

Aspergillus flavus i les aflatoxines

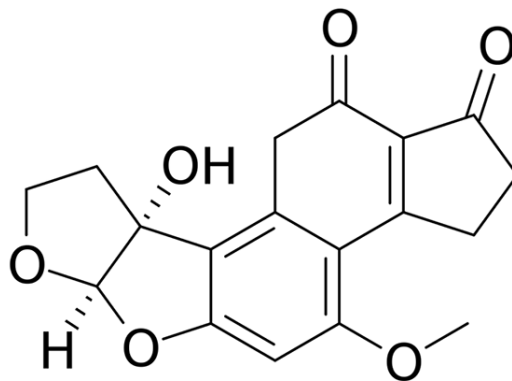


Diagrama químic de l'aflatoxina M2

Introducció

El consumidor individual generalment no pot controlar la presència de micotoxines en els aliments que adquireix, tret de poder observar si hi ha floridures. Els fongs que produeixen micotoxines creixen generalment durant la producció i l'emmagatzematge dels productes vegetals. Les micotoxines que poden presentar els aliments de manera més habitual són: aflatoxines, desoxinivalenol, fumonisines, patulina i l'ocratoxina A.

Les quatre aflatoxines principals són AFB1, AFB2, AFG1 i AFG2. Aquestes toxines són produïdes principalment per certes soques d'*Aspergillus flavus* i *A. parasiticus*. L'aflatoxina M1 (AFM1), és produïda pels mamífers després del consum de pinsos (o aliments) contaminats per AFB1. Les aflatoxines no tenen sabor, color ni olor, són fluorescents amb llum ultraviolada i poden resistir altes temperatures.

Aspergillus flavus

Aspergillus flavus és la principal espècie productora d'aflatoxines (grup B). *A. parasiticus* i *A. nomius* també produeixen aflatoxines del grup G, però aquestes dues darreres espècies de fongs es troben rarament en els aliments.

Aspergillus flavus és omnipresent, es troba a la vegetació en descomposició, en plantes, a la pols de casa, en materials de construcció, a l'aigua, al sòl... Els seus conidis (espores) es dispersen principalment en el medi per l'aire, però també per l'aigua i a través dels animals i les persones.

Les aflatoxines es produeixen al conreu o durant l'emmagatzematge, principalment a les regions amb un clima subtropical o mediterrani, però també en regions més temperades durant estacions especialment càlides i seques. La temperatura, la humitat i la quantitat de pluja, determinaran si la floridura augmentarà als cultius mentre creixen, es recullen i/o s'emmagatzemen.

A. flavus és responsable de contaminar cereals, llavors oleaginoses, fruits secs i tota mena d'espècies, fruita seca, cafè, cacau, fesols i productes lactis (AFM1). Els danys en les llavors i fruits (impactes, atac d'insectes...) faciliten la seva proliferació.

Els fongs del gènere *Aspergillus* es desenvolupen àmpliament a temperatures d'entre 20 °C i 30 °C, una humitat relativa externa del 80% i una humitat del substrat alimentari del 9%. D'aquí prové la seva proliferació en països de clima càlid on, d'altra banda, els procediments de conservació dels aliments no estan gaire desenvolupats. La contaminació pel fong es pot produir durant el conreu i pot proliferar al llarg de totes les etapes de la cadena alimentària.

Taula 1 Factors que afavoreixen el creixement d'*A. flavus*

Creixement	Mínim	Òptim	Màxim
Temperatura (°C)	10-12	33	43-48
pH	2,1	7,5	11,2
Activitat aigua (Aw)	0,78-0,84	0,97	--

Taula 2 Factors que afavoreixen la toxigenicitat d'*A. Flavus*

Toxigenicitat	Mínim	Òptim	Màxim
Temperatura (°C)	13	16-31	37
Aw	0,82	0,95-0,99	--

Toxigenicitat: la capacitat dels microorganismes de produir una toxina que contribueix al desenvolupament de la malaltia.

Les aflatoxines

L'aflatoxina B1 (AFB1) es considera un dels més potents carcinògens naturals. El seu òrgan diana és el fetge. AFB1 i AFB2 presenten una fluorescència blava sota llum ultraviolada. AFG1 i AFG2 presenten una fluorescència verda.

Quan és ingerida per mamífers remugants AFB1 es metabolitza parcialment i després s'excreta a la llet en forma d'AFM1 i presenta una fluorescència blau-malva.

