



**Centro de Investigación en Alimentación y  
Desarrollo, A.C.**

**“EVALUACIÓN DE LA INCIDENCIA Y NIVELES DE AFLATOXINA M<sub>1</sub>  
EN LECHE MATERNA DE MADRES DONADORAS EN LA REGIÓN  
CENTRO-SUR DE MÉXICO”**

---

POR:

**IBQ. FAUSTO CANTÚ CORNELIO**

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

Como requisito parcial para obtener el grado de

**MAESTRÍA EN CIENCIAS**

HERMOSILLO, SONORA

NOVIEMBRE 2014

## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Fausto Cantú Cornelio, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestría en Ciencias.

---

Dr. Adrián Hernández Mendoza  
Director de Tesis

---

Dra. Belinda Vallejo Galland  
Asesor

---

Dr. Aarón Fernando González Córdova  
Asesor

---

Dr. Hugo Sergio García Galindo  
Asesor

---

Dr. Alberto González León  
Asesor

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.



---

Dr. Pablo Wong González  
Director General

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico brindado durante la realización de mis estudios de Maestría en Ciencias. Dicho apoyo fue fundamental para financiar mis estudios y cumplir satisfactoriamente con los objetivos planteados en el proyecto de investigación.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD) por darme la oportunidad de formar parte de ésta en estos años, por ser una institución generosa y servir como intermediario en la formación de profesionistas y ciudadanos. A mis profesores: Dr. Humberto González Ríos, Dr. Miguel Manríquez, Dr. Miguel Ángel Mazorra Manzano, Dra. Susana Scheuren Acevedo, Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala, Dr. Marcel Martínez Porchas, Dr. Agustín Rascón Chu, Dra. Gabriela Ramos Clamont Montfort, Dr. Eliodoro Alemán Mateo, Dr. Enrique Martín Jara Marini y la Dra. Gloria Yépiz Plascencia, por brindarme su amistad y por compartirme sus conocimientos durante mi estancia en CIAD.

Agradezco infinitamente a mi director de tesis, Dr. Adrián Hernández Mendoza, por el tiempo dedicado a este trabajo, por su confianza, compromiso, sugerencias, apoyo siempre incondicional, durante el desarrollo de este trabajo de tesis. Además, procurando siempre en la superación de sus estudiantes en todo momento, gracias.

A los miembros del comité de tesis, Dra. Belinda Vallejo Galland, Dr. Aarón Fernando González Córdova, Dr. Hugo Sergio García Galindo y Dr. Alberto González León, por la atención prestada, por los comentarios y sugerencias recibidas durante el desarrollo de este trabajo de investigación.

Mi mayor agradecimiento, al banco de leche materna del Hospital General de Naucalpan del Estado de México “Dr. Maximiliano Ruiz Castañeda”, especialmente al LN. Cesar Iván de León Rodríguez, por su valiosa participación, disponibilidad, y apoyo técnico incondicional en la obtención y manejo de muestras. Mil gracias, Cesar.

También, a Nissa Yaing, Alba Selene Aguilar, Brenda Berenice Castro, Karla Margarita Muñoz, Rosalba Dávila, Reyna Luciana Mancinas, Martha Rosalba Martínez, Claudia Berenice Bourjac y Guadalupe Izayana Rosas, por su amistad y valiosa participación en los estudios preliminares del presente proyecto de investigación.

Agradezco a la Dra. María de Jesús Torres Llenez, a la MC. Carmen Estrada Montoya, y al MC. Ricardo Reyes Díaz, por facilitarme los equipos, materiales y por su apoyo técnico en el desarrollo de este trabajo.

A mis amigos y compañeros de la generación (2012-2014). A mis colegas durante este caminar: Eleazar Aguilar, Alejandro Santos, Trinidad López, Daniel Wicochea, Isidro Méndez y Christian Gómez. Así como a todo el equipo de lácteos: Dr. Jesús Sosa, futuros doctoras Priscilia Heredia, Aline Reyes, Lourdes Santiago, Lilia Beltrán, también a Olga Ramírez, Ángeles de la Rosa, Ángel Martín, Sinaí Ojeda, Carlos Salazar, Karmina Álvarez, Erick Valenzuela y Tania García, gracias por su amistad, apoyo y sobre todo por estar ahí cuando se necesitaba, lo cual hizo mi estancia más fácil, conservo momentos de alegría y de aliento con cada uno de ustedes, gracias. A Rafaela Gil Lamadrid Barrón (Faly), el personal de la biblioteca y docencia, por todas las atenciones; en la impresión de este trabajo, consulta de referencias y en los trámites de defensa de mi grado.

Agradezco a mi familia por todo el apoyo y confianza, por ser mi fuente de inspiración para seguirme superándome. Con mucho orgullo lo digo “Lo logramos”.

Finalmente, pero no menos importante, expreso un agradecimiento especial a Esperanza Gaspar V., por ser mi compañera, por su confianza, paciencia, comprensión, pero sobre todo por todo su cariño y amor, este éxito también es tuyo.

A todos ustedes muchas GRACIAS...!!!

Fausto Cantú C.

## **DEDICATORIAS**

En primer lugar a Dios, por darme la dicha, sabiduría, bendición, voluntad, las oportunidades y la fuerza para lograr el éxito de culminación de mi tesis y defensa de grado.

Este trabajo de tesis también está dedicado a todas aquellas personas muy especiales para mí: hermanos, sobrinos, ahijado, pero especialmente para mis padres; Juan Cantú y Fausta Cornelio.

## CONTENIDO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABLAS.....	xi
LISTA DE ANEXOS.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xvi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
<b>2.1 Aflatoxinas: Estructura, Propiedades Físicas y Químicas</b> .....	<b>3</b>
<b>2.2 Alimentos Susceptibles a Contaminación por Aflatoxinas</b> .....	<b>6</b>
2.2.1 Población en Riesgo.....	7
2.2.2 Legislación.....	8
<b>2.3 Exposición a las Aflatoxinas Vía Oral</b> .....	<b>10</b>
2.3.1 Aflatoxicosis.....	10
2.3.2 Absorción y Biotransformación.....	12
2.3.3 Biomarcadores Asociación al Consumo Dietario de Aflatoxina.....	14
<b>2.4 Incidencia de Aflatoxinas en Diferentes Productos a Nivel Mundial</b> .....	<b>15</b>
<b>2.5 Incidencia de Aflatoxinas en Diferentes Productos en México</b> .....	<b>18</b>
2.5.1 Granos y Cereales.....	18
2.5.2 Leche y Productos Lácteos.....	20
<b>2.6 Presencia de Aflatoxinas y sus Metabolitos en los Fluidos del Cuerpo Humano</b> .....	<b>22</b>
2.6.1 Presencia de Aflatoxina en Sangre, Orina y otros Fluidos o Tejidos Humanos.....	22
2.6.2 Incidencia de Aflatoxina M <sub>1</sub> en Leche Materna en Diferentes Países.....	26
III. HIPÓTESIS.....	29
IV. OBJETIVOS.....	30



## CONTENIDO (continuación)

<b>4.1 Objetivo General</b> .....	<b>30</b>
<b>4.2 Objetivos Específicos</b> .....	<b>30</b>
V. MATERIALES Y MÉTODOS .....	31
<b>5.1 Criterios del Estudio</b> .....	<b>31</b>
<b>5.2 Tamaño de Muestra</b> .....	<b>31</b>
<b>5.3 Recolección de Muestras</b> .....	<b>32</b>
<b>5.4 Preparación de Muestras</b> .....	<b>33</b>
<b>5.5 Evaluación de las Muestras por Método de Inmunoensayo (ELISA)</b> .....	<b>33</b>
5.5.1 Requisitos de Seguridad para la Manipulación de las Muestras.....	33
5.5.2 Desarrollo de la Técnica .....	34
<b>5.6 Análisis Estadístico</b> .....	<b>35</b>
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	36
<b>6.1 Información Básica de la Población Participante</b> .....	<b>36</b>
<b>6.2 Cuantificación de Aflatoxina M<sub>1</sub> en Leche Materna</b> .....	<b>37</b>
6.2.1 Cuantificación de Aflatoxina M <sub>1</sub> por Mes .....	38
6.2.2 Cuantificación de AFM <sub>1</sub> por Etapas de Lactación.....	43
<b>6.3 Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos</b> .....	<b>45</b>
<b>6.4 Regresión Lineal Múltiple</b> .....	<b>47</b>
VII. CONCLUSIÓN .....	52
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	54

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Estructura química de las principales aflatoxinas.....	4
2	Límites máximos establecidos a nivel mundial para aflatoxina B <sub>1</sub> en los alimentos .....	8
3	Activación y biotransformación de AFB <sub>1</sub> por enzimas del complejo CYP450.....	13
4	Excreción de la AFB <sub>1</sub> -8,9-epoxido con glutatión, mediada por glutatión-S-Transferasa (GST) a través de la bilis, orina y heces.....	14
5	Niveles de contaminación por AFM <sub>1</sub> en las muestras de leche materna estudiadas por mes.....	39
6	Concentración de AFM <sub>1</sub> en las muestras de leche materna por etapas de lactación.....	44
7	Grupos de alimentos consumidos durante el periodo de estudio.....	47

## LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Efecto tóxico de algunas aflatoxinas en diferentes especies .....	5
2	Concentración máxima permitida de aflatoxinas M <sub>1</sub> en leche para consumo humano.....	9
3	Niveles de aflatoxinas en diferentes productos a nivel mundial.....	16
4	Incidencia y niveles de aflatoxinas en cereales y sus subproductos de consumo humano en México.....	19
5	Incidencia de aflatoxina M <sub>1</sub> en leche para consumo humano.....	21
6	Incidencia y niveles de aflatoxinas y sus metabolitos en fluidos corporales.....	25
7	Incidencia de aflatoxina M <sub>1</sub> en leche materna de mujeres de diferentes países.....	27
8	Características generales de la población de estudio.....	37
9	Porcentaje de muestras positivas por mes considerando la legislación de la Comunidad Europea y Suiza.....	42

## LISTA DE TABLAS (continuación)

10	Porcentaje de consumo de los principales alimentos en diferentes épocas de estudio .....	46
11	Alimentos que podrían determinar la presencia de AFM <sub>1</sub> en leche materna (regresión lineal múltiple).....	49

## LISTA DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Carta de comité de ética.....	65
2	Formulario de información general.....	66
3	Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos.....	67

