

Estrategias de intervención que buscan reducir la exposición humana a las aflatoxinas y fumonisinas

En este capítulo se revisan una serie de intervenciones que buscan reducir la exposición a las aflatoxinas y/o fumonisinas, cuyo impacto benéfico en términos de salud ha sido demostrado a nivel comunitario, y que pueden ser implementados en zonas rurales de África y América Central. Las intervenciones varían en cuanto a los recursos necesarios, la complejidad y el alcance. Su aplicación efectiva depende de la voluntad política y del consenso social. Algunas intervenciones son complicadas y requiere la movilización de recursos considerables, y otras son de fácil implementación a escala comunitaria o incluso doméstica. Sin embargo, todas deben adaptarse a las particularidades culturales e individuales, y si éstas están dirigidas específicamente a las mujeres; todas deben apoyarse sobre una tecnología sólida y poder

ser implementadas de manera sostenible. Es necesario verificar previamente la eficacia de algunas de estas intervenciones en las zonas donde la exposición a las aflatoxinas es elevada.

Para identificar las intervenciones eficaces en los países de ingresos bajos y medios, el Grupo de Trabajo analizó los estudios que proporcionan evidencias fiables, directas o indirectas, de mejoras en la salud y de una reducción de los niveles de biomarcadores de las micotoxinas. Para evaluar las evidencias sobre las intervenciones en materia de salud pública, es conveniente examinar su credibilidad, así como su exhaustividad, y verificar si éstas son aplicables a nivel individual, comunitario o nacional. Las pruebas de “mejor calidad” (es decir, las que indican que una intervención está lista para su imple-

mentación) provienen de enfoques que han alcanzado una etapa avanzada de desarrollo, que mostraron efectos notables, y responden a las principales necesidades de las partes interesadas (Rychetnik et al., 2002). Quince intervenciones fueron clasificadas en una de estas cuatro categorías: (1) evidencias suficientes para la ejecución de la intervención, (2) necesidad de datos suplementarios sobre el trabajo de terreno, (3) necesidad de investigación formativa, y (4) ausencia de evidencia o ineficacia de la intervención. Así mismo, el Grupo de Trabajo elaboró recomendaciones relativas a la concepción de nuevos estudios y la posibilidad de realizarlos a mayor escala. Los resultados de estas evaluaciones se resumen en la Tabla 7.1. A continuación se muestra el análisis de diversas intervenciones.

Tabla 7.1. Síntesis de la evaluación efectuada por el Grupo de Trabajo de las intervenciones asociadas a la reducción de la exposición a las aflatoxinas y/o fumonisinas

Intervención	Categoría de pruebas ^a	Contexto	Lagunas/brechas (investigación/aplicación)	Combinaciones/problemas/comentarios
Diversidad alimentaria	— ^b	Reducción del carcinoma hepatocelular en función de la dosis	<ul style="list-style-type: none"> Inversión en cultivos apropiados para la región considerada, adaptados al clima y culturalmente aceptables 	Comentario: Difícil en situaciones de inseguridad alimentaria o en los países con inseguridad en términos de alimentos, tierras cultivables o de agua
Resistencia genética		Contaminación		
Aflatoxina en el maíz	3		<ul style="list-style-type: none"> Introducción de la resistencia en las líneas agrícolas Identificación de los genes de resistencia 	Combinación: Control biológico; prácticas agronómicas y poscosecha Problemas: Comunidad científica reducida; efectos significativos del medio ambiente en la expresión fenotípica; la resistencia es poligénica
Fumonisina en el maíz	2		<ul style="list-style-type: none"> Introducción de la resistencia en las líneas agrícolas Identificación de los genes de resistencia 	Combinación: Prácticas agrícolas y poscosecha Problemas: Comunidad científica reducida; efectos significativos del medio ambiente en la expresión fenotípica; la resistencia es poligénica
Aflatoxina en el maní	4		<ul style="list-style-type: none"> Identificación de fuentes de resistencia Introducción en las líneas agrícolas 	Combinación: Control biológico, prácticas agrícolas y poscosecha Problemas: Efectos significativos del medio ambiente en la expresión fenotípica en vastas zonas; comunidad científica reducida; la resistencia es poligénica y está mal descrita
Control biológico		Contaminación		
Cepas no toxigénicas	2		<ul style="list-style-type: none"> Frecuencia y consecuencias de las recombinaciones genéticas Constancia de la eficacia evaluada en diferentes zonas geográficas y con diferentes usuarios 	Combinación: Prácticas agrícolas y poscosecha Comentario: Investigación transnacional en curso en África y en los Estados Unidos
Prevención primaria		Relación dosis–resultado		
Arcillas esmectita dioctaédrica	2		<ul style="list-style-type: none"> Dosis y duración sobre la eficacia y la inocuidad Efectos en lactantes, niños y mujeres embarazadas 	Combinación: Arcilla modificada con clorofilina y otros agentes capaces de retener las toxinas Problema: Estrategias de formulación Comentarios: Posibilidad de una mayor eficacia durante las epidemias; oportunidad de mitigar la acción de aflatoxinas y fumonisinas
Clorofilina	2			
<i>Lactobacillus</i>	3			
Glucano extraído de la levadura	4			
Poscosecha		Relación dosis–efecto/contaminación		
Conjunto de medidas (paquete)	1		<ul style="list-style-type: none"> Le transmisión de conocimientos es cultural Necesidad de desarrollar módulos en colaboración con los agricultores, servicios de extensión agrícola, líderes tradicionales, grupos religiosos, trabajadores de la salud y la sociedad civil 	Comentarios: Lista para ser implementada; un conjunto de medidas para aplicar en los casos de exposición crónica; para poner en práctica de manera conjunta como un “paquete de intervenciones multifactorial”
Clasificación	1		<ul style="list-style-type: none"> Realizado en todos los cultivos para todas las cosechas, pero necesita de educación sobre las mejores prácticas en los pueblos 	Problema: Suerte/destinación de los alimentos rechazados Comentario: Importante para los complementos alimenticios
Nixtamalización	1		<ul style="list-style-type: none"> Requiere tener suficiente agua para el lavado No ha sido adaptada para África y Asia 	

Tabla 7.1. Síntesis de la evaluación efectuada por el Grupo de Trabajo de las intervenciones asociadas a la reducción de la exposición a las aflatoxinas y/o fumonisinas (continuación)

Intervención	Categoría de pruebas ^a	Contexto	Lagunas/brechas (investigación/aplicación)	Combinaciones/problemas/comentarios
Quimiopreención		Relación dosis–efecto		
Extractos de brotes de brócoli	2		<ul style="list-style-type: none"> Hasta la fecha, necesidad de ampliar de ensayos clínicos de eficacia de fase II a intervenciones a más largo plazo Transposición a los alimentos locales culturalmente aceptables que contengan estos inductores enzimáticos Hasta la fecha, solamente estudios de biomarcadores; ningún estudio cuyos resultados se basen en criterios de salud 	Comentario: Se puede utilizar en caso de exposición aguda; plantas nativas; diversificación alimentaria
Dithioléthiones	2			
Polifenoles del té verde	2			

^a Categorías de pruebas de la eficacia de las intervenciones de salud pública: (1) suficientes para la ejecución de la intervención, (2) necesidad de datos suplementarios sobre el trabajo de terreno, (3) necesidad de investigación formativa, y (4) ausencia de evidencia o ineficacia de la intervención.

^b Se trata de una intervención validada (ver texto), pero que no es posible clasificar en la categoría 1 (evidencias suficientes para su ejecución), debido a su complejidad que la hace inaplicable en la mayoría de situaciones.

