

Exposición humana a las aflatoxinas y fumonisinas

Para poder estudiar el impacto de las micotoxinas sobre la salud e identificar las medidas eficaces de atenuación, es esencial disponer de datos sobre su prevalencia en los alimentos de base. Igualmente es necesario tener buenos conocimientos de las particularidades de cada país o región para poder identificar los cultivos comestibles responsables de la exposición a las toxinas en diferentes poblaciones. Los datos de prevalencia permiten verificar la eficacia de las medidas de seguridad alimentaria tales como la implementación de niveles máximos, reconociendo al mismo tiempo que su aplicación podría tener implicaciones para la seguridad del suministro alimentario. El seguimiento de la prevalencia también proporciona información sobre la eficacia de las diversas estrategias implementadas para reducir los niveles

de contaminación o los niveles de exposición.

Idealmente, la determinación del nivel de exposición, que constituye uno de los elementos de la evaluación de los riesgos, integra los niveles de micotoxinas con los patrones de consumo alimentario y proporciona, a través de la caracterización del riesgo, una imagen clara del impacto de las micotoxinas en la seguridad alimentaria y la salud de los individuos o de la población. Sin embargo, en general esto no se logra en los países en desarrollo, principalmente debido a la ausencia de datos específicos sobre cada país, así como a la falta de recursos y de capacidades de análisis.

Los biomarcadores de exposición, tales como los aductos de aflatoxina–albúmina de suero (AF–alb) o la fumonisina B₁ urinaria (UFB₁), permiten estimar la

exposición a cada una de estas toxinas independientemente de su fuente, de manera más integrada y en principio más confiable. La medición de la exposición, ya sea combinando la evaluación del consumo de alimentos con los niveles de contaminación o mediante el uso de biomarcadores de exposición, puede utilizarse para identificar los principales componentes alimenticios que contribuyen a la exposición, definir las zonas donde los niveles de exposición son inaceptables, evaluar el impacto de las micotoxinas en la salud y su papel en el desarrollo de la enfermedad y finalmente, determinar la eficacia de las estrategias de intervención. El desarrollo reciente de métodos de análisis de multitoxinas, aplicados a los alimentos o a las muestras biológicas, ha permitido tomar conciencia sobre la exposición

simultánea a las aflatoxinas y a las fumonisinas, así como a otras micotoxinas que no habían sido previstas.

Exposición a las aflatoxinas

Las aflatoxinas son micotoxinas encontradas en cuatro formas principales: aflatoxinas B₁ (AFB₁), B₂ (AFB₂), G₁ (AFG₁) y G₂ (AFG₂). Las aflatoxinas se encuentran en una amplia gama de cultivos agrícolas, principalmente en los cereales alimenticios básicos (como el maíz), frutos secos y leguminosas comestibles así como sus productos derivados. En general, la AFB₁ alcanza los niveles de contaminación más elevados y es la más tóxica. Las aflatoxinas son producidas esencialmente por *Aspergillus flavus*, que produce las AFB₁ y AFB₂, y *Aspergillus parasiticus* que produce las cuatro formas de aflatoxinas. La contaminación puede ocurrir antes o después de la cosecha o en los dos casos.

Los niveles de contaminación por aflatoxinas pueden variar ampliamente, desde productos que cumplen con los niveles máximos estrictos establecidos por la Comisión Europea (2 µg/kg para la AFB₁; 4 µg/kg para el nivel total de aflatoxinas [suma de las AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂] en los cereales y frutos secos destinados al consumo directo humano) (European Commission, 2010) hasta los productos con niveles de contaminación que pueden suponer un riesgo de aflatoxicosis aguda. Por ejemplo, la determinación de niveles de aflatoxinas totales, durante una encuesta efectuada en 2004 en los mercados rurales de cuatro distritos de Kenia, con ocasión de una epidemia aguda, mostró niveles de aflatoxinas que iban desde 1 a 46.400 µg/kg, con un 7% de las muestras por encima de 1.000 µg/kg (Lewis et al.,

