

AFLATOXINAS: UM PROBLEMA MUNDIAL*

MARIA AMÉLIA AMADO**

* Uma versão anterior deste artigo foi publicado na revista Terra Fértil, nº 4, de Fevereiro de 1999. O texto que *Millenium* publica nesta edição constitui uma reformulação e actualização da citada versão.

** Professora-Coordenadora da ESAV.

RESUMO

A possível existência de aflatoxinas nos alimentos, substâncias altamente tóxicas e carcinogénicas para o homem e animais, tem levado nos últimos anos a uma intensa investigação no sentido de as detectar e prevenir. Neste artigo iremos apresentar uma pequena amostra do trabalho desenvolvido no sentido de investigar a relação entre as aflatoxinas e o cancro primário do fígado (PLC) humano. Faremos também referência à discrepância entre os valores dos limites máximos de resíduos de aflatoxinas admitidos por lei numa grande parte de países do mundo, o que vem permitir que alguns países possam receber e comercializar produtos que outros não aceitam.

INTRODUÇÃO

Em finais de 97 veio a lume, através dos órgãos de comunicação social, uma notícia sobre pistácios que entraram em Portugal, vindos do Irão, contaminados com aflatoxina B1, com limites de resíduos muito superiores aos tolerados para consumo humano e que, por esse motivo, foram retirados do mercado.

As aflatoxinas, são micotoxinas produzidas por fungos do género *Aspergillus*. Merecem especial atenção por parte da indústria dos alimentos e do público em geral porque apresentam uma alta toxicidade quer para o homem quer para os animais constituindo uma preocupação mundial. Os bolores do género *Aspergillus*, mais propriamente as espécies *Aspergillus flavus* e *Aspergillus parasiticus*, são susceptíveis de elaborar essas substâncias extraordinariamente tóxicas durante o crescimento quando as condições são favoráveis.

Isto acontece quer no campo, na colheita, no carregamento, no transporte (terrestre e marítimo), no armazém, na embalagem, no local de venda, no restaurante, e até em casa onde o produto aguarda para ser consumido. As aflatoxinas podem permanecer no alimento após a morte do fungo que as produz, podendo apresentar-se em alimentos onde não são verificadas alterações visíveis. Elas são mutagénicas, carcinogénicas, teratogénicas e altamente tóxicas para grande número de animais. Segundo Butler (1974), a sensibilidade ao tóxico varia grandemente de espécie para espécie, dependendo da idade, sexo, condições nutricionais do animal, nível de dosagem, frequência e composição da dieta. Embora o órgão mais afectado seja o fígado, no qual produzem alterações tumorais e tecidulares, podem também ser afectados outros órgãos. Em muitas espécies animais as aflatoxinas são cancerígenos hepáticos activos e a administração de quantidades mínimas pode produzir tumores.

Podem ser encontradas várias aflatoxinas nos produtos alimentares, sendo as mais importantes e mais vulgarmente conhecidas as B1, B2, G1 e G2. A aflatoxina B1 é de todas as aflatoxinas conhecidas a mais importante em termos de ocorrência e toxicidade pois 15g/kg de alimento bastam para originar a formação de hepatocarcinomas em ratos.

Pode admitir-se que as pessoas respondam do modo semelhante e que a patologia hepática, sobretudo o cancro, seja a principal enfermidade associada à intoxicação por aflatoxinas. Nesta perspectiva, tem aumentado a preocupação com estes metabolitos, desenvolvendo-se estudos que procuram estabelecer a relação entre as aflatoxinas e o PLC humano.

RELAÇÃO ENTRE AS AFLATOXINAS E "PLC" HUMANO

Relativamente ao homem não está ainda demonstrada uma relação causa -efeito entre as aflatoxinas e o cancro do fígado, pois, se, por um lado, existem as limitações de experimentação no homem, por outro lado, a natureza do processo carcinogénico envolve uma latência prolongada. Temos ainda que ter em conta as dificuldades que existem em considerar as aflatoxinas como os agentes causadores de envenenamento no homem depois da ingestão de alimentos contaminados, até porque há alimentos onde coexistem várias micotoxinas. Não nos podemos ainda esquecer da intervenção de outros factores, como sejam por exemplo, a má alimentação, parasitas, hepatite visceral, álcoolismo e os diversos contaminantes. Daqui que, actualmente, o interesse principal pelas aflatoxinas resida em descobrir se causam ou não hepatômas na espécie humana, hipótese para a qual se vão acumulando algumas provas a favor.

