conocidos por ser los más utilizados a lo largo de la historia, aunque cada vez están más en desuso por sus propiedades tóxicas. Estas características químicas van a influir en las propiedades fisicoquímicas de los plaguicidas, así los organoclorados pertenecen al grupo de contaminantes orgánicos persistentes debido a su alta liposolubilidad, lo que los hace bioacumularse a lo largo de la cadena alimentaria. Como alternativa a su uso, surgieron los organofosforados, carbamatos y piretroides, considerados insecticidas no persistentes, debido a su rápida hidrólisis en el medio ambiente (Kim et al., 2017; Pereira et al., 2015). Por otro lado, the Insecticide Resistance Action Committee (IRAC) clasifica los plaguicidas, según su mecanismo de acción (IRAC, 2020) (tabla 2) .

Tabla 2. Mecanismo de acción de los diferentes plaguicidas

MECANISMO DE ACCIÓN	Características
Actúan sobre el sistema nervioso y muscular	Son la mayoría de los plaguicidas. De acción rápida, inhiben encimas de neurotransmisores, canales de iones, o moduladores de receptores, entre otros
Reguladores del crecimiento	Mimetizan hormonas, o inhiben biosíntesis de nutrientes, entre otros
Actúan sobre el sistema digestivo	Mediante disruptores microbianos o virus

	patógenos ocluidos
Actúan sobre el metabolismo energético	Inhibiendo el transporte de electrones en el complejo mitocondrial, por lo que se impide el uso de energía.

(Adaptado de IRAC 2020 ([IRAC, 2020](#)))

3. Efectos tóxicos de los principales plaguicidas

➤ Organofosforados

Los organofosforados son los insecticidas más usados en el mundo. Se trata de compuestos liposolubles y volátiles, resultando en una toxicidad variable debido a que estas características facilitan su absorción. Sus efectos varían dependiendo del grado de toxicidad y de la vía de entrada al organismo ([Fernandez et al., 2010](#))

El principal efecto tóxico de los organofosforados se debe a la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), una enzima encargada de catalizar la hidrólisis de la acetilcolina (ACh) (Figura 1). La consecuencia de la inhibición de la enzima resulta en una acumulación del neurotransmisor en el espacio sináptico, dando lugar a efectos neurotóxicos debido a la hiperexcitabilidad de tejidos, provocando el denominado síndrome colinérgico ([Caro-Gamboa et al., 2020](#); [Martín-Reina et al., 2017](#))

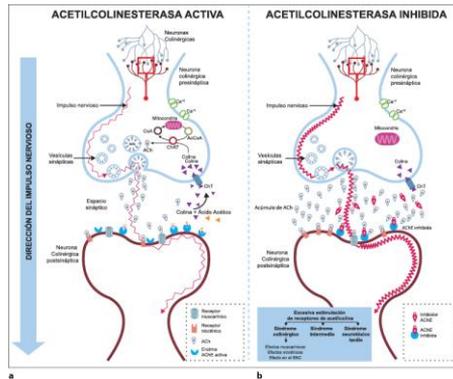


Figura 1. Mecanismo de activación e inhibición de la colinesterasa (Tomado de (Caro-Gamboa et al., 2020))

Diferentes autores han encontrado evidencias de la existencia de intoxicaciones tanto agudas como crónicas en la exposición laboral a plaguicidas. Las intoxicaciones agudas pueden derivar en síntomas que varían de leve a muy grave y pueden ser dolores de cabeza, náuseas, vómitos, bradicardia, miosis, dermatitis o quemaduras. Los problemas neurotóxicos están más relacionados con la exposición crónica, resultando en problemas cognitivos, motores, sensoriales (Joshaghani et al., 2007; Roldán-Tapia et al., 2005) y enfermedades neurodegenerativas como pueden ser el Alzheimer, el Parkinson o la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) (Sánchez-Santed et al., 2016)

Además de la inhibición de la AChE, los organofosforados tienen la capacidad de producir daños oxidativos debido a la capacidad de producir especies reactivas de oxígeno (ROS) que cuando su producción es excesiva conduce a un estado de estrés

oxidativo (**Kemp et al., 2008**). El cerebro es particularmente susceptible a este daño oxidativo debido a su alto contenido en lípidos, alta demanda de energía y menos defensas antioxidantes en relación a otros órganos (**Pearson et al., 2017**)

Los organofosforados también afectan a receptores hormonales, actuando como ligando y dando lugar como consecuencia a una actividad como disruptor endocrino y produciendo alteraciones hormonales (**Combarnous, 2017**)

➤ **Carbamatos**

La toxicidad de los carbamatos al igual que la de los organofosforados, se caracteriza por su potente actividad anticolinesterasa, que inhibe tanto a la acetilcolinesterasa como a la butirilcolinesterasa, las cuales se usan como biomarcadores de exposición a estos insecticidas (**Gonzalez et al., 2012**).

A diferencia de los organofosforados, la exposición a carbamatos da lugar a una toxicidad más corta y reversible ya que se metabolizan rápidamente (**Silberman & Taylor, 2018**)

La exposición puede dar lugar a una toxicidad tanto aguda como crónica, siendo la piel, los pulmones o la conjuntiva, algunas de las vías de entrada. Los síntomas, muy similares a los de una intoxicación por organofosforados, son hipersalivación, lagrimeo o problemas gastrointestinales. También se puede desarrollar bradicardia o taquicardia y miosis o midriasis (**Silberman & Taylor, 2018**).

➤ Piretroides

Los piretroides iniciales fueron piretrinas naturales, obtenidos del extracto aislado de *Chrysanthemum*, que actualmente se sintetizan a raíz de su origen. Los piretroides son relativamente menos tóxicos para los mamíferos que los organofosforados, por ello y por ser de amplio espectro, son de los plaguicidas más usados en la mayoría de los países como alternativa al uso de organofosforados (Lei et al., 2017).

La actividad de los piretroides está basada en su efecto sobre el canal de sodio y cloro (Bradberry et al., 2005; Scott, 2019). Los piretroides incluyen efectos tóxicos como neurotoxicidad, toxicidad respiratoria, o efectos tóxicos en la piel, y en el sistema reproductor (Lei et al., 2017). Diferentes estudios muestran también que los piretroides juegan un papel como disruptores endocrinos, teniendo un efecto sobre receptores tanto estrogénicos como androgénicos *in vitro*, que podría derivar en una alteración de la salud reproductiva de hombres adultos (Saillenfait et al., 2016; Ben Slima et al., 2017; Ghosh et al., 2018; Hernández et al., 2020; Singh et al., 2020).

Dentro del grupo de los piretroides podemos diferenciar los piretroides tipo I, aquellos que tienen una estructura básica de éster carboxílico como ciclopropano y los piretroides tipo II, que además de la estructura básica poseen un grupo ciano (Bradberry et al., 2005).

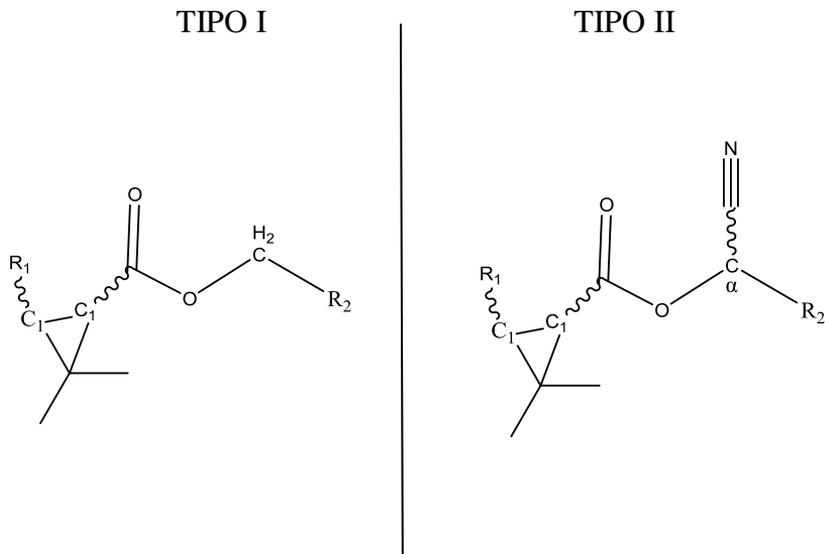


Figura 2. Estructura de los piretroides tipo I y tipo II. Tomado de [\(Corcellas et al., 2015\)](#)

Dependiendo del tipo de piretroide, se produce un efecto u otro. Los piretroides tipo I dan lugar a una hiperexcitabilidad por una prolongación de la apertura del canal y en el caso de los tipo II, esta prolongación de apertura que es mayor, resulta en una despolarización de la membrana y en un bloqueo de la conducción. [\(Martín-Reina et al., 2017; Wakeling et al., 2012\)](#)

➤ **Glifosato**

El glifosato ha llegado a ser el herbicida más usado en la historia de la agricultura, se utiliza para eliminar las malas hierbas indeseables en ambientes agrícolas y forestales. Tiene una alta distribución, representando entorno al 43%-51% de la cantidad total

de herbicidas utilizados a nivel mundial. **(Martínez et al., 2018)**. Cuando se comenzó a usar en 1974, el glifosato era considerado de bajo peligro para mamíferos, sin embargo, la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) lo considera desde 2015 un producto probablemente carcinogénico para los humanos (Grupo 2A) ” **(Tarazona et al., 2017)**.

A raíz de esta clasificación, la Unión Europea ha evaluado exhaustivamente al glifosato, a través de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y de la Agencia Europea de Sustancias y Mezclas Químicas (ECHA) para establecer si su uso puede conducir a efectos inaceptables en la salud humana, animal o ambiental, sin haber llegado a una conclusión definitiva (REFERENCIAS).

Sin embargo, tanto la Agencia Europea para las Sustancias Químicas (ECHA) como la Autoridad Europea en Seguridad Alimentaria (EFSA), han descartado que provoque cáncer en los humanos, por lo que la Unión Europea ha renovado la licencia del glifosato hasta el 2022 **(ECHA, 2017)**. Se necesitan más estudios toxicológicos y epidemiológicos para sacar mejores conclusiones sobre la seguridad del glifosato.

En cuanto a su toxicidad en humanos, muchos estudios demuestran que los herbicidas basados en glifosato es tóxico para las células humanas placentarias **(Davoren & Schiestl, 2018)**. También está comprobado que puede actuar sobre la actividad de la aromatasa, actuando como disruptor endocrino **(Salazar-López &**

[Aldana Madrid, 2011](#)), pero también hay artículos en los que se ha demostrado que el glifosato presenta genotoxicidad por daños en la estructura del ADN y que puede provocar toxicidad *in vivo* en células humanas ([Monroy et al., 2005](#)).

4. Consumo de plaguicidas

Según datos de la división de estadística de la FAO (FAOSTAT), en el 2017, Europa comercializó un total de 490217 toneladas de plaguicidas en total, siendo España el segundo país europeo que más plaguicidas consumió: 60896 toneladas, por detrás de Francia, con 70604 toneladas. La misma base de datos indica que, en el 2018, Europa consumió un total de 478326 toneladas de plaguicidas en total, siendo España, de nuevo, el segundo país europeo que más plaguicidas consumió: 61343 toneladas, por detrás de Francia, con 85072 toneladas. Sobre la disminución de consumo total de plaguicidas en Europa, es coherente a la normativa mencionada anteriormente. Sin embargo, ocurre lo contrario en los dos primeros países de mayor consumo, donde el número de toneladas se ha visto incrementado.

Centrados en España, en el 2017, se comercializaron 37999 toneladas de fungicidas y bactericidas, 16077 toneladas de herbicidas, y 6663 toneladas de insecticidas. En el 2018, se consumieron 38067 toneladas de fungicidas y bactericidas, 16593 toneladas de herbicidas, y 6488 toneladas de insecticidas. Estos datos, obtenidos inicialmente en la FAOSTAT, coinciden prácticamente con los datos publicados por el Ministerio de

Agricultura, Pesca y Alimentación en sus documentos “Encuesta comercialización productos fitosanitarios. Años 2017 y 2018” (MAPA, 2018; MAPA, 2017)

Una vez obtenidos los datos de consumo de productos a nivel europeo, y nacional, hemos consultado los consumos a niveles autonómicos, así como en las diferentes provincias andaluzas, con el fin de tener un conocimiento de la provincia de Sevilla, relativo y comparable. Para ello, se utilizó el Informe Medioambiental de la Junta de Andalucía (Consejería Agricultura y Pesca, 2018a, 2018b) que hacen referencia a los consumos del año 2017:

En esta base de datos, donde se habla de consumo (frente a comercialización en la documentación del ministerio), no se encontraron datos relacionados a 2018, pero, según esta fuente, en 2017 hubo un consumo en España de 124157 toneladas del total de fitosanitarios, de los cuales, 46170 se consumieron en Andalucía (Figura 3).

Lo primero que llama la atención es la cifra que prácticamente es el doble de lo comunicado por el Ministerio de Agricultura y por la FAOSTATS para el 2017. Atendiendo a esta base de datos, en el 2017, Andalucía fue la comunidad autónoma con mayor consumo de Fitosanitarios, siendo los insecticidas y los herbicidas los productos más utilizados, de la totalidad.

Según la base de datos de la Junta de Andalucía, en 2017, Almería fue la primera consumidora de plaguicidas, seguida de

Sevilla la segunda provincia con mayor consumo de producto (Figura 4 y Figura 5).