2005). En 2003, Shephard (2003) realizó una síntesis de los datos disponibles para los países africanos. Más recientemente Rodrigues et al. (2011) y Schatzmayr y Streit (2013) publicaron datos sobre la incidencia de aflatoxinas en diversas muestra recolectadas a través del mundo. Así mismo, Gnonlonfin et al. (2013) publicaron recientemente los resultados concernientes a África. Entre los ejemplos de contaminación de productos alimenticios citados en estas publicaciones figuran los pasteles de maní provenientes de Nigeria (niveles desde 20 a 455 µg/kg), maní bruto proveniente de Kenia (niveles no detectables y hasta 7.525 µg/kg) y de Botsuana (12–329 µg/kg); y del maíz proveniente de Benín (2–2.500 µg/kg), de Ghana (20–355 µg/kg) y de Zambia (1–109 µg/kg). Las otras fuentes de contaminación alimentaria reportadas por los diversos países de África incluyen la mandioca, chufas, caupí, sorgo, okra y pimientos picantes, aunque debido a los hábitos alimentarios, el maíz y el maní son los más importantes en términos de niveles de exposición.

La aflatoxina M₁ (AFM₁) es un metabolito tóxico de la AFB₁, clasificado como posible cancerígeno humano (IARC, 2012). Este compuesto puede ser detectado en la orina y la leche de los animales expuestos y incluyendo los humanos. Los datos sobre el paso de la AFM₁ en la leche materna son limitados, pero según estimaciones se situaría entre 0,1% y 0,4% (Zarba et al., 1992), y la exposición de los lactantes a la AFM₁ por la leche materna fue observada en los países en desarrollo (Shephard, 2004; Turner, 2013; Magoha et al., 2014). Además, la presencia de AFM₁ en la leche de vacas que consumen alimentos contaminados por la AFB₁ es una fuente adicional de exposición. Durante la 56ª sesión del Comité Mixto

FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*; JECFA) los científicos compilaron los datos sobre los niveles de AFM₁ encontrados en la leche de vaca comercializada, fresca o transformada (Henry et al., 2001). Sin embargo, los datos disponibles sobre África son escasos y los que fueron reportados no reflejan probablemente los niveles de exposición habituales en los pueblos o explotaciones agrícolas de subsistencia. Es necesario realizar estudios complementarios para comprender mejor las consecuencias de la ingestión de AFM₁ a través de la leche materna y/o de animales de granja en África.

Liu y Wu (2010) evaluaron la ingesta de aflatoxinas en el mundo (en ng/kg de peso corporal [pc]/día) con base en estimaciones del consumo habitual de maíz y de maní, en sus niveles de contaminación y del peso corporal. En África, se realizaron estimaciones para Etiopía (1–36 ng/kg de pc/día), Gambia (4–115), Kenia (4–133), Mozambique (39–180), Nigeria (139–227), República Democrática del Congo (rango, 0–27), República Unida de Tanzania (0–50), Sudáfrica (0–17) y Zimbabue (18–43). Del mismo modo fueron reportados niveles de ingestión elevados en China y los países del Sudeste de Asia, en comparación con los países de Europa occidental y América del Norte donde los niveles se sitúan entre 0 y 1 ng/kg de pc/día (Turner et al., 2012; Schleicher et al., 2013). Estos datos indican una carga mucho más elevada de exposición en las regiones de ingresos bajos y medios. Sin embargo, es importante señalar que estas estimaciones se basan en datos extremadamente limitados, sobre todo en aquellas regiones donde el riesgo de exposición es el más elevado.

Exposición a las fumonisinas

Las fumonisinas, producidas principalmente por *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg y *F. proliferatum* (Matsush.) Nirenberg, son contaminantes comunes del maíz y los productos con base de maíz. La fumonisina B₁ (FB₁) es la más abundante (generalmente ~70% de las contaminaciones por fumonisinas) y se encuentra normalmente al mismo tiempo que las fumonisinas B₂ (FB₂) y B₃ (FB₃), estas últimas en menores cantidades. Su presencia en el sorgo también ha sido reportada (Bulder et al., 2012).