Em muitos países do mundo, particularmente nos trópicos, muitos casos de intoxicação no homem foram atribuídos às aflatoxinas. Citemos o exemplo de Taiwan, onde 26 pessoas sofreram intoxicações quando consumiram durante 3 semanas, arroz bolorento. Em duas amostras deste arroz foram detectadas aproximadamente 200g/kg de aflatoxinas. Das 26 pessoas morreram três crianças nas quais se manifestaram edemas nas pernas, dores abdominais, vômitos, fígado palpável, mas não tinham febre. Outro efeito e sintoma que vulgarmente aparece no homem depois de intoxicação com aflatoxinas é a cirrose, caracterizada por infiltração gorda nas células do fígado, levando a degeneração celular, fibrose e hepatomegalia.

Dado o perigo de carcinogenicidade que as aflatoxinas representam para o homem, foi investigado o mecanismo de acção destes compostos em animais a fim de elucidar o seu papel nas doenças humanas, especialmente no caso do hepatocarcinoma. Para se estudar este processo foram realizadas algumas experiências.

Butler e Neal (1977) alimentaram ratos com 5 ppm de aflatoxina durante 6 semanas, voltando depois à dieta normal. No fim do período de 6 semanas tinha ocorrido uma alteração irreversível no interior do fígado no qual não era necessária nenhuma acção suplementar para induzir o carcinoma. O exame morfológico do fígado, realizado nesse momento, mostrou múltiplos focos de células caracterizadas pela presença de glicogénio "resistente" e a perda de actividade da glucose-6-fosfato. Este processo é semelhante ao que se tinha já registado no caso da carcinogenicidade das nitrosaminas. Como estes focos estão presentes em todo o fígado, é difícil saber qual deles ou se algum deles está relacionado com o neoplasma final ou com o facto de poder não se desenvolver o carcinoma. Aguarda-se, entretanto, que seja possível caracterizar e identificar várias sub-populações de células do fígado provenientes de um regime alimentar carcinogénico. Quando isto for possível, talvez se consiga utilizar estes dados como base de teste para seres humanos.

Ao estudar a resposta proliferativa resultante da alimentação contaminada com aflatoxina em ratos medindo a incorporação da tiamidina no DNA, Butler e Neal (1977) verificaram que depois de uma inibição recente durante 3 semanas se dá subsequentemente um aumento de incorporação de tiamidina indicando uma reacção proliferativa, representada na fig.1.

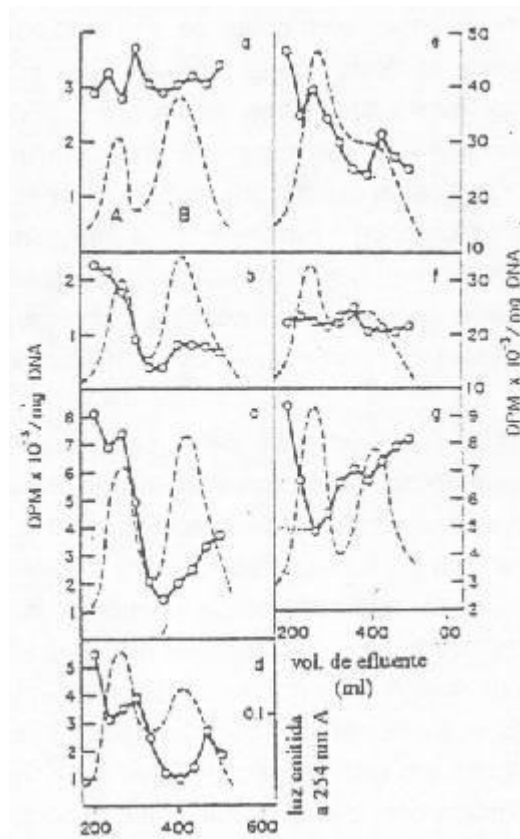


FIGURA 1 - Efeito da alimentação com baixos níveis de aflatoxina na estrutura hepática e síntese de DNA "in vivo". a) controle; b) 1ª semana; c) 2ª semana ; d) 3ª semana; e) 4ª semana; f) 5ª semana; g) 6ª semana.