Regulación

A pesar de que no son considerados explícitamente como intervenciones, los marcos reglamentarios empresariales, internacionales y gubernamentales pueden ser un importante motor de liderazgo en la reducción de los niveles de micotoxinas en la alimentación humana y animal. Con respecto a la seguridad alimentaria, la implementación de una regulación comienza en el sector empresarial, tanto para los cultivos destinados a la alimentación doméstica como para aquellos destinados a la exportación (Reardon et al., 1999; Kussaga et al., 2014). Con la puesta en marcha de las capacidades, el establecimiento de marcos y estructuras legales para garantizar su aplicación, los niveles de contaminación en los cultivos con el tiempo disminuyen. Sin embargo, el impacto positivo sobre los agricultores de subsistencia se limita generalmente, con los beneficios en general, a los grandes agricultores (Hansen y Trifković, 2014).

Cuando existe un marco legal, las estrategias de intervención son generalmente sólidas y la exposición de origen alimentario es baja. Cuando los sistemas de regulación aún no son completamente funcionales, el primer objetivo debe ser su desarrollo y aplicación. La aplicación de la legislación sobre la seguridad alimentaria es esencial para la salud pública y la viabilidad económica, que es el motor del desarrollo y de la utilización sostenible de las técnicas de intervención.

Atenuación de la exposición humana a las micotoxinas gracias a la diversidad alimentaria

La diversidad alimentaria es una excelente forma de mejorar la nutrición y la salud (FAO, 1997; Frison et al., 2006; Lovo y Veronesi, 2014). Una alimentación saludable se define por el número de alimentos diferentes, las cantidades y el valor nutricional de estos alimentos disponibles para el consumo (Drescher et al., 2007). Los datos alimentarios

de la República Unida de Tanzania permitieron estimar el efecto de la diversificación de cultivos sobre el crecimiento infantil así mismo ofrecieron una idea clara del impacto positivo y significativo sobre el estado nutricional de los niños, especialmente de las niñas y de la altura de los niños (Lovo y Veronesi, 2014).

La falta de diversidad alimentaria está directamente relacionada al nivel de exposición a micotoxinas. En zonas rurales de África y ciertas partes de América Latina, un alto porcentaje de calorías proviene del maíz, que está comúnmente contaminado por aflatoxinas y/o las fumonisinas. En África oriental, la exposición a las aflatoxinas está directamente correlacionada con el consumo diario de maíz, y la exposición a las fumonisinas proviene casi en su totalidad del maíz (Kimanya et al., 2008). Otra fuente importante de exposición a la aflatoxina es el consumo de maní (Liu y Wu, 2010; IARC, 2012). El acceso a una mayor variedad de alimentos reducirá el riesgo de exposición al disminuir el aporte de estos

alimentos comúnmente contaminados (Groopman et al., 2008). La sustitución de los alimentos con alto riesgo de contaminación por micotoxinas por alimentos con un menor riesgo, permitiría mejorar el acceso a una alimentación con mayor valor nutricional.

Lo ocurrido en Qidong, China, constituye un excelente ejemplo de la mejora de la salud al pasar de una fuente alimentaria con alto riesgo de contaminación por aflatoxinas a una de bajo riesgo. El gobierno había impuesto el consumo exclusivo de productos cultivados localmente y había prohibido el intercambio de productos alimenticios entre regiones, los habitantes del condado de Qidong se vieron obligados a producir y consumir maíz principalmente durante varias décadas. La liberalización de la política comercial entre provincias les permitió importar arroz de otras regiones de China, y de sustituir el maíz como alimento base. Como el nivel de contaminación del arroz por aflatoxinas es mucho menor que el del maíz, la exposición a las mismas disminuyó y se observó una caída de la incidencia del cáncer de hígado (Chen et al., 2013).

La diversidad alimentaria y el riesgo de exposición también pueden derivarse de factores socioeconómicos. En África occidental, Egal et al. (2005) informaron que la frecuencia media de consumo de maíz es de 5 a 7 días por semana. El maíz es actualmente el cereal de base más común; este ha reemplazado los cereales tradicionales como el sorgo y el mijo, y otros alimentos ricos en almidón (Miracle, 1966). El consumo de maní, es otra fuente común de aflatoxinas, está positivamente correlacionada a las variables que reflejan el nivel económico de la madre y del hogar, y varía en función de la zona agroecológica. En Ghana, Shuaib et al.

(2012) mostraron una relación negativa entre el ingreso de las mujeres y los niveles de biomarcadores de la aflatoxina en la sangre. Se podría pensar entonces que el aumento del poder adquisitivo podría favorecer la diversificación de la selección alimenticia.

El cambio las preferencias alimentarias, en ausencia de limitaciones económicas, pueden ser una cuestión de campañas promocionales y de acciones de concientización. Sin embargo, cambiar las preferencias y el modo de acceso a los alimentos para las poblaciones que viven en condiciones de inseguridad alimentaria supone un enorme desafío. En 1950, el sorgo y el mijo eran la principal fuente de almidón en la dieta en África subsahariana (40%), seguidos por la mandioca (30%) y el maíz (15%) (Miracle, 1966). La sustitución de los cereales tradicionales por el maíz obedece a una tendencia mundial; en los últimos 50 años, el consumo de sorgo y mijo ha disminuido en un 50% y el consumo de mandioca en un 40% (Khoury et al., 2014). Esta evolución pudo desempeñar un papel importante en el aumento de la exposición a las aflatoxinas. En África occidental, por ejemplo, las concentraciones de aflatoxinas en el mijo perla y el sorgo son sustancialmente inferiores a las de maíz (Bandyopadhyay et al., 2007).

Resistencia genética del maíz a la contaminación por aflatoxinas y fumonisinas

Aflatoxinas

Ciertas variedades de maíz presentan una resistencia genética a contaminación por aflatoxinas y fumonisinas, pero estas resistencias son complejas e implican múltiples genes. Sería necesario poder integrar estos genes de resistencia,

mediante ingeniería genética, en genotipos aceptables desde el punto de vista agroeconómico (Moreno y Kang, 1999; Eller et al., 2008; Warburton et al., 2013; Zila et al., 2013; Warburton y Williams, 2014).

La resistencia a los insectos que se alimentan de las espigas se asocia con una disminución de los niveles de aflatoxinas y fumonisinas (Miller, 2001; Munkvold, 2003). La expresión transgénica de toxinas del *Bacillus thuringiensis* (Bt) permite reducir los daños causados por los insectos y la contaminación por fumonisinas (de la Campa et al., 2005; Barros et al., 2009; Ostry et al., 2010; Abbas et al., 2013; Pray et al., 2013). Sin embargo, la eficacia de Bt en cuanto a la reducción de la contaminación por aflatoxinas no ha sido establecida (Abbas et al., 2013).