Tot i que l'AFM1 a la llet no és tan perillosa com el compost original, s'aplica un límit restrictiu de 0,05 µg/Kg o 50 ng/kg (50 ppt), atès que la llet esdevé gran part de la dieta dels nadons i infants.

Les aflatoxines són altament solubles en aigua, insolubles en dissolvents no polars i altament solubles en dissolvents de polaritat mitjana com el cloroform i el metanol.

Aliments que presenten més incidències en relació amb les aflatoxines

Les micotoxines són la causa de multitud d'incidències mes rere mes en el Sistema d'alerta ràpida per a aliments i pinsos (RASFF) de la Unió Europea. És amb diferència l'aflatoxina B més detectada. Molts aliments provinents de països tercers (principalment Turquia, Índia, Pakistan, EUA, Xina, Iran i Egipte) són rebutjats per aquest motiu. La seva presència s'observa amb freqüència en fruita seca (pistatxos, cacauets, ametlles, nous del Brasil...), cereals (blat de moro, arròs, sorgo...) fruites assecades (figues, panses...), llavors de cotó, cafè, te, cacau, gingebre i productes elaborats amb aquestes matèries primeres (galetes, farina, suc de poma...). L'aflatoxina M1 també es pot trobar a la llet de remugants que mengen cultius contaminats amb aflatoxina B1.

L'aflatoxina M1 també es pot trobar a la llet materna humana, com ha estat el cas a Ghana, Kenya, Nigèria, Sudan, Tailàndia i altres països, per exposició crònica de la mare a AF en els aliments.

Factors que condicionen la presència d'aflatoxines en els conreus

Els nivells d'aflatoxines en els aliments depenen de les condicions climàtiques al llarg de les estacions i d'any en any. Per exemple, el blat de moro collit l'any 2003, on va haver-hi una onada de calor a l'estiu en un país del sud d'Europa, va mostrar una contaminació per AFB1, inusual per a aquesta latitud i posada de manifest per la presència d'AFM1 a la llet de vaca. Un cas semblant (mateix cereal i igual país) va tenir lloc l'any 2005. Una enquesta efectuada als Estats Units (*Midwest States*) el 1988, que també va ser un any inusualment càlid i sec a la regió, va demostrar que el 8% del blat de moro recollit en aquesta regió contenia nivells alts d'aflatoxines.

Com afecten les aflatoxines a les persones?

Les persones s'exposen a les AF quan ingereixen aliments que les contenen, i també es poden exposar als conidis d'*Aspergillus flavus* per inhalació, per exemple, a través de la pols d'una obra. També és el cas d'*Aspergillus fumigatus*. Els conidis són un dels principals al·lèrgens de l'aspergil·losi bronquial i són responsables de les infeccions pulmonars difuses en pacients immunodeprimits. S'ha rastrejat l'origen dels brots d'infecció cutània ocasionals fins als dispositius mèdics contaminats. No és clar quin és el període d'incubació de l'aspergil·losi i probablement canviï depenent de la quantitat d'aspergil·lus.

Les aflatoxines per ingesta afecten les persones de manera aguda i crònica. En els països desenvolupats les intoxicacions agudes d'origen alimentari són inexistents, malgrat que sí que s'han produït casos en animals. Per contra, la malaltia crònica i aguda és freqüent en nens i adults en alguns països en desenvolupament.

AFB1 és el carcinogen natural més potent conegut. L'Agència Internacional de Recerca sobre el Càncer (IARC) va classificar AFB1 com a pertanyent al grup 1 (cancerigen per a humans), AFM1 al grup 2B (possiblement cancerigen per als humans) i AFG1 al grup 3 (no classificable pel que fa a la seva carcinogenicitat per als humans).

Hi ha una correlació entre l'exposició crònica a l'aflatoxina mitjançant la dieta i la prevalença del càncer de fetge primari. La relació està modulada per altres factors agreujants, com la infecció pel virus de l'hepatitis B. La genotoxicitat de les aflatoxines es deu al metabolisme de l'AFB1 a AFB1 8,9-epòxid, el qual és el principal metabòlit genotòxic.

Les AF inhibeixen les funcions normals del fetge, incloent-hi el metabolisme dels hidrats de carboni i dels lípids i la síntesi de proteïnes. En casos d'intoxicació aguda, els símptomes clínics són inespecífics i inclouen icterícia, depressió, anorèxia i diarrea. La mortalitat va arribar al 25% durant les intoxicacions a l'Índia el 1975 i el 40% a l'est de Kenya el 2004.