Las fumonisinas fueron evaluadas por el JECFA en 2001 y en 2012 (Bolger et al., 2001; Bulder et al., 2012). Como la exposición resulta a la vez del nivel de contaminación y del nivel de consumo, algunas comunidades rurales en los países en desarrollo pueden exceder la ingesta diaria tolerable máxima provisional (IDTMP) de 2 µg/kg de pc/día de fumonisinas si su alimentación contiene cantidades importantes de maíz (Burger et al., 2010).

Wild y Gong (2010), analizaron los datos disponibles sobre los niveles de ingestión de fumonisinas (µg/kg de pc/día) en varios países de África, especialmente los de Burkina Faso (0–2); los de Kenia (Bomet [$< 0,1$]) y los de Sudáfrica (Bizana [1–19] y de Centane [2–36], Transkei [4] y KwaZulu-Natal [0]). En la República Unida de Tanzania, Kimanya et al. (2014) reportaron niveles de exposición de 0,2 a 26 µg/kg de pc/día en los niños.

En América Latina, la ingesta de fumonisinas fue estimada en 3,5 µg/kg de pc/día (zonas urbanas) y en 15,5 µg/kg de pc/día (zonas rurales) en Guatemala (Wild y Gong, 2010). Un estudio más reciente reportó dosis que se sitúan entre 0,20 y 23 µg/kg de pc/día (Torres et al., 2014).

Biomarcadores de las aflatoxinas y fumonisinas

Los niveles de contaminación y de consumo de productos alimenticios pueden variar enormemente entre los pueblos y entre los individuos en un contexto de agricultura de subsistencia en zonas rurales. Las evaluaciones de ambos parámetros (contaminación y consumo) presentan dificultades de análisis y medición. Además, existen variaciones interindividuales entre la toxicocinética y la toxicodinamia de las toxinas ingeridas. Es por ello que se ha realizado un esfuerzo considerable para desarrollar biomarcadores de las aflatoxinas y de las fumonisinas (Turner et al., 2012).

Para la AFB₁, los aductos AF–alb presentes en la sangre periférica fueron validados como biomarcadores de las exposiciones de duración moderada o de larga duración (varios meses), mientras que los biomarcadores urinarios, aflatoxina–N7-guanina y la AFM₁, reflejan las exposiciones a corto plazo. La aplicación de estos biomarcadores ha ayudado a establecer el vínculo entre la exposición a las aflatoxinas y el desarrollo de cáncer de hígado (Kensler et al., 2011; IARC, 2012) y ha permitido demostrar la eficacia de los estudios de intervención (Turner et al., 2005).

Los datos obtenidos en África subsahariana con los biomarcadores de aflatoxinas validados, muestran que los niveles de exposición varían considerablemente en varias regiones, entre las zonas agroecológicas y los pueblos vecinos, así como entre las estaciones y a lo largo de los años (Turner et al., 2012; Turner, 2013). Los datos obtenidos con los biomarcadores señalan aún la importancia de la exposición prenatal, especialmente *in utero* y durante la primera

infancia. Los estudios efectuados en África occidental de la exposición muestran que el maíz y el maní son las dos principales fuentes de ingestión de aflatoxinas. Los niveles de biomarcadores encontrados habitualmente en los niños menores de 5 años en Benín, Gambia y Togo alcanzan hasta 1.000 pg de aflatoxina–lisina/mg de albúmina (Turner, 2013). En comparación, los niveles de aductos AF–alb reportados en la reciente Encuesta Nacional de Examen de Salud y Nutrición de los Estados Unidos (NHANES) estaban casi todos (99%) por debajo del límite de detección (LOD) y la media geométrica de los resultados positivos fue de sólo 0,8 pg/mg (Schleicher et al., 2013).