El análisis histológico, proteómico y transcriptómico de la interacción entre el hongo y los granos de maíz mostró sorprendentes similitudes con otros sistemas bien caracterizados, lo que sugiere que podría ser posible obtener variedades de maíz resistentes. Las nuevas tecnologías genéticas junto con las estrategias de mejora de los cultivos y del fenotipo, han aumentado considerablemente el número de marcadores genéticos asociados a la resistencia a las aflatoxinas y fumonisinas y han permitido identificar los genes y proteínas que podrían estar asociados a la resistencia (Lanubile et al., 2010; Brown et al., 2013; Campos-Bermudez et al., 2013; Dolezal et al., 2013, 2014; Warburton y Williams, 2014). Se ha avanzado en la selección de líneas parentales de maíz resistentes a la acumulación de aflatoxinas, que muestran alta resistencia y pueden ser reproducidas en diferentes ambientes (Mayfield et al., 2012; Williams y Windham, 2012). Fuentes adicionales de resistencia han sido identificadas por el

Germplasm Enhancement of Maize Project (Proyecto de mejoramiento genético del maíz), programa público-privado que utiliza germoplasma exótico proveniente del mundo entero, especialmente del Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) (Li et al., 2002; Henry et al., 2013). La utilización de una colección reducida representativa de la diversidad del maíz, constituida a partir de líneas de hibridación de los programas de selección de todo el mundo (Flint-García et al., 2005), ha permitido identificar más de 30 líneas que muestran una buena resistencia a las micotoxinas en siete ambientes diferentes (Warburton et al., 2013; Warburton y Williams, 2014). Estas líneas de germoplasma de maíz están a disposición del público, y varias ya han sido incluidas en un proyecto que involucra a la Agencia Internacional para el Desarrollo y el Ministerio de la Agricultura de Estados Unidos (USAID/USDA) y dos centros del Grupo consultivo para la investigación agrícola internacional (CGIAR), con el objetivo de desarrollar variedades híbridas resistentes (Warburton y Williams, 2014). Como parte de una estrategia de colaboración Estados Unidos-África, el Instituto Internacional de Agricultura Tropical (IITA) y el USDA obtuvieron seis líneas endogámicas adaptadas a África con una mayor resistencia a la acumulación de aflatoxinas (Menkir et al., 2006, 2008).

En resumen, ya se están utilizando híbridos de maíz con una mayor resistencia al *Aspergillus flavus* y a las aflatoxinas, pero su nivel de resistencia aún no es suficiente para limitar la contaminación por aflatoxinas de ciertos campos a niveles aceptables. Mediante estudios de perfiles de expresión genética se han identificado genes que están probablemente asociados a la resistencia y que resultaría conveniente

evaluar el papel que desempeñan en la resistencia a la contaminación por aflatoxinas.

Fumonisin

Se han identificado numerosos genotipos con una cierta resistencia a la acumulación de fumonisin (Mesterházy et al., 2012; Santiago et al., 2013), incluyendo las líneas de germoplasma adaptadas a Argentina (Presello et al., 2011), África Central y Occidental (Afolabi et al., 2007) y Sudáfrica (Small et al., 2011), pero no se dispone de ningún híbrido con una resistencia suficiente. La heredabilidad de la resistencia a la acumulación de fumonisin es más alta que para la aflatoxina (Zila et al., 2013). Una correlación genotípica desde moderada a elevada entre el enmohecimiento de la espiga y el contenido de fumonisin sugiere que la resistencia al hongo y la producción de fumonisin puede estar estrechamente ligada (Eller et al., 2008; Presello et al., 2011; Zila et al., 2013). Esta correlación ha permitido la selección de la resistencia a la acumulación de fumonisin basado en el índice del enmohecimiento Robertson et al., 2006; Eller et al., 2008; Santiago et al., 2013), permitiendo que el cribado sea más rápido y menos costoso.

Los estudios de asociación sobre la totalidad del genoma, realizados a partir de la colección reducida representativa de la diversidad genética del maíz, permitieron identificar tres nuevos locus correspondientes con 3-12% de las variaciones genéticas asociadas a la resistencia al enmohecimiento de la espiga (Zila et al., 2013). Tres genes que podrían estar implicados en las resistencias están localizados cerca de los marcadores genéticos. El gran número de marcadores genéticos disponibles en las colecciones de recursos genéticos permite la

disección de los rasgos cuantitativos complejos, tales como la resistencia a la acumulación de micotoxinas.

La acumulación de la fumonisin es sistemáticamente reducida en el maíz híbrido Bt resistente a los daños causados por los insectos. Esto puede ayudar a hacer la diferencia entre los productos de maíz que son relativamente seguros y los que no lo son (de la Campa et al., 2005; Pray et al., 2013).

Resistencia genética del maní a la contaminación por aflatoxina

La resistencia genética del maní a la contaminación por aflatoxina es compleja: la heredabilidad es de baja a moderada, la correlación entre el crecimiento de mohos y la contaminación por aflatoxinas es baja, y los resultados de ensayos en semillas *in vitro* no se correlacionan con los de los ensayos de campo (Holbrook et al., 2008; Arunyanark et al., 2010; Girdthai et al., 2010b; Hamidou et al., 2014).

Se dispone de germoplasmas con una cierta resistencia, pero los genotipos responden de manera diferente dependiendo del lugar, debido a las interacciones entre el genotipo y el ambiente sobre la contaminación por aflatoxina (Liang et al., 2006; Arunyanark et al., 2010; Girdthai et al., 2010a, 2010b; Hamidou et al., 2014).

El estrés originado por la sequía es uno de los factores ambientales cuyo efecto es importante, y numerosos programas se han centrado sobre la selección de la tolerancia a la sequía para mejorar la resistencia a la contaminación por aflatoxina. Un estudio de campo realizado en África Occidental examinó 268 genotipos en cuatro lugares diferentes y permitió confirmar que la contaminación por aflatoxina aumenta

con la intensidad del estrés por la sequía; sin embargo, los investigadores no mostraron una relación directa significativa entre la tolerancia a la sequía y la contaminación por la aflatoxina (Hamidou et al., 2014), lo que se debe probablemente al efecto de otros factores ambientales específicos de los sitios estudiados.

Una mejor comprensión de los mecanismos de resistencia debería ayudar a mejorar la selección de germoplasmas resistentes. Las secuencias genómicas de los dos progenitores diploides del maní están ahora disponibles (http://peanutbase.org/browse_search), y esto puede facilitar el mapeo molecular y la selección en función de la resistencia a las enfermedades.

Control biológico de las aflatoxinas

En los Estados Unidos, las estrategias de control biológico han sido desarrolladas para reducir la contaminación por aflatoxinas en semillas de algodón (Cotty, 1994), maní (Dorner y Lamb, 2006), maíz (Dorner et al., 1999) y pistachos (Doster et al., 2014) utilizando cepas de *A. flavus* que no producen aflatoxinas (es decir, cepas no toxigénicas). En la práctica comercial en los Estados Unidos, estas cepas no toxigénicas se aplican al campo durante el crecimiento de las plantas (Cotty, 1994; Dorner y Lamb, 2006). En condiciones adecuadas, la cepa introducida se propaga en todo el campo y reemplaza las cepas nativas toxigénicas (Mehl et al., 2012; Atehnkeng et al., 2014). Los productos utilizados en el control biológico pueden contener cepas provenientes de un sólo clon (Bock y Cotty, 1999) o de varias cepas diferentes, con el fin de facilitar su adaptación a las condiciones locales (Atehnkeng et al., 2014).

Se han identificado varios factores susceptibles de afectar la eficacia de este enfoque. El rocío y la humedad permitirán a las cepas no toxigénicas producir esporas durante varios días (o durante más tiempo si las condiciones propicias persisten). Si se sitúan las semillas en un suelo seco, es posible que no se realice de manera adecuada la producción de las esporas; éstas permanecerán inertes, pero viables, hasta que regrese la humedad (Bock y Cotty, 1999). La aplicación de las cepas no toxigénicas en el maíz puede resultar ineficaz si se realiza de manera tardía (después de la aparición de los pelos o barbas). En caso de lluvias fuertes poco después de la dispersión del inóculo, el producto de control biológico no puede quedar distribuido de manera uniforme sobre la superficie del campo. Abbas (2011) realizó una revisión crítica de la utilización de cepas no toxigénicas de *A. flavus* en los Estados Unidos, y concluyó que esta tecnología se está convirtiendo en una práctica útil para reducir las concentraciones de aflatoxinas en el maíz.