## RESUMEN

La aflatoxina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) es un metabolito secundario con carácter tóxico producido durante el crecimiento de especies del género *Aspergillus* en una gran variedad de alimentos. En humanos, su ingestión a través del consumo de alimentos contaminados puede resultar en la acumulación de ésta toxina en la leche materna en forma de aflatoxina M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>), el mayor metabolito hidroxilado de la AFB<sub>1</sub>. La exposición de la población infantil a la AFM<sub>1</sub> es motivo de gran preocupación ya que ésta ha sido clasificada como cancerígeno del grupo 2B. Investigaciones realizadas en diversos países han demostrado la presencia de AFM<sub>1</sub> en leche materna. Sin embargo, en México no existe ningún estudio en este respecto. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar la incidencia y niveles de Aflatoxina M<sub>1</sub> en la leche de un grupo de madres lactantes mexicanas, de la región centro-sur del territorio nacional, en diferentes periodos y etapas de lactación. Para ello se colectaron 112 muestras de leche de madres lactantes que asistieron voluntariamente a donar leche a un banco especializado ubicado en la zona noreste del Estado de México, en el periodo enero-agosto de 2014. Los resultados obtenidos mostraron una tasa de incidencia del 95% con niveles de contaminación en un rango de 0.00127-0.0342 µg AFM<sub>1</sub>/L. Las muestras recolectadas en invierno mostraron niveles significativamente ( $p < 0.05$ ) mayores que aquellas recolectadas en primavera y verano. Todos los niveles de contaminación registrados durante el periodo experimental estuvieron por debajo de los límites máximos permitidos (0.5 µg/L) por la Administración de Alimentos y Drogas de EE.UU., la Norma Oficial Mexicana y la Unión Europea, para leche y sus derivados de consumo humano. Sin embargo, el 5 % de las muestras superó los límites máximos permitidos para fórmulas infantiles propuesto por la Unión Europea (0.025 µg/L), mientras que el 28% superó los límites máximos

permitidos por la legislación Suiza (0.01 µg/L). Por otra parte, no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) respecto a la etapa de lactación. El tipo de alimentación de las participantes se correlacionó significativamente ( $p < 0.05$ ) con los niveles de AFM<sub>1</sub> determinados en las muestras, siendo carne de cerdo, cereal, tortillas de maíz, crema, aceite de girasol, pan y yogurt, los alimentos que podrían determinar la presencia de AFM<sub>1</sub> en la leche materna. En contraste, el peso-estatura, nivel de estudio, nivel socioeconómico y edad de las participantes no se correlacionaron con los niveles de AFM<sub>1</sub> determinados. Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que la población infantil, particularmente de la región centro-sur del territorio nacional, podría estar expuesta de forma crónica a niveles importantes de AFM<sub>1</sub> a través de la leche materna.

**Palabras clave:** Leche materna, aflatoxina M<sub>1</sub>, población infantil

## ABSTRACT

Aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) is a toxic secondary metabolite produced by *Aspergillus* species in a variety of foods. Aflatoxin M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>), a hydroxylated metabolite of AFB<sub>1</sub>, is excreted into the breast milk of lactating mothers after the ingestion of AFB<sub>1</sub> contaminated food. Exposure of children to AFM<sub>1</sub> is of great concern because this toxin has been classified as a Group 2B carcinogen. Studies conducted in different countries have evidenced the presence of AFM<sub>1</sub> in breast milk. However, in Mexico there are no studies on this regard. Therefore, the aim of this work was to determine the incidence and levels of aflatoxin M<sub>1</sub> in breast milk from a group of Mexican lactating mothers, from the south-central region of national territory, at different periods and stages of lactation. A total of 112 breast milk samples were collected from lactating women who voluntarily attended to a milk-bank located in the northeast of the State of Mexico, during January-August 2014. Results showed an incidence rate of 95% with contamination levels ranging from 0.00127 to 0.0342 µg AFM<sub>1</sub>/L. Samples collected in winter showed contamination levels significantly ( $p < 0.05$ ) higher than those collected in spring and summer. All the contamination levels recorded during the experimental period were below the legal limits (0.5 µg/L) allowed by the Food and Drug Administration of USA, the Official Mexican Standard and the European Union for raw milk, treated milk, and dairy products. However, 5% of the samples exceeded the maximum legal limits allowed for infant formulas permitted by the European Union (0.025 µg/L) while 28% exceeded the maximum legal limits permitted by Swiss laws (0.01 µg/L). Regarding the stage of lactation, no significant differences ( $p > 0.05$ ) were detected. The type of feeding was significantly correlated ( $p < 0.05$ ) with the AFM<sub>1</sub> levels determined in the samples, being pork meat, cereal, tortilla,



sunflower oil, bread, and yogurt, those foods that could determine the presence of AFM<sub>1</sub> in breast milk. Conversely, weight-height, study level, socioeconomic status and age of participant did not correlate with the levels of AFM<sub>1</sub> determined. The results obtained in this work suggest that infant population, particularly from the south-central region of Mexico, may be chronically exposed to significant levels of AFM<sub>1</sub> through breast milk.

**Keywords:** Breast milk, aflatoxin M<sub>1</sub>, infant population

## I. INTRODUCCIÓN

Las aflatoxinas (AFs) son metabolitos secundarios con carácter tóxicos producidos durante el crecimiento de especies del género *Aspergillus* en una gran variedad de alimentos. Se han reportado hasta 20 formas de AFs, de las cuales la aflatoxina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) es la más común y más tóxica, y en orden decreciente le siguen la AFM<sub>1</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFM<sub>2</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>2</sub> (Gimeno, 2005; Pei *et al.*, 2009).

En humanos, la ingestión de AFB<sub>1</sub> a través del consumo de alimentos contaminados puede resultar en la acumulación de ésta toxina en la leche materna en forma de aflatoxina M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>), el mayor metabolito hidroxilado de la AFB<sub>1</sub>. La exposición de la población infantil a la AFM<sub>1</sub> es motivo de gran preocupación ya que ésta ha sido clasificada por la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) dentro del grupo 2B, posible cancerígeno para el humano (IARC, 2002). Además, la capacidad de detoxificación de ésta en los infantes es más lenta que en los adultos, lo que resulta en un mayor tiempo de exposición de la toxina en los tejidos (IARC, 2002; Gong *et al.*, 2003).

Durante los últimos años, investigaciones realizadas en diferentes países como Egipto, Australia, Tailandia, Italia y Turquía, entre otros. Han demostrado la presencia de AFM<sub>1</sub> en leche materna (Polychronaki *et al.*, 2007; Sadeghi, *et al.*,

2009; Gurbay, *et al.*, 2010). Este tipo de evidencia pone de manifiesto el potencial riesgo que pudiera estar sufriendo la población infantil por exposición crónica a la AFM<sub>1</sub>.

En este respecto, aunque en México existen escasos reportes sobre los niveles de AFM<sub>1</sub> en leche para consumo humano (Carvajal *et al.*, 2003; Pérez *et al.*, 2008), y gran evidencia de la presencia de AFB<sub>1</sub> en los granos y cereales de mayor consumo (García & Heredia, 2006), no existen reportes sobre la incidencia de aflatoxina M<sub>1</sub> en leche materna, por lo que se hace evidente la necesidad de determinar la presencia de ésta toxina en etapa de lactancia materna como un biomarcador de riesgo a la exposición de esta micotoxina. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar la incidencia y niveles de Aflatoxina M<sub>1</sub> en la leche de un grupo de madres lactantes mexicanas, de la región centro sur del territorio nacional, en diferentes periodos y etapas de lactación.

## II. ANTECEDENTES

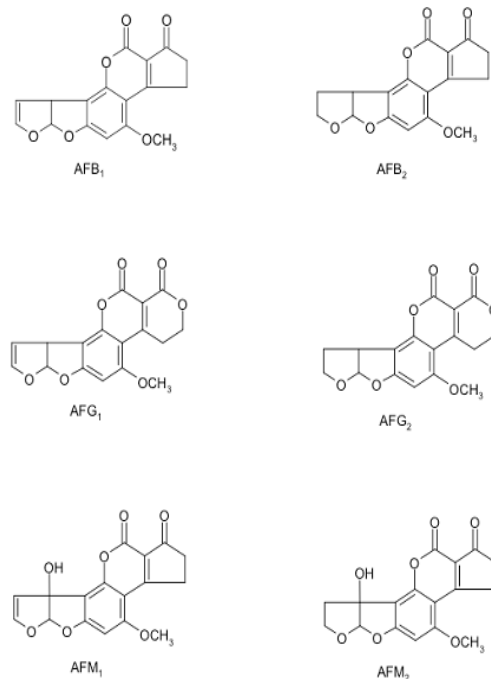
### 2.1 Aflatoxinas: Estructura, Propiedades Físicas y Químicas

Las aflatoxinas (acrónimo de *Aspergillus flavus* toxin) son un grupo de metabolitos tóxicos producidos por diferentes especies de hongos del género *Aspergillus*, incluyendo *A. flavus*, *A. flavus* subsp. *parasiticus*, *A. nomium*, *A. tamarii* y *A. bombycis* (Hussein & Brasel, 2001; Pei *et al.*, 2009).

Dichas especies productoras se encuentran de forma natural en el medio ambiente y colonizan fácilmente diferentes productos agrícolas, expuestos a altas condiciones de humedad por largos periodos de tiempo o cuyas barreras físicas se encuentran deterioradas (Abarca *et al.*, 2000; Gimeno, 2004). El desarrollo de estos hongos y la producción de toxinas dependen de varios factores tales como pH, humedad, temperatura, entre otros. Cabe señalar que, la presencia de estos hongos en un producto no implica necesariamente que la toxina deba de estar presente, aunque también puede detectarse la toxina sin la presencia del hongo productor (Antón & Lizaso, 2001).

Estructuralmente, las AFs constituyen un conjunto de metabolitos difuranocoumarínicos que pueden ser divididos en dos grandes grupos, a saber: la serie de las difuranocoumarociclopentanona (e.g. AFB<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFB<sub>2a</sub>, AFM<sub>1</sub>, AFM<sub>2</sub>) y la serie de las difurocoumarolactonas (e.g. AFG<sub>1</sub>, AFG<sub>2</sub>, AFG<sub>2a</sub>). La determinación de la fórmula molecular (Figura 1) de las toxinas ha demostrado

que la AFB<sub>2</sub> y la AFG<sub>2</sub> son dihidro derivados de la AFB<sub>1</sub> y AFG<sub>1</sub>, respectivamente, mientras que las AFM<sub>1</sub> y AFM<sub>2</sub> son formas oxidadas de la AFB<sub>1</sub> y AFB<sub>2</sub>, respectivamente (Palmgren & Hayes, 1987; Biendl, 2004; Gratz, 2007). Las aflatoxinas tienen la capacidad de emitir fluorescencia cuando son expuestas a luz UV (365 nm). Las que emiten fluorescencia azul son las aflatoxinas B y las que emiten fluorescencia verde son las G (por sus siglas en inglés Blue o Green, respectivamente). Los subíndices 1 y 2 indican la movilidad de las AFs, en la placa cromatográfica de capa fina, dependiendo de su peso molecular (Pier, 1992; Bennett & Klich, 2003). En su estado puro, las AFs son polvos cristalinos blanco-amarillo, pálido que se descomponen cuando alcanzan su punto de fusión, por arriba de los 200 °C. Asimismo, son insolubles en agua y altamente solubles en solventes orgánicos, tales como metanol, cloroformo, benceno, acetonitrilo, entre otros. Las AFs en solución presentan sensibilidad a la luz, oxígeno, soluciones alcalinas y algunos tipos de ácidos suaves (Carvajal, 2013).



**Figura 1.** Estructura química de las principales aflatoxinas (Gratz, 2007)

Diversos estudios han demostrado el efecto carcinogénico, teratogénico e inmunosupresor de las aflatoxinas en diferentes especies (Tabla 1).