Hi ha dues síndromes humanes relacionades amb la ingestió d'aliments contaminats per aflatoxines: kwashiorkor (hipoalbuminèmia i immunosupressió) i la síndrome de Reye, (encefalopatia i degeneració d'òrgans interns).

Els grups en risc per a l'aspergil·losi invasiva (inhalació) inclouen les persones que tenen granulocitopènia greu, neoplàsies hemàtiques i els que reben teràpies immunodepressores. Els grups que estan en risc de contraure aspergil·losi al·lèrgica inclouen les persones que tenen asma, fibrosi quística o altres malalties pulmonars.

acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Març-Abril 2024

Les aflatoxines i els animals

Els efectes de les AF depenen de l'espècie de l'animal, intensitat i durada de l'exposició i l'estat nutricional. Les AF són de moderada a altament tòxiques i cancerígenes en gairebé totes les espècies animals provades, tot i que no les afecten per igual. El principal factor de tolerància és el sistema digestiu: els remugants són més tolerants; els porcs, les gallines, els ànecs i els ocells són més sensibles.

S'han descrit diversos casos d'aflatoxicosi aguda en explotacions ramaderes, sobretot en granges de porcs. Els animals normalment morien poques hores després per hemorràgia. En les aus de corral la forma crònica de la intoxicació és la més freqüent. Els símptomes estan associats a un rendiment reduït, carn sagnant i descolorida. L'any 2005 als EUA hi va haver un brot relacionat amb menjar per a gossos i gats, on un grup d'ells va patir una intoxicació aguda i van morir.

Dosis tòxiques

La dosi tòxica d'aflatoxines per a les persones no es coneix. A títol d'exemple, una persona que va ingerir intencionadament AFB1 a 12 µg/kg de pes corporal durant dos dies va desenvolupar erupció, nàusees i mal de cap, però es va recuperar completament. Entre els animals, la dosi letal mitjana (LD50) mostra una gran variació, perquè se situa entre 0,3 mg/kg de pes corporal en conills a 18 mg/kg de pes corporal en rates.

El JECFA (Comitè Mixt FAO-OMS d'Experts en Additius i Contaminants Alimentaris) i el SCF (Comitè Científic d'Aliments de la UE) no han establert una ingesta diària tolerable (DTI) per aflatoxines.

Com que no hi ha un llindar per als efectes cancerígens genotòxics d'aquestes substàncies, l'únic enfocament realista és reduir l'exposició al nivell més baix possible basat en el principi ALARA (*As Low As Reasonably Achievable*), és a dir, tan baix com sigui factible.

L'Autoritat Europea de Seguretat Alimentària (EFSA), atesa la impossibilitat d'establir una DTI, ha aplicat el que s'anomena Dosis Benchmark (DB): és un càlcul probabilístic, mesura la resposta d'un grup exposat al tòxic respecte d'un grup que no hi ha estat exposat.

- BM10: dosis on el 10% dels exposats tenen efectes adversos vs. el grup de control.
- BMDL10: bioassaig lligat a un interval de confiança del 95% de la BM10.

Valor establert per l'EFSA: BMDL₁₀ de 0,4 µg/kg de pes corporal i dia, és a dir, la ingesta diària d'aquesta quantitat incrementa un 10% el risc de càncer.

acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Març-Abril 2024

Epidemiologia

El darrer cas reconegut d'intoxicació aguda per ingesta va tenir lloc entre els mesos d'abril i setembre de 2004 a Kenya: es van diagnosticar 341 casos dels quals 123 van morir. L'origen del brot va ser el blat de moro, que presentava una concentració mitjana de 354 ng/g d'AF.

Han succeït altres brots, com el registrat l'any 1988 a Malàisia, on 13 nens van morir d'encefalopatia hepàtica aguda després de menjar fideus xinesos contaminats per aflatoxines. Al nord-oest de l'Índia, el 1974, hi va haver 108 víctimes mortals entre les 397 que van emmalaltir. Es van trobar valors d'AF de 0,25 a 15 mg/kg al blat de moro que havien consumit.

Les aflatoxines en el context europeu

Tanmateix, sobre la base de dades epidemiològiques, el JECFA ha calculat que, per a Europa, la ingestió d'1 ng d'aflatoxines per kg de pes corporal per dia durant tota la vida condueix a un augment de la incidència de càncer de fetge de 0,013 casos per any per 100.000 persones.