Control biológico en África

En un estudio realizado en Nigeria, la inoculación de una mezcla de cuatro cepas no toxigénicas endémicas de *A. flavus* durante 2 años seguidos, en explotaciones de maíz situadas en cuatro contextos agroecológicos diferentes, dio lugar a una reducción significativa de las concentraciones de aflatoxinas en la cosecha y después del almacenamiento (Atehnkeng et al., 2014). Al momento de la cosecha, la reducción del contenido de aflatoxina pasó de 57,2% (27,1 ppb en explotaciones no tratadas contra 11,6 ppb en explotaciones tratadas) a 99,2% (2.792,4 ppb en explotaciones no tratadas vs

23,4 ppb en explotaciones tratadas). Las cepas no toxigénicas quedaron en el maíz tratado, y las concentraciones de aflatoxinas en el grano después de un almacenamiento en malas condiciones, disminuyeron de 93,5% (956,1 ppb en maíz no tratado contra 66,2 ppb en maíz tratado) a 95,6% (2.408,3 ppb en maíz no tratado contra 104,7 ppb en el maíz tratado).

En Nigeria, un porcentaje similar de muestras de maíz estaban contaminadas tanto por aflatoxinas como por fumonisinas (Adetunji et al., 2014; Adetunji et al., 2014), situación que no es extraña. En situaciones donde las condiciones favorecen el desarrollo concomitante de aflatoxinas y fumonisinas en el campo, es necesario poder recurrir a intervenciones eficaces contra ambas toxinas. Pero aparte del maíz Bt, que aún no es ampliamente utilizado en África, existen pocas intervenciones capaces prevenir la fumonisina en el terreno. Ensayos preliminares han mostrado la posibilidad de desarrollar tratamientos de control biológico de *Fusarium verticillioides* (Sobowale et al., 2007).

La recombinación genética aplicada a *A. flavus* permite aumentar su diversidad (Olarte et al., 2012; Horn et al., 2014). La adquisición de genes de las toxinas es posible durante la recombinación que se produce durante la reproducción sexual, pero las consecuencias no son claras en lo que concierne el control biológico (Abbas et al., 2011). Hasta la fecha, los estudios realizados muestran que la producción de aflatoxina es un rasgo hereditario que no se pierde durante la recombinación sexual; Sin embargo, la hibridación entre las cepas tóxicas y no toxigénicas dio lugar a la producción de niveles bajos o negativos de aflatoxina para la descendencia (Olarte et al., 2012).

Producción de ácido ciclopiazónico por *A. flavus*

El ácido ciclopiazónico (ACP) ejerce un efecto tóxico e inmunosupresor sobre diversas cepas de ratones y ratas, así como en cerdos y aves de corral (Burdock y Flamm, 2000; De Waal, 2002; King et al., 2011). Una de las cepas comerciales no toxigénicas de *A. flavus* utilizadas en los Estados Unidos, la AF36, produce ACP. Es posible seleccionar cepas de *A. flavus* que no produzcan ni aflatoxina ni ACP (King et al., 2011). Antes de su utilización, es necesario encontrar un medio de reducir o eliminar la producción de ACP en las cepas utilizadas para el control biológico (Abbas et al., 2011; King et al., 2011).

Necesidades en materia de investigación

La utilización de cepas no toxigénicas para ayudar a controlar la presencia de aflatoxina en el maíz y el maní en África y en otras partes del mundo, requerirá de inversión para optimizar, adaptar e implementar esta tecnología de una manera sostenible.

Dado el gran número de investigaciones exploratorias en África, es necesario llevar a cabo estudios para evaluar el impacto de la recombinación genética en tasas bajas, y obtener información útil para la implementación de la tecnología en diversos entornos.

Clasificación

En los países desarrollados, es necesario utilizar las técnicas de clasificación y limpieza de los granos para reducir la contaminación por micotoxinas, especialmente en cereales contaminados por cornezuelo de centeno y en los frutos secos. Los esclerocios del

cornezuelo de centeno son eliminados separándolos de los granos por gravedad, una práctica que ha estado en vigor desde hace mucho tiempo. Para el maní, después de una limpieza elemental de la cosecha por los agricultores, clasificadores ópticos electrónicos de alta capacidad permiten retirar los granos contaminados por aflatoxinas (Whitaker et al., 2005). Para el maíz, los equipos de limpieza normales permiten reducir el contenido en aflatoxinas y fumonisinas de 50 a 60% (Malone et al., 1998; Pacin y Resnik, 2012), lo que es muy inferior a lo que se obtiene mediante clasificación manual (Brekke et al., 1975).

Poco después del descubrimiento de la aflatoxina en 1961, la clasificación se convirtió en una práctica regular y eficaz para mejorar la seguridad alimentaria del maní. La necesidad de encontrar medios eficaces para eliminar el maní contaminado impulsó los experimentos sobre las concentraciones de aflatoxinas del maní cuya cáscara no presentaba enmohecimientos visibles. Estos estudios revelaron que la clasificación visual permitía separar eficazmente, en el laboratorio, los granos más contaminados de los granos menos contaminados. Sin embargo, ciertos maníes que parecían sanos podían contener niveles importantes de aflatoxina (Cucullu et al., 1966). En los Estados Unidos, después de haber recibido 4 horas de formación sobre los indicios visuales de la contaminación por *Aspergillus*, se pidió a personas sin experiencia previa que clasificaran visualmente muestras de maní que habían sido clasificadas por inspectores federales que siguieron el procedimiento oficial, según su calidad (sanos, afectados, intermedios). Se observaron errores de clasificación en el lote de maní considerado como sano, errores que los autores atribuyeron

esencialmente a falsos positivos, con algunos falsos negativos y errores de muestreo (Dickens y Welty, 1969).

En 1968, el sistema de inspección de los Estados Unidos alcanzó una nueva etapa al introducir la búsqueda del *Aspergillus* mediante el examen visual de los granos afectados. Después de su formación, cada inspector recibió una carpeta con dos series de fotografías a color que mostraban lo que debían buscar y lo que no era necesario buscar. Mientras los métodos actuales de inspección se desarrollaban, este enfoque elemental fue de mucha utilidad (Goldblatt, 1973). Whitaker et al. (1998) demostraron que la clasificación visual del maní constituía una primera medida reglamentaria de aplicación práctica. Ellos encontraron que los granos maduros y los semigranos sanos tenían aproximadamente el 7% del contenido de aflatoxinas, los granos contaminados contenían el resto. Estudios sobre la clasificación manual de los granos de maíz contaminados por las toxinas de *Fusarium* muestran que estas estrategias funcionan mejor cuando se imparte una formación continua (Desjardins et al., 2000; van der Westhuizen et al., 2010). Un estudio realizado en Filipinas encontró que la clasificación manual de los lotes de maní en bruto permitía reducir la concentración de aflatoxinas, que pasaba de 300 ng/g a 15 ng/g (Galvez et al., 2003). Las investigaciones realizadas en Kenia (y en Haití) demostraron que la clasificación manual del maní comprado en mercados locales podría reducir aproximadamente en un 98% las concentraciones de aflatoxinas en los lotes (Filbert y Brown, 2012).

En el caso del maíz en África, la clasificación manual es moderadamente eficaz a nivel de los pueblos para separar los lotes de granos en los que el contenido de aflatoxina es

menor. Según un estudio realizado en Benín, la extracción manual de granos visiblemente mohosos, afectados por los insectos y rotos, ha permitido reducir en un 40% las concentraciones de aflatoxinas (Fandohan et al., 2005). Los estudios realizados en Sudáfrica y en la República Unida de Tanzania han demostrado que la clasificación manual de los granos de maíz por los agricultores locales, mediante la eliminación de los granos visiblemente infectados o dañados, reduce en un 20% las concentraciones de (Kimanya et al., 2009; van der Westhuizen et al., 2010).