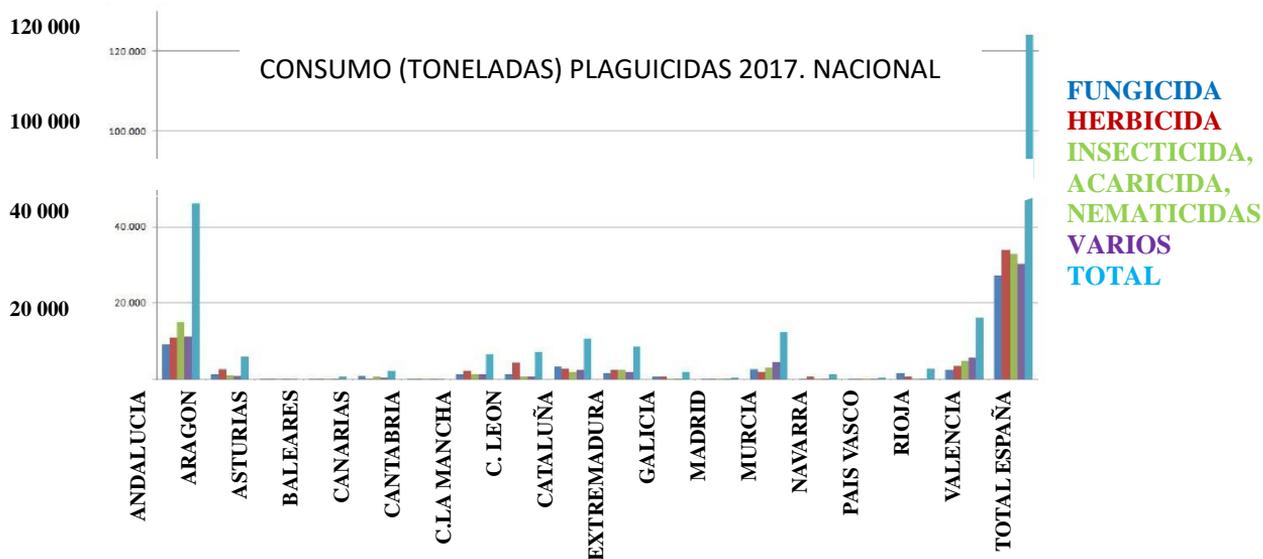


Figura 3. Consumo en Toneladas de Fitosanitarios 2017.
 Ámbito: España. IMA18

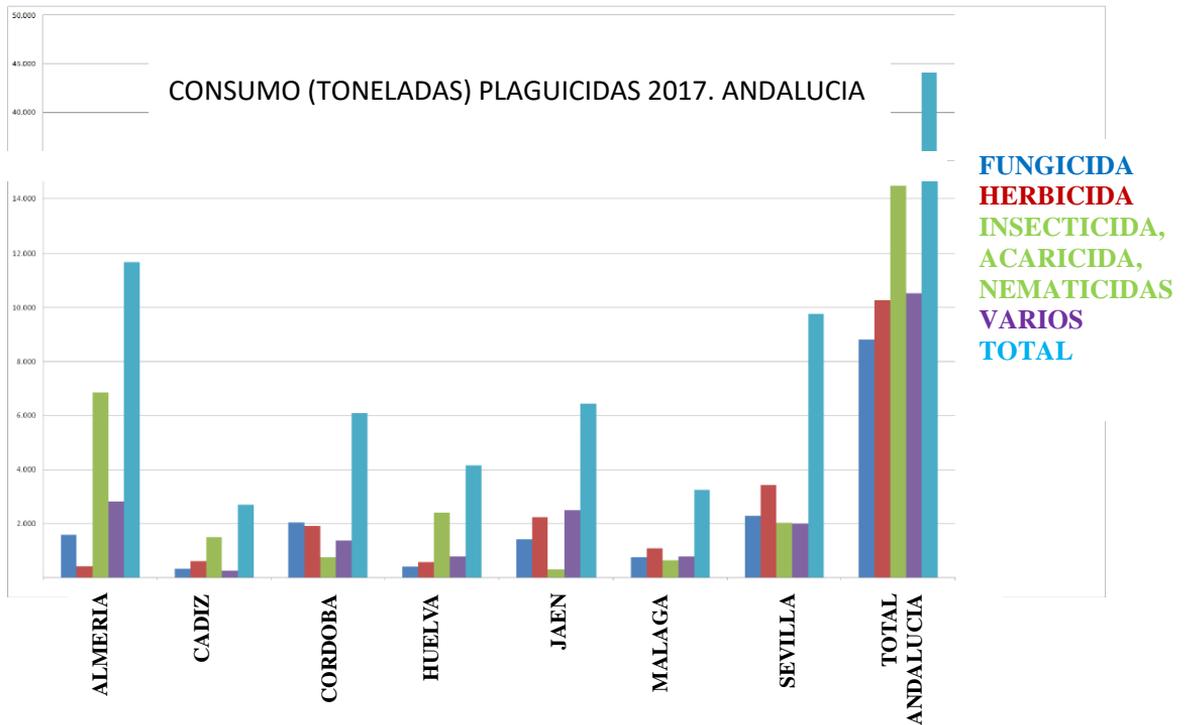


Figura 4. Consumo en Toneladas de Fitosanitarios 2017.
 Ámbito: Andalucía. IMA18

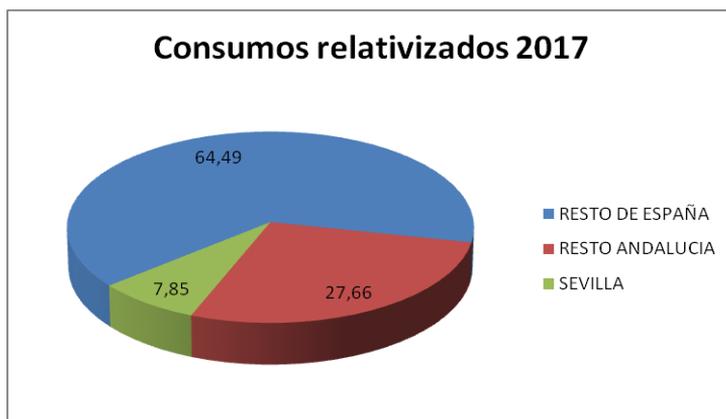


Figura 5. Consumo en la Provincia de Sevilla, en relación con el resto de Andalucía y el territorio nacional. IMA18

5. Exposición laboral a plaguicidas

La exposición prolongada a plaguicidas puede ser perjudicial para el hombre, alterando la función de diferentes órganos en el cuerpo. A este respecto, existe una creciente evidencia sobre el vínculo de la exposición a plaguicidas con la incidencia de enfermedades crónicas humanas, incluyendo cáncer, Parkinson, Alzheimer, esclerosis múltiple, diabetes, envejecimiento, enfermedades cardiovasculares y enfermedad renal crónica (**Mostafalou & Abdollahi, 2013**). Además, la exposición a mezclas de estos contaminantes puede tener múltiples efectos acumulativos, aditivos o sinérgicos en la salud humana. El estrés oxidativo ha sido propuesto como el mecanismo que vincula la exposición a plaguicidas y un mayor riesgo para el desarrollo de estas

enfermedades. Además de un aumento de la producción de radicales libres, la exposición a estos contaminantes y sus mezclas también puede afectar a los niveles de enzimas antioxidantes, así como aumentar la peroxidación lipídica. **(Domingo-Relloso et al., 2019; Hilgert Jacobsen-Pereira et al., 2018)**

Para el ser humano, las vías de entrada más frecuente de los plaguicidas son la cutánea, la respiratoria y la digestiva.

En el mundo laboral, la peligrosidad que supone el uso y la exposición a plaguicidas se encuentran más centrados en los trabajadores encargados de su aplicación, pero podemos considerar una exposición laboral a plaguicidas a las actividades como la fabricación y formulación del plaguicida, su transporte y almacenamiento, su venta o su aplicación, ya sea a pie o máquina en el campo, la aérea o en espacios cerrados. También consideramos exposición laboral a la que sufren los trabajadores de las zonas tratadas, es decir, aquellos trabajadores que se encuentran expuestos a diario a ellos, tanto en la recolección como en la manipulación posterior de los cultivos **(INSHT, 2015)**.

El riesgo al que se enfrentan los trabajadores viene definido, además de por el tipo de exposición, por las características de la exposición sufrida. Las características de la exposición pueden ser el tipo de producto, la forma en la que se presenta el mismo, el modo en el que se usa el plaguicida, los hábitos del aplicador como son las medidas de contención o protección usadas y las actividades posteriores al tratamiento **(INSHT, 2015)**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que el 70% de las intoxicaciones por plaguicidas en el mundo resultan de una exposición laboral, causando daños a millones de trabajadores agrícolas cada año (**Dalmolin et al., 2020**). De hecho, la Organización Internacional del Trabajo clasificó la actividad agrícola como uno de los tres sectores profesionales más peligrosos junto con la minería y la construcción (**FAO, ILO, UITA, 2007**).

La normativa en materia de Prevención de Riesgos Laborales (PRL) se ha ido desarrollando, y multiplicando, con el fin de conseguir lo que la Ley de PRL describe (**B.O.E., 1995**). De acuerdo con esta ley y dentro de la especialidad de la higiene industrial, y, más concretamente, en lo referido a los agentes químicos, desde el año 1995, se ha desarrollado una batería importante de normativas, con el fin de evitar que la salud de los trabajadores se vea mermada en su puesto de trabajo como consecuencia de una exposición inadecuada a ellos. En base a esta normativa, se han desarrollado nuevos protocolos de protección dirigidos a agricultores. Sin embargo, hay algunos trabajos agrícolas tradicionales como la recolección manual de frutas y verduras que no están suficientemente protegidos por esta legislación. La mayoría de las leyes sobre Salud y Seguridad en el Trabajo se refieren a los trabajadores que transportan, almacenan y aplican plaguicidas (**Martin-Reina et al., en prensa**).

Pero no solo la legislación, sino también la mayoría de los estudios epidemiológicos se centran en los efectos de los plaguicidas en agricultores que manejan estos químicos, y no en

recolectores de frutas y verduras. Esta situación es aparentemente normal, ya que los fabricantes establecen un período de tiempo de seguridad, tras la aplicación del producto, en el que el trabajador debe evitar entrar en contacto con el mismo. Pasado este tiempo, el fabricante garantiza que el campo, el cultivo tratado y el medio ambiente están libres de residuos de biocidas y que no existe riesgo de exposición. Sin embargo, la EFSA publicó en 2014 la Guía sobre la evaluación de la exposición de operadores, trabajadores, residentes y transeúntes en la evaluación de riesgos para productos fitosanitarios donde indica que los términos "Coeficientes de transferencia" (TC) (la transferencia de residuos de la superficie de la planta a la ropa o la piel del trabajador), "Residuos foliares desplazables" (DFR) (cantidad de residuos que se eliminan del follaje después de ser aplicado) y Reingreso (cuando el trabajador, operador, transeúnte o residente va nuevamente al lugar donde se ha aplicado) deben considerarse para comprender el riesgo de exposición a plaguicidas después de su aplicación (EFSA, 2014). Este documento se reflejó posteriormente en los "Criterios de Evaluación de la estimación de la exposición a productos fitosanitarios de los operarios, trabajadores, residentes y transeúntes" (Ministerio de Sanidad, 2017) y recogido en "Prevención de Riesgos Durante el uso de productos Fitosanitarios" (INSSBT, 2017). Teniendo esto en cuenta y teniendo en cuenta que el Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST) demostró la presencia de residuos de plaguicidas en los guantes externos de los agricultores que estaban recolectando tres cultivos

de invernadero una vez pasado el tiempo seguro para la reentrada ([Abril Muñoz, 2017](#)), se podría concluir que hay riesgo a exposición química de fitosanitarios en personas que re-entran en cultivos para hacer tareas de recolección.

Aquellos trabajadores expuestos en su ambiente laboral a estas sustancias son una población que proteger. Así, existe una abundante legislación relativa a la protección del trabajador que manipula los plaguicidas (transporte, almacenamiento y aplicación), sin embargo, no se le da suficiente importancia a la protección de aquellos trabajadores encargados de la recolección de verduras y frutas. En España, el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSSBT), el órgano científico-técnico especializado en la seguridad y la salud laboral, se encarga de la publicación de documentos denominados notas técnicas de prevención (NTP), en las que se especifican los peligros de los plaguicidas y los elementos necesarios para una protección tanto grupal como personal de los trabajadores. Y son los técnicos de prevención de riesgos laborales (TPRL) los encargados del difícil reto de conseguir que el trabajador no tenga accidentes, ni enferme como consecuencia de su trabajo; en este caso concreto que el trabajador no enferme debido a la exposición a agentes químicos ([B.O.E., 1997](#)).

Una de las misiones fundamentales de la figura del TPRL es preguntarse si, en ambientes laborales donde la exposición a distintos tipos de productos (químicos y/o biológicos) es indirecta, dicha exposición está controlada y, lo más importante, si esta

exposición indirecta no afecta a la salud de los trabajadores. Situaciones donde hacemos esta pregunta las encontramos en diferentes campos, como, por ejemplo: en el sector médico, la exposición indirecta de personal médico a productos químicos como el formaldehído, glutaraldehído o anestésicos; o como en el caso del presente estudio donde nos hemos centrado en la exposición laboral indirecta a plaguicidas. Es por ello, que conocedores de la amplia normativa y documentación que ya existe sobre la peligrosidad de la exposición directa a plaguicidas, relativa principalmente a los trabajadores que los aplican, hemos querido extender el estudio a los posibles efectos adversos de la exposición indirecta a plaguicidas en una población de mujeres agrícolas que recogen verduras.

BIBLIOGRAFIA

- Abril Muñoz, I. (2017). Exposición a productos fitosanitarios durante la reentrada a cultivos tratados. In *Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo* (Vol. 90).
http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/PUBLICACIONES/PERIODICAS/Rev_INSHT/2017/SST_90_enlaces.pdf
- Aktar, W., Sengupta, D., & Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticides use in agriculture: Their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(1), 1–12.
<https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7>
- B.O.E. (1995). Ley 31/1995, de 8 de Noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales. *Boletín Oficial Del Estado*, 269, 9.
<https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-1995-24292>
- B.O.E. (1997). *Real Decreto 39 / 1997 , de 17 de enero , por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención .*

TEXTO CONSOLIDADO. 1–38.