**Tabla 1.** Efecto tóxico de algunas aflatoxinas en diferentes especies (Denli & Pérez, 2006; Zain, 2011)

Aflatoxina	Especie	Efectos
B <sub>1</sub> M <sub>1</sub>	Humanos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Vómito, dolor abdominal, necrosis</li> <li>- Síndrome de Reye</li> <li>- Cirrosis hepática</li> <li>- Carcinoma hepatocelular</li> </ul>
B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub> + G <sub>1</sub> + G <sub>2</sub>	Aves	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Reducción de la productividad</li> <li>- Malformaciones y mortalidad</li> </ul>
B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub> + G <sub>1</sub> + G <sub>2</sub>	Cerdos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Descenso del crecimiento</li> <li>- Inmunosupresión</li> <li>- Hepatitis hemorrágica</li> <li>- Trastornos reproductivos y hormonales</li> </ul>
B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub> + G <sub>1</sub> + G <sub>2</sub>	Bovinos	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Reducción de la producción de leche y crecimiento</li> <li>- Disminución de la motilidad ruminal e inapetencia</li> <li>- Hemorragias centrolobulillares con infiltración de linfocitos.</li> </ul>

De los 20 diferentes tipos de AFs reportadas, las que se presentan como contaminantes comunes de los alimentos y que tienen mayor actividad biológica en orden decreciente son la AFB<sub>1</sub>>AFM<sub>1</sub>>AFG<sub>1</sub>>AFM<sub>2</sub>>AFB<sub>2</sub>>AFG<sub>2</sub>, siendo las AFB<sub>1</sub> la más ampliamente distribuida en los productos alimentarios (Gimeno, 2005). El IARC ha clasificado a las aflatoxinas B<sub>1</sub> y M<sub>1</sub> en los grupos 1A, carcinógenos para el humanos y 2B, posible carcinógenos para el humano, respectivamente (IARC, 2002). Adicionalmente, se ha establecido una importante correlación entre la exposición a las aflatoxinas, hepatotoxicidad y encefalopatía. Asimismo, han sido involucradas en casos de hepatitis aguda, cirrosis y síndrome Reye (Ruiqian *et al.*, 2004).

## 2.2 Alimentos Susceptibles a Contaminación por Aflatoxinas

La presencia de aflatoxinas en los alimentos no se limita a una región geográfica; sin embargo, las zonas tropicales y subtropicales son las regiones que presentan mayor incidencia de alimentos contaminados (Filazi & Sireli, 2013).

Los granos y cereales (maíz, arroz, trigo, cebada), oleaginosas (cacahuate, almendras, pistaches, soya, girasol, canola, cártamo, lino, mostaza), frutos secos (higos, albaricoques) condimentos y especias (pimienta y chile seco) son los grupos de alimentos más susceptibles a la contaminación de hongos aflatoxigénicos durante el periodo pre- y/o post-cosecha, almacenamiento y/o transporte de los alimentos (Moss, 2002). Debido a esto, los alimentos procesados derivados de estos productos agrícolas, incluyendo grasas, aceite vegetales, y jarabe de alta fructosa, son altamente susceptibles a la presencia de AFs (Fu *et al.*, 2008).

Por otra parte, alimentos como carne, huevos, leche y productos lácteos, también pueden ser susceptibles a la contaminación con AFs, debido a la exposición previa de animales a la AFB<sub>1</sub> a través de alimentos contaminados; ya que ésta micotoxina se acumula en tejido y/o es excretada en la leche como aflatoxina M<sub>1</sub>.

La AFM<sub>1</sub> es estable durante el procesamiento de la leche, maduración y almacenamiento de los quesos; y puede estar presente en leche, leche en polvo, suero de leche, requesón, yogurt y quesos (Filazi & Sireli, 2013).

Debido a la amplia distribución de las aflatoxinas en los productos de consumo básicos, éstas representan un gran riesgo para la salud humana.

### **2.2.1 Población en Riesgo**

Los seres humanos constantemente son expuestos a las aflatoxinas por el consumo continuo de alimentos contaminados, principalmente, porque en muchos países no existe ningún tipo de regulaciones acerca de AFs en los alimentos, y en los lugares donde hay regulaciones, éstas no son aplicadas correctamente. Por otro lado, la exposición de aflatoxinas puede variar de un país a otro, debido en gran parte a las dietas particulares de cada país, la variación dentro de éste, así como también, los límites máximos permisibles regulados por cada país (Williams *et al.*, 2004).

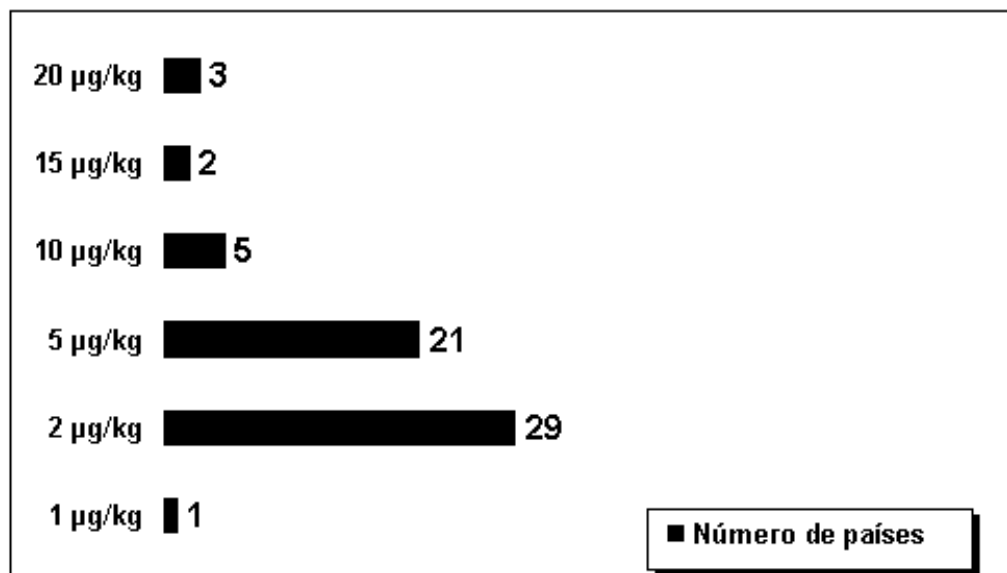
Aunque las aflatoxinas han sido un problema a lo largo de la historia, éstas han sido reconocidas como contaminantes significativos en productos agrícolas sólo desde la década los 60's. El establecimiento de límites máximos permisibles (LMP) de esta micotoxina en los alimentos comercializados, así como el cumplimiento de dichos límites a través del monitoreo de alimentos, y la implementación de prácticas óptimas de secado y almacenamiento, han permitido reducir la exposiciones crónica de las AFs en los países desarrollados. Sin embargo, la aplicación de estas estrategias en los países en vías de desarrollo es difícil, debido a las diferencias en la producción de alimentos. Además, estos países a menudo carecen de los recursos, la tecnología y la infraestructura necesarias para el monitoreo de los alimentos, así como las prácticas óptimas de secado y almacenamiento (Strosnider *et al.*, 2006). Como consecuencia, estudios han estimado que en los países en vías de desarrollo



existen más de 5 mil millones de personas en riesgo a la exposición crónica de las aflatoxinas a través de alimentos contaminados (Shuaib *et al.*, 2010).

### 2.2.2 Legislación

Debido al problema de salud pública que representan las AFs, desde su descubrimiento, hasta la fecha muchos países han desarrollado una legislación específica acerca de estas micotoxinas (Van Egmond, 1989). A nivel mundial, los límites van desde 2 a 20  $\mu\text{g}/\text{Kg}$  para alimentos destinados al consumo animal y humano (Figura 2), y desde 0.05 a 0.5  $\mu\text{g AFM}_1/\text{L}$  en leche de especies rumiantes tratada térmicamente y para elaborar productos (Tabla 2).



**Figura 2.** Límites máximos establecidos a nivel mundial para aflatoxina B<sub>1</sub> en los alimentos (FAO, 2004)

En particular, la Comunidad Europea, a través de *Codex alimentarius* (1995), ha establecido que la concentración de AFB<sub>1</sub> y AFs totales (AFB<sub>1</sub>, AFG<sub>1</sub>, AFB<sub>2</sub>, AFG<sub>2</sub>) en granos y cereales no debe ser superior a 2 y 4  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ , respectivamente,

mientras que la AFM<sub>1</sub> no debe exceder los 0.05 µg/L en la leche de especies rumiantes. Por otra parte, la legislación vigente en los Estados Unidos de Norteamérica, y la mayoría de los países de América Latina como Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay, establece un nivel de tolerancia máximo de AFs totales de 20 µg/Kg para granos y cereales de consumo humano. En el caso particular de México, la Secretaria de Salud establece a través de la NOM-188-SSA1-2002 que los cereales destinados para consumo animal y humano no deben exceder los 20 µg/Kg de aflatoxinas totales. Mientras que la NOM-184-SSA1-2002 especifica un nivel máximo de 0.5 µg AFM<sub>1</sub>/L en leche.

**Tabla 2.** Concentración máxima permitida de aflatoxina M<sub>1</sub> en leche para consumo humano

Alimento	País	Organización	Nivel máximo permitido (µg/L)
Leche de especies rumiantes para consumo humano	EUA	FDA	0.5
	México	NOM-184-SSA1-2002	0.5
	Unión Europea	<i>Codex alimentarius</i>	0.05
	Suiza	Legislación Suiza	0.05
Formulas infantiles	Unión Europea	<i>Codex alimentarius</i>	0.025
	Suiza	Legislación Suiza	0.01

Por otra parte, a nivel mundial no existe ninguna regulación sobre el LMP de AFM<sub>1</sub> en leche materna. Sin embargo, la Comunidad Europea ha fijado el LMP de 0.025 µg AFM<sub>1</sub>/L para fórmulas infantiles, mientras que la Legislación Suiza ha determinado que esta concentración no debe ser superior a 0.01 µg AFM<sub>1</sub>/L (Tabla 2).

## 2.3 Exposición a las Aflatoxinas Vía Oral

La exposición de AFs por vías respiratorio y absorción cutánea, puede ocurrir de manera eventual; sin embargo, la ruta más común de exposición en todas las especies es por la vía oral (Rawal & Coulombe, 2010). La vía de exposición juega un papel determinante en sus efectos toxicológicos, ya que su absorción, biotransformación y eliminación dependerá de los órganos correspondientes a la vía por la cual ingreso (Calero, 2011). La exposición oral, se puede llevar a cabo de forma directa e indirecta. La primera, es derivada del consumo franco de los productos básicos que han sido invadidos y contaminados por los hongos aflatoxigénicos (Filazi & Sireli, 2013). Mientras que la segunda, se caracteriza por el consumo de productos, tales como huevo, carne de cerdo, res, pollo, leche y productos lácteos, derivados de animales previamente alimentados con piensos contaminados con AFs (Heshmati & Milani, 2010). La ingestión de aflatoxinas en la comida o alimento contaminado resulta en un envenenamiento conocido como aflatoxicosis.

### 2.3.1 Aflatoxicosis

La severidad de la intoxicación varía dependiendo las cantidades ingeridas. De este modo, se pueden producir dos tipos de intoxicación: la intoxicación aguda, y la intoxicación crónica (Novoa & Díaz, 2006).