La voluntad de clasificar manualmente los granos y frutos secos depende de los suministros disponibles (Kimanya et al., 2008; van der Westhuizen et al., 2010; y las referencias citadas en estos artículos); Un estudio realizado en Ghana encontró que la calidad del maní consumido aumentaba con los ingresos familiares y la formación agrícola (Adu-Gyamfi, 2013). En Sudáfrica, la eficacia de la clasificación manual del maíz en la reducción de los niveles de fumonisina fue verificada con la ayuda de biomarcadores (van der Westhuizen et al., 2011).

En los países desarrollados, se utiliza principalmente la clasificación de los granos contaminados poscosecha para reducir la contaminación de los cereales y frutos secos por las micotoxinas, este método puede ser eficaz en todas las escalas de producción.

Necesidades en materia de investigación

Es necesario adaptar los equipos de clasificación óptica disponibles en el mercado para el sector del maní en África, ya sea para operaciones a pequeña o gran escala.

La formación específica de las mujeres de zonas rurales en la

clasificación manual parece ser una buena inversión. En África, la seguridad alimentaria es la principal barrera para la implementación de la clasificación (Fandohan et al., 2008). Es necesario continuar con las investigaciones para encontrar una utilización para los lotes rechazados (por ejemplo, Filbert y Brown, 2012).

Nixtamalización

En México y América Central y del Sur, la nixtamalización es comúnmente utilizada desde hace miles de años. La fumonisina ha sido prácticamente eliminada todo por medio de la hidrólisis que se produce durante la producción comercial de la masa de nixtamal. La masa se obtiene mediante la cocción de los granos de maíz en agua de cal, a una temperatura cercana al punto de ebullición, seguido de un enjuague. Las proporciones respectivas de maíz, cal y agua utilizadas y las prácticas de cocción, remojo y enjuague pueden variar dependiendo del tipo de maíz, las tradiciones locales y el tipo de alimentos a preparar (De La Campa et al., 2004).

En los Estados Unidos, la concentración de fumonisinas en las tortillas vendidas por las grandes corporaciones es baja (Voss et al., 2001). Sin embargo, aún en los Estados Unidos, las masas producidas de manera artesanal a menudo contienen fumonisinas (De La Campa et al., 2004; Dvorak et al., 2008). Cuando el lavado del producto tratado con cal antes de su consumo se realiza de acuerdo al proceso tradicional, esto es suficiente para reducir la concentración de aflatoxinas y fumonisinas (De Arriola et al., 1988; De La Campa et al., 2004; Méndez-Albores et al., 2004; Guzmán-de-Peña, 2010). En América Latina, debido a la variabilidad del proceso, pueden existir residuos de fumonisina en las

tortillas (ver Dombrink-Kurtzman y Dvorak, 1999; Meredith et al., 1999) y por lo tanto exposición a la misma (Gong et al., 2008a).

Necesidades en materia de investigación

Se ha demostrado en América Latina que la nixtamalización reduce la exposición a la aflatoxina y a la fumonisina. Sería interesante poder distribuir un compendio de los conocimientos sobre los factores conocidos para reducir los niveles de fumonisina en la masa restante (De La Campa et al., 2004).

Reducción de la exposición a las aflatoxinas y fumonisinas mediante estrategias de intervención en el almacenamiento poscosecha

La contaminación de los cultivos por micotoxinas puede ocurrir antes y poscosecha debido a prácticas agrícolas inadecuadas. El crecimiento fúngico y la producción de toxinas puede ocurrir en el campo (este es el caso para la fumonisina y aflatoxina), durante el almacenamiento (aflatoxinas) o en ambas situaciones. El crecimiento del *Aspergillus flavus* y del *A. parasiticus* y la acumulación de aflatoxinas son favorecidos por niveles importantes de humedad (> 85%), las temperaturas elevadas (> 25 °C), la actividad de los insectos y roedores, un mal secado de la cosecha y la infiltración de agua en las estructuras de almacenamiento (Adegoke y Letuma, 2013).

La mayoría de los países en desarrollo se encuentran en áreas tropicales y están sujetos a los monzones y a temperaturas y niveles de humedad elevados, que son responsables de pérdidas significativas poscosecha. Las prácticas inadecuadas de almacenamiento son

responsables del 20 al 50% de estas pérdidas. Aunque es una de las principales prioridades de las Naciones Unidas desde 1946 (Schulzen, 1982), estas pérdidas son un problema mundial y aumentan el riesgo de la inseguridad alimentaria (disponibilidad de alimentos, hambre y valor nutricional) y de la pobreza (Hell et al., 2008; Jayas, 2012; Kimatu et al., 2012; Gitonga et al., 2013; Guillou y Matheron, 2014). La doble carga de la exposición crónica a las micotoxinas y la insuficiencia de alimentos aumenta la mortalidad y morbilidad, especialmente en los niños (Bryden, 2007; IARC, 2012). Por lo tanto, poscosecha se deben aplicar medidas adecuadas, prácticas, económicas y culturalmente aceptables, para tratar de resolver los problemas de seguridad alimentaria y de inocuidad de los alimentos, con el fin de mejorar la salud de las poblaciones.

En climas subtropicales, el maíz es generalmente infectado por *A. flavus* en el campo y a menos que sea secado muy rápidamente, las concentraciones de aflatoxinas aumentan poscosecha (IARC, 2012). Las condiciones de almacenamiento de productos agrícolas son, pues, una parte integral de las estrategias de prevención de micotoxinas (Marín et al., 2004; Choudhary y Kumari, 2010; Chulze, 2010). La mayoría de las condiciones asociadas con el periodo posterior a la cosecha pueden ser controladas, a diferencia de las que la preceden. Las estrategias que buscan reducir los niveles de micotoxinas durante el almacenamiento consisten principalmente en: secar las cosechas antes del almacenamiento; utilizar instalaciones de almacenamiento limpias, secas y cerradas; tener un buen sistema de drenaje del agua; disponer de almacenes bien ventilados; y eliminar la actividad de los insectos y otras plagas como

roedores y aves (Lanyasunya et al., 2005; Turner et al., 2005; Hell et al., 2008).

Antes del almacenamiento, se debe secar la cosecha sin demora para reducir el crecimiento fúngico; los niveles de humedad recomendados son de 10–13% para los cereales y de 7–8% para las semillas oleaginosas (Hell et al., 2008). El almacenamiento de la cosecha se hace comúnmente: en el campo; en el suelo de las casas; sobre los techos o por debajo de los techos de las casas; en sacos de yute o de polipropileno, en cajones de alambre (o malla), tanques (fosas) y contenedores metálicos; y en las estructuras cónicas y otros graneros con o sin techo, en madera, bambú, paja o barro (Hell et al., 2010; Narrod, 2013; Abass et al., 2014).

Pocas estrategias de intervención han demostrado su eficacia con respecto al almacenamiento de las cosechas de los pequeños agricultores que practican la agricultura de subsistencia. Turner et al. (2005) llevaron a cabo un estudio de campo con los productores de maní en África Occidental (600 voluntarios de 20 pueblos) con el fin de identificar los métodos para reducir la exposición a las aflatoxinas. Ellos establecieron una serie de intervenciones específicas, y evaluaron su impacto en los niveles de exposición, al medir el contenido de aflatoxina B₁ (AFB₁) en el maní y los niveles de aductos aflatoxina-albúmina (AF-alb) en las muestras de sangre de los voluntarios. El “paquete” de intervenciones incluyó la clasificación manual de granos de maní (con eliminación de los granos afectados), el secado del grano en esteras de fibra natural, el tiempo estimado para el secado al sol, el almacenamiento del maní sin cáscara en sacos de fibra natural, el suministro de plataformas de madera para depositar los sacos y

el uso de insecticidas (acetilite). Se observó una reducción significativa de aductos AF-alb en la sangre (reducción del 58%) y de los niveles de contaminación del maní (reducción del 70%). Este es el único estudio de este tipo que ha demostrado una reducción de la exposición a las aflatoxinas en una población consumidora de maní (Turner et al., 2005).