- B.O.E. (2002). Real Decreto 1054/2002, de 11 de Octubre, por el que se regula el proceso de evaluación, autorización, y comercialización de biocidas. *Boletín Oficial Del Estado*, 36188–36220.
- Ben Slima, A., Chtourou, Y., Barkallah, M., Fetoui, H., Boudawara, T., & Gdoura, R. (2017). Endocrine disrupting potential and reproductive dysfunction in male mice exposed to deltamethrin. *Human and Experimental Toxicology*, 36(3), 218–226. <https://doi.org/10.1177/0960327116646617>
- BOE. (2012). Real Decreto 1311/2012, de 14 de septiembre, por el que se establece el marco de actuación para conseguir un uso sostenible de los productos fitosanitarios. *Ministerio de La Presidencia. BOE-A-2012-11605*, 223, 11–13. <https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2012-11605>
- Bradberry, S. M., Cage, S. A., Proudfoot, A. T., & Allister Vale, J. (2005). Poisoning due to pyrethroids. *Toxicological Reviews*, 24(2), 93–106. <https://doi.org/10.2165/00139709-200524020-00003>
- Caro-Gamboa, L. J., Forero-Castro, M., & Dallo-Báez, A. E. (2020). Inhibición de la colinesterasa como biomarcador para la vigilancia de población ocupacionalmente expuesta a plaguicidas organofosforados. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 21(3), 1–23. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1562
- Casas Maya, F. O. (2017). Evaluación de las estrategias de capacitación al personal médico y comunicación de riesgos del programa. In *Insp. Instituto Nacional de Salud Pública Escuela de Salud Pública de México*.
- Combarous, Y. (2017). Endocrine Disruptor Compounds (EDCs) and agriculture: The case of pesticides. *Comptes Rendus - Biologies*, 340(9–10), 406–409. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2017.07.009>
- Consejería Agricultura y Pesca. (2018a). *Consumo de fitosanitarios*

en Andalucía por provincias.1993-2017. Informe de Medioambiente de Andalucía.
<http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/vem/?c=Menu/tema/537>

Consejería Agricultura y Pesca. (2018b). *Consumo de productos fitosanitarios en España por comunidades autónomas*. Informe de Medioambiente de Andalucía.
<http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/vem/?c=Menu/tema/537>

Corcellas, C., Eljarrat, E., & Barceló, D. (2015). Enantiomeric-selective determination of pyrethroids: application to human samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(3), 779–786. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7905-6>

Dalmolin, S. P., Dreon, D. B., Thiesen, F. V., & Dallegrave, E. (2020). Biomarkers of occupational exposure to pesticides: Systematic review of insecticides. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 75(October 2019), 103304.
<https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.103304>

Davoren, M. J., & Schiestl, R. H. (2018). Glyphosate-based herbicides and cancer risk: A post-IARC decision review of potential mechanisms, policy and avenues of research. *Carcinogenesis*, 39(10), 1207–1215.
<https://doi.org/10.1093/carcin/bgy105>

Delgado, P., Isaac, C., & Muñoz, A. (2015). NTP 1033 Productos fitosanitarios: prevención de riesgos durante su uso. *INSHT*, 1–8.
http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/NTP/NTP/Ficheros/1031a1042/NTP_1033.pdf

Doménech, J. (2004). Plaguicidas: Sus efectos en la salud humana. *Elsevier*, 23, 108–114.

Domingo-Relloso, A., Grau-Perez, M., Briongos-Figuero, L., Gomez-Ariza, J. L., Garcia-Barrera, T., Dueñas-Laita, A., Bobb, J. F., Chaves, F. J., Kioumourtzoglou, M. A., Navas-Acien, A., Redon-Mas, J., Martin-Escudero, J. C., & Tellez-

- Plaza, M. (2019). The association of urine metals and metal mixtures with cardiovascular incidence in an adult population from Spain: The Hortega Follow-Up Study. *International Journal of Epidemiology*, 48(6), 1839–1849. <https://doi.org/10.1093/ije/dyz061>
- ECHA. (2017). *Glyphosate not classified as a carcinogen by ECHA*. WEBPAGE. <https://echa.europa.eu/es/-/glyphosate-not-classified-as-a-carcinogen-by-echa>
- EFSA. (2014). Guidance on the assessment of exposure of operators, workers, residents and bystanders in risk assessment for plant protection products. *EFSA Journal*, 12(10), 1–55. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3874>
- Europea, U. (2009). *Reglamento (CE) n°1107/del parlamento europeo y del consejo de 21 de Octubre de 2009 Relativo a la comercialización de productos fitosanitarios y por el que se derogan las Directivas 79/117/CEE y 91/414/CEE del Consejo*. 1–50.
- FAO, OIT, & UITA. (2007). *Trabajadores Agrícolas y su contribucion a la agricultura y el desarrollo rural sostenible*.
- Fernandez, D., Mancipe, L. C., & Diana, G. (2010). INTOXICACIÓN POR ORGANOFOSFORADOS Introducción Plaguicidas. *Revista*, 18(49), 84–92. <http://www.scielo.org.co/pdf/med/v18n1/v18n1a09.pdf>
- Ghosh, R., Banerjee, B., Das, T., Jana, K., & Choudhury, S. M. (2018). Antigonadal and endocrine-disrupting activities of lambda cyhalothrin in female rats and its attenuation by taurine. *Toxicology and Industrial Health*, 34(3), 146–157. <https://doi.org/10.1177/0748233717742291>
- González-Alzaga, B., Lacasaña, M., Aguilar-Garduño, C., Rodríguez-Barranco, M., Ballester, F., Rebagliato, M., & Hernández, A. F. (2014). A systematic review of neurodevelopmental effects of prenatal and postnatal organophosphate pesticide exposure. *Toxicology Letters*, 230(2), 104–121. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2013.11.019>

- Gonzalez, V., Huen, K., Venkat, S., Pratt, K., Xiang, P., Harley, K. G., Kogut, K., Trujillo, C. M., Bradman, A., Eskenazi, B., & Holland, N. T. (2012). Cholinesterase and paraoxonase (PON1) enzyme activities in MexicanAmerican mothers and children from an agricultural community. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 22(6), 641–648. <https://doi.org/10.1038/jes.2012.61>
- Hernández, A. F., Bennekou, S. H., Hart, A., Mohimont, L., & Wolterink, G. (2020). Mechanisms underlying disruptive effects of pesticides on the thyroid function. *Current Opinion in Toxicology*, 19(Table 1), 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2019.10.003>
- Hilgert Jacobsen-Pereira, C., dos Santos, C. R., Troina Maraslis, F., Pimentel, L., Feijó, A. J. L., Iomara Silva, C., de Medeiros, G. da S., Costa Zeferino, R., Curi Pedrosa, R., & Weidner Maluf, S. (2018). Markers of genotoxicity and oxidative stress in farmers exposed to pesticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148(May 2017), 177–183. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.10.004>
- INSSBT. (2017). *Prevención de Riesgos durante el uso de productos fotosanitarios* (INSSBT (ed.)). [http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Instituto/Noticias/Noticias_INSHT/2018/Ficheros/Prevencion de riesgos fitosanitarios.pdf](http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Instituto/Noticias/Noticias_INSHT/2018/Ficheros/Prevencion%20de%20riesgos%20fitosanitarios.pdf)
- IRAC. (2020). IRAC Mode of Action Classification Scheme. *Insecticide Resistance Action Committee, February*, 1–23.
- Joshaghani, H. R., Ahmadi, A. R., & Mansourian, A. R. (2007). Effects of occupational exposure in pesticide plant on workers' serum and erythrocyte cholinesterase activity. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 20(4), 381–385. <https://doi.org/10.2478/v10001-007-0039-8>
- Kemp, M., Young-Mi, G., & Jones, D. P. (2008). Non-equilibrium thermodynamics of thiol/disulfide redox systems: A perspective on redox systems biology. *Free Radical Biology & Medicine*, 44(6), 921–937.

<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.11.008>

- Kim, K. H., Kabir, E., & Jahan, S. A. (2017). Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of the Total Environment*, 575, 525–535.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.009>
- Lei, W., Wang, D. D., Dou, T. Y., Hou, J., Feng, L., Yin, H., Luo, Q., Sun, J., Ge, G. B., & Yang, L. (2017). Assessment of the inhibitory effects of pyrethroids against human carboxylesterases. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 321, 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.02.018>
- MAPA. (2018). Encuesta de Comercialización de Productos Fitosanitarios 2018. *Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación*, 1–6.
- Martín-Reina, J., Duarte, J. A., Cerrillos, L., Bautista, J. D., & Moreno, I. (2017). Insecticide Reproductive Toxicity Profile: Organophosphate, Carbamate and Pyrethroids. *Journal of Toxins*, 4(1), 1–7. <https://doi.org/10.13188/2328-1723.1000019>
- Martinez, D. A., Loening, U. E., & Graham, M. C. (2018). Impacts of glyphosate-based herbicides on disease resistance and health of crops: a review. *Environmental Sciences Europe*, 30(1).
<https://doi.org/10.1186/s12302-018-0131-7>
- Ministerio de Agricultura; Pesca y Alimentación. (2017). *Encuesta de Comercialización de Productos Fitosanitarios 2017*. Subsecretaría. Subdirección General de Análisis, Coordinación y Estadística. 1–6.
<https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/estadisticas-medios-produccion/fitosanitarios.aspx>
- Ministerio de la Presidencia. (1984). Real Decreto 3349/1983, de 30 de Noviembre, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la fabricación, comercialización y utilización de plaguicidas. *B.O.E., Disposicio*, 1850–1857.
<http://www.boe.es/boe/dias/1984/01/24/index.php>
- Monroy, C. M., Cortés, A. C., Sicard, D. M., & De Restrepo, H. G.

- (2005). Citotoxicidad y genotoxicidad en células humanas expuestas in vitro a glifosato. *Biomédica*, 25(3), 335. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v25i3.1358>
- Mostafalou, S., & Abdollahi, M. (2013). Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 268(2), 157–177. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2013.01.025>
- OMS, & FAO. (2014). *Código Internacional de Conducta para la Gestión de Plaguicidas*. <https://doi.org/13604S/1/12.14>
- Ortiz Hernández, M. L., Sánchez Salinas, E., Folch Mallol, J. L., Olvera Velona, A., & Dantan González, E. (2017). Los Plaguicidas en México. Aspectos Generales, toxicológicos y ambientales. In *Universidad Autónoma del Estado de Morelos* (Vol. 53, Issue 9).
- Pearson, J. N., Patel, M., Campus, A. M., & Campus, A. M. (2017). The role of oxidative stress in organophosphate and nerve agent. *Ann N Y Acad Sci Ann N Y Acad Sci .*, 1378(1), 17–24. <https://doi.org/10.1111/nyas.13115>.The
- Pereira, L. C., de Souza, A. O., Bernardes, M. F. F., Pazin, M., Tasso, M. J., Pereira, P. H., & Dorta, D. J. (2015). A perspective on the potential risks of emerging contaminants to human and environmental health. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(18), 13800–13823. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4896-6>
- Qin, Y. Y., Leung, C. K. M., Lin, C. K., & Wong, M. H. (2015). The associations between metals/metalloids concentrations in blood plasma of Hong Kong residents and their seafood diet, smoking habit, body mass index and age. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(17), 13204–13211. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4417-7>
- Roldán-Tapia, L., Parrón, T., & Sánchez-Santed, F. (2005). Neuropsychological effects of long-term exposure to organophosphate pesticides. *Neurotoxicology and Teratology*, 27(2), 259–266. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2004.12.002>

- Saillenfait, A. M., Ndiaye, D., & Sabaté, J. P. (2016). The estrogenic and androgenic potential of pyrethroids in vitro. Review. *Toxicology in Vitro*, *34*, 321–332. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.02.020>
- Salazar-López, N. J., & Aldana Madrid, M. L. (2011). Herbicida Glifosato: Usos, Toxicidad Y Regulación. *BIOtecnia*, *13*(2), 23. <https://doi.org/10.18633/bt.v13i2.83>
- Sánchez-Santed, F., Colomina, M. T., & Herrero Hernández, E. (2016). Organophosphate pesticide exposure and neurodegeneration. *Cortex*, *74*, 417–426. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2015.10.003>
- Sanidad, M. de. (2017). *CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA ESTIMACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A PRODUCTOS FITOSANITARIOS DE LOS OPERARIOS, TRABAJADORES, RESIDENTES Y TRANSEUNTES*. 1–28.
- Scott, J. G. (2019). Life and death at the voltage-sensitive sodium channel: Evolution in response to insecticide use. *Annual Review of Entomology*, *64*, 243–257. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011118-112420>
- Silberman, J., & Taylor, A. (2018). Carbamate Toxicity. In *StatPearls*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29489157>
- Singh, D., Irani, D., Bhagat, S., & Vanage, G. (2020). Cypermethrin exposure during perinatal period affects fetal development and impairs reproductive functions of F1 female rats. *Science of the Total Environment*, *707*, 135945. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135945>
- Tarazona, J. V., Court-Marques, D., Tiramani, M., Reich, H., Pfeil, R., Istace, F., & Crivellente, F. (2017). Glyphosate toxicity and carcinogenicity: a review of the scientific basis of the European Union assessment and its differences with IARC. *Archives of Toxicology*, *91*(8), 2723–2743. <https://doi.org/10.1007/s00204-017-1962-5>
- UE. (2014). *REGULATION (EU) No 528/2012 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL OF 22*

MAY 2012 CONCERNING THE MAKING AVAILABLE ON THE MARKET AND USE OF BIOCIDAL PRODUCTS.
1881(june 2012), 1–5. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006R1881:20100701:EN:PDF>

- Vabre, P., Gatimel, N., Moreau, J., Gayraud, V., Picard-Hagen, N., Parinaud, J., & Leandri, R. D. (2017). Environmental pollutants, a possible etiology for premature ovarian insufficiency: A narrative review of animal and human data. *Environmental Health: A Global Access Science Source*, 16(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12940-017-0242-4>
- Wakeling, E. N., April, P. N., & Atchison, W. D. (2012). Pyrethroids and their effects on Ion Channels. In R.P. Soundararajan (Ed.), *Advances in Chemical and Botanical Pesticides: Vol. i* (Issue tourism). <https://doi.org/10.5772/2609>
- Želježić, D., & Perković, P. (2011). Uporaba pesticida i postojeće pravne odredbe za njezinu regulaciju. *Sigurnost*, 53(2), 141–150.