La AF–alb también ha sido utilizada en varios estudios para evaluar la asociación entre la exposición a las aflatoxinas y el retraso del crecimiento en niños lactantes y en niños en la primera infancia (Turner, 2013). Normalmente los marcadores de largo plazo de la exposición crónica a las aflatoxinas son considerados como más confiables para evaluar los resultados en materia de salud, ya que proporcionan una medida integrada durante varios meses. Varios biomarcadores potenciales de la exposición a las fumonisinas han sido estudiados, entre estos las bases esfingoides en plasma y la orina y la FB₁ en el pelo, las uñas, el suero, la orina y las heces (Shepherd et al., 2007); sin embargo, ninguno de ellos ha sido validado en estudios en humanos en regiones conocidas por su alta exposición a las fumonisinas procedentes de la dieta (Gong et al., 2008a; Xu et al., 2010; van der Westhuizen et al., 2011; Riley et al., 2012; Torres et al., 2014). En general, se reportaron relaciones estadísticamente significativas entre los niveles de UFB₁ y los niveles de ingesta de FB₁, medidos o estimados; sin embargo, los datos

publicados indican que la medida de marcadores urinarios reflejaba sólo moderadamente el nivel de la ingesta.

Presencia simultánea de aflatoxinas y fumonisinas

La presencia simultánea de aflatoxinas y fumonisinas ha sido ampliamente documentada por los estudios de biomarcadores y por el análisis de alimentos. En la República Unida de Tanzania, los niveles de AF₁-alb y UFB₁ fueron evaluados en los niños en la primera infancia (Shirima et al., 2013); la prevalencia de la detección de las dos micotoxinas fue elevada y el 82% de los niños mostraron una exposición simultánea a ambas toxinas. Además, se observó una correlación modesta pero estadísticamente significativa entre las concentraciones de estos biomarcadores ($r = 0,375$, $P < 0,001$) (Shirima et al., 2013). La presencia de aflatoxinas y fumonisinas fue menos frecuente en las muestras de orina provenientes de dos grandes ciudades de Camerún, Yaundé y Bamenda (Abia et al., 2013) y de zonas rurales de Nigeria (Ezekiel et al., 2014), aunque se evidenció la co-exposición. Las diferencias de sensibilidad de los métodos analíticos utilizados por estos diferentes estudios limitan sin embargo la posibilidad de comparaciones directas. En otro estudio efectuado en Camerún, la búsqueda de marcadores urinarios de las micotoxinas en los niños de corta edad, mostró su exposición a la aflatoxina y a la fumonisina (Njumbe Ediage et al., 2013). Estos datos fueron complementados con una encuesta en varias zonas agroecológicas de Camerún, donde se encontró que el maíz, el maní y la mandioca estaban contaminados por múltiples micotoxinas (se encontraron fumonisinas en el 74% de las muestras

de maíz y aflatoxinas en el 22% de las muestras de maíz, 29% de las muestras de maní y 25% de las muestras de mandioca) (Ediage et al., 2014). En otro estudio realizado por Probst et al. (2014), se evaluó la contaminación por aflatoxina y fumonisina de 339 muestras de maíz provenientes de 18 países de África. Se detectaron aflatoxinas en 47% de las muestras (LOD, 1 µg/kg), de las cuales un 7% tenía niveles superiores a 20 µg/kg y 6% sobrepasaban 100 µg/kg (el nivel máximo fue de 1.409 µg/kg). También se detectaron fumonisinas (LOD, 500 µg/kg) en 81% de las muestras, con un 7% superior a 5.000 µg/kg y 3% superior a 100.000 µg/kg. Una contaminación simultánea de aflatoxinas y fumonisinas fue observada en 35% de las muestras. Las concentraciones de los dos contaminantes varían según la región, pero para la Provincia de la Costa en Kenia, por ejemplo, 50% de las muestras contenían altos niveles de ambos: aflatoxinas (media, 97 µg/kg) y fumonisinas (media, 32.000 µg/kg) (Probst et al., 2014).

En América Latina, también ha sido documentada la exposición simultánea a las aflatoxinas y fumonisinas. Se analizó el maíz proveniente de 22 distritos en Guatemala; 36% de las 572 muestras dieron positivo para las aflatoxinas (media, 63 µg/kg; rango para las muestras positivas, 5–2.655 µg/kg); y el 99% de las 640 muestras dieron positivo para las fumonisinas (media, 1.800 µg/kg; rango para las muestras positivas, 10–17.000 µg/kg) (Torres et al., 2015).