En África, el maíz madura en condiciones de sequía y a menudo se deja secar en el campo en el tallo, mientras que en Asia oriental y del sudeste, el maíz se cosecha a veces húmedo, amontonado en pilas y abandonado *in situ* durante algún tiempo para darle tiempo de secarse (Pitt et al., 2013). Algunas veces el maíz es descascarillado lo que, asociado a las prácticas de secado, aumenta los niveles de aflatoxinas. Sin embargo, cuando se seca adecuadamente, fuera de los campos y por encima del suelo, el maíz es menos vulnerable a los insectos y a la proliferación fúngica.

El secado al sol del maíz y del maní es una práctica común en África, lo que, con el uso de plataformas, ha demostrado su capacidad para reducir el crecimiento de mohos toxigénicos tales como *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* (Hell et al., 2008). En Ghana, después de la cosecha, las vainas de maní se secan en pequeños montones (hileras) que son removidas regularmente, lo que asegura la circulación del aire y la exposición directa a la luz solar. Este método económico permite secar las vainas de forma rápida y suficiente para garantizar la reducción de los niveles de aflatoxinas (Amoako-Attah et al., 2007). Para el maní, el secado en superficies elevadas y en esteras, permite disminuir la humedad hasta un 8%, niveles de protección por los cuales el riesgo de contaminación por aflatoxinas es reducido (Waliyar et al., 2013).

Kaaya y Kyamuhangire (2010), estudiaron en Uganda el efecto de los secadores por convección natural calentados por biomasa sobre la calidad del maíz durante el almacenamiento. Durante este estudio, los investigadores siguieron los daños causados por los insectos, el moho y las aflatoxinas, y verificaron el potencial de germinación del maíz. Al parecer, la utilización de estos secadores tenía un efecto protector contra los daños causados por insectos, reducía la contaminación por mohos y aflatoxinas, y no alteraba la capacidad de germinación de los granos. Este método de secado también demostró ser muy eficaz contra las pérdidas por daños causados por insectos. Asimismo ayudó a reducir la utilización de insecticidas, ampliar el tiempo de almacenamiento de 1,8 a 2,4 meses, mejorar la disponibilidad de los alimentos en más de un mes y finalmente, para generar empleo y aumentar los ingresos.

Para reemplazar el secado al sol, se propusieron secadores solares que permitían secar los cereales más rápido y con mayor eficacia así como realizar un mejor control y limpiar el entorno (Sharma et al., 2009; Ogunkoya et al., 2011). El fracaso de los secadores solares en la agricultura comercial se ha atribuido a su costo, el hecho de que los procedimientos operativos son complicados y que los agricultores se resisten a abandonar los métodos tradicionales (Ekechukwu y Norton, 1999). Los pequeños agricultores necesitan secadores solares menos costosos para comprar o construir y que requieran poco mantenimiento (Ogunkoya et al., 2011). Entre los diferentes tipos de secadores solares disponibles, que incluyan secadores activos (convección forzada) y secadores pasivos (circulación natural), los

invernaderos ventilados podrían ser los más adecuados para los pequeños productores rurales, debido a su bajo costo, su facilidad de utilización y la capacidad de construirlos *in situ*, en el mismo lugar de su utilización (Ekechukwu y Norton, 1999).

El uso de bolsas de almacenamiento herméticas, como aquellas propuestas por el Proyecto para la mejora del almacenamiento de cosechas de la Universidad de Purdue (*Purdue Improved Crop Storage*) parece ser eficaz en el control de los insectos: se incrementa de 95 a 100% la mortalidad de los insectos en las existencias de maíz (Baoua et al., 2014; Hell et al., 2014). La eficacia de las técnicas de sellado hermético para evitar la proliferación fúngica y la contaminación por micotoxinas resultante, parece depender del tipo y las características específicas del producto agrícola de que se trate. El almacenamiento de maní en las bolsas de Súper Grano (bolsas con varios espesores de polietileno cerradas con un control deslizante de doble cremallera) permitió la reducción del crecimiento de mohos productores de aflatoxinas durante un estudio experimental (Navarro et al., 2012). Según Mutegi et al. (2013), la contaminación del maní es de 7 a 13% superior cuando se almacena en bolsas de polietileno en lugar de bolsas de polipropileno y yute. Los sacos de yute se consideraban más adecuados que las bolsas de polietileno y polipropileno, siempre que los productos sean secados adecuadamente antes de su almacenamiento; las bolsas de polietileno y polipropileno son poco ventiladas y no absorben la humedad. Según Turner et al. (2005), los sacos de fibra de yute natural permiten una mejor conservación de las cosechas.

Necesidades en materia de investigación

Es conveniente acordar una alta prioridad a la búsqueda de estrategias para aplicar poscosecha y mejorar las condiciones de almacenamiento de los cultivos (Anankware et al., 2012). Idealmente, serían necesarias tecnologías sostenibles y económicamente viables, prácticas que requieran poco trabajo, que estén ampliamente disponibles, que no tengan ningún problema de transporte y permitan reducir la utilización de productos químicos (Hell et al., 2010; Baoua et al., 2014). Las intervenciones deben ser apropiadas tanto para las pequeñas explotaciones agrícolas, como para las explotaciones comerciales de las zonas rurales. En África subsahariana, el 80% de los productores son pequeños agricultores que practican la agricultura de subsistencia (Mboya y Kolanisi, 2014), y es necesario distinguir las técnicas que resultan adecuados para las explotaciones comerciales y las que pueden aplicarse a los pequeños agricultores en las zonas rurales.

La aceptabilidad cultural de las intervenciones en los diferentes sistemas agrícolas también es importante. De ahí la necesidad de probar y validar en el campo la eficacia, la viabilidad económica y la sostenibilidad de las intervenciones posteriores a la cosecha en los países en desarrollo (Strosnider et al., 2006; De Groot et al., 2013; Jones et al., 2014). Para asegurarse de que son seguidas correctamente, es importante vigilar de cerca su aplicación a gran escala.

Además de la ausencia de estrategias viables y de bajo costo, varios obstáculos se presentan para la mejora del almacenamiento de alimentos poscosecha, como la falta de participación de los poderes públicos y la falta de personal

capacitado, especialmente en materia de extensión agrícola (Hell et al., 2010). El establecimiento de estrategias que busquen proteger las cosechas durante el almacenamiento, requieren inevitablemente de la cooperación y la comunicación entre los gobiernos, entidades de investigación, organizaciones no gubernamentales y otras partes interesadas (intermediarios comerciales, grupos de agricultores y consumidores), las empresas de la industria agroalimentaria y los agricultores.

En África, la concientización de los agricultores sobre los riesgos sanitarios asociados con las aflatoxinas y los mecanismos para reducir la exposición depende de su situación socioeconómica, su educación, el tamaño de sus explotaciones, su participación en la extensión agrícola, la orientación del mercado, la motivación económica y sus percepciones (Kumar y Popat, 2010; Adegoke y Letuma, 2013). No debemos olvidar que las mujeres de zonas agroecológicas rurales de los países en desarrollo, desempeñan un papel importante como madres, educadoras y mujeres de negocios a cargo de la administración del hogar, en especial de la alimentación, el cultivo y la venta de las cosechas de las pequeñas explotaciones agrícolas. En algunas regiones de Ghana y Nigeria, las mujeres no llegan a producir tanto maíz como los hombres, lo que se explica por la falta de acceso a los suelos fértiles, la tecnología o las innovaciones (Udoh et al., 2000; Adu-Gyamfi, 2013). En Ghana y Nigeria, las mujeres tienen menos influencia en las decisiones que los hombres (Ogunlela y Mukhtar, 2009; Adu-Gyamfi, 2013). En Sudáfrica, la situación es diferente; las mujeres dirigen el 60% de los hogares rurales en la Provincia Oriental del Cabo y administran sus propias granjas (Burger et al.,

2010). Es necesario continuar con las investigaciones sobre el papel de las diferencias entre hombres y mujeres en la gestión del problema de las micotoxinas, con el fin de llevar a cabo campañas de educación adaptadas y para asegurar que las mujeres tengan acceso a la información.