II. JUSTIFICACION y OBJETIVOS

Como se ha pretendido exponer en la Introducción, podríamos decir que los contaminantes ambientales son una seria amenaza para la salud humana, siendo un problema crítico de salud pública que necesita la implementación de medidas de protección, prevención e información. Atendiendo a lo descrito en la introducción, y partiendo de la hipótesis de que la exposición a plaguicidas es peligrosa para la salud de las personas, tanto en su uso directo, como en la exposición indirecta, hemos querido realizar un estudio de investigación en mujeres que se dedican a la recolección de frutos y verduras, “a cielo abierto”, dada su mayor vulnerabilidad, por los siguientes motivos:

- i) Porque en la recolección no se tiene la noción de peligrosidad de los plaguicidas aplicados anteriormente. Cuando se recoge, sí se tiene en cuenta el tiempo de espera indicado por el fabricante, pero no se tiene en cuenta el producto químico que se pudiera desprender en la recolección.
- ii) Porque de acuerdo con el punto anterior, de manera general no se utilizan equipos de protección individual, como si se estuvieran aplicando biocidas.
- iii) Porque, centrándonos en la mujer trabajadora expuesta a estos compuestos, más vulnerable a los posibles efectos perjudiciales de los plaguicidas, estaremos estudiando como afecta esta exposición a la fertilidad, procreación y desarrollo de la descendencia.
- iv) Porque en España existen muy pocos estudios epidemiológicos que investiguen la exposición laboral a plaguicidas de manera indirecta, y, los que existen, están centrados en trabajadores de invernaderos en Almería, expuestos durante los períodos de aplicación (**García García et al., 2016; Lozano-Paniagua et al., 2018**).
- v) Para intentar ayudar a los profesionales de la salud a detectar mejor a

los pacientes en riesgo de sufrir algunas de estas patologías y poder prevenir y/o limitar los factores agravantes y tratarlos lo antes posible.

El estudio se va a llevar a cabo en mujeres trabajadoras de Marinaleda (Sevilla). Marinaleda es un pueblo situado en la provincia de Sevilla, en la cuenca del Genil en la comarca de Sierra Sur. Tiene una extensión de 24,8 km² y una población total de 2.665 habitantes. De la población total, un 65,2% se encuentran en edades comprendidas entre los 20 y los 65 años, de los cuales 1.299 son mujeres, representando un 49% de la población.

El motivo de esta elección se fundamenta en que Marinaleda presenta una organización política y social, que la hacen única e idónea para la consecución de los objetivos de este trabajo. Algunas de sus características principales son:

- a) La población de Marinaleda es eminentemente agrícola, en las que las mujeres son las encargadas de recolectar las frutas y verduras.
- b) Se trata de un municipio eminentemente agrícola, cuya economía se basa en la producción agropecuaria.
- c) El sector primario se basa en el trabajo en la finca “El Humoso”.
- d) El sector secundario está basado en la elaboración de productos agrícolas en la cooperativa “Marinaleda SCA” (<https://www.marinaleda.coop/>).
- e) Toda la población tiene un puesto de trabajo.
- f) Existe igualdad de salario para todos, sin importar el puesto que ocupe.

Nota aclaratoria:

La cooperativa “Marinaleda SCA” supone uno de los ejes centrales de actividad en el pueblo. Se trata de una cooperativa existente desde finales de los años 70, controlada por los propios trabajadores.

La finca o cortijo “el Humoso” tiene una extensión de 1.200 hectáreas, situado en la comarca de Sierra Sur, a 11,5 Km de Marinaleda, donde se desarrolla la agricultura.

Según datos de 2015, la agricultura supone una de las principales actividades económicas. Hay tanto cultivos herbáceos, que suponen una superficie de 812 hectáreas, como cultivos leñosos, que tiene una superficie de 1.207 hectáreas. En el caso del cultivo leñoso, el principal cultivo es la aceituna. También hay otros tipos de cultivo, como el pimiento o la alcachofa.

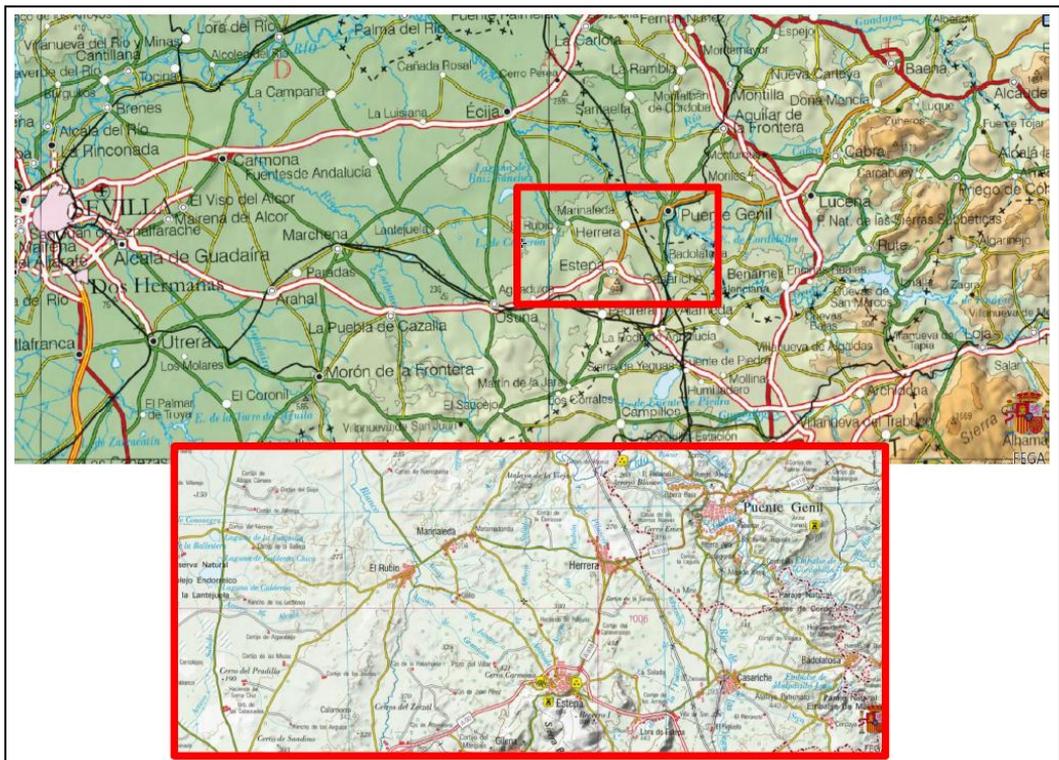


Fig. 1. Localización de Marinaleda. (SIGPAC. MINISTERIO DE AGRICULTURA PESCA Y ALIMENTACION)

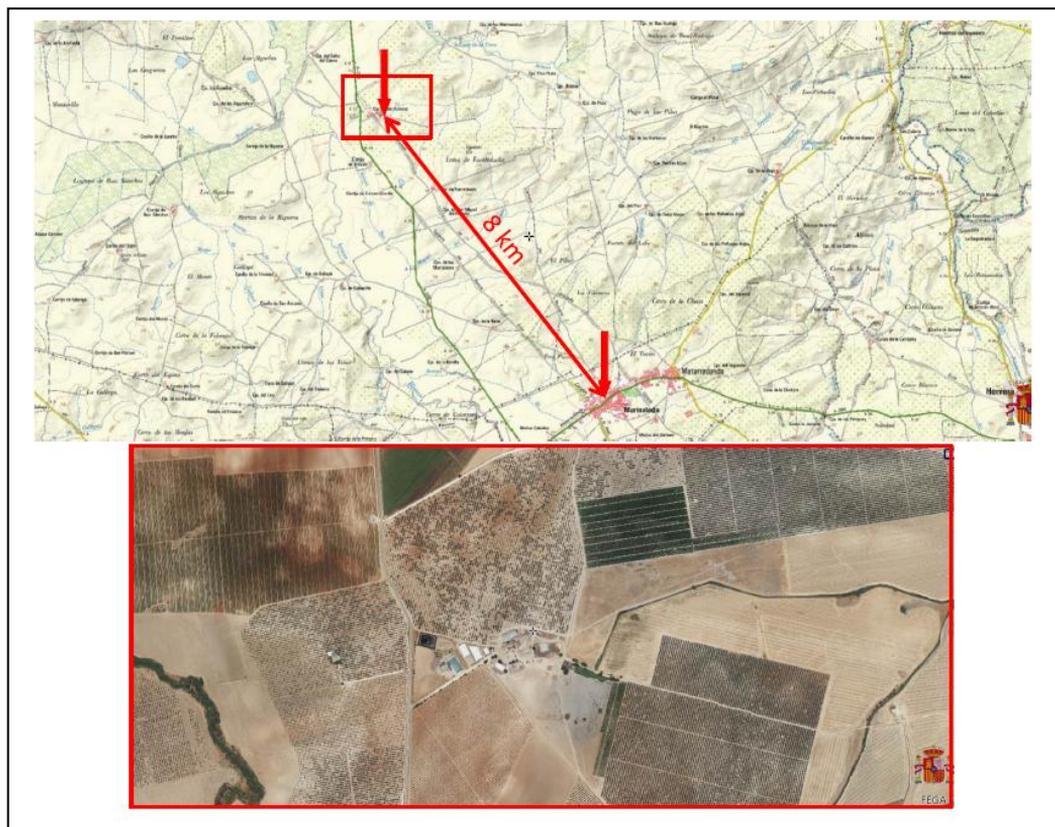


Fig. 2. Distancia Marinaleda-El Humoso y detalle en satélite de las parcelas agrícolas. (SIGPAC. MINISTERIO DE AGRICULTURA PESCA Y ALIMENTACION)

OBJETIVOS

El objetivo principal de este estudio ha sido el de comprobar si las trabajadoras que recogen verduras y frutas en el campo a “cielo abierto” ven alterados sus parámetros biológicos, y en consecuencia su estado de salud, a consecuencia de la aplicación previa de fitosanitarios en los productos recogidos.

Para conseguir este objetivo principal nos hemos apoyado en varios objetivos secundarios:

- a) Realizar un análisis sobre los mecanismos tóxicos de los plaguicidas más utilizados, así como los efectos que pueden generar en trabajadores con exposición indirecta, poniendo especial atención a mujeres y su reentrada en cultivos, tras la aplicación para la recogida de futas y vegetales.
- b) Comprobar, mediante análisis, en qué estado se encontraban algunos valores clínicos de las trabajadoras con las que hemos llevado a cabo el estudio: marcadores de la función renal, marcadores de la función hepática, hemos analizado la colinesterasas, las hormonas tiroideas, las hormonas relacionadas con la función tiroidea y las hormonas relacionadas con la reproducción: FSH, LH y AMH. Todo esto acompañado de una encuesta epidemiológica.
- c) Estudiar los marcadores de estrés oxidativo en lípidos, proteínas y ADN.
- d) Profundizar en el análisis de los valores renales, buscando posibles daños renales tempranos, relacionados con la ocupación y el medioambiente en el que se encuentran las mujeres.
- e) Validar un método para la determinación de glifosato y su metabolito (AMPA), en orina, mediante UPLC MS/MS
- f) Determinar el grado de exposición a glifosato, analizando las muestras de orina del grupo de mujeres.
- g) Determinar el valor de metales y metales pesados en sangre en el grupo de mujeres con el que se ha llevado a cabo el estudio.

BIBLIOGRAFIA

- García García, M. C., Céspedes López, A. J., Pérez Parra, J. J., & Lorenzo, P. (2016). *El sistema de producción hortícola protegido de la provincia de Almería*. July, 1–180.
- Lozano-Paniagua, D., Parrón, T., Alarcón, R., Requena, M., Gil, F., López-Guarnido, O., Lacasaña, M., & Hernández, A. F. (2018). Biomarkers of oxidative stress in blood of workers exposed to non-cholinesterase inhibiting pesticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 162(June), 121–128. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.06.074>

III. MATERIAL Y MÉTODO

1. Selección de la población de estudio

La población incluida en el presente estudio ha consistido en un grupo de mujeres trabajadoras (40 mujeres) del pueblo sevillano de Marinaleda dedicadas a la recogida y manipulación de frutas y verduras.

Marinaleda es un pueblo situado en la provincia de Sevilla, en la cuenca del Genil en la comarca de Sierra Sur. Tiene una extensión de 24,8 km² y una población total de 2.665 habitantes. De la población total, un 65'2% se encuentran en edades comprendidas entre los 20 y los 65 años, de los cuales 1.299 son mujeres, representando un 49% de la población.

La elección del pueblo se basa en su organización política y social, que la hacen única e idónea para la consecución de los objetivos de este trabajo. Algunas de sus características principales son:

- Se trata de un municipio eminentemente agrícola, cuya economía se basa en la producción agropecuaria.
 - o El sector primario se basa en el trabajo en la finca “El Humoso”.
 - o El sector secundario está basado en la elaboración de productos agrícolas en la cooperativa “Marinaleda SCA”.
- Toda la población tiene un puesto de trabajo.

- Existe igualdad de salario para todos, sin importar el puesto que ocupe.

La cooperativa “Marinaleda SCA” supone uno de los ejes centrales de actividad en el pueblo. Se trata de una cooperativa existente desde finales de los años 70, controlada por los propios trabajadores.

La finca o cortijo “el Humoso” tiene una extensión de 1.200 hectáreas, situado en la comarca de Sierra Sur a 11’5 km de Marinaleda donde se desarrolla la agricultura.

Según datos de 2015, la agricultura supone una de las principales actividades económicas. Hay tanto cultivos herbáceos, que suponen una superficie de 812 hectáreas, como cultivos leñosos, que tiene una superficie de 1207 hectáreas. En el caso del cultivo leñoso, el principal cultivo es la aceituna. También hay otros tipos como el pimiento o la alcachofa.