A - Zona ocupada por núcleo diploide; B - Zona ocupada por núcleo triploide

Os mesmos investigadores administraram a ratos a dieta diária de aflatoxina por injeção intraperitoneal. Verificaram uma inibição marcada na síntese de DNA e RNA no fígado dos ratos, sendo a inibição deste último menor que a do primeiro.(Fig.2) Verificou-se ainda que depois das seis semanas os ratos se tornam resistentes à toxicidade aguda das aflatoxinas. Os valores de LD50 aumentaram de 0.6 mg/kg para mais de 1.5 mg/kg.

Em todos os estudos experimentais de hepatocarcinogenicidade que se conhecem, utilizando aflatoxina como agente indutor, é aparente que o neoplasma aparece geralmente em fígados não cirróticos. Sabe-se que no homem, na Europa e na América do Norte, a maioria dos hepatocarcinomas aparecem em doentes cirróticos, o que levou a pensar que a cirrose pudesse predispor ao carcinoma. No entanto, é facto que, nestas áreas onde o hepatocarcinoma é uma doença relativamente comum, muitas vezes

aparece em fígados de doentes que não têm cirrose. Assim, não podemos afirmar ser a cirrose um factor afectante da carcinogenicidade das aflatoxinas

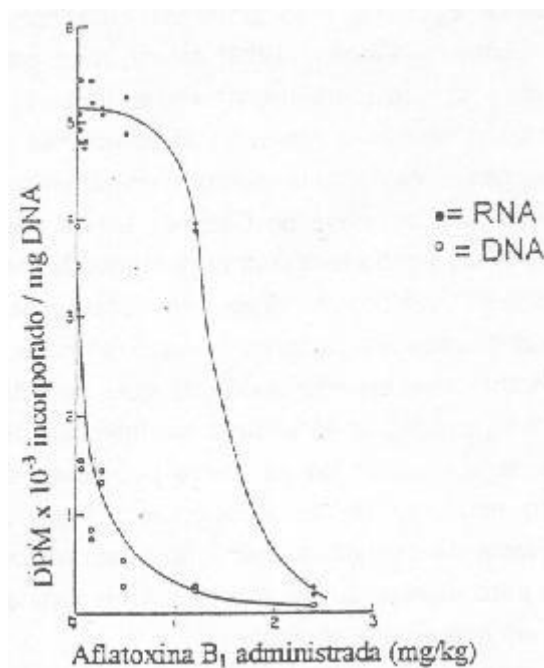


FIGURA 2 - Efeito da aflatoxina B1 na síntese do RNA e DNA no fígado do rato

Foi também sugerido que a hepatite B desempenhava um papel bastante significativo na indução de hepatocarcinoma pois em muitas regiões do mundo onde o hepatocarcinoma é comum existe uma elevada incidência de antigene da hepatite B nos doentes com carcinoma, aumentando também a incidência na população na sua globalidade. Apesar disso, esta correlação apresenta variação considerável entre as várias regiões do mundo, não se encontrando o mecanismo ainda bem esclarecido. No entanto, o simples reconhecimento de que as aflatoxinas são hepatocarcinogénicas em animais levou ao desenvolvimento da hipótese das aflatoxinas como agente etiológico do hepatocarcinoma no homem. Os sobreviventes de uma epidemia registada no Kénia, Tailândia e Moçambique demonstraram uma boa correlação entre a ingestão de aflatoxinas e a incidência de hepatocarcinomas. Embora estas investigações não possam provar a validade da hipótese, a evidência é tal que esta é a melhor hipótese para estas áreas do mundo com elevada incidência de carcinoma. Apesar de tudo, em outras áreas, onde a exposição às aflatoxinas é menor, é necessário considerar o efeito de outros factores como por exemplo o álcool e certos medicamentos utilizados para tratamento prolongado. Neste contexto, Wogan (1992) refere duas grandes classes de factores de risco para o carcinoma hepatocelular humano. Uma delas é a infecção com o vírus da hepatite B e o outro as aflatoxinas. Acrescenta ainda que as aflatoxinas são consideradas como carcinogénicos humanos pela