Segons l'estudi francès de dieta total (TDS 2, ANSES 2011), d'acord amb els límits hipotètics superior i inferior de contaminació que es van fixar, l'exposició mitjana a totes les aflatoxines va ser respectivament entre 0,0019 i 0,89 ng/kg per dia; el nombre de casos addicionals teòrics de càncer de fetge per any en la població adulta francesa, relacionat amb aquesta exposició, semblaria molt baixa ($< 0,07\%$ per al límit superior) en comparació amb el nombre total de casos de càncer de fetge estimat a França.

Regulació

A partir de l'any 2004 més de 76 països han legislat límits per a les aflatoxines, que van de 0 a 35 ng/g. Es distingeix el tipus d'aliment, si és per a persones o animals, i el grau de desenvolupament d'aquests; per exemple, blat de moro i cacauet destinats a la cria de bestiar boví i porcí reproductor o aus de corral madures, farines destinades a animals immadurs, llet infantil per a nadons, etc.

A l'hora d'establir límits es té en compte que les AF es distribueixen de manera heterogènia en els productes agrícoles. S'han detectat fins i tot concentracions d'AF superiors a 1.000.000 ng/g en grans de cacauet individuals; 5.000.000 ng/g per a llavors de cotó; i més de 4.000.000 ng/g en grans de blat de moro. Per tant, atesa la variabilitat entre grans individuals, el procediment per obtenir la mostra és molt determinant.

acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Març-Abril 2024

No es permet la barreja d'un aliment o pinso que contingui un ingredient amb un nivell d'AF superior a un nivell màxim fixat, amb un altre aliment o pinso, encara que el producte final resultant de la barreja presenti un nivell de contaminació menor.

- Directiva 2002/32/CE, de 7 de maig de 2002 (i les seves modificacions), relativa a les substàncies indesitjables en l'alimentació animal estableix un nivell màxim d'AFB1 en substàncies destinades a l'alimentació animal, amb la finalitat de limitar la presència d'AFM1 a la llet.
- Reglament (CE) núm. 1831/2003, de 22 de setembre de 2003 (i les seves modificacions), pel qual s'estableixen els nivells màxims per a determinats contaminants en els aliments destinats a les persones:
 - AFB1: 2, 5 o 8 µg/kg per a cacauets, altres llavors i fruita seca segons l'etapa de desenvolupament; de 2 a 5 µg/kg per a cereals segons el producte i la seva fase de processament; 5 µg/kg per a determinades espècies; i 0,1 µg/kg per a preparats a base de cereals per a nadons i infants.
 - AFB1, AFB2, AFG1, AFG2: 4, 10 o 15 µg/kg per a cacauets, altres llavors i fruita seca segons l'etapa de processament; 4 a 10 µg/kg per a cereals, segons el producte i la seva fase de processament; i 10 µg/kg per a determinades espècies.
 - AFM1: 0,05 µg/kg per a la llet; i 0,025 µg/kg per a fórmules per a nens petits.
- Reglament (UE) núm. 178/2010 de la Comissió, de 2 de març de 2010, pel qual es modifica el Reglament (CE) 401/2006 pel que fa als cacauets, altres llavors oleaginoses, fruita seca, grans d'albercoc, regalèssia i oli vegetal. Estableixen els mètodes de mostreig i anàlisi per al control oficial dels nivells de micotoxines en els aliments.
- Hi ha mètodes estandarditzats per determinar els nivells d'aflatoxines en diferents matrius alimentàries. Per exemple, la norma NF EN ISO 17375:2006 descriu un mètode per analitzar AFB1 en l'alimentació animal.

La norma NF EN ISO 16050:2011 descriu un mètode per avaluar AFB1 i determinar els nivells globals d'aflatoxines B1, B2, G1 i G2 contingudes en cereals, fruita seca i productes derivats d'ells.

Les normes ISO 14675:2003 (llet i productes lactis) i les normes ISO 14501:2007 (llet i llet en pols) descriuen mètodes per avaluar AFM1 contingudes en la llet, productes lactis o llet en pols.