En este estudio, concretamente, contamos con la participación de una muestra (n = 40) de mujeres de esta población, comprendidas en un rango de edad entre 18 y 45 años, que trabajan en la recolección de futas y verduras en la finca “El Humoso” y en la cooperativa “Marinaleda SCA”.

Los criterios de inclusión que se utilizaron fueron: mujeres cuya edad estuviera comprendida entre 18 y 45 años; residentes en Marinaleda durante al menos los últimos 10 años, y que hubieran firmado el informe de consentimiento y completado el cuestionario

epidemiológico. Se excluyeron del estudio aquellas mujeres con hepatopatías o en tratamiento con anticoagulantes orales, ya que pueden interaccionar con los plaguicidas. Además de aquellas que usen anticonceptivos hormonales y las que no tengan un ciclo menstrual regular. Nos centramos en limitar la edad para focalizar el objetivo de centrarnos en el periodo fértil de estas trabajadoras expuestas de forma crónica a cantidades traza de plaguicidas

Las participantes (n = 40) se dividieron en dos grupos, aquellas que durante el estudio trabajan en la cooperativa (n = 20) y las que trabajan en la finca (n = 20), encargadas de la recolección. Durante los doce meses en los que se desarrolla el estudio, dividido en cuatro tomas de muestras, una inicial y otras tres de forma trimestral, algunas de ellas han pasado de trabajar en la finca a hacerlo en la cooperativa o al revés.

Inicialmente, se realizó una entrevista con las mujeres en la que se les informa sobre los objetivos del proyecto y se procedió a la firma del consentimiento informado. Posteriormente, se realizaron cuatro extracciones de sangre y toma de muestra de orina. La primera de las extracciones se realizó en octubre del 2017, la segunda, tercera y cuarta se realizaron en 2018 (febrero, junio y octubre).

En cada una de las tomas de muestras y en la entrevista inicial se llevaron a cabo encuestas epidemiológicas sobre la salud general de las mujeres. Estas encuestas fueron desarrolladas por el equipo de investigación para este proyecto en concreto, con el

asesoramiento de la Dra. Horno, médico del trabajo y colaboradora del mismo.

En la primera de las encuestas se buscaba establecer un conocimiento base sobre cada una de ellas, desde lugar de procedencia y residencia, hasta problemas de salud, pasando por hábitos alimenticios y datos laborales que pudieran tener relevancia en el estudio. Los otros cuatro cuestionarios, realizados durante la toma de muestras, estaban más enfocados a problemas de salud tanto de carácter reciente como pasados o antecedentes familiares de algún tipo, así como posibles cambios observados entre tomas, que se pudieran relacionar con la exposición a los plaguicidas.

2. Análisis hematológicos

Los análisis hematológicos se han llevado a cabo en sangre total. La extracción de sangre se realizó en tubos de extracción por el sistema de vacío BD Vacutainer®: El tubo con contenido de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), el anticoagulante de elección para las pruebas de hematología, se destinó para las determinaciones de hemograma, con sangre total.

La hematología se llevó a cabo con un analizador hematológico automatizado Sysmex XN-100™ (Sysmex España, Barcelona) en el laboratorio del Hospital Comarcal de Osuna (Servicio Andaluz de Salud), según el método optimizado por el hospital. Los parámetros analizados han sido:

Porcentaje de Linfocitos y recuento (%)

Porcentaje de Hematíes y recuento (%)

Hemoglobina (g/dl)

Hematocrito (%)

Volumen Corpuscular medio

Hemoglobina Corpuscular media

Hematocrito Corpuscular medio

Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{l}$).

Volumen plaquetario medio

Distribución plaquetaria

3. Análisis bioquímicos

Los análisis bioquímicos se han llevado a cabo en suero. Al igual que en el estudio anterior, la extracción de sangre se realizó en tubos extracción por el sistema de vacío BD Vacutainer®, pero en este caso los tubos no contienen anticoagulante (EDTA), conteniendo en su lugar un activador de la coagulación, lo cual nos permite obtener el suero tras un periodo de 30 min para la coagulación y centrifugación a $3.000 \times g$ durante 5 min.

El suero así obtenido se destinó para el análisis bioquímico general (Transaminasas hepáticas (GPT/ALT y GOT/AST), marcadores de la función renal (urea y creatinina), y marcadores de daño muscular (creatina quinasa).

Estas pruebas fueron realizadas mediante técnicas espectrofotométricas visible-ultravioleta en un equipo automatizado Vital Scientific-Selectra XL (Vital Scientific, Brentwood, USA), en colaboración con el laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Comarcal de Osuna (Servicio Andaluz de Salud) acorde a los métodos validados en dicho hospital.

La transaminasa hepática (GPT/ALT) se ha determinado de acuerdo con el método de Murray R. Alanine aminotransferase. Kaplan A et al Clin Chem The CV Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1088-1090 (L. Kaplan et al., 1984) La alanina aminotrasferasa (ALT) inicialmente llamada transaminasa glutámico pirúvica (GPT) cataliza la transferencia reversible de un grupo amino de la alanina al α -cetoglutarato con formación de glutamato y piruvato. El piruvato producido es reducido a lactato en presencia de lactato deshidrogenasa (LDH) y NADH:

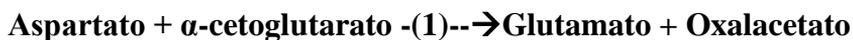


(1): ALT; (2): LDH

La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinado fotometricamente, es proporcional a la concentración catalítica de ALT en la muestra ensayada

La GOT/AST se ha determinado de acuerdo con el método de Murray R. Aspartate aminotransferrase. Kaplan A et al Clin Chem The CV Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1112-

116 (L. Kaplan et al., 1984). La aspartato aminotransferasa (AST) inicialmente llamada transaminasa glutamato oxaloacética (GOT) cataliza la transferencia reversible de un grupo amino del aspartato al α -cetoglutarato con formación de glutamato y oxalacetato. El oxalacetato producido es reducido a malato en presencia de malato deshidrogenasa (MDH) y NADH:

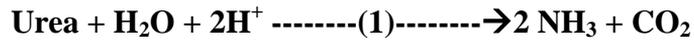


(1): AST; (2): MDH

La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinada fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de AST en la muestra ensayada

- Urea

Los niveles de urea en suero se ha analizado por el método de la ureasa descrito por Kaplan (A. Kaplan, 1969), con las correspondientes modificaciones para su adaptación al autoanalizador Vital Scientific-Selectra XL (Vital Scientific, Brentwood, USA). El método se fundamenta en la descomposición de la urea por la ureasa en dióxido de carbono (CO₂) y amoníaco (NH₃). El amoniaco formado se une al α -cetoglutarato por acción de la glutamato-deshidrogenasa (GLDH) con la oxidación paralela del NADH a NAD⁺:



(1): Ureasa; (2): GLDH

La disminución de la concentración de NADH o el aumento de la concentración de NAD^+ en el medio de reacción es proporcional a la concentración de urea de la muestra ensayada.

- Creatinina

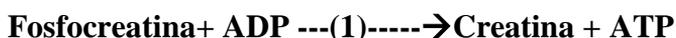
Los niveles de creatinina en suero se han analizado por el método de Jaffe de 1971 y Kaplan ([Delanghe & Speeckaert, 2011](#); [L. Kaplan et al., 1984](#)) adecuadamente modificado para su adaptación al Vital Scientific-Selectra XL (Vital Scientific, Brentwood, USA). El método se fundamenta en la reacción de la creatinina en condiciones alcalinas ($\text{pH} > 12$) con los iones picrato y la consiguiente formación de un complejo rojizo. La velocidad de formación del complejo medido a través del aumento de la absorbancia a $\lambda = 492 \text{ nm}$, en un intervalo de tiempo prefijado es proporcional a la concentración de creatinina en la muestra analizada.



($\text{pH} > 12$; temperatura: 37°C)

- Creatina quinasa

Se determinó por el método de (L. Kaplan et al., 1984) adecuadamente modificado para su adaptación al equipo. La creatina quinasa (CK) cataliza la transferencia reversible de un grupo fosfato de la fosfocreatina al ADP. Esta reacción se acopla con otras catalizadas por la hexoquinasa (HK) y por la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6F-DH):



(1): CK; (2): HK; (3): G6F-DH

La velocidad de formación de NADPH, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de CK en la muestra ensayada.

4. Análisis de hormonas

Al igual que los estudios anteriores, la extracción de sangre se realizó en tubos extracción por sistema de vacío BD Vacutainer®. Uno de los tubos contenía un activador de la coagulación, por lo que, posteriormente se pudo separar el suero del resto de componentes sanguíneos por centrifugación. Este tubo, se destinó para el análisis de hormonas.

Las hormonas tiroideas (TSH y T4L) y hormonas gonadotrópicas (FSH y LH), se analizaron con equipo automático, autoanalizador CL-1000i (Mindrai, Shenzhen, China), mediante

inmunoensayo-quimioluminiscencia. La hormona antimulleriana AMH se determinó mediante técnica ELISA con el kit AMH gen II (Beckman Coulter, USA) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

5. Peroxidación lipídica

La extracción de sangre destinada a este estudio se realizó en tubos BD Vacutainer® que contenían un gel coagulante separador, que se destinó a la separación de la sangre con la finalidad de obtener suero. Para ello las muestras se centrifugaron hasta su completa separación, obteniendo una fase de suero y otra de paquete globular y una interfase, en la que se encontraban el gel. De las muestras de suero obtenidas, se hicieron dos alícuotas de 2ml, en tubos eppendorf. Todas las muestras fueron conservadas en un congelador a -78°C hasta su utilización.

Para llevar a cabo la determinación de la oxidación lipídica, se siguió el protocolo de Esterbauer y Cheeseman ([Esterbauer & Cheeseman, 1990](#)), el cual mide los niveles de malondialdehído (MDA) mediante el método del ácido tiobarbitúrico. Los reactivos utilizados en esta prueba fueron: ácido acético al 20%, una disolución acuosa 40 μ M de TEP (1,1,3,3-tetraetoxy-propano, 97%), SDS (dodecilsultafo sódico) al 8%, butilhidroxitolueno (BHT) al 1% y ácido tiobarbitúrico (ATB), preparado al 0,8% (extemporáneo). Los resultados obtenidos se expresan en nmol/mg proteínas.

6. Determinación del grado de exposición a glifosato.

Las muestras de las participantes fueron recogidas de su primera orina de la mañana. Los envases fueron entregados por parte de nuestro equipo de investigación, de una toma para su utilización en la siguiente. Las muestras de orina fueron congeladas hasta la validación del método

7. Validación de método de determinación de glifosato y AMPA en orina por UPLC-MS/MS

Para llevar a cabo la validación del método se utilizaron muestras de orina sintética libre de glifosato y su metabolito AMPA, ambos objeto de este estudio. Se ha adaptado el método en agua de la nota técnica de Waters y el validado por ([Demonte et al., 2018](#)) por UPLC-MS/MS en muestras de agua.

Fase de extracción y derivatización

Tanto el glifosato como su metabolito AMPA son compuestos muy polares que requieren de una derivatización previa para poder ser detectados por UPLC-MS/MS. En la Figura 8 se puede observar la reacción de derivatización con FMOC-Cl, el cual es el reactivo más usado por reaccionar a temperatura ambiente tanto con aminas primarias como aminas secundarias, sin necesidad de oxidación previa.

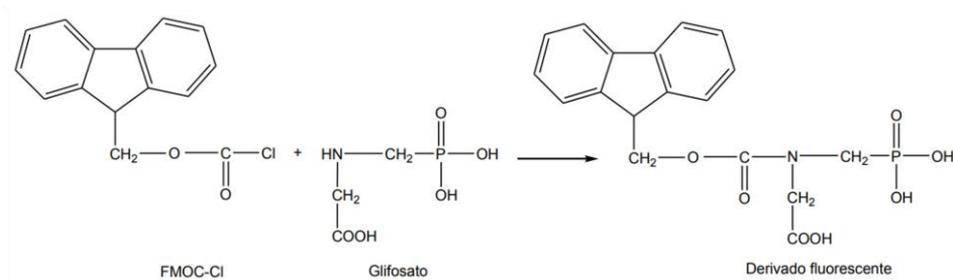


Figura 1. Reacción de derivatización entre glifosato y Fmoc.

Debido a este mecanismo de reacción, uno de los parámetros que tuvimos que optimizar fue la concentración de Fmoc, debido a la presencia en la orina de una alta concentración de compuestos con grupos amino en su estructura (urea y ácido úrico). Además se optimizaron la cantidad de orina y el estado de la muestra (líquido vs liofilizado).

La metodología adoptada finalmente consta de dos etapas y se describe a continuación:

1. Pre-tratamiento de la muestra:

Se toma 1 ml de muestra de orina previamente homogenizada y se le adicionan las concentraciones correspondientes de cada uno de los analitos (glifosato y AMPA) como patrones internos. Posteriormente se liofiliza durante 24 horas.

2. Etapa de derivatización:

Esta etapa comienza con la adición de buffer borato 5% para lograr un pH de 9 en el cual se desarrolla la reacción de derivatización, seguidamente el reactivo derivatizante, FMOC a una concentración optimizada de 8 mg/mL. Se deja reaccionar treinta minutos a 60°C. Una vez pasado el tiempo, se añaden 250 µL de HCl 6M, pH 1 para terminar la reacción de derivatización. A continuación, se centrifugan las muestras y se toma una alícuota y se filtra con filtros de jeringa de 0,2 µm. Tras este paso, las muestras están en condiciones de ser inyectadas en el equipo UHPLC-MS/MS empleado.

Condiciones Cromatográficas

El análisis LC-MS/MS se realizó utilizando un cromatógrafo líquido de ultra alta resolución (ACQUITY UPLC™, Waters, Milford, MA, EE.UU.) acoplado a un espectrómetro de masa triple cuadrupolo (TQD, Waters Micromass, UK) equipado con una fuente de ionización por electrospray (ESI) capaz de operar en modo positivo y negativo.