Limitaciones de los análisis

Una de las limitaciones de los enfoques que utilizan biomarcadores urinarios es el volumen de orina necesario. A pesar de que el desarrollo de técnicas altamente sensibles de cromatografía de líquidos

acoplada a la espectrometría de masas (LC-MS) facilita la biovigilancia, el enfoque en sí podría estar limitado por los costos de la instrumentación necesaria, restringiendo el análisis a los laboratorios especializados. Con el desarrollo de técnicas de análisis multitoxinas basadas en la LC-MS/MS, los métodos de multibiomarcadores – extensiones de los métodos multimicotoxinas para el análisis de alimentos – se han desarrollado para la dosificación biológica de las toxinas, incluyendo la FB₁ y la AFM₁ (Solfrizzo et al., 2011; Warth et al., 2012). Estos métodos se han aplicado en África para evaluar la exposición (Abia et al., 2013; Shephard et al., 2013; Ezekiel et al., 2014). Hasta la fecha, los esfuerzos realizados para comparar los métodos multitoxinas de diferentes laboratorios han sido limitados. Es por ello que en la actualidad existe una mayor confianza en los datos arrojados por las medidas individuales, sin embargo es urgente realizar estudios comparativos de los métodos de los diferentes laboratorios para poder explotarlos mejor. Una preocupación adicional es que algunos de los métodos multitoxinas, especialmente para los alimentos, podrían medir contaminantes sin demasiada importancia para la salud humana, lo que podría originar costos adicionales (por ejemplo, si es necesario medir > 60 metabolitos) y conducir a mediciones inexactas.

Principales lagunas científicas

El problema de la exposición a las micotoxinas es más grave en los países en desarrollo, que carecen de los recursos y la capacidad analítica para efectuar los análisis. Por consecuencia, son pocos los datos reportados por estos y los que están disponibles se basan generalmente en un número limitado de

muestras de calidad incierta. Como resultado, hay una creciente brecha entre los países desarrollados y los países en desarrollo en lo que respecta a la calidad y cantidad de los datos de prevalencia generados por los laboratorios. Es entonces necesario disponer, en los países en desarrollo, de herramientas de muestreo y análisis adaptadas a las necesidades específicas, tales como:

- Un método de detección rápido, utilizable *in situ* en las explotaciones de subsistencia, que no sea costoso y que sea fácil de usar y que permita una amplia gama de análisis dinámicos. Esto, además, podría ayudar a mantener un sistema de alerta rápida que ofrecería indicaciones sobre las acciones apropiadas a seguir para garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos.
- Un programa integral de monitoreo regional o nacional, que implique el establecimiento de un laboratorio de referencia en el país o la región concernida. Este programa de monitoreo debería ser integrado a los sistemas de vigilancia existentes y ampliarse con el tiempo. Por ejemplo, numerosas regiones tienen programas nacionales de salud y nutrición a los que podría solicitárseles la obtención de muestras biológicas. Se les podría pedir la recolección de volúmenes de muestras más importantes (por ejemplo para permitir la vigilancia urinaria de sustancias xenobióticas) con ocasión de sus encuestas nacionales. Las nuevas actividades de monitoreo podrían incluir tanto análisis de productos alimenticios como la investigación de biomarcadores.

Para llevar a cabo un buen programa de vigilancia de productos alimenticios, es fundamental contar con planes bien establecidos de recolección de muestras. Si bien