Las intervenciones poscosecha que buscan reducir la exposición a las micotoxinas deberían incluir programas de educación y sensibilización que faciliten la adopción de las mejores prácticas. Los resultados de una encuesta realizada en las zonas rurales de Sudáfrica durante la cual Mboya y Kolanisi (2014) entrevistaron a 260 familias de pequeños agricultores, muestran que pocos de ellos son conscientes de los riesgos sanitarios asociados a las micotoxinas. Resultados similares fueron obtenidos en un estudio mucho más importante (tamaño de la muestra: 2.400) llevado a cabo en Benín, Ghana y Togo (James et al., 2007). La aplicación de prácticas agrícolas adecuadas puede llegar a ser permanente si las campañas de información son repetidas continuamente (Strosnider et al., 2006; Jolly et al., 2009). Será necesario centrar la atención en la calidad de los productos agrícolas en lugar de la productividad para los mercados nacionales (Kumar y Popat, 2010).

Las estrategias de prevención culturalmente aceptables y validadas por datos objetivos (evidencias) permiten realizar las siguientes recomendaciones:

- Desarrollar módulos de transmisión de conocimientos, en colaboración con los agricultores, los funcionarios responsables de la extensión agrícola, los líderes tradicionales, los grupos religiosos, profesionales de la salud y la sociedad civil, dirigiéndose particularmente a las mujeres.

- Estar preparados para poner en práctica las estrategias de prevención a gran escala.
- En caso de exposición crónica, implementar de forma permanente todos los procedimientos recomendados.
- Incluir en el “paquete” de medidas que deben aplicarse: la clasificación manual, el secado rápido y adecuado (temperatura elevada) de las cosechas, el almacenamiento sobre estructuras elevadas y el control de los insectos.
- Tener en cuenta la necesidad urgente de construir secadores solares o por biomasa y estructuras de almacenamiento fabricadas con materiales disponibles localmente.

Intervenciones útiles en situaciones de emergencia

Se han presentado un número preocupante de casos de aflatoxicosis aguda, particularmente durante la última década. Aquellos que sufren los efectos más graves de la intoxicación aguda con aflatoxina, es decir, la enfermedad y la muerte, son los más expuestos al consumo de alimentos contaminados (Lewis et al., 2005). Por tanto, es imprescindible poner en práctica todo lo que es posible en términos de intervenciones y tratamientos para reducir la exposición humana y animal a las aflatoxinas cuando se inicia la epidemia de aflatoxicosis (primeros brotes).

Se ha investigado si las estrategias consistentes en secuestrar las aflatoxinas en el tracto gastrointestinal y reducir su biodisponibilidad, podrían resolver el problema que éstas suponen, de forma práctica, sostenible y económicamente viable. A menos que se pueda evitar la ingestión de alimentos contaminados, ninguna de estas estrategias de intervención primaria ofrece una protección completa. La arcilla muy

fina, montmorillonítica, calcio (NovaSil [NS]) y la clorofilina han sido ampliamente estudiadas en animales y humanos, con resultados prometedores en términos de eficacia y de inocuidad. Se están realizando investigaciones para evaluar la eficacia de otras estrategias similares que se dirigen a la adsorción intestinal, implicando especialmente las bacterias y los glúcidos no digeribles tales como glucanos, glucomanos, celulosa y peptidoglicano.

Adsorbentes intestinales de la aflatoxina

Los estudios que describen los materiales capaces de adsorber las aflatoxinas en las superficies internas y/o externas, reduciendo su biodisponibilidad y la absorción intestinal, fueron recientemente examinados de manera crítica (Kensler et al., 2013; Miller et al., 2014). Estudios sobre la factibilidad técnica, costos y eficacia de diversas estrategias de mitigación (especialmente el uso de adsorbentes y sensores de toxinas) también han sido reportados (Khlanguis y Wu, 2010). La inclusión de adsorbentes en la alimentación ha sido propuesta para reducir la morbilidad y la mortalidad durante las epidemias de aflatoxicosis aguda. Los productos más utilizados tales como agentes absorbentes y sensores de toxinas son descritos brevemente a continuación.

Clorofila/clorofilina

La clorofila y clorofilina son componentes naturales de la alimentación humana, que han demostrado ser eficaces contra el cáncer en varios modelos animales (Dashwood et al., 1998). Según las hipótesis, estos productos actuarían como sensores de moléculas

interceptando los carcinógenos como la AFB₁, y así disminuirían su biodisponibilidad al impedir su absorción (Breinholt et al., 1995).

En un ensayo clínico de una duración de 4 meses realizado en China, la ingestión de 100 mg de clorofilina en cada comida generó una reducción global del 55% en los niveles medios de orina de aductos aflatoxinas–N7-guanina en comparación al placebo (Egner et al., 2001). Los resultados de un estudio cruzado de cuatro voluntarios en los Estados Unidos sugieren que el consumo de clorofila o clorofilina podría limitar la biodisponibilidad de las aflatoxinas en los seres humanos, de la misma manera que en animales (Jubert et al., 2009). El tratamiento profiláctico con clorofilina o la suplementación de alimentos con alimentos ricos en clorofila puede ser una medida práctica para reducir el riesgo de aflatoxicosis (Kensler et al., 2013).

Arcillas

La utilización de productos con base de arcilla como adsorbentes de aflatoxina es una estrategia utilizada con frecuencia para reducir la exposición en los animales. Las arcillas esmectita dioctaédrica (especialmente la montmorillonita) se utilizan comúnmente para este propósito. Los estudios anteriores demostraron que la inclusión de montmorillonita de calcio (NS) en la alimentación de los animales reducía los efectos nocivos de la exposición a la aflatoxina en muchas especies animales y disminuía los niveles de aflatoxinas M₁ (AFM₁) en la leche de vaca y de cabra (Phillips et al., 2008). El equilibrio de las isotermas de adsorción, el modelado molecular y los estudios *in vivo* muestran que la NS se une a la AFB₁ y a la

fumonisina B₁ en el tracto digestivo, reduciendo su biodisponibilidad a nivel sistémico (Phillips et al., 2008; Robinson et al., 2012).

Los ensayos preliminares realizados en Ghana y Texas (Estados Unidos) no revelaron ningún efecto adverso sobre la salud humana (Phillips et al., 2008; Johnson et al., 2009; Mitchell et al., 2013). Según los estudios en animales y humanos, la arcilla NS no altera significativamente los niveles de vitaminas y minerales. En general, la utilización de NS durante las epidemias de aflatoxicosis aguda, se revela como una estrategia segura y práctica para las poblaciones vulnerables de alto riesgo de exposición (Mitchell et al., 2014).

Otros productos capaces de secuestrar la aflatoxina incluyen las bacterias del ácido láctico (El-Nezami et al., 2000, 2006; Hernandez-Mendoza et al., 2009; Dalié et al., 2010; Pizzolitto et al., 2011) y las levaduras (Baptista et al., 2002; Diaz et al., 2004; Stroud, 2006; Kutz et al., 2009; Pizzolitto et al., 2011; Fruhauf et al., 2012).