Para la separación de los analitos se utilizó una columna Acquity UPLC BEH® C18 (tamaño de partícula 1,7 µm, 2,1 x 50 mm); la fase móvil consiste en agua (A) y H₂O:ACN (95:5, B) utilizando acetato de amonio como modificadores; y se comparó

ESI en modo positivo y negativo. La velocidad de flujo fue de 0,5 mL/min y la temperatura de la columna fue 40°C.

Se seleccionó ESI en modo positivo ya que se obtuvo mayor sensibilidad. En la Tabla 1 se muestran las condiciones de operación de la fuente de ionización.

Tabla 1. Condiciones de operación de la fuente de ionización

PARÁMETROS FUENTE DE IONIZACIÓN	
Temperatura de la fuente	140 °C
Temperatura de desolvatación	500 °C
Caudal de gas de desolvatación	600 L/h
Caudal de gas de cono	15 L/h
Voltaje de capilar	1 kV
Voltaje de extractor	1 V

La selección de las condiciones del voltaje del cono para generar el ion precursor y las energías de colisión para obtener cada fragmento específico como así también los iones seleccionados se realizó empleando ensayos de infusión y datos bibliográficos.

El ion precursor, los iones fragmento para cada compuesto específico, junto con sus respectivos voltajes de cono y energías de colisión se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Ion molecular, valores de m/z de los fragmentos, voltajes de cono y energías de colisión para cada compuesto específico.

Analito m/z	Ion molecular (Cono)	Producto 1 m/z (CE)	Producto 2 m/z (CE)
Glifosato- FMOc	392.0 (20V)	88.1 (30V)	214.1 (10V)
AMPA- FMOc	334.0 (20V)	112.1 (15V)	179.1 (20V)

Una vez desarrollado el método se pasó a validarlo para verificar que cumple con los requisitos necesarios para su posterior aplicación. Así, el método propuesto fue validado tomando en cuenta las pautas para la validación de métodos analíticos (ICH, 2005) con respecto a los parámetros de linealidad, sensibilidad, precisión y recuperación.

8. Determinación de Colinesterasa Eritrocitaria y Plasmática.

La actividad colinesterasa se llevó a cabo en sangre total (eritrocitaria) y en plasma (Plasmática), mediante el método colorimétrico de (Ellman et al., 1961) adaptado a microplaca por Clemente et al (2010), utilizando para ello un lector de placas visible- ultravioleta.

9. Determinación de Oxidación Proteica.

La determinación del nivel de oxidación de proteínas se ha llevado a cabo en plasma mediante el método de Levine y colaboradores (Levine et al., 1990), cuantificándose

espectrofotométricamente la cantidad de grupos carbonilo (grupos carbonilos/mg proteína).

En este método, la 2,4-Dinitrofenilhidrazina (DNPH) – también llamado Reactivo de Brady- se transforma en 2-4Difenilhidrazona cuando reacciona con los grupos carbonilos de las proteínas en medio acidificado.

El análisis se lleva a cabo en un espectrofotómetro uv, aplicando la ley de Lambert-Beer para determinar las concentraciones de grupos carbonilos/mg proteína.

10. Determinación de Oxidación de ADN

La oxidación de ADN se ha llevado a cabo en sangre total (anticoagulante EDTA) mediante el kit Oxiselect™ de cuantificación de daño oxidativo de ADN (Cells Biolabs Inc San Diego CA, EEUU) siguiendo el protocolo, optimizado de manera previa en nuestro laboratorio se obtienen los sitios apurínicos/apirimidínicos por 100000 pares de bases. Los análisis se llevaron a cabo, pero no pudimos obtener resultados, quizás porque fueron los últimos ensayos practicados y la sangre, aunque congelada a muy baja temperatura, pudo haber sufrido daño en el ADN.

11. Daño renal temprano

El daño renal se ha determinado en muestras de orina, en colaboración con la Universidad de Salamanca. Determinándose como marcadores de daño renal temprano, las actividades N-acetil-

β -D-glucosaminidasa (NAG), y lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrofilos (NGAL) así como los niveles de Albumina, mediante métodos optimizados por los colegas de la Universidad de Salamanca.

11. Determinación de Metales

Estas determinaciones se realizaron a partir de la sangre total. Las determinaciones se han realizado en el laboratorio de la Universidad de La Laguna (Tenerife). Brevemente, las muestras se han tratado con Nítrico y peróxido de hidrogeno, previamente a la incineración en microondas. Una vez incineradas las muestras, se analizaron por espectrometría de emisión óptica de acoplamiento inductivo a plasma (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry, ICP-OES) para determinar los metales, utilizando un equipo de Thermo Scientific, modelo ICAP 6300 Duo. Las condiciones del equipo fueron las siguientes: potencia, 1150 W; flujo de gas nebulizado 0.5 L/min; inyección de la muestra a la bomba de flujo: 50 rpm; tiempo de estabilización: tiempo, 0 s.

BIBLIOGRAFIA

- Delanghe, J. R., & Speeckaert, M. M. (2011). Creatinine determination according to Jaffe - What does it stand for? *NDT Plus*, 4(2), 83–86. <https://doi.org/10.1093/ndtplus/sfq211>
- Demonte, L. D., Michlig, N., Gaggiotti, M., Adam, C. G., Beldoménico, H. R., & Repetti, M. R. (2018). Determination of glyphosate, AMPA and glufosinate in dairy farm water from

Argentina using a simplified UHPLC-MS/MS method. *Science of the Total Environment*, 645, 34–43.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.340>

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88–95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)

Esterbauer, H., & Cheseman, K. H. (1990). Determination of aldehydic lipid peroxidation products : Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in Enzymology*, 186(2552), 407–421. [https://doi.org/doi:10.1016/0076-6879\(90\)86134-h](https://doi.org/doi:10.1016/0076-6879(90)86134-h).

Kaplan, A. (1969). The determination of Urea, Ammonia, and Urease. *Methods of Biochemical Analysis*, 17, 311–324. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9780470110355.ch7>

Kaplan, L., Pesce, A., & Dale, G. (1984). Alanine Aminotransferase. *CLINICAL CHEMISTRY THEORY, ANALYSIS AND CORRELATION*, 2, 1088–1090.

Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A. G., Ahn, B. W., Shaltiel, S., & Stadtman, E. R. (1990). Determination of Carbonyl Content in Oxidatively Modified Proteins. *Methods in Enzymology*, 186(C), 464–478. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)86141-H](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)86141-H)

IV.RESULTADOS

V. DISCUSSION

Teniendo en cuenta que nos marcamos un objetivo principal, apoyado en varios objetivos secundarios, vamos a llevar a cabo la discusión de estos secundarios para concluir con el objetivo principal

En nuestro análisis sobre los mecanismos tóxicos de los plaguicidas más utilizados, así como los efectos que pueden generar en trabajadores con exposición indirecta, poniendo especial atención a mujeres y su reentrada en cultivos, tras la aplicación para la recogida de futas y vegetales, deberíamos considerar que las trabajadoras agrícolas representan un grupo potencialmente vulnerable de acuerdo a la combinación de factores sociales y peligros inherentes al trabajo en sí. Aunque la mayoría de las investigaciones se han centrado en trabajadoras que manipulan, mezclan, aplican y limpian equipos con plaguicidas, queda probado que la población expuesta es mayor, no pudiéndose limitar a trabajadores con contacto directo, sino que también la exposición a bajas concentraciones puede tener efectos adversos sobre la salud **(Monteiro Nassar and Gerardo Ribeiro, 2020)**. Un ejemplo de esto puede ser el presente estudio.

En nuestro trabajo hemos pretendido estudiar la posible relación de exposición laboral y de un entorno rural, al estado de salud de mujeres trabajadoras agrícolas frente a un grupo de mujeres residentes en el mismo entorno rural, pero, laboralmente, no expuestas a estos contaminantes.

Desde el punto de vista ambiental, se ha medido en orina concentraciones de glifosato, como herbicida ampliamente utilizado

(Davoren and Schiestl, 2018) y su metabolito AMPA. En este sentido, también se han determinado la concentración de metales en sangre. Metales, que se pueden encontrar en formulaciones de fitosanitarios, como en el suelo del que se obtienen los cultivos o de algún producto fertilizante.

Para ello se ha llevado a cabo la validación de un método para la detección de glifosato y su metabolito, AMPA, en orina por UPLC-MS/MS, mediante una derivatización previa con FMOC. Un método rápido y sensible que se aplicó a las muestras de sangre obtenidas de orina y, mediante la cual se detectó solamente en una de ellas en uno de los muestreos, aunque el metabolito AMPA no fue detectado.

Una vez aplicado el método validado a la determinación de ambos compuestos a las muestras reales, se ha podido comprobar que, una de ella tenía niveles de glifosato en la orina suficiente para ser cuantificado, siendo este valor detectado, del mismo orden de los detectados en otros países en personas que no se encuentran expuestas directamente al producto (Nova, Calheiros and Silva, 2020) . Estos datos coinciden con publicaciones que indican que este producto es rápidamente metabolizado y excretados por la orina en un periodo entre 4-72 horas tras la exposición (Fernández *et al.*, 2020). En otros estudios se concluye que el GLY es rápidamente excretado y prácticamente no se metaboliza en AMPA (Mcguire *et al.*, 2016) Esto nos lleva a ratificar la posibilidad de una posible exposición ambiental de estas trabajadoras a través de la

aplicación de los plaguicidas en los cultivos aledaños.

En relación a los metales se han detectado niveles por encima del límite de cuantificación de todos los elementos estudiados (Na, K, Al, Mn, Zn, Cu, Pb). Respecto a metales influenciados por la dieta, los niveles de Sodio estuvieron dentro de los rangos normales (140 mmol/L) ([Sumit and Berl, 1998](#)) en los cuatro muestreos llevados a cabo. No se encontraron diferencias significativas entre el grupo NOE y el grupo de mujeres expuestas. Los niveles de K, que también se ven influenciados por la dieta, estuvieron por debajo de los valores normales en ambos grupos (5mmol/L) ([Sterns, Grieff and Bernstein, 2016](#)). Sin embargo, en el grupo de mujeres expuestas, en el periodo comprendido entre el segundo y tercer muestreo, se empleó el fertilizante NPK. Justamente en este periodo hay diferencias significativas en los niveles medidos en los muestreos 2 y 4 ($p < 0.001$), con mayor nivel de K en muestreos de la segunda (4.58 mmol/L) y tercera (4.35 mmol/L) monitorización, cuando el fertilizante NPK se utilizó.

En relación con los niveles de Aluminio en suero, los valores $< 56.6 \mu\text{g/Kg}$ se consideran normales y cuando son mayores a $481 \mu\text{g/Kg}$ pueden estar relacionados con algún tipo de enfermedad ([Fernández-Maestre, 2012](#)). Nuestros resultados son mayores a estos valores ($481 \mu\text{g/Kg}$) principalmente en trabajadoras agrícolas a lo largo del periodo de los cuatro muestreos. Pero solamente en el tercer muestreo se encontraron diferencias significativas entre

trabajadoras expuestas y el grupo NOE ($p < 0.001$) con mayores valores en los agrícolas que en el grupo NOE. El mayor valor en los participantes NOE a lo largo de todo el periodo de muestreo fue detectado en la primera monitorización (1554.7 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) con una gran diferencia significativa cuando se compara con el resto de monitorización ($p < 0.001$). Pero, teniendo en cuenta que, diariamente podemos tener un consumo de Aluminio en la dieta de, entre 5-10 mg (Nordberg *et al.*, 2007), que el aluminio es el tercer elemento encontrado en la corteza de la tierra, (Jaishankar *et al.*, 2014) y que, el material metálico de envasado comúnmente contiene aluminio, (Kremser *et al.*, 2021), nos impide justificar estos valores obtenidos, dado que en estudios donde los trabajadores estuvieron expuestos a diversos plaguicidas, los niveles de los trabajadores expuestos directamente a plaguicidas fueron mayores que los obtenidos en nuestro caso (Alves *et al.*, 2016)

El Mn se asocia a algunos plaguicidas, como, entre otros, el Mancozeb (Rocha *et al.*, 2015; Dórea, 2021). Este metal, se asocia al acero, soldaduras y aleaciones (Park *et al.*, 2015). Los niveles normales de este metal en sangre, se encuentran entre 3.77-14.15 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. En nuestro estudio, todas las muestras estuvieron por encima de los 80 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de sangre. No hubo diferencias significativas entre agricultoras y mujeres no expuestas en los 4 muestreos llevados a cabo, ni en la comparación entre expuestas y NOE, pero sí cabe reseñar que estos valores son mucho mayores que otros valores determinados en estudios similares (Rocha *et al.*,

2015), en los que, agricultores de viñedos presentaron alrededor de 2 µg/Kg en su exposición indirecta a plaguicidas.

En relación a los niveles de Zn en sangre humana, los límites normales se encuentran sobre 1 mg/Kg. Todos los participantes del estudio tuvieron concentraciones de este metal sobre 4 mg/Kg. En estudios de exposición directa a plaguicidas, se observó concentraciones de Zin en sangre, en torno a los 200 mg/Kg (**Alves et al., 2016**). Y, en estudios de exposición indirecta, las concentraciones de este metal rondaron el 1-1.5 mg/Kg (**Rocha et al., 2015**). Además, el Zn está presente en una amplia variedad de alimentos a muy diferentes concentraciones (**EFSA, 2014**), y hay estudios donde se puede comprobar que en alimentos españoles, puede llegar a haber una concentración de Zn de hasta 6.44 mg/Kg (**Rai et al., 2019**) por lo que, las diferencias observadas entre grupos, pudieran deberse a múltiples factores.