Agência Internacional para pesquisa do Cancro e refere que há uma forte evidência que o cancro do fígado tem uma origem multifactorial, com provável interacção de agentes químicos e virais, em populações correntemente expostas a ambas as classes dos factores de risco referidos. Informa também que se desenvolveram recentemente métodos que permitem a verificação cuidadosa individual da exposição às aflatoxinas, infecção causada pelo vírus da hepatite B e os danos genéticos causados por esses agentes, métodos esses aplicados no esquema de estudos epidemiológicos, moleculares e bioquímicos da etiologia da doença. A aplicação desta metodologia, segundo ele, pode contribuir para elucidação da importância relativa da interacção dos agentes etiológicos em diferentes populações.

Na mesma linha, Harrison et al.(1993) referem serem controversos os efeitos das aflatoxinas no género humano. Por este facto, muitos países introduziram legislação para controlar o nível de aflatoxinas nos alimentos mas não se sabe se os níveis permitidos constituem um risco significativo de cancro. Para além disso, segundo ele, não é possível que todas as fontes de exposição humana às aflatoxinas tenham sido descobertas, não se sabendo também se o fígado é o único órgão ou o órgão onde é maior a indução de cancro humano pelas aflatoxinas.

Num trabalho apresentado por Robens e Richard (1992) sobre aflatoxinas na saúde animal e humana, eles referem que embora esteja provado que as aflatoxinas causam doenças agudas no fígado humano não está bem clarificado o seu envolvimento no PLC. Referem ainda que os avanços tecnológicos da química e da imunologia levaram a clarificar o papel das aflatoxinas como um factor de risco entre outros, como sejam a idade, espécie, raça, sexo, nutrição e stress no desenvolvimento do PLC humano. Segundo os mesmos autores, a mais conclusiva evidência do envolvimento das aflatoxinas na doença inclui o agudizar da doença crónica do fígado com um aumento concomitante no soro das enzimas específicas do fígado.

LIMITES MÁXIMOS DE RESÍDUOS

Face ao perigo que constitui a presença de aflatoxinas nos alimentos, quer do homem quer dos animais, julga-se necessário estabelecer os limites máximos de resíduos que deveriam ser regulamentados e coincidentes a nível mundial.

É particularmente difícil definir uma dose sem efeito cancerígeno a partir dos dados obtidos desde há muito em animais. De facto, o aparecimento de um tumor a seguir à administração de um cancerígeno depende da dose, mas igualmente do tempo de exposição, da alimentação, das condições do meio, entre outros factores. Mesmo com pequenas doses, alguns animais desenvolvem tumores.

Pode dizer-se que tem havido grande evolução no que concerne aos teores de aflatoxina admissíveis em produtos para alimentação humana e animal. Estes teores têm baixado na razão directa do aumento da sensibilidade dos métodos de análise e do conhecimento dos efeitos das aflatoxinas nos organismos. O estabelecimento destes limites é da maior importância, na medida em que vai criar dificuldades de comercialização de produtos contaminados acima de certo limite.

Portugal, desde 1973, pertence ao grupo dos países que criaram legislação sobre o teor de aflatoxinas em alimentos para animais, através da portaria 671/73, tendo sido posteriormente actualizada (Portaria 62/97).

Face à evolução dos métodos analíticos, os limites estabelecidos estão hoje ultrapassados. Por outro lado a designação "aflatoxina" refere-se apenas à AFB₁, sendo por isso imprecisa.

Perante a actual legislação (Portaria 16/97), já é possível dispor de um método oficial de análise.

No que diz respeito a géneros alimentícios há uma preocupação em harmonizar a legislação portuguesa com a comunitária. Daí a importância das normas elaboradas a nível da UE com o objectivo de garantir a livre circulação dos produtos.