Necesidades en materia de investigación

Independientemente de la especie, siempre son los jóvenes quienes son más vulnerables a las aflatoxinas y los niños son las primeras víctimas de las epidemias de aflatoxicosis. Los ensayos publicados hasta la fecha se refieren principalmente a los adultos y no está claro cuáles son las estrategias a utilizar en situaciones de emergencia para proteger a los bebés y niños.

Es necesario realizar otros estudios para evaluar el efecto de la dosis de aflatoxina y la duración de la exposición sobre la eficacia y la inocuidad de la NS y clorofilina en las poblaciones vulnerables, especialmente entre lactantes, niños desnutridos y mujeres embarazadas.

También es necesario realizar investigaciones para: determinar el efecto de las mezclas de NS, clorofilina y otros adsorbentes; evaluar la eficacia de combinaciones de adsorbentes y quimio-protectores; identificar estrategias eficaces y sostenibles para el tratamiento de la aflatoxicosis aguda y realizar ensayos clínicos para cada fase.

Estudios de quimiopreención

Dithioléthiones (oltipraz)

El oltipraz, 1,2-ditio-3-tiona sustituida, fue desarrollado originalmente por la industria farmacéutica como tratamiento de la esquistosomiasis y estudiado extensamente en ensayos clínicos realizados a principios de 1980. Los estudios posteriores han demostrado, en ratas y ratones, que el oltipraz y algunas 1,2-ditio-3-tionas eran potentes inductores de enzimas asociadas con el mantenimiento de las reservas de glutatión en forma reducida, así como de las enzimas involucradas en la detoxificación de carcinógenos, presentes en numerosos tejidos (Ansher et al., 1983, 1986).

Los biomarcadores de aflatoxinas fueron utilizados como criterios de evaluación intermedios en un ensayo de fase IIa del oltipraz en Qidong, China (Kensler et al., 1998; Wang et al., 1999). Se trataba de un estudio doble ciego controlado con placebo, en el que los participantes fueron elegidos de manera aleatoria para recibir el placebo, una dosis diaria de 125 mg de oltipraz o una dosis semanal de 500 mg de oltipraz. Entre los participantes que recibían una dosis semanal de 500 mg, los niveles de AFM₁ urinaria eran 51% más bajos que los del

grupo placebo. La mediana de los niveles de aflatoxinas en combinación con el ácido mercaptúrico (derivado conjugado del glutatión) eran seis veces mayores en el grupo que recibió 125 mg, pero se mantuvieron sin cambios en el grupo que recibió 500 mg. El aumento de los niveles conjugados de aflatoxina-ácido mercaptúrico refleja la inducción de la conjugación de aflatoxina por la acción de las glutatión S-transferasas. La aparente ausencia de inducción en el grupo de 500 mg se debe probablemente a la reducción de la formación de aflatoxina-8,9-epóxido susceptible de combinarse como resultado de la inhibición de CYP1A2 observada en este grupo. Este estudio inicial demuestra por primera vez que los biomarcadores de aflatoxinas son modulados en los seres humanos de una manera que debería permitir predecir una disminución en el riesgo de enfermedad.

Sulforafano

Aunque el estudio clínico del oltipraz demuestra que es capaz de activar varias vías de desintoxicación de aflatoxina en los seres humanos, la aplicación de esta modalidad de prevención farmacológica en los países en desarrollo parece difícil. Afortunadamente, el oltipraz no es el único agente capaz de afectar las enzimas vía Nrf2-Keap1. Muchos alimentos poseen altos niveles de inductores de estas enzimas (Talalay y Fahey, 2001; Fahey y Kensler, 2007).

Una bebida a base de infusión de brotes de brócoli de 3 días, que contienen concentraciones definidas de glucosinolato, precursor estable del sulforafano conocido como anticancerígeno,

fue estudiada por su capacidad para alterar la disponibilidad de la aflatoxina (Kensler et al., 2005). El sulforafano, que ha sido ampliamente estudiado por sus propiedades quimiopreventivas, es un potente activador de la ruta Nrf2-Keap1; aumenta la expresión de las enzimas que desintoxican los carcinógenos (Fahey et al., 2002; Dinkova-Kostova et al., 2007). En el estudio realizado en Qidong, China, 200 adultos sanos bebieron todas las noches durante 2 semanas, las infusiones que contenían 400 μmol sea menos de 3 μmol de glucorafanina (glucosinolato precursor del sulforafano). Los niveles urinarios de aductos aflatoxinas-N7-guanina fueron los mismos en los dos brazos de intervención. Sin embargo, la dosificación de los niveles urinarios de ditiocarbamatos (metabolitos del sulforafano) mostró importantes variaciones interindividuales de su biodisponibilidad. Este resultado podría reflejar diferencias en los niveles de la hidrólisis de la glucorafanina a sulforafano por la microflora intestinal de los participantes en el estudio. De hecho, se constató una asociación negativa significativa entre la excreción de ditiocarbamatos y los niveles de aductos aflatoxina-N7-guanina entre las personas que habían ingerido los glucosinolatos de los brotes de brócoli (Kensler et al., 2005).

Este estudio preliminar abre nuevas perspectivas sobre la posibilidad de prevención secundaria mediante un enfoque alimentario, de bajo costo y fácil de aplicar en las poblaciones de alto riesgo de exposición a la aflatoxina. A raíz de estos resultados, se ha iniciado un estudio de intervención, actualmente en curso, para tratar de minimizar la variabilidad interindividual en la farmacocinética de la glucorafanina, precursor del sulforafano.

Polifenoles del té verde

Diversos estudios han demostrado que los polifenoles del té verde (PTV) inhiben diversos cánceres químicamente inducidos en animales de laboratorio (Moyers y Kumar, 2004; Yang et al., 2006). Qin et al. (1997) estudiaron en ratas si la administración de PTV en el agua potable durante 2 a 4 semanas podía inhibir la carcinogénesis hepática inducida por la AFB₁. Los resultados obtenidos con el PTV en animales de laboratorio han estimulado el inicio de ensayos clínicos en seres humanos. Un estudio de fase IIa aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo fue realizado en Guangxi, China, para evaluar el efecto de los PTV sobre los biomarcadores de la aflatoxina, en sujetos expuestos a un alto

riesgo de cáncer hepático. Los participantes, que mostraron aductos de AF-alb al comienzo del estudio, recibieron todos los días durante 3 meses cápsulas de PTV dosificadas a 500 mg o 1.000 mg, o un placebo. El análisis de las muestras de orina permitió identificar biomarcadores del consumo de té verde y mostrar que la ingesta de PTV reduce eficazmente las lesiones oxidativas del ADN (Luo et al., 2006). El análisis de las muestras de sangre y orina recogidas durante el estudio, mostró una reducción, con el efecto del tratamiento, de los niveles de biomarcadores de aflatoxina: aductos AF-alb en el suero y AFM₁ urinaria. Al final de los 3 meses de estudio, los dos grupos que habían tomado PTV tuvieron niveles de AF-alb reducidos comparados con los

controles que no recibieron la intervención (Tang et al., 2008).

Necesidades en materia de investigación

La investigación ha permitido establecer que la quimioprevención con los agentes mencionados anteriormente es eficaz en modelos animales pertinentes y que el mecanismo implicado es aplicable a los seres humanos. Los mismos polifenoles y sulforafanos existen en estado natural en las plantas, y están presentes en varias especies vegetales en los países en desarrollo afectados por las aflatoxinas. Es necesario realizar investigaciones para identificar las plantas cultivadas y consumidas localmente que contienen estos agentes quimioprotectores naturales a niveles suficientes como para tener un efecto protector, y poder probarlas.