Los niveles de Cu en ambos grupos de estudio a lo largo de los cuatro muestreos estuvieron dentro del rango normal (666-1462 µg/Kg) (**Llorente Ballesteros et al., 2017**), a pesar de emplear Oxidocloruro de Cobre (70%) como fertilizante en cultivos de garbanzos y olivar a lo largo de todo el estudio. El Cu es un metal que se encuentra frecuentemente en la dieta (**Wang et al., 2021**). En alimentos procesados procedentes de España, nos podemos encontrar niveles de, hasta 7 mg/Kg de Cu (**Rai et al., 2019**). No se encontraron diferencias significativas entre el grupo de mujeres expuestas y el grupo NOE durante el periodo estudiado.

No hay un rango normal de plumbemia en sangre de acuerdo a sus características toxicas, pero hay un Valor Limite Biológico de plomo en sangre para trabajadores, que se actualiza cada año. El valor limite en 2019 fue de 660 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (INSST, 2019). La exposición a este metal está más relacionada con la contaminación medioambiental, lugares de trabajo industrial y hábitos de consume de tabaco que la exposición a biocidas o fitosanitarios (Ali, Khan and Ilahi, 2019), En comida procesada procedente de España, se ha obtenido niveles de Pb, hasta 7 mg/Kg (González-Martín *et al.*, 2018). En este estudio, todos los resultados obtenidos en ambos grupos a lo largo del estudio estuvieron por debajo de este Índice Biológico de Referencia para el plomo, pero por encima de valores en estudios similares (Rocha *et al.*, 2015) No se detectaron diferencias significativas en los grupos estudiados a lo largo de los diferentes muestreos.

En un estudio realizado en Grecia (Leotsinidis and Kondanis, 1990), en 1990, en un medio rural para evitar contaminación ambiental, se obtuvieron concentraciones de 3840 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de Pb, 187.6 g/Kg de Zn y 10610 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de Cu en pelo del cabello. No son comparables los valores, dado que han pasado muchos años y la concentración obtenida en el cabello no es comparable a la concentración en sangre. Pero, en un estudio publicado en 2016 (Fierens *et al.*, 2016), llevado a cabo en Ath (Bélgica) se observó sobre 20 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de Pb, lo que nuestros resultados son mejores en la segunda y tercera toma y peores en la

primera y la cuarta.

Una vez determinados los contaminantes ambientales que nos propusimos en los objetivos, el siguiente paso era hacer **un estudio del estado de salud de las participantes de nuestro estudio**. A las trabajadoras agrícolas que realizan la recolección de vegetales y verduras, no se les aplica protocolo “plaguicidas” porque en su reentrada al lugar de trabajo ha transcurrido el tiempo de espera que indica el fabricante del producto y, además, ellas no aplican, por lo que, en teoría, no deberían estar expuestas a plaguicidas. . A pesar de esto, para nuestro estudio, medimos los parámetros recogidos en Protocolo de Vigilancia de la salud “plaguicidas” (**Ministerio de Sanidad y Consumo, 1999**) de aplicación a cualquier trabajador que tras la evaluación de riesgos resulte estar expuesto a plaguicidas, donde se piden los valores de colinesterasa plasmática, eritrocitaria, GGT y GPT y también empleamos la guía para vigilar la salud de los trabajadores del sector agrario (**Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad, 2013**). En esta guía se recomienda que, al trabajador agrícola, se le aplique el protocolo “Productos Fitosanitarios y Biocidas”, que, no existe: entendemos que hace referencia al protocolo “Plaguicidas” mencionado anteriormente.

Además de los parámetros concretos señalados en el Protocolo, incluimos otros parámetros que nos parecieron interesantes como, han sido parámetros clínicos en sangre, biomarcadores de estrés oxidativo (LPO y oxidación proteíca) y

marcadores de daño renal temprano (Nacetil-b-D-glucosaminidasa (NAG), Lipocaina asociada a la gelatinasa de neutrofilos (NGAL) y Albumina, Proteinuria, Kidney Injure Molecule 1 (KIM-1), y Transferrina).

En relación a los biomarcadores estipulados por los protocolos de Vigilancia de la salud publicados en nuestro país, observamos que la función hepática no se ve afectada en ninguno de los grupos estudiados. Las transaminasas ALT y AST se encontraban, entre 15- 20 U/I. a lo largo del periodo de estudio, dentro de los valores de referencia. En otros estudios realizados a aplicadores de plaguicidas, se manifestó que estos parámetros están influenciados por la exposición a plaguicidas, aunque en los resultados, no hay diferencias significativas entre el grupo control y el grupo expuesto ([Awad et al., 2014](#)) También se ha publicado recientemente un estudio, también a aplicadores ([Tsagué Manfo et al., 2020](#)) donde, estando todos los valores entre los 15-25 U/I, se encuentra diferencia significativa entre el grupo aplicador y el control en el parámetro ALT, pero no en el AST.

En las colinesterasas, no se encontraron diferencias significativas en la actividad de la BuChE, a lo largo de las cuatro tomas de muestra entre las trabajadoras rurales expuestas y no expuestas (NOE) a plaguicidas. Sin embargo, la actividad de la AChE fue menor (10%, 8% and 10%) en la segunda, tercera y cuarta toma de muestra en mujeres agrícolas frente a las mujeres NOE, aunque,

estadísticamente no fueran diferencias significativas. La inhibición observada en la actividad de la AChE durante el periodo de muestreo, está lejos del Índice de exposición Biológica, que establece el 70% de actividad AcChE, lo que significa una actividad menor al 30% en la actividad enzimática.([INSST, 2019](#)).

En estudios de aplicadores de varios plaguicidas (9% organofosforados) se encontró una disminución de la actividad de la AChE del 16.5% ([Shentema et al., 2020](#)). En otro estudio llevado a cabo en Brasil ([Nerilo et al., 2014](#)) donde del total de plaguicidas, el 5.9% eran organofosforados y el 0.6% Carbamatos, mostraron una disminución >30% de actividad, lo que el mismo autor contrasta con otros estudios que difieren de sus resultados. En otros estudios, se puede constatar una reducción de la actividad enzimática (17%-26%) en pulverizadores de pesticidas y en mujeres que arrancaban hojas en plantaciones de té en India ([Fareed et al., 2017](#); [Kori et al., 2018](#); [Dhananjayan et al., 2019](#)). También, Cestonaro et al. ([Cestonaro et al., 2020](#)) presenta un estudio en agricultoras de Brasil, con una actividad enzimática de AChE disminuida en un 21% en mujeres agrícolas, comparadas con NOE. Más acorde a nuestros resultados, Vikkey et al. ([Vikkey et al., 2017](#)) observó que un 88% de algodoneros de Benin mostraron menos del 20% de inhibición en la actividad de la AChE.

También hay autores, que han concluido que, a pesar de que la actividad de la AChE se usa como marcador biológico para la exposición a pesticidas en hombres, en algunos casos no se han

encontrado diferencias en la actividad enzimática entre los trabajadores expuestos y NOE ([Zepeda-Arce et al., 2017](#); [Hilgert Jacobsen-Pereira et al., 2018](#)).

La actividad de la AChE está significativamente e inversamente asociada con la glucosa, mostrando que la exposición crónica a pesticidas pueden contribuir a un incremento de los niveles de la glucemia ([Juntarawijit and Juntarawijit, 2018](#); [Cestonaro et al., 2020](#)). En nuestro resultado se puede comprobar un incremento significativo en los niveles de glucosa en trabajadoras agrícolas con comparación con el grupo NOE en dos de los cuatro muestreo, aunque no supusieron una hiperglucemia, seguramente porque, dentro de los pesticidas estudiados que incrementan la glucemia ([Juntarawijit and Juntarawijit, 2018](#)) no se emplean solamente OP's y Carbamatos, sino que se emplean más, y la exposición a estos compuestos fue indirecta.

Con respecto a los marcadores de estrés oxidativo, pudimos observar, que los niveles de MDA fueron mayores en mujeres expuestas que en el grupo NOE, pero solamente en dos muestreos (Octubre 2017 y Febrero 2018). De manera similar, niveles de oxidación proteica en mmol de grupos carbonilos fueron mayores en trabajadoras agrícolas que en el grupo NOE en los mismos muestreos. En estudios de exposición directa a plaguicidas ([Ogut et al., 2011](#)) se encontraron diferencias significativas en los niveles de MDA, sin embargo, la actividad de la AChE no se vio afectada. Un estudio reciente llevado a cabo en Sicilia ([Ledda et al., 2021](#))

también constata el incremento de TBARS en trabajadores expuestos a mezclas de plaguicidas, lo que consolida los estudios previos llevados a cabo ([Wafa et al., 2013](#); [Hilgert Jacobsen-Pereira et al., 2018](#); [Kori et al., 2018](#); [Lozano-Paniagua et al., 2018](#)). La justificación de los marcadores a lo largo del tiempo, podría justificarse a que el mecanismo molecular por el que se produce el estrés oxidativo no está aun claro ([Lukaszewicz-Hussain, 2010](#); [Lozano-Paniagua et al., 2018](#)).

Cabe destacar los resultados obtenidos con respecto a los marcadores tempranos de daño renal, los cuales se han visto claramente alterados en las trabajadoras agrícolas. En nuestro estudio, aparecen diferencias significativas de creatinina en sangre en el primer muestreo y en segundo, donde las trabajadoras expuestas tienen mayores niveles que las trabajadoras no expuestas, lo que coincide con lo publicado en otros estudios ([Yassin and Al-Shanti, 2016](#); [Tsagué Manfo et al., 2020](#)). Profundizando en el daño renal, se realizaron determinaciones en Proteinuria, Kidney Injure Molecule 1 (KIM-1), N-acetyl- β -D-glucosaminidase NAG, , neutrophil gelatinase-associated lipocalin NAGL, Albumina y Transferrina. No encontramos que la KIM-1 presenta de las mujeres NOE se encuentra significativamente aumentada respecto a las trabajadoras expuestas. Con el NGAL, ocurre lo mismo , salvo en la primera toma, donde las trabajadoras expuestas tenían el marcador aumentado sobre las NOE, y en el resto de parámetros, entre las NOE y las trabajadoras expuestas, hubo muestreos en los que un grupo tenía los parámetros en mayor nivel que el otro.

Para poder comprobar una posible contaminación medioambiental y no solamente la exposición laboral, se introdujo otro grupo control de mujeres no pertenecientes a zona rural, ni de la comunidad autónoma andaluza. Y fueron estos resultados los que mostraron que tanto las trabajadoras expuestas, como las trabajadoras no expuestas, tenían los niveles de daño renal temprano (salvo la albumina) significativamente elevados respecto al grupo control no rural, mostrándose una clara diferencia entre los tres grupos de estudio.

A pesar de que no se han encontrado estudios donde se muestre los niveles de marcadores temprano en exposiciones indirectas a plaguicidas, los resultados obtenidos en nuestro estudio, son coherentes y coinciden con los publicados, donde se hace referencia a la aplicación de plaguicidas y el daño renal ([Mejía et al., 2014](#); [Yassin and Al-Shanti, 2016](#); [Valcke et al., 2017](#))

Otros parámetros estudiados fueron las funciones hormonales, ya que algunos pesticidas pueden interferir con la función hormonal femenina ([Bretveld et al., 2006](#)). En el presente estudio, se observaron niveles ligeramente más altos en FT4 y LH y FSH de mujeres NOE frente a las agrícolas, pero solamente en Junio y Octubre del 2018 fue estadísticamente significativo la comparación entre la FT4 y la LH, respectivamente.. Algunos autores sugieren que la exposición a pesticidas puede afectar a la función tiroidea ([Bernieri et al., 2019](#); [Curl et al., 2020](#)). En relación con los niveles de LH, todos los niveles detectados fueron mayores a 30 U/L, considerados como un indicador de menopausia

en mujeres mayores o una señal de malfunción ovárica o una menopausia temprana en mujeres jóvenes. Teniendo en cuenta el rango de edad de todas las participantes en el presente estudio, se podría considerar que la exposición crónica a trazas de pesticida podría provocar una disrupción en el balance hormonal.

En un estudio realizado, con una exposición directa moderada a plaguicidas (**Recio et al., 2005**) se observó también la alteración de las hormonas LH y FSH. Por otro lado, un estudio realizado con trabajadores de granja (a cielo abierto), y de invernadero, comparadas con grupo control, (**Slimani, Boulakoud and Abdennour, 2011**) mostró, de manera similar a nuestro estudio que, las trabajadoras de invernadero tenían disminuida la LH y la FT4 respecto a las trabajadoras de granja, y estas, a su vez, disminuida frente al grupo control. Respecto a la FSH, estaban en ambos casos disminuidas respecto al grupo control, pero no hay diferencias significativas entre los dos grupos estudiados, a diferencia de lo que ocurre en nuestro caso.

De manera global, el estudio manifiesta que las mujeres expuestas indirectamente a plaguicidas presentan:

- Menor actividad en las colinesterasas
- Mayores niveles sanguíneos en las transaminasas hepáticas
- Mayor nivel de estrés oxidativo
- Elevados niveles de algunos metales en sangre (Zn, Al, Mn)

-Mayor nivel de daño renal temprano
-Alteraciones hormonales en las funciones tiroideas y reproductoras.

Y, además, los resultados del estudio de correlación entre los marcadores renales y los parámetros medidos en sangre, así como las actividades de las Acetilcolinesterasa, estrés oxidativo y metales, ponen de manifiesto que, la Acetilcolinesterasa en sangre, está relacionada con la proteinuria, el marcador de daño renal temprano KIM-1, la albumina en Orina y transferrina en orina. También que, los niveles de oxidación lipídica, están relacionados con la transferrina en orina

BIBLIOGRAFIA

Ali, H., Khan, E. and Ilahi, I. (2019) 'Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals : Environmental Persistence , Toxicity , and Bioaccumulation', 2019(Cd).

Alves, J. S. *et al.* (2016) 'Investigation of potential biomarkers for the early diagnosis of cellular stability after the exposure of agricultural workers to pesticides', *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 88(1), pp. 349–360. doi: 10.1590/0001-3765201520150181.