2.3.1.1 Intoxicación aguda. Cuando se ingieren altas concentraciones de AFs a través de alimentos contaminados, se producen efectos agudos a corto plazo tales como vómitos, diarreas, hemorragias, hepatitis aguda, necrosis, fiebre, abortos, defectos en coagulación y muerte. El órgano diana es el hígado, donde se produce una infiltración grasa y necrosis considerable con muerte celular, y pérdida de funciones esenciales del hígado. Además, se induce una elevación de niveles de AST (Aspartato aminotransferasa) en sangre, siendo este un

indicador de daño hepático (Wild & Montesano, 2009; Gross-Steinmeyer & Eaton, 2012).

2.3.1.2 Intoxicación crónica. La exposición por largos periodos de tiempo a bajas concentraciones puede traer como resultados efectos cancerígenos, teratogénicos, inmunosupresivos, mutagénicos, citotóxicos. Además, otras condiciones patológicas como, cirrosis, aplasia del timo, encefalitis, falla renal y neurotóxica (Apeagyei *et al.*, 1982). También se pueden presentar alteraciones en los ciclos hormonales que conllevan infertilidad, abortos, así como una reducción en la producción de leche en los bovinos (Zain, 2011).

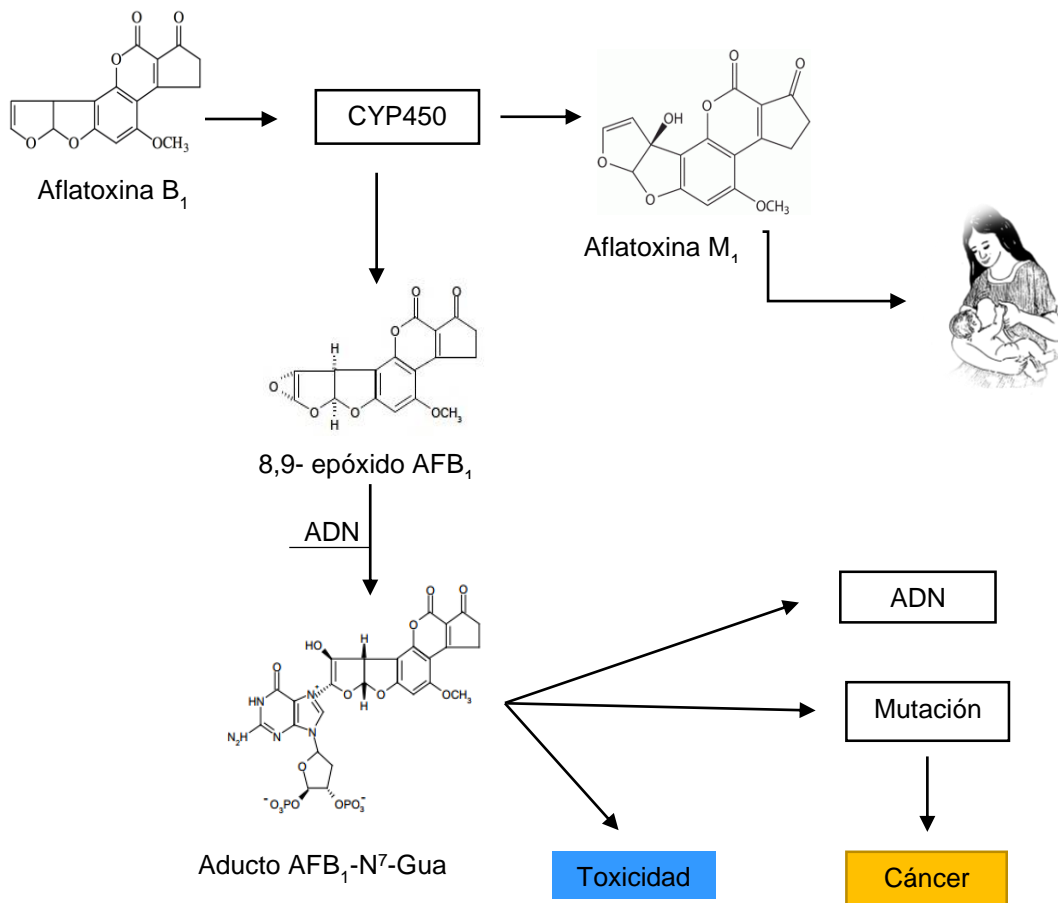
Adicionalmente, la exposición crónica a las AFs, aunado al consumo de alcohol, factores hereditarios y la prevalencia de virus de la hepatitis B (VHB), aumenta el riesgo de un efecto tóxico-sinérgico entre estos factores. Este tipo de evidencia ha sido documentada en la población de Gambia, debido a la alta incidencia de mutaciones (ABF<sub>1</sub>-ADN) en pacientes con cirrosis (15%) y VHB (39%) comparado con el grupo control (3.5%). De acuerdo a la razón de momios determinado, los pacientes portadores de VHB tienen 10 veces más la probabilidad de presentar dicha mutación, y los pacientes con cirrosis hepática 4 veces (Kirk *et al.*, 2005). Se ha demostrado que el VHB puede bloquear diferentes mecanismos de reparación del ADN, siendo ésta una de las razones principales de los mayores casos de mutación en los pacientes con VHB (Uribe-Yunda, 2012).

Por otra parte, la exposición de la población infantil a las AFs es motivo de gran preocupación ya que éste ha sido asociado con retraso en el crecimiento, mayor susceptibilidad a desarrollar enfermedades infecciosas, desarrollo de síndrome de Reye y disminución de inmunoglobulina A (Gong *et al.*, 2003; Turner *et al.*, 2007). También, pueden afectar otros órganos durante su metabolización por el citocromo P450. Además, la capacidad de destoxicación de ésta toxina en los infantes es más lenta que en los adultos, lo que resulta en un mayor tiempo de

exposición de la toxina en los tejidos. Las observaciones anteriores en infantes son consistentes con evidencias de trastorno de crecimiento en cerdos expuestos a las AFs durante la gestación (Miller & Wilson, 1994).

### **2.3.2 Absorción y Biotransformación**

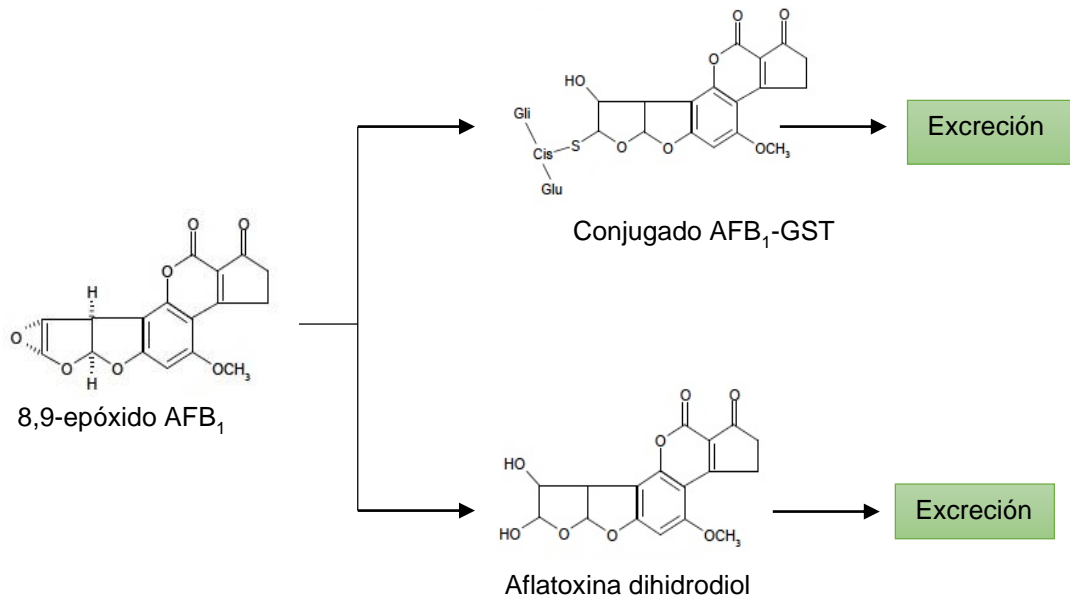
Una vez ingeridas, las AFs se absorben en el duodeno mediante difusión pasiva. Dentro del torrente sanguíneo se une a la albúmina y son transportadas al hígado. En éste órgano se efectúan las reacciones de activación metabólica y de detoxificación mediadas por el complejo citocromo P450, también conocido como CYP450 (Busby & Wogan, 1981; Chu, 1991). La activación metabólica de la AFB<sub>1</sub> permite la formación de un epóxido reactivo (AFB<sub>1</sub> 8-9 epóxido). Este compuesto es capaz de unirse de forma covalente con el nitrógeno N-7 de los residuos guanil del ADN mediante la inducción de depurinación y escisión de la hebra, en las células del hígado formando un aducto AFB<sub>1</sub>-ADN (Figura 3). La formación de estos aductos interfieren con la replicación ó transcripción del material genético, lo que conlleva a efectos citotóxicos, cancerígenos y teratogénicos (Hernández-Mendoza, 2008). Por otra parte, las enzimas del complejo CYP450 también oxidan a la AFB<sub>1</sub> a otros derivados, siendo el más importante el metabolito hidroxilado AFM<sub>1</sub>, el cual también puede ser activado para formar un epóxido reactivo (AFM<sub>1</sub>-8, 9-epóxido). Ésta molécula también se une al ADN y por lo tanto tiene poder carcinogénico y citotóxico (Polychronaki *et al.*, 2007).



**Figura 3.** Activación y biotransformación de AFB<sub>1</sub> por enzimas del complejo CYP450 (adaptado de Urrego & Díaz, 2006)

El proceso natural de detoxificación de las AFs en el hígado se lleva a cabo a través de un sistema activo de transferasas que catalizan reacciones de conjugación con diversas moléculas de naturaleza endógena (Figura 4). Así, la AFB<sub>1</sub>, en forma epóxido, puede conjugarse con el glutatión (GSH) y posteriormente ser excretado en la bilis y en las heces, mientras que los metabolitos hidroxilados, como la AFM<sub>1</sub>, son conjugados con el ácido glucurónico para formar ésteres glucurónidos hidrosolubles que se excretan en la orina o la bilis, y en el caso de las madres lactantes, también a través de la leche materna (Bogantes-Ledezma *et al.*, 2004; Gimeno, 2005; Guzmán de Peña, 2007). En este último respecto, se ha estimado que 0.09-0.43% de la AFB<sub>1</sub> ingerida se

excreta en la leche humana como AFM<sub>1</sub>, y se puede encontrar en la leche dentro de las 12-24 h después de la primera ingestión de AFB<sub>1</sub>, asimismo, puede encontrarse de 3-7 días después de la última ingestión (Polychronaki *et al.*, 2007).