se reconoce que el desarrollo de planes eficaces para la detección de micotoxinas en los productos alimenticios es una tarea compleja, existe una herramienta para ayudar a los países en este sentido: la herramienta de muestreo de micotoxinas de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*; FAO) (<http://www.fstools.org/mycotoxins/>). Además existe el programa GEMS/Food (Sistema Mundial de Vigilancia del Medio Ambiente – Programa de Vigilancia y Evaluación de la Contaminación de los Alimentos) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) que recoge los datos sobre la contaminación de alimentos a nivel mundial y proporciona información sobre el consumo de productos alimenticios. Los datos sobre el consumo de alimentos *per capita* promedio son determinados con base en el balance sobre el equilibrio alimentario de la FAO. Es importante tener en cuenta que la base de datos proporciona niveles medios de consumo, pero no captura el patrón de consumo de alimentos en las explotaciones agrícolas de subsistencia. Otra base de datos de la GEMS/Food recopila datos sobre los niveles de contaminación, incluidas las aflatoxinas y fumonisinas en los productos alimenticios y en los cultivos. Sería útil recordar a los investigadores la posibilidad de enriquecer esta base de datos al añadir los resultados de sus estudios. Sin embargo, la colecta de información sobre los niveles de contaminación y consumo de los pequeños agricultores de subsistencia sigue siendo un obstáculo importante.

Para la vigilancia, una de las opciones que podrían ser implementadas es el muestreo en los molinos de maíz comunitarios. Por ejemplo, en algunas partes de África

oriental, los agricultores podrían traer el maíz a una cooperativa local, donde los análisis para detectar aflatoxinas y fumonisinas podría llevarse a cabo utilizando kits de detección rápida especialmente creados para la aplicación *in situ*. En este contexto, podría ser posible coleccionar datos sobre una base relativamente amplia, lo que permitiría una mejor vigilancia, aunque esto sólo permita capturar algunos de los datos de prevalencia en ciertas regiones y ninguno en otras regiones. Esto podría, sin embargo, permitir identificar los sitios donde es conveniente intervenir.

La medida de la exposición individual es importante para las investigaciones epidemiológicas sobre la causa de las enfermedades y para demostrar la eficacia de la intervención. El desarrollo de una fuente confiable de normas certificadas, especialmente para los biomarcadores de aflatoxinas, permitiría aumentar sustancialmente su utilización en las investigaciones epidemiológicas.

Por lo tanto, el problema de la escasez de datos también podría resolverse con el uso de biomarcadores de la exposición individual. Los biomarcadores de las aflatoxinas son conocidos, pero el más útil para los estudios sobre la exposición crónica es la AF–alb, que actualmente sólo es medida en un número limitado de laboratorios. Sería interesante poder generalizar este análisis, especialmente en los países donde se conoce que la exposición a las aflatoxinas es elevada. La falta de reactivos para la detección de aductos de aflatoxina–lisina y de mono–aductos AF–alb representa una limitación importante que debe ser resuelta. Los métodos inmunoenzimáticos (*enzyme-linked immunosorbent assay*; ELISA) son generalmente menos costosos, pero el problema es

la ausencia de kits o anticuerpos disponibles comercialmente. Si bien la LC-MS ofrece datos concisos, los costos del análisis la hacen prohibitiva para la mayoría de los laboratorios. También es necesario vigilar la exposición de los lactantes a la AFM₁ en los países en desarrollo, donde la exposición a la AFM₁ es elevada.

En varias regiones del mundo, se mide la UFB₁ mediante la LC-MS, y nuevamente el costo del análisis constituye una preocupación. Si bien se reportaron correlaciones

dosis–respuesta en diferentes ocasiones, la medida urinaria no es lo suficientemente predictiva del nivel de ingesta cuando se compara con las correlaciones reportadas por los biomarcadores de aflatoxinas. Para la vigilancia biológica en general esto no es un problema importante; sin embargo, esto sí es una preocupación cuando se trata de evaluar los efectos potenciales sobre la salud o la eficacia de las intervenciones. En lo que respecta a la utilización de FB₁ y la AFM₁, se observó que ninguna de las dos

permite predecir las exposiciones crónicas y mientras que los aductos AF–alb séricos son utilizados para este propósito en la biovigilancia y la epidemiología de las aflatoxinas, sigue existiendo la necesidad de desarrollar un marcador de la exposición prolongada para las fumonisinas. Un reto adicional es la necesidad de instrumentos de análisis de mayor rendimiento, que podrían beneficiar de una cooperación entre especialistas de la media de la exposición y expertos en micotoxinas que podría ser extremadamente benéfica.