Recomanacions de control per a la producció primària

Les mesures per prevenir el perill a l'origen són l'única solució efectiva, ja que és gairebé impossible desintoxicar els aliments contaminats per aflatoxines. És vital respectar les bones pràctiques agrícoles (evitar danys als fruits i llavors, minimitzar els atacs d'insectes, impactes, etc.) per evitar afavorir la presència dels fongs i que penetri el microorganisme:

- Dins de les bones pràctiques agrícoles s'inclou que en la rotació de cultius s'eviti el blat de moro com a cultiu anterior. Cal tenir present que fongs del gènere *Fusarium* (productors d'altres tipus de micotoxines) també són molt habituals en cultius de blat de moro, ordi i civada.
- Minimitzar els residus de cultius anteriors a la superfície del sòl abans de llaurar.
- Seleccionar les varietats més resistents possibles als fongs.
- Reguladors de creixement (PGR): fer-los servir quan sigui necessari, en el moment i dosi adient per evitar afavorir el creixement de fongs.
- Aplicar fungicides quan sigui necessari.
- Fer la collita en el moment oportú i assecar el gra per sota del 18% d'humitat.
- Evitar les males herbes, les quals poden allotjar fongs.
- Controlar les poblacions de plagues d'insectes ja que el dany per insectes és una via potencial d'infecció.
- Adaptar les aportacions de fertilitzants a les necessitats dels cultius, en particular per garantir que no es produeixin aportacions excessives de nitrogen.

Així mateix, cal respectar les bones pràctiques a l'hora d'emmagatzemar els cereals, especialment s'ha de mantenir el producte en un ambient sec.

Recomanacions de control als operadors

- Respectar la normativa vigent que fixa els nivells màxims d'aflatoxines que no s'han de superar en els aliments per a animals o persones.
- Seleccionar els proveïdors segons les pràctiques que hi apliquen.

- Respectar les bones pràctiques d'emmagatzematge.
- Respectar les bones pràctiques d'higiene a l'hora de conservar o preparar el menjar.
- Aplicar processos de desintoxicació als ensitjats potencialment contaminats.

Recomanacions per als consumidors

Emmagatzemar els aliments susceptibles de presentar floridures (cereals, fruita seca, fruits secs i espècies) en un lloc sec.

Tractament d'inactivació per a fongs i aflatoxines

Els conidis dels llevats productors d'aflatoxines són susceptibles als fungicides i desinfectants químics autoritzats en la indústria agroalimentària.

Els conidis d'*A. flavus* són susceptibles a la calor. Els valors D (*) més fiables a pH neutre i *Aw* elevada són: D45 °C = 160 h; D50 °C = 16 h, D52 °C = 40-45 min i D60 °C = 1 min, amb un valor z (**) variant entre 3,3 i 4,1 °C.

(*) El temps necessari, en una determinada temperatura, per aconseguir dividir per 10 la població inicial d'un perill microbiològic.

(**) És l'augment de temperatura (°C) corresponent a la variació en un factor 10 del temps de reducció decimal.

Els seus punts de fusió són 268-269 °C (AFB1), 286-289 °C (AFB2), 244-246 °C (AFG1), 230 °C (AFG2) i 299 °C (AFM1). Per aquest motiu els tractaments tèrmics (esterilització, pasteurització, congelació) o assecat (deshidratació, liofilització), amb l'excepció del rostit, tenen poc efecte sobre les aflatoxines. Fins i tot el procés de torrar en el cacauet només comporta una reducció del 50 al 80% del nivell inicial d'aflatoxines.

El procés d'ensitjat del menjar per al bestiar no elimina les aflatoxines. L'aplicació d'amoníac i formaldehid pot eliminar fins a un 95% el nivell inicial de l'AFB1 en un ensitjat.

acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Març-Abril 2024

Documents de referència

[Aspergillus flavus and other aflatoxin-producing moulds](#). Revisat el febrer de 2024; Agència Francesa de Seguretat i Salut Alimentària, Ambiental i Ocupacional (ANSES)

[Informació sobre l'aspergil·losi per a professionals d'atenció mèdica. Revisat el gener de 2019](#). Centres per al control i prevenció de malalties (CDC)
[ps://www.cdc.gov/fungal/diseases/aspergillosis/spanish/health-professionals.html](https://www.cdc.gov/fungal/diseases/aspergillosis/spanish/health-professionals.html)

[Mycotoxins sampling guidance](#); October 2016; Food Standards Agency
<https://www.food.gov.uk/sites/default/files/media/document/Mycotoxin%20sampling%20guidance.pdf>

[Mycotoxins in domestic and imported foods, Compliance program guidance manual](#).
Revisat el setembre de 2016. Food and Drug Administration (FDA)

[Bad Bug Book \(segona edició, 2012\): Manual de microorganismes patògens transmesos pels aliments i toxines naturals](#); FDA