**Figura 4.** Excreción de la AFB<sub>1</sub>-8,9-epóxido con glutatión, mediada por glutatión-S-Transferasa (GST) a través de la bilis, orina y heces (adaptado de Uribe-Yunda, 2012)

### 2.3.3 Biomarcadores Asociación al Consumo Dietario de Aflatoxina

La exposición humana a las aflatoxinas es objeto de mucha preocupación. Una de las maneras más eficaces para evaluar la exposición humana a las aflatoxinas es mediante la medición de la presencia de biomarcadores de exposición a estas sustancias en fluidos biológicos como la leche, la orina y la sangre. Entre los biomarcadores de exposición a las aflatoxinas se encuentran los aductos de ADN y ARN. Los aductos de ADN, como la aflatoxina-N<sup>7</sup>-guanina (AFB-N<sup>7</sup>-guanina), representan una exposición reciente a las aflatoxinas (2-3 días), mientras que los aductos proteicos de ARN, como aductos de albúmina de la sangre, representan

una exposición más prolongada (2-3 meses) a las aflatoxinas (Urrego & Díaz, 2006; Carvajal, 2013). De esta manera, la cuantificación de AFB<sub>1</sub>-lisina en suero y AFB<sub>1</sub>-albúmina en sangre de niños y adultos de poblaciones del sudeste de Asia, Este y Oeste de África y Europa, han permitido conocer la magnitud de la exposición y la toxicidad de las AFs. Adicionalmente, la detección mediante aducto AFB<sub>1</sub>-albumina en sangre es un buen biomarcador de exposición crónica a las AFs (Guzmán de Peña, 2007).

Los metabolitos hidroxilados, como la AFM<sub>1</sub>, observados en orina como aductos AFM<sub>1</sub>-N<sup>7</sup>-guanina, permiten determinar la exposición a la AFB<sub>1</sub> en las últimas 24 h; otro biomarcador es el complejo albúmina-AFM<sub>1</sub> en sangre, este biomarcador es más preciso y sirve para evaluar exposiciones prolongadas (Afshar *et al.*, 2013). Adicionalmente, la presencia de AFM<sub>1</sub> en leche materna es considerada como un biomarcador válido de exposición a AFB<sub>1</sub>. En un estudio realizado para evaluar las concentraciones de aflatoxinas ingeridas en la dieta y las concentraciones de AFM<sub>1</sub> excretados en la leche materna, se estimó que la excreción de AFM<sub>1</sub> en la leche materna se produce en un rango entre 0.09 y 0.43% de la concentración de aflatoxina ingerida (Zarba *et al.*, 1992).

#### 2.4 Incidencia de Aflatoxinas en Diferentes Productos a Nivel Mundial

De acuerdo a diferentes investigaciones realizadas en distintos partes del mundo, existe una alta incidencia de aflatoxinas en productos básicos destinados a consumo animal y humano como se describe a continuación (Tabla 3). En un estudio se reportó que el 38% de 214 muestras de maíz sin procesar, recolectadas en los mercados del Centro, Sur, y Sudeste de Brasil entre 1997-1998. Estaban contaminados con AFs totales (0.4-139 µg/Kg) de las cuales, la AFB<sub>1</sub> fue la principal, en un rango de 0.2 a 129 µg/Kg (Vargas *et al.*, 2001). De modo similar, Fu *et al.* (2008) determinaron AFB<sub>1</sub> en 18 muestras de maíz y 16 muestras de cacahuete obtenidas en los mercados locales de China. Concluyeron que el 22% de muestra de maíz y el 12.5% de las muestras de



cacahuates estaban contaminados con niveles de AFB<sub>1</sub> de 2.41 µg/Kg para el primero y 1.57 µg/Kg para el segundo, respectivamente.

**Tabla 3.** Niveles de aflatoxinas en diferentes productos a nivel mundial

Alimento	País	Tipo de aflatoxina	Concentración (µg/Kg)	Referencia
Maíz	Brasil	AF totales* AFB <sub>1</sub>	0.4-139 0.2-129	Vargas <i>et al.</i> , 2001
Maíz Cacahuates	China	AFB <sub>1</sub>	2.41 1.57	Fu <i>et al.</i> , 2008
Arroz	Turquía	AF totales*	0.05-21.4	Aydin <i>et al.</i> , 2011
Sorgo	India	AFB <sub>1</sub>	0.01-263.9	Ratnavathi <i>et al.</i> , 2012
	Marruecos		0.001-0.11	Zinedine <i>et al.</i> , 2007
Leche líquida	Pakistán	AFM <sub>1</sub>	0.004	Hussain <i>et al.</i> , 2008
	Irán		0.012-0.249	Heshmati & Milani, 2010

\*Aflatoxinas totales= B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>

En este contexto, Aydin *et al.* (2011), en 2006 estimaron los niveles de aflatoxina totales en 100 muestras de arroz provenientes de dos zonas arroceras de Turquía. Los resultados evidenciaron que el 56% de las muestras contenía niveles de aflatoxinas totales en un rango de 0.05 a 21.4 µg/Kg. Así mismo, el 32% de las muestras superó el límite máximo permitido. Por otro lado, Ratnavathi *et al.* (2012), analizaron un total de 1606 muestras de sorgo en la India durante 4

años (2004-2008); en los campos de cultivos, granjas, lugares de almacenamiento, mercados, unidades de alimentación y fábricas de cerveza. Reportaron una incidencia de AFB<sub>1</sub> de 73 %, estableciendo un rango de contaminación de 0.01 a 263.98 µg/Kg. Además, concluyeron que los periodos de mayor número de contaminación y al mismo tiempo los niveles más altos de AFB<sub>1</sub> se presentaron en 2004-2005 (0.30-79.9 µg AFB<sub>1</sub>/Kg sorgo) y 2005-2006 (0.01-263.98 µg AFB<sub>1</sub>/Kg sorgo).

En este mismo sentido, otra aflatoxina de gran importancia a nivel mundial debido a los diversos estudios que ponen de manifiesto la alta incidencia en leche y los productos lácteos es la aflatoxina M<sub>1</sub>. En un estudio realizado por Zinedine *et al.* (2007) se evaluó la presencia de AFM<sub>1</sub> en 54 muestras de leche ultrapasteurizada producidos en diferentes zonas de Marruecos en 2006. Los resultados presentaron una alta incidencia de AFM<sub>1</sub>, ya que 88.8% de las muestras estaban contaminadas con niveles de 0.001-0.117 µg/L de AFM<sub>1</sub>, además, hacen referencia que ésta contaminación es motivo de la ingesta de alimentos contaminados con AFB<sub>1</sub> por parte del animal productor.

Posteriormente, Hussain *et al.* (2008), llevaron a cabo un estudio con 120 muestras de leche de vaca obtenidas en diferentes zonas de Pakistán en 2007. En dicho estudio se encontró una incidencia de 52.5%, con un nivel medio de contaminación de 0.044 µg/L. También, los niveles de contaminación por zonas, fueron mayor en las zonas urbanas, seguido de semiurbanas y áreas rurales, 0.087, 0.042 y 0.004 µg/L, respectivamente. Estos autores exponen que los niveles elevados de contaminación encontrado en zonas urbanas y semiurbanas, se justifica porque en estos lugares hay menor disponibilidad de forraje verde, por lo tanto, en gran medida los animales son alimentados con concentrado de semilla de algodón, maíz, soya, trigo, arroz y salvado de trigo. Por el contrario, en las zonas rurales las prácticas de alimentación son variadas, y a su vez limita la presencia de AFM<sub>1</sub> en leche. Por otro lado, Heshmati & Milani (2010) determinaron la presencia de AFM<sub>1</sub> en 210 muestras de leche ultrapasteurizada

en Teherán, Irán, durante 2007-2008. La AFB<sub>1</sub> fue encontrada en 55% de las muestras examinadas en un rango de 0.012-0.249 µg/L. Adicionalmente, reportaron diferencias significativas de contaminación, entre el mes de febrero (0.021) y agosto (0.087). Asumiendo, que estas diferencias se debe al tipo de alimento disponible para los animales productores en estos periodos.

## 2.5 Incidencia de Aflatoxinas en Diferentes Productos en México

### 2.5.1 Granos y Cereales

México no está exento al problema de contaminación de aflatoxinas, y a pesar de que no existe una agencia gubernamental que registre la incidencia de aflatoxinas en nuestro país, algunos estudios aislados realizados en centros de investigación han puesto de manifiesto la presencia de aflatoxinas en diversos productos de consumo habitual en México (Tabla 4).

Durante el mes de noviembre de 1986 hasta abril de 1987, se recolectaron muestras de maíz y trigo almacenado en el Estado de Sonora. Se determinaron los niveles de Aflatoxina B<sub>1</sub> en 66 muestras, tanto de maíz y de trigo, de las cuales el 20% (13), estaban contaminados con AFB<sub>1</sub> (7 muestra a partir de maíz y 6 a partir de trigo), pero sólo una muestra encontró por arriba de los 20 µg/Kg (Ochoa et al., 1989). Posteriormente, Espinosa *et al.* (1995) evaluaron los niveles de AFs en maíz para consumo humano en diferentes puntos de venta y distribución en Monterrey, Nuevo León. Dicho estudio reveló la presencia de las aflatoxinas B<sub>1</sub> (5-465 µg/Kg) y G<sub>1</sub> (1.6-57 µg/Kg) en 89% de muestras de maíz, de las cuales el 59% estaban contaminados con niveles por encima de los límites propuestos por la Norma Oficial. Cruz-Sánchez *et al.* (2002) examinaron la presencia de AFs en alimentos de consumo infantil; barras de granola y cereales. Aflatoxinas totales fueron detectados en 7 de las 15 muestras de granola analizadas con concentraciones de 0.125 a 3 µg/Kg, y 1 muestra de cereal con nivel de 4.2 µg/Kg, siendo éste el valor más alto encontrado en el estudio. En otro estudio realizado

en el Estado de Tamaulipas, se encontraron niveles elevados (100 µg/Kg) de AFs en el 100% de las muestras de maíz cosechado en 1989 (García & Heredia, 2006).

**Tabla 4.** Incidencia y niveles de aflatoxinas en cereales y sus subproductos de consumo humano en México

Aflatoxina	Alimento	% Incidencia	Concentración (µg/Kg)	Referencia
AFB <sub>1</sub>	Maiz	13	> 20	Ochoa <i>et al.</i> , 1989
	Maiz	89	5-465	Espinosa <i>et al.</i> , 1995
AF totales*	Barras de granola	46	0.125-3	Cruz-Sánchez <i>et al.</i> , 2002
	Cereal	6.6	4.2	
	Maiz	100	> 100	García & Heredia, 2006
	Pozool	17	0.5-21	Méndez-Albores <i>et al.</i> , 2004
	Cebada	100	1.5-1.7	Ocampo <i>et al.</i> , 2005

\*Aflatoxinas totales= B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub>

De igual forma, en estudio realizado con 111 muestras de pozol en Chiapas durante 2002-2003, se encontró que el 17% de las muestras contenían niveles importantes de AFB<sub>2</sub> (0.5-21 µg/Kg) y trazas de AFB<sub>1</sub>; sin embargo, solo una de

las muestras presentó concentraciones mayores a 20 µg/Kg (Méndez-Albores *et al.*, 2004). Después, Ocampo *et al.* (2005) determinaron la presencia de aflatoxinas en 30 muestras de granos de cebada, recolectadas en el estado de Hidalgo. Concluyeron que el 100% de las muestras tenía aflatoxinas totales de 1.5 a 1.7 µg/Kg.