Paralelamente ao surgimento da primeira legislação da CEE sobre o assunto em 1971, esboçou-se uma tendência de uma maior uniformização. Apesar disso mesmo entre países da Comunidade Europeia continuava a não existir uma coincidência total sobre os limites máximos de resíduos. Vejamos alguns exemplos:

- Na Alemanha, a partir de 1976, o limite de aflatoxina B₁ para cereais e oleaginosas não pode exceder 0.005 ppm ou um limite superior a 0.01 ppm do conjunto das aflatoxinas B₁, B₂, G₁, e G₂.
- Na Dinamarca, através de Statutory Order by the Agriculture Ministration, de 22 de Outubro de 1968, foi estipulado que o teor máximo de aflatoxina é de 0.1 ppm.
- Em Inglaterra, a partir de 1965, as recomendações da Compound Animal Feedingstuffs Manufactures National Association, foram transformadas em legislação referente à exportação de bagaços de amendoim, sendo o limite máximo admissível 0.05 ppm para alimentação humana e 0.1 ppm para alimentação animal. A Food Advisory Committee recomenda em 1986 que o limite estatutário de 0.1 g/kg seja aplicado para todos os tipos de nozes e produtos à base de nozes para consumo humano.

- Em Itália, o Ministério da Saúde, a partir de 1965, proibiu a importação de produtos contendo mais que 0.05 ppm quer se destinem à alimentação humana quer animal.

- Na Noruega, desde 1972, o Ministério da Agricultura proibiu a importação de bagaços de oleaginosas que apresentassem mais de 0.6 ppm de aflatoxina B1. Paralelamente foi estabelecido que a incorporação de bagaço de amendoim em alimentos compostos deveria ser de 8%.

- Na Suécia, disposições legais estabelecem a partir de 1979 que o teor máximo de aflatoxina permitido em qualquer alimento seja de 0.005 ppm.

Outros países como a França, a Bélgica e a Holanda alteraram os limites previamente estabelecidos seguindo actualmente a legislação da CEE. Esta tem vindo não só a criar mas também a actualizar a legislação neste domínio. A legislação de 1971 referia-se apenas a aflatoxinas, tendo em 1974 corrigido para aflatoxina B1. Também se verificou entre estas duas legislações um abaixamento de todos os níveis de aflatoxina B1 permitidos nos alimentos para animais, um abaixamento muito significativo de 1.0 ppm para 0.05 ppm em alimentos simples, devendo-se este facto também à mudança verificada no conceito de alimento simples.

Considerando a necessidade de reduzir o teor de aflatoxina B1 nos alimentos destinados à alimentação animal, Portugal, à luz da Portaria 62/97, estabelece o teor máximo em mg/kg (ppm) de aflatoxina B1 em alimentos simples, matérias primas e alimentos compostos, teores estes que se situam entre 0.005 (alimentos completos para gado leiteiro) e 0.01 (alimentos completos para vitelos e borregos).

Facto é que muitos países têm vindo a criar ao longo dos anos legislação ou recomendações com o fim de proteger a produção animal das consequências do consumo de alimentos contaminados com aflatoxinas. Também os países fora da UE se têm vindo a preocupar com a referida problemática:

- No Canadá e Polónia as disposições dizem exclusivamente respeito a produtos para alimentação humana e por isso o teor permitido é zero (segundo a sensibilidade dos respectivos métodos de análise).

- Nos EUA o limite máximo de aflatoxina admitido, segundo a Food and Drug Administration, é de 0.02 ppm em produtos tanto para alimentação humana como animal, já antes de 1973. Exceptuam-se aqui os amendoins com casca, nos quais o limite é alargado para 0.025 ppm. Segundo Egmond (1989), o limite de aceitação de um lote no E.U.A. é de 20ug/kg de aflatoxina.

- No Brasil, a legislação que conhecemos diz respeito a produtos para exportação que, segundo o Dec. nº 479 de 2 de Setembro de 1965, não deve ultrapassar 0.05 ppm. Segundo Abia (1989), o limite de aceitação de um lote no Brasil é de 30 ug/kg de B1+G1, valor considerado elevado internacionalmente.