Awad, O. M. *et al.* (2014) 'Influence of exposure to pesticides on liver enzymes and cholinesterase levels in male agriculture workers INFLUENCE OF EXPOSURE TO

PESTICIDES ON LIVER ENZYMES AND', *Global Nest Journal*, 16(5), pp. 1006–1015.

Bernieri, T. *et al.* (2019) 'Occupational exposure to pesticides and thyroid function in Brazilian soybean farmers', *Chemosphere*, 218, pp. 425–429. doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.11.124.

BOE (2014) 'Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de prevención de Riesgos Laborales', pp. 1–24. Available at: <https://www.boe.es/buscar/pdf/1995/BOE-A-1995-24292-consolidado.pdf>.

Bretveld, R. W. *et al.* (2006) 'Pesticide exposure: The hormonal function of the female reproductive system disrupted?', *Reproductive Biology and Endocrinology*, 4, pp. 1–14. doi: 10.1186/1477-7827-4-30.

Cestonaro, L. V. *et al.* (2020) 'Biochemical, hematological and immunological parameters and relationship with occupational exposure to pesticides and metals', *Environmental Science and Pollution Research*, 27(23), pp. 29291–29302. doi: 10.1007/s11356-020-09203-3.

Curl, C. L. *et al.* (2020) 'Synthetic Pesticides and Health in Vulnerable Populations: Agricultural Workers', *Current environmental health reports*, 7(1), pp. 13–29. doi: 10.1007/s40572-020-00266-5.

Davoren, M. J. and Schiestl, R. H. (2018) 'Glyphosate-based herbicides and cancer risk: A post-IARC decision review of potential mechanisms, policy and avenues of research',

Carcinogenesis, 39(10), pp. 1207–1215. doi:
10.1093/carcin/bgy105.

Dhananjayan, V. *et al.* (2019) ‘Assessment of genotoxicity and cholinesterase activity among women workers occupationally exposed to pesticides in tea garden’, *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 841(March), pp. 1–7. doi: 10.1016/j.mrgentox.2019.03.002.

Dórea, J. G. (2021) ‘Exposure to environmental neurotoxic substances and neurodevelopment in children from Latin America and the Caribbean’, *Environmental Research*, 192(August 2020). doi: 10.1016/j.envres.2020.110199.

EFSA (2014) ‘Scientific Opinion on Dietary Reference Values for zinc 1’, 12(10), pp. 1–76. doi: 10.2903/j.efsa.2014.3844.

Fareed, M. *et al.* (2017) ‘Oxidative stress and cholinesterase depression among farm workers occupationally exposed to pesticides in India’, *Journal of Environmental Biology*, 38(March), pp. 305–311.

Fernández-Maestre, R. (2012) ‘Contaminación con Al en sangre en personas dializadas en dos hospitales de Colombia’, *Rev Costarricense de Salud Pública*, 21, pp. 58–64.

Fernández, S. F. *et al.* (2020) ‘Biomonitoring of non-persistent pesticides in urine from lactating mothers: Exposure and risk assessment’, *Science of the Total Environment*, 699. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134385.

Fierens, S. *et al.* (2016) ‘Human biomonitoring of heavy metals in the vicinity of non-ferrous metal plants in’, *Archives of*

Public Health. doi: 10.1186/s13690-016-0154-8.

González-Martín, M. I. *et al.* (2018) 'Pesticide residues and heavy metals in commercially processed propolis', *Microchemical Journal*, 143(May), pp. 423–429. doi: 10.1016/j.microc.2018.08.040.

Hilgert Jacobsen-Pereira, C. *et al.* (2018) 'Markers of genotoxicity and oxidative stress in farmers exposed to pesticides', *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148(May 2017), pp. 177–183. doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.10.004.

INSST (2019) *LIMITES EXPOSICION PROFESIONAL PARA AGENTES QUIMICOS EN ESPAÑA*. Available at: <https://www.insst.es/documents/94886/188493/Límites+de+exposición+profesional+para+agentes+químicos+2019/7b0b9079-d6b5-4a66-9fac-5ebf4e4d83d1>.

Jaishankar, M. *et al.* (2014) 'Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals', *Interdisciplinary Toxicology*, 7(2), pp. 60–72. doi: 10.2478/intox-2014-0009.

Juntarawijit, C. and Juntarawijit, Y. (2018) 'Association between diabetes and pesticides: A case-control study among Thai farmers', *Environmental Health and Preventive Medicine*, 23(1), pp. 1–10. doi: 10.1186/s12199-018-0692-5.

Kori, R. K. *et al.* (2018) 'Neurochemical and Behavioral Dysfunctions in Pesticide Exposed Farm Workers : A Clinical Outcome', *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 33(4), pp. 372–381.

Kremser, K. *et al.* (2021) 'A new bioleaching strategy for

the selective recovery of aluminum from multi-layer beverage cans', *Waste Management*, 120, pp. 16–24. doi: 10.1016/j.wasman.2020.11.012.

Ledda, C. *et al.* (2021) 'Oxidative stress and DNA damage in agricultural workers after exposure to pesticides', *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 16(1), pp. 1–7. doi: 10.1186/s12995-020-00290-z.

Leotsinidis, M. and Kondanis, X. (1990) 'TRACE METALS IN SCALP HAIR OF GREEK AGRICULTURAL WORKERS', *The science of the total Environment*, 95, pp. 149–156.

Llorente Ballesteros, M. T. *et al.* (2017) 'Medición del contenido del cobre en especímenes biológicos', *Revista del Laboratorio Clínico*, pp. 198–207.

Lozano-Paniagua, D. *et al.* (2018) 'Biomarkers of oxidative stress in blood of workers exposed to non-cholinesterase inhibiting pesticides', *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 162(June), pp. 121–128. doi: 10.1016/j.ecoenv.2018.06.074.

Lukaszewicz-Hussain, A. (2010) 'Role of oxidative stress in organophosphate insecticide toxicity - Short review', *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98(2), pp. 145–150. doi: 10.1016/j.pestbp.2010.07.006.

Mcguire, M. K. *et al.* (2016) 'Glyphosate and aminomethylphosphonic acid are not detectable in human milk', *American Journal of Clinical Nutrition*, 103(5), pp. 1285–1290. doi: 10.3945/ajcn.115.126854.

Mejía, R. *et al.* (2014) 'Pesticide-Handling Practices in

Agriculture in El Salvador : An Example from 42 Patient Farmers with Chronic Kidney Disease in the Bajo Lempa Region’, *Occupational Diseases and Environmental Medicine*, 2(August), pp. 56–70. doi: <http://dx.doi.org/10.4236/odem.2014.23007>.

Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad (2013) ‘Guía para la vigilancia de la salud de los trabajadores del setor agrario’, p. 216. Available at: <http://www.msbs.es/ciudadanos/saludAmbLaboral/docs/guiaAgrario.pdf>.

Ministerio de Sanidad y Consumo (1999) *Protocolos de vigilancia sanitaria específica para los trabajadores expuestos al plomo*.

Monteiro Nassar, P. P. and Gerardo Ribeiro, M. (2020) ‘Considerations for cholinesterase biomonitoring in flower and ornamental plant greenhouse workers’, *Science of the Total Environment*, 711, p. 135228. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.135228.

Nerilo, S. B. *et al.* (2014) ‘Pesticide use and cholinesterase inhibition in small-scale agricultural workers in southern Brazil’, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50(4), pp. 783–791. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-82502014000400014>.

Nordberg, G. F. *et al.* (2007) *Handbook on the Toxicology of Metals*, *Handbook on the Toxicology of Metals*. doi: 10.1016/B978-0-12-369413-3.X5052-6.

Nova, P., Calheiros, C. S. C. and Silva, M. (2020) ‘Glyphosate in Portuguese Adults – A Pilot Study’, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 80(June), p. 103462. doi:

10.1016/j.etap.2020.103462.

Ogut, S. *et al.* (2011) ‘Oxidative stress in the blood of farm workers following intensive pesticide exposure’, *Toxicology and Industrial Health*, 27(9), pp. 820–825. doi:

10.1177/0748233711399311.

Park, R. M. *et al.* (2015) ‘Airborne manganese as dust vs. fume determining blood levels in workers at a manganese alloy production plant’, *NeuroToxicology*, 47, pp. 267–275. doi:

10.1016/j.neuro.2015.01.004.

Rai, P. K. *et al.* (2019) ‘Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management’, *Environment International*, 125(February), pp. 365–385. doi:

10.1016/j.envint.2019.01.067.

Recio, R. *et al.* (2005) ‘Pesticide Exposure Alters Follicle-Stimulating Hormone Levels in Mexican Agricultural Workers’, *Environmental Health Perspectives*, 113(9), pp. 1160–1163. doi:

10.1289/ehp.7374.

Rocha, G. H. O. *et al.* (2015) ‘Exposure to heavy metals due to pesticide use by vineyard farmers’, *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 88(7), pp. 875–880. doi:

10.1007/s00420-014-1010-1.

Shentema, M. G. *et al.* (2020) ‘Pesticide Use and Serum Acetylcholinesterase Levels among Flower Farm Workers in Ethiopia — A Cross-Sectional Study’, *International Journal of environmental Research and Public Health*, (17), pp. 1–14. doi:

10.3390/ijerph17030964.

- Slimani, S., Boulakoud, M. S. and Abdennour, C. (2011) 'Pesticide exposure and reproductive biomarkers among male farmers from north-east Algeria', *Annals of Biological Research*, 2(January), pp. 290–297.
- Sterns, R. H., Grieff, M. and Bernstein, P. L. (2016) 'Treatment of hyperkalemia: Something old, something new', *Kidney International*, 89(3), pp. 546–554. doi: 10.1016/j.kint.2015.11.018.
- Sumit, K. and Berl, T. (1998) 'SODIUM', *Lancet*, 352, pp. 220–228. Available at: electrolytes.
- Tsagué Manfo, F. P. *et al.* (2020) 'Evaluation of the Effects of Agro Pesticides Use on Liver and Kidney Function in Farmers from Buea , Cameroon', *Journal of TOxicology*, 2020. doi: <https://doi.org/10.1155/2020/2305764>.
- Valcke, M. *et al.* (2017) 'Pesticide exposures and chronic kidney disease of unknown etiology: an epidemiologic review', *Environmental Health: A Global Access Science Source*, 16(1). doi: 10.1186/s12940-017-0254-0.
- Vikkey, H. A. *et al.* (2017) 'Risk Factors of Pesticide Poisoning and Pesticide Users' Cholinesterase Levels in Cotton Production Areas: Glazoué and Savè Townships, in Central Republic of Benin', *Environmental Health Insights*, 11(April). doi: 10.1177/1178630217704659.
- Wafa, T. *et al.* (2013) 'Oxidative stress, hematological and biochemical alterations in farmers exposed to pesticides', *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food*

Contaminants, and Agricultural Wastes, 48(12), pp. 1058–1069.
doi: 10.1080/03601234.2013.824285.

Wang, K. *et al.* (2021) ‘Mechanisms of Cd and Cu induced toxicity in human gastric epithelial cells : Oxidative stress , cell cycle arrest and apoptosis’, *Science of the Total Environment*, 756, p. 143951. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.143951.

Yassin, M. M. and Al-Shanti, T. A. (2016) ‘Effect of pesticides on kidney function and serum protein profile of farm workers in Gaza Strip’, *Annals of medical and biomedical sciences*, 2(1), pp. 21–27.

Zepeda-Arce, R. *et al.* (2017) ‘Oxidative stress and genetic damage among workers exposed primarily to organophosphate and pyrethroid pesticides’, *Environmental Toxicology*, 32(6), pp. 1754–1764. doi: 10.1002/tox.22398.

VI. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en el presente estudio de investigación, podemos obtener las siguientes conclusiones:

PRIMERA.- Que los parámetros biológicos de seguimiento de la salud a las trabajadoras agrícolas que se recogen actualmente en la normativa y protocolos españoles, son insuficientes para garantizar la salud las trabajadoras, así como también son insuficientes para garantizar una fertilidad y desarrollo adecuado de la descendencia de las trabajadoras, como la ley de PRL ([BOE, 2014](#)) recoge en su articulado.

SEGUNDA.- Que, en los trabajos a cielo abierto, podría haber menor contaminación laboral debido al producto químico desprendido por la vegetación, pero mayor contaminación medioambiental si se aplican productos en otros cultivos cercanos, en contraposición a los trabajos en invernaderos, donde la propia construcción puede favorecer más la contaminación por exposición laboral frente a la medioambiental.

TERCERA.- Que se hace necesario un mayor hincapié en la formación de las mujeres que llevan a cabo estas tareas de recolección, para poder cambiar ciertos hábitos higiénicos en su trabajo diario, con el fin de disminuir la contaminación por estos agentes químicos.

CUARTO.- Que se hace necesario un mayor hincapié en el uso de Equipos de Protección Individual específicos frente a plaguicidas.

QUINTO.- Que se hace necesario ampliar y profundizar en el estudio otros parámetros alternativos como los que aquí presentamos, en un número mayor de participantes y en distintos tipos de exposición (recolección de verduras, almacenamiento de plaguicidas, transporte de fitosanitarios etc..).

Completarían esos estudios las mediciones ambientales y personales de los productos químicos estudiados a los que las trabajadoras están expuestas. Incluso, realizar los estudios con trabajadores llevando los EPI's recomendados frente a otros trabajadores que mantuvieran las condiciones actuales, complementarían esta línea inicial de investigación.

BIBLIOGRAFIA

BOE (2014) 'Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de prevención de Riesgos Laborales', pp. 1-24. Available at: <https://www.boe.es/buscar/pdf/1995/BOE-A-1995-24292-consolidado.pdf>.

VII. ANEXOS

CONTRAPORTADA

Este proyecto ha sido posible llevarlo a cabo gracias a la
financiación de



***TESIS DOCTORAL: “EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LA EXPOSICIÓN
LABORAL A FITOSANITARIOS EN MUJERES QUE RECOGEN VERDURAS.
POSIBLES CONSECUENCIAS SOBRE SU SALUD”. D. José Martín Reina***

US
UNIVERSIDAD
DE SEVILLA
· 1505 ·