### **2.5.2 Leche y Productos Lácteos**

Por otra parte, estudios realizados en diferentes partes de México, han puesto en evidencia la exposición de la población a la AFM<sub>1</sub> a través de la leche de vaca y sus derivados (Tabla 5). En el 2003, en el estado de Sonora, se analizaron 9 marcas de leche ultrapasteurizada (UHT) y 4 marcas de leche en polvo. De las 120 muestras UHT analizadas, el 100% contenían niveles de 0.0045 a 0.294 µg/L de AFM<sub>1</sub>, para el caso de leche el polvo todas las muestras (n=26) presentaron niveles de 0.0068-0.109 de AFM<sub>1</sub>. También se obtuvo que el 32% de leche UHT y 19% de leche en polvo sobrepasaron los límites máximos establecidos por la Unión Europea (Sandoval, 2003).

Después, en un estudio realizado por Carvajal *et al.* (2003), citado por García & Heredia, 2006. Se determinó la presencia de AFM<sub>1</sub> en siete marcas de leche (pasteurizada y ultra pasteurizada), de mayor consumo en la Ciudad de México. De las 290 muestras analizadas, se determinó que el 10% presentó contenido de AFM<sub>1</sub> con niveles superiores a los 0.5 µg/L. También, se reportó que la concentración de AFM<sub>1</sub> no varió significativamente entre la leche pasteurizada y ultra pasteurizada.

En el estudio realizado por Pérez *et al.* (2008), se estudiaron 44 muestras de leche colectadas en el Altiplano Mexicano. El 59% de las muestras presentó niveles de AFM<sub>1</sub> por encima del límite máximo permitido (0.05 µg/L) propuesto por la Unión Europea. En Guanajuato, Urbán *et al.* (2010) estudiaron el contenido de AFM<sub>1</sub> en 60 muestras de leche de cabra, durante el periodo de junio del 2008

a junio del 2009. Los niveles de contaminación estuvieron en un rango de 0.02 a 0.81 µg/L, y la incidencia fue de 30%. Mientras tanto, el 3% de las muestras estudiadas presentaron niveles por arriba de los límites máximos establecido de 0.5 µg/L por Codex, FDA y la Norma Oficial Mexicana.

**Tabla 5.** Incidencia de aflatoxina M<sub>1</sub> en leche para consumo humano

Estado	Alimento	% Incidencia	Concentración (µg/Kg)	Referencia
Estado de Sonora	Leche UHT*	100	0.0045-0.294	Sandoval, 2003
	Leche en polvo	100	0.0068-0.109	
Estado de México	Leche UHT*	10	>0.05	García & Heredia, 2006
Altiplano Mexicano	Leche UHT*	59	>0.05	Pérez <i>et al.</i> , 2008
Guanajuato	Leche de cabra	30	0.02-0.81	Urbán <i>et al.</i> , 2010
Estado de Sonora	Leche UHT*	30	0.515-2.678	Cantú, 2012

\*Leche UHT= leche ultrapasteurizada

En el Estado de Sonora, Cantú (2012) determinó y cuantificó los niveles de AFM<sub>1</sub> en 5 marcas de leche; 4 marca ultrapasteurizada y 1 marca de leche en polvo, para un total de 89 muestras. En dicho estudio se encontró que el 30% (0.515-2.678 µg/L) de las muestras evaluadas se encontraron por encima de los límites

establecidos por la Norma Oficial Mexicana. Además, se encontró que los niveles de AFM<sub>1</sub> entre la época de verano de 0.380 µg/L e invierno de 0.616 µg/L fueron diferentes significativamente ( $p < 0.05$ ).

Este tipo de evidencias, ponen de manifiesto la presencia de Aflatoxina en los productos de consumo básico, lo cual sugiere que la población Mexicana está consumiendo AFs a través de alimentos contaminados, pudiendo representar un riesgo potencial de salud pública (Hernández-Mendoza, 2008).

## 2.6 Presencia de Aflatoxinas y sus Metabolitos en los Fluidos del Cuerpo Humano

La detección de aflatoxinas y metabolitos hidroxilados en fluidos como orina, sangre de cordón umbilical, suero sanguíneo y leche materna, sugiere que la población está consumiendo niveles importantes de aflatoxina, además, puede conllevar un riesgo elevado de desarrollar carcinoma hepatocelular, mutagenicidad, efectos crónicos, entre otros.

### 2.6.1 Presencia de Aflatoxina en Sangre, Orina y otros Fluidos o Tejidos Humanos

Distintos tipos de AFs y sus metabolitos han sido estudiadas en orina, entre ellos la más importante AFM<sub>1</sub> y aductos AFs-N<sup>7</sup>-Gua, debido a la características carcinogénica citotóxica demostrada en individuo expuestos. Así pues, Zhu *et al.* (1987) recolectaron 252 muestras de orina, y su respectivas encuestas sobre la ingesta de granos y cereales, en la provincia de la República Popular de China. Los autores concluyeron que entre 1.23-2.18% de AFB<sub>1</sub> presente inicialmente en el alimento es secretada como AFM<sub>1</sub> en la orina materna (Tabla 6).

También, se demostró que el consumo de cereal (maíz) fue asociado significativamente con la concentración de AFM<sub>1</sub>. En este mismo sentido, Malir *et al.* (2006) en República Checa, reportaron la presencia de AFM<sub>1</sub> en 57% de las muestras de orina analizadas, además encontraron que la concentración del indicador de la función renal (creatinina) variaba desde 0.019 hasta 19.29 µg/Kg. En Sao Paulo, Brasil, se efectuó un estudio para correlacionar los factores dietéticos, tales como maíz, cacahuates y consumo de leche, con los niveles de AFM<sub>1</sub> en 69 muestras de orina materna. Los resultados mostraron que el 65% de las muestras examinadas presentaron niveles de 0.0018 hasta 0.03 µg AFM<sub>1</sub>/L de orina. Sin embargo, estos niveles no pudieron ser correlacionados con los factores dietarios (Romero *et al.*, 2010).

Las investigaciones enfocadas a la detección y cuantificación de aflatoxina libre en fluidos, orina y leche materna, han revelado la presencia de AFs. Entonces la necesidad de estudiar los efectos y mutaciones causadas por AFs se ha hecho evidente. En este sentido, un estudio realizado por Turner *et al.* (2007) para investigar el efecto de la exposición en el útero de AFs en infantes de Gambia, se encontró que el 100% muestras de suero materna analizada (119) presentaron aductos AFB<sub>1</sub>-albúmina en una concentración media de 0.04 µg/Kg (0.0048-0.260 µg/Kg), en suero de cordón umbilical la concentración fue 0.01 µg/Kg (0.005-0.08 µg/Kg), y en infantes de 16 semana, la concentración de aductos AFB<sub>1</sub>-albúmina fue de 0.0087 µg/Kg (0.005-0.030 µg/Kg), respectivamente.

Por otra parte, en un estudio piloto realizado en Egipto se analizaron 24 muestras de suero para medir los niveles de aducto AFs-albúmina. Los datos demostraron que el aducto se detectó en el 100% de las muestras analizadas en una concentración de 0 a 0.032 µg/Kg (Turner *et al.*, 2008). Las AFs, aunque en menor magnitud que el hígado, también pueden afectar el pulmón, riñón, y colón de roedores y seres humanos, además, en pacientes expuestos han sido detectado en las secreciones, nasales, esputo, heces y biopsias de tejidos (pulmón, hígado y cerebro) (Hooper *et al.*, 2009; Leong *et al.*, 2012). Mykkänen



*et al.* (2005) estimaron los niveles de AFM<sub>1</sub>, AFQ<sub>1</sub> y AFB<sub>1</sub>-N<sup>7</sup>-Gua en muestras de heces y orina de 83 jóvenes Chinos. Las concentraciones de AFQ<sub>1</sub> y AFM<sub>1</sub> en heces fueron de 137, 2.3 µg/Kg respectivamente. Mientras que en orina se encontraron concentraciones de 10.4 µg/L de AFQ<sub>1</sub>, 0.04 para AFM<sub>1</sub> y 0.38 µg/L de AFB<sub>1</sub>-N<sup>7</sup>-Guanina. Además, se encontró que la AFQ<sub>1</sub> se excreta en orina y en heces en niveles superiores que la AFM<sub>1</sub>.

En este sentido, en México existen un par de reportes que evidencian la presencia de AFB<sub>1</sub> en humanos: como mutación en el gen p53 en hepatocarcinomas de pacientes de Monterrey, Nuevo León (Soini *et al.*, 1996) y como aducto AFB<sub>1</sub>-lisina en orina de pacientes del Instituto Mexicano del Seguro Social de Matamoros Tamaulipas (Bañuelos *et al.*, 2000). Estos datos ilustran que la población Mexicana está consumiendo alimentos con concentraciones variables de aflatoxinas.

**Tabla 6.** Incidencia y niveles de aflatoxinas y sus metabolitos en fluidos corporales

Muestra/ País	Aflatoxina	Incidencia (%) y concentración (µg/Kg)	Referencia
Orina/ China	AFM <sub>1</sub>	1.23-2.18	Zhu <i>et al.</i> , 1987
Orina/ Republica Checa	AFM <sub>1</sub>	57%	Malir <i>et al.</i> , 2006
Orina/ Brasil	AFM <sub>1</sub>	0.0018-0.03	Romero <i>et al.</i> , 2010
Suero/ Gambia	AFB <sub>1</sub> -albúmina		Turner <i>et al.</i> , 2007
	Maternal	0.004-0.260	
	Cordón umbilical	0.005-0.080	
	Infantes	0.005-0.030	
Suero/ Egipto	AFs-albúmina	0-0.032	Turner <i>et al.</i> , 2008
Orina / China	AFQ <sub>1</sub>	10.4	Mykkänen <i>et al.</i> , 2005
	AFM <sub>1</sub>	0.04	
	AFB <sub>1</sub> -N <sup>7</sup> -Gua	0.38	
Heces/ China	AFQ <sub>1</sub>	137	
	AFM <sub>1</sub>	2.3	
Suero/ México	AFB <sub>1</sub> -lisina	0.0027	Soini <i>et al.</i> , 1996
Orina/México	AFB <sub>1</sub> -N <sup>7</sup> -Gua		Bañuelos <i>et al.</i> , 2000
	Hepatitis B	1.0-38.8	
	Cirrosis hepática	0.4-290	
	Grupo control	1.38	

## 2.6.2 Incidencia de Aflatoxina M<sub>1</sub> en Leche Materna en Diferentes Países

Diferentes investigaciones realizadas en diversos países del mundo han puesto en evidencia que la AFM<sub>1</sub> puede ser detectada en leche materna (Tabla 7). En un estudio realizado en Egipto (Polychronaki *et al.*, 2007), se evaluó durante un año a 50 mujeres lactantes que mostraron presencia de AFM<sub>1</sub>. Adicionalmente, a través de un modelo de regresión múltiple se consideraron los factores (*e.g.*, consumo de ciertos alimentos, edad, estado de salud, número de hijos y meses de muestreo y meses de lactancia) que pudieran estar asociados con la presencia de la AFM<sub>1</sub>. La micotoxina se presentó en 56% de las 443 muestras analizadas con un rango de concentración de 0.0042-0.889 µg/L. Por otro lado, de acuerdo al modelo de regresión obtenido, los meses de toma de muestra y la duración de la lactancia se encontraron como factores significativos sobre la presencia de AFM<sub>1</sub>.

De forma similar, Sadeghi *et al.* (2009), examinaron la posible exposición de lactantes en Irán a la AFM<sub>1</sub> a través de la leche materna. Para ello, se recolectaron 160 muestras en 4 clínicas durante los meses de mayo a septiembre en 2006. Dentro del estudio se exploraron factores (sexo, estado de salud, consumo de cereales, entre otros) asociados con la presencia AFM<sub>1</sub> en este tipo de leche. Los autores encontraron que 157 muestras resultaron positivas a la presencia de la toxina, con un rango de concentración de 0.0004-0.026 µg/L de leche. Sin embargo, solo una de las muestras superó el LMP por la Unión Europea para leche infantil. Se determinó que el consumo de cereales y la talla de los niños al momento de nacer son factores que influyen sobre la presencia de AFM<sub>1</sub>. Por otra parte, Gurbay *et al.* (2010) determinaron los niveles de AFM<sub>1</sub> y AFB<sub>1</sub> en 75 muestras de leche materna recolectada durante 2007 a 2008 en Ankara, Turquía. En conclusión, encontraron rangos de contaminación de 0.060-0.299 µg/L de AFM<sub>1</sub> y 0.0945-4.1238 µg/L de AFB<sub>1</sub>.

**Tabla 7.** Incidencia de aflatoxina M<sub>1</sub> en leche materna de mujeres de diferentes países

País	positivo (%) total de muestra	Concentración (µg/L)	Referencia
Egipto	56/443	0.0042-0.889	Polychronaki <i>et al.</i> , 2007
Iran	98/160	0.0004-0.026	Sadeghi <i>et al.</i> , 2009
Turquía	100/75	0.060-0.299	Gurbay <i>et al.</i> , 2010
Nigeria	82/50	3.49x10 <sup>-6</sup> -0.035	Adejumo <i>et al.</i> , 2013

Recientemente, Adejumo *et al.* (2013) efectuaron un estudio para determinar la correlación entre AFM<sub>1</sub> en leche materna y la exposición de AFB<sub>1</sub> en alimentos y el nivel socioeconómico de las madres lactantes en el estado de Ogun, Nigeria. En el estudio se analizaron 50 muestras. Los resultados indicaron que el 82% de las muestras fueron positivas a la presencia de AFM<sub>1</sub> con niveles de 3.49x10<sup>-6</sup>-0.035 µg/L). De igual forma, los autores encontraron que el nivel socioeconómico de las madres influyó sobre la dieta y, por tanto, sobre el riesgo de exposición de los lactantes a la AFM<sub>1</sub>.

Por los estudios anteriores, se deduce que la población infantil de diferentes partes del mundo se encuentran expuestos en niveles variados de AFM<sub>1</sub> y en ocasiones en niveles por arriba de los límites máximos permisibles para leche de consumo humano, incluyendo formulas infantiles. Se sabe que AFM<sub>1</sub> es un potente carcinogénico, y su presencia en la leche materna puede representar un serio problema de salud pública, en especial para la población infantil.

Considerando que México, como otros países, reporta una incidencia variable de AFB<sub>1</sub> y AFM<sub>1</sub> en productos agrícolas, en leche y sus derivados, y al ser un país con un alto consumo de estos productos, queda patente el riesgo potencial que pudiera estar sufriendo la población, en particular la infantil, por exposición crónica a éstas micotoxinas. Dado que en México no existe ningún estudio en este respecto, se hace evidente la necesidad de determinar la presencia de la AFM<sub>1</sub> en leche de madres lactantes mexicanas en diferentes periodos y etapas de lactación. En virtud de lo anterior, este trabajo tiene como hipótesis y objetivo:

### **III. HIPÓTESIS**

La incidencia y niveles de aflatoxina M<sub>1</sub> en la leche materna de madres lactantes donadoras mexicanas, en la región centro sur del territorio nacional, están relacionadas con el consumo de grupos específicos de alimentos, peso-estatura, nivel socioeconómico, así como el periodo de muestreo y etapa de lactancia.

## IV. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo General

Determinar la incidencia y niveles de aflatoxina M<sub>1</sub> en la leche de un grupo de madres lactantes mexicanas, de la región centro sur del territorio nacional, en diferentes periodos de muestreo y etapas de lactación.

### 4.2 Objetivos Específicos

- Determinar la presencia de aflatoxina M<sub>1</sub> en leche materna de madres donadoras en la zona noreste del Estado de México, en diferentes periodos de muestreo y etapa de lactancia, por medio de un ensayo inmunoenzimático ligado a enzimas (ELISA).
- Determinar los posibles factores (grupos específicos de alimentos, peso-estatura, nivel socioeconómico y edad) que están relacionados con la presencia de AFM<sub>1</sub> en la leche materna.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

El protocolo experimental del presente estudio fue evaluado y aprobado por el comité de ética del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD, A.C), Hermosillo, Sonora (Anexo 1).

### 5.1 Criterios del Estudio

Este estudio contó con la participación de mujeres con mayoría de edad, que se encontraban en periodo de lactancia y que asistieron voluntariamente a donar leche materna al banco de leche participante. Sin embargo, aquellas mujeres que hubieran sufrido defectos estructurales (e.g., cirugía mamaria, hipoplasia de la glándula), o que hubieran presentado agenesia, mastitis, cáncer mamario y quimioterapia, fueron excluidas del estudio.

### 5.2 Tamaño de Muestra

Se obtuvieron un total de 112 muestras de leche de madres lactantes en diferentes etapas de lactación. El tamaño de muestra fue calculado de acuerdo al número de muestras reportado por las diferentes publicaciones (Navas *et al.*, 2005; Gurbay *et al.*, 2010; Adejumo *et al.*, 2013) en relación a la duración del estudio. Además, considerando que se desconoce la población donadora de leche se utilizó la siguiente fórmula para población desconocida:



$$n = \frac{z^2 (p) (q)}{\beta^2}$$

Donde:

z= nivel de confianza (1.96)

p= proporción esperada de encontrar la variable a evaluar (0.5)

q= proporción asignada de no encontrar la variable a evaluar (0.5)

$\beta$ = nivel de precisión (0.1)

### 5.3 Recolección de Muestras

La determinación de aflatoxina M<sub>1</sub> se realizó en muestras de leche de un grupo de madres lactantes mexicanas de la región centro sur del territorio nacional, en la zona noreste del Estado de México. Las muestras (15-20 mL) fueron recolectadas en recipientes de plástico estéril en el periodo de enero-agosto de 2014 en el Hospital General Naucalpan de Juárez, Estado de México “Dr. Maximiliano Ruiz Castañeda”. Bajo la asesoría metodológica de colaboradores acreditados participantes en el banco de leche especializado.

Posteriormente, éstas fueron transportadas (4 °C) hasta el Laboratorio de Química y Biotecnología de Productos Lácteos del CIAD, A.C. para su procesamiento. Las muestras se conservaron a -20 °C hasta el momento de su análisis. Al momento de donación de las muestras, las participantes contestaron un formulario de información general (Anexo 2) y un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (Anexo 3). Ambos fueron aplicados por los colaboradores del banco de leche.

## 5.4 Preparación de Muestras

Las muestras obtenidas fueron descongeladas en refrigeración durante 12 h y posteriormente se sometieron a un tratamiento térmico (62.5 °C, 30 min), de acuerdo a las directrices de la Human Milk Banking Association of North America (<https://www.hmbana.org>). A partir de las muestras pasteurizadas, se tomó una alícuota de 12 mL, la cual fue centrifugada (3500 g, 5°C, 15 min) para remover la capa lipídica. Las muestras así obtenidas, fueron empleadas para realizar la determinación y cuantificación de AFM<sub>1</sub> mediante un ensayo de ELISA competitivo, como se describe a continuación.

## 5.5 Evaluación de las Muestras por Método de Inmunoensayo (ELISA)

El análisis de las diferentes muestras de leche materna se realizó mediante un ensayo ELISA competitivo empleando el kit Ridascreen Aflatoxin M<sub>1</sub> (R-Biopharm AG, Darmstadt, Alemania), integrado por una placa con 98 micropozos recubiertos con anticuerpos de captura.

### 5.5.1 Requisitos de Seguridad para la Manipulación de las Muestras

Debido a que la AFM<sub>1</sub> es un compuesto altamente tóxico, se llevaron a cabo los siguientes procedimientos de seguridad durante cada ensayo: Todas las muestras se manejaron como si estuvieran contaminadas. Se utilizó bata de laboratorio, guantes y cubrebocas desechables. Las superficies de trabajo fueron forradas con papel absorbente. Todo el material (*e.g.* guantes, papel absorbente, puntas desechables, material de vidrio) empleado fue apropiadamente descontaminado por inmersión (durante 24 h) utilizando una solución de hipoclorito de sodio (10%), y posteriormente lavado bajo procedimientos convencionales con abundante agua (FSSAI, 2011).

### 5.5.2 Desarrollo de la Técnica

El procedimiento se realizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante como se indica a continuación. Se colocaron suficientes micropozos sobre el marco portamicropozos, a continuación se adicionaron 100  $\mu\text{L}$  de anticuerpo anti-aflatoxina a cada micrococo, después se agitó y mezcló suavemente la placa en forma manual y se incubó por 15 min a temperatura ambiente (20-25 °C) en oscuridad. Una vez transcurrido el periodo de incubación, se aseguró la eliminación por completo de los líquidos de los micropozos realizando tres lavados con 250  $\mu\text{L}$  de agua destilada. Después, estratégicamente fueron depositados 100  $\mu\text{L}$  de los respectivos estándares y de las muestras por duplicado en los micropozos, seguido de una incubación por 30 min a temperatura ambiente (20-25 °C) en oscuridad. Por segunda vez, se realizaron tres lavados con 250  $\mu\text{L}$  de agua destilada. Posteriormente, se añadieron 100  $\mu\text{L}$  del conjugado aflatoxina-enzima a los micropozos correspondientes y se incubó por 15 min a temperatura ambiente (20-25 °C) en oscuridad. Por tercera ocasión, se realizaron los lavados correspondientes como se mencionó anteriormente. Inmediatamente después de los lavados, se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de la sustancia cromógena a cada micropozo. Se mezcló suavemente la placa en forma manual y se incubó por 15 min a temperatura ambiente (20-25 °C) en oscuridad. Finalmente, se adicionaron 100  $\mu\text{L}$  de solución de frenado (stop solution) a cada micropozo, se mezcló suavemente el contenido de la microplaca y se determinó la absorbancia (450 nm) empleando un lector de micro-placas Dynex Opsys MR (Dynex Technologies, Virginia, EE. UU.) en un periodo no mayor a 15 min. La evaluación y análisis de resultados se realizó empleando el software Rida®Soft Win Fast Aflatoxin (r-Biopharm AG, Darmstadt, Alemania) con ayuda de una curva estándar de AFM<sub>1</sub> de seis puntos (0, 0.005, 0.01, 0.02 0.04 y 0.08  $\mu\text{g/L}$ ).

## 5.6 Análisis Estadístico

Para analizar los datos de los niveles de AFM<sub>1</sub> determinados en los distintos meses de estudio, se realizó un diseño completamente al azar de análisis de varianza (ANOVA de una vía). En caso de encontrar diferencias significativas, las medias fueron comparadas por la prueba de Tukey-Kramer. Los niveles de contaminación de AFM<sub>1</sub> determinados fueron comparados con los Límites Máximos Permisibles estipulados por la Administración de Alimentos y Drogas de EE.UU (FDA, por sus siglas en inglés), la Norma Oficial Mexicana (NOM-184-SSA1), y la legislación de la Unión Europea (165/2010), para leche procesada de consumo humano. También se compararon con los límites máximos permisibles para fórmulas infantiles establecidos por la legislación de la Unión Europea y la legislación Suiza.

Asimismo, la información básica de las participantes se analizó mediante estadística descriptiva, obteniendo gráficas y tablas de los datos más representativos. Tanto la información básica y los resultados de los cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos fueron considerados como variables independientes para la elaboración de modelo de regresión lineal múltiple, y así buscar la asociación de estos con la presencia de Aflatoxina M<sub>1</sub> en la leche materna.

Todas las determinaciones se realizaron por duplicado y los datos fueron analizados a una  $p < 0.05$ , utilizando el paquete estadístico NCSS, 2007 (NCSS LLC, Kaysville, UT, EE. UU.).

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Información Básica de la Población Participante

La información general de las participantes se presenta en la Tabla 8. La edad de las madres osciló en un rango de 18-38 años con un periodo de lactancia entre 2 y 90 días. El peso y estatura promedio de las participantes fue de 72.6 Kg y 1.64 m, respectivamente. Por otra parte, todas las participantes cumplieron con los criterios establecidos para el estudio (apartado 5.1), evitando así cualquier interferencia con la determinación y cuantificación de la AFM<sub>1</sub>. Los datos colectados evidenciaron que la mayoría (90%) de las participantes desempeñan trabajo domésticos, mientras que el resto (10%) son estudiantes de nivel medio superior y superior. El 87% de las participantes presentó un nivel máximo de estudio de primaria y secundaria, y el 13% de nivel medio superior.

Trabajos previos han evidenciado que el nivel de educación y el nivel de ocupación son factores que podrían relacionarse significativamente con la presencia de AFM<sub>1</sub> en la leche materna (Polychronaki *et al.*, 2006; Adejumo *et al.*, 2013). Un bajo nivel educativo puede limitar las oportunidades laborales con una remuneración adecuada, incidiendo así sobre el poder adquisitivo de las personas. Como consecuencia, la población de menores ingresos enfrenta restricciones importantes para acceder a alimentos tanto en cantidad como en calidad nutrimental (FAO, 1996).

Una característica de los consumidores mexicanos, en especial en la compra de alimentos, es que sus decisiones de compra están basadas, principalmente, en el precio del producto, mientras que el adecuado etiquetado de los alimentos, que debe contener información sobre la calidad, cualidades nutricionales, pesos y medidas, sanidad e inocuidad, entre otras, generalmente no son tomadas en cuenta al momento de la compra. Lo anterior se profundiza con el limitado uso de estándares de calidad a lo largo de la cadena de suministro (SAGARPA, 2010).

**Tabla 8.** Características generales de la población de estudio

Estado de salud	Sano
Edad (años)	25.46 ± 4.388
Peso (Kg)	72.63 ± 6.634
Estatura (m)	1.64 ± 0.053
Nivel máximo de estudio	87% nivel básico 13% nivel medio superior
Ocupación	90% trabajo doméstico
Periodo de lactancia	2-90 días

## 6.2 Cuantificación de Aflatoxina M<sub>1</sub> en Leche Materna

La aflatoxina M<sub>1</sub> se detectó en 106 de las 112 muestras analizadas, lo que corresponde una incidencia del 95%. Por otra parte, los niveles de contaminación encontrados fueron desde 0.00127 hasta 0.0342 µg AFM<sub>1</sub>/L.

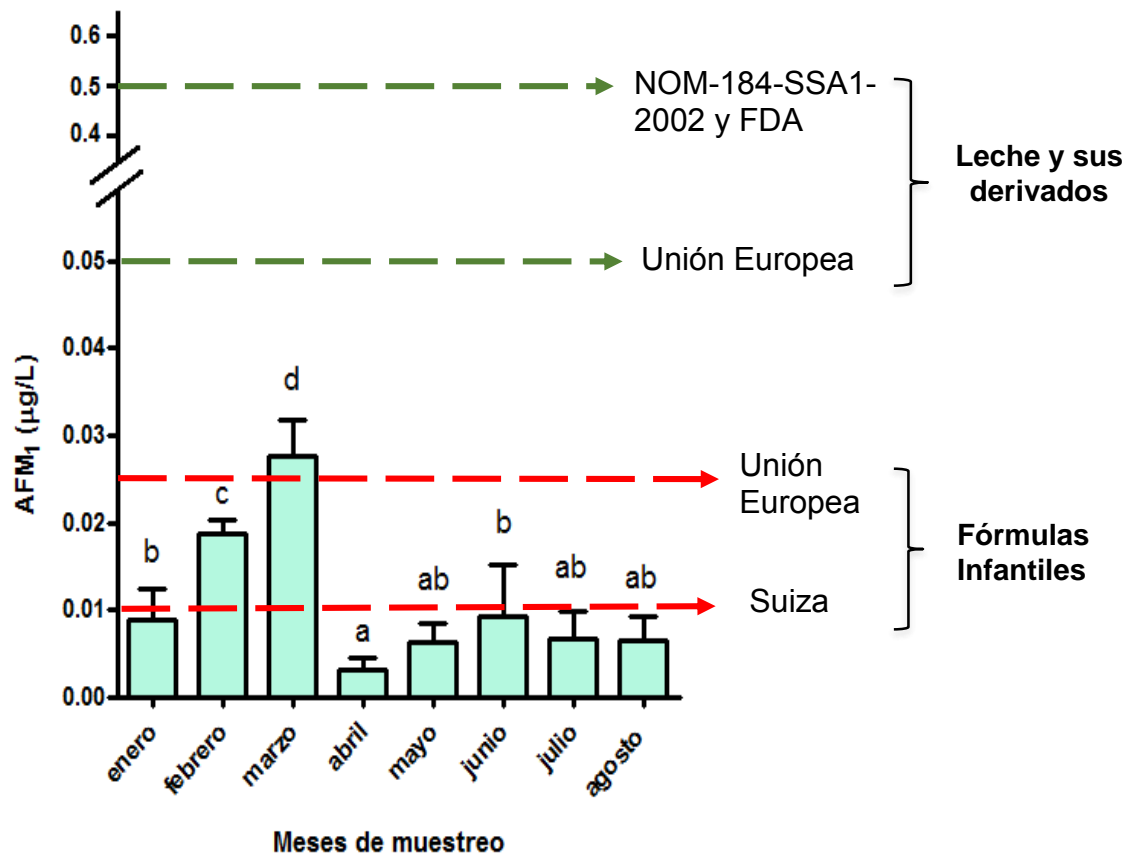
Los porcentajes de incidencia y niveles de contaminación determinados en este estudio fueron similares a los reportados en otros trabajos en diferentes países como: Gambia y África Occidental (Zarba *et al.*, 1992), Emiratos Árabes Unidos (Abdulrazzaq *et al.*, 2003), Irán (Sedeghi *et al.*, 2009) y Turquía (Gurbay *et al.*, 2010); donde se han reportado porcentajes de incidencia del 91-100% con concentraciones de AFM<sub>1</sub> en los rangos de 0.0021-0.0092, 0.053-3.4, 0.0003-0.0267 y 0.0609-0.299 µg AFM<sub>1</sub>/L, respectivamente. En contraste, estos valores fueron superiores a los reportados en otros estudios realizados en Tailandia (El-Nezami *et al.*, 1995), Nigeria (Atanda *et al.*, 2007) y Sudan (Elzupir *et al.*, 2012), donde se reportaron porcentajes de incidencia de 45, 17.9 y 54.3%, con niveles de 0.039-1.736, 4.0 y 0.401-0.525 µg AFM<sub>1</sub>/L, respectivamente.

### **6.2.1 Cuantificación de Aflatoxina M<sub>1</sub> por Mes**

El periodo de recolección de las muestras de leche se llevó a cabo durante 8 meses, de enero a agosto, lo que abarcó diferentes estaciones del año, a saber invierno, primavera y verano. Las muestras recolectadas en los meses de enero a marzo (invierno) fueron diferentes significativamente ( $p < 0.05$ ) entre sí, observándose tendencias de incremento (Figura 5). Este mismo comportamiento fue observado para las muestras recolectadas durante los meses de abril a junio (primavera). Particularmente, en el mes de marzo se presentaron los niveles más elevados de contaminación con un promedio de 0.027 µg AFM<sub>1</sub>/L, siendo éste el promedio más alto en el estudio, mientras que el promedio más bajo (0.0031 µg AFM<sub>1</sub>/L) se registró en el mes de abril.

De esta manera, los niveles de AFM<sub>1</sub> determinados en las muestras recolectadas en la época de invierno (0.00754-0.03424 µg/L) fueron significativamente superiores y diferentes ( $p < 0.05$ ) a aquellas recolectadas en la época de primavera (0.00145-0.0189 µg/L) e incluso verano (0.00127-0.0156 µg/L). Cabe señalar que los niveles de contaminación registrados en

los meses que comprenden estas dos últimas estaciones fueron significativamente iguales ( $p < 0.05$ ).



**Figura 5.** Niveles de contaminación de AFM<sub>1</sub> en la muestras de leche materna estudiadas por mes (Media ± DS). Letras diferentes entre meses indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

En estudios realizados por Lamplugh *et al.* (1988) y Maxwell (1998), se ha reportado que la concentración de aflatoxina M<sub>1</sub> en leche materna puede variar dependiendo de la época del año. De modo similar, en un estudio realizado en un banco de leche materna en Sao Pablo, Brasil, se reportó que de 50 muestras examinadas solo el 2% presentó contaminación con niveles de 0.02 µg/L, las cuales correspondieron a los meses de invierno (Navas *et al.*, 2005).



La tendencia en los niveles de AFM<sub>1</sub> registrados en los diferentes periodos del presente estudio, pueden estar relacionadas con el consumo de ciertos alimentos susceptibles a la contaminación por hongos aflatoxigénicos dependiendo de la estación del año. La influencia de factores ambientales, como humedad del sustrato y temperatura ambiente, hacen que la toxina aparezca en los alimentos susceptibles en los períodos fríos en los que hay oscilación de la temperatura (e.g. entre otoño e invierno). Cuando los índices de humedad son adecuados, el hongo crece abundantemente en la semana de calor y en la semana siguiente, cuando disminuye la temperatura, comienza a sintetizar la toxina, contaminando así el alimento (Christensen, 1987; Villalobos *et al.*, 2001; Novoa & Díaz, 2006). Además el uso de materiales inadecuados durante el secado (e.g., lámina, plástico, madera) pueden generar las condiciones adecuadas de desarrollo de los hongos aflatoxigénicos. Pudiendo así, incrementar considerablemente la acumulación de AFs durante el almacenamiento de los alimentos y por lo tanto, las probabilidades de exposición dietaria (Polychronaki *et al