-Na Índia, segundo recomendações do Indian Standards Institute, o limite máximo de aflatoxinas para amendoins é de 0.05 ppm.

- Em Israel, a Sored Products Research Lab estabelece que qualquer matéria prima não deve ser utilizada com um teor de aflatoxina B1 superior a 0.02 ppm.

- No Malawi, segundo regulamentação que respeita às exportações, o amendoim não deve conter mais do que 0.005 ppm de aflatoxina B1.

Relativamente ao leite e produtos derivados, segundo a Federação Internacinal de Leitaria o limite situa-se em 0.1 (g/kg para leite líquido, leites secos e queijos.

Mais recentemente, em 16 de Julho 1998 surge o Regulamento (CE) Nº 1525/98 da Comissão que altera o Regulamento (CE) nº 194/97 e fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios, entre os quais as aflatoxinas, cujos valores para amendoins, frutos de casca rija e frutos secos variam:

- B1 entre 2 (g/kg e 8 (kg;
- B1+B2+G1+G2 entre 4(g/kg e 15 (g/kg;
- M1 0,05 (g/kg.

Pelos dados apresentados pode verificar-se a não coincidência no valor dos limites máximos de resíduos a nível mundial. Este facto vem criar problemas à comercialização de determinados produtos uma vez que produtos que não são aceites num determinado país podem sê-lo noutro. Neste contexto, deixamos a seguinte questão: Não estariam os limites residuais dos pistácios que entraram em Portugal de acordo com a legislação do país exportador?

CONCLUSÃO

A presença de aflatoxinas nos alimentos destinados a consumo humano supõe um risco óbvio potencial para a saúde pública. Porém, desconhece-se até que ponto se manifesta esse potencial. No entanto, só o facto de existirem constitui uma forte e suficiente motivação para se deitar mão a todos os meios disponíveis para as detectar e minimizar os seus efeitos. Neste caminho seria sem dúvida importante a regulamentação e estabelecimento de limites residuais máximos concordantes a nível internacional, o que supõe um rigoroso controlo ao longo da cadeia alimentar, controlo esse incluído num programa de " garantia de qualidade".

BIBLIOGRAFIA

- ABIA - Compêndio da Legislação de Alimentos, Resolução nº 34/76, São Paulo, 1(1989)120
- BUTLER, W. H. - Aflatoxin, Mycotoxin, I.F.H.Purchase (Ed), New York: Elsevier Scientific Publishing CO., 1974.
- BUTLER, W. H. ; NEAL, G. E. - Mode of action and human health aspects of aflatoxin carcinogenesis, New York: Elsevier Scientific Publishing CO., 1977
- DERACHE, R. - Les Mycotoxines dans les aliments: Doses Journalières Admissibles et Limites residueles minimales, Cah. Nutr. Diét.,XXIV, 6, (1989), 463-470
- EGMOND, H.P. van. - Current situation on regulations for mycotoxin. Overview of tolerances and status of standard methods of sampling and analysis. Food Addit. Contam., 6 (1989)139-188
- HARRISON, J. C. ; CARVAJAL, M. ; GARNER R.C. - Does aflatoxin exposure in the United Kingdom Constitute a cancer risk?, Environ Health Prespect, 99 (1993) 99-105
- PORTARIA nº 671/73 de 8 de Outubro, p.1761
- PORTARIA nº62/97 de 25 Janeiro, D.R.I. Série B, 21, p. 435
- PORTARIA nº 16/97 de 4 de Janeiro, 3, 33-41
- REGULAMENTO (CE) Nº 1525/98 da Comissão - Jornal Oficial das Comunidades Europeias, L 201 (1998), 43-46.
- ROBENS, J. F. ; RICHARD, J. L.- Aflatoxin in animal and human health, Rev. Environ. Contami. Toxicol. 127 (1992) 69-94.

- WOGAN, G. N. - Aflatoxin as risk factors for hepatocellular carcinoma in humans, *Cancer Res.* 52:7 (1992) 2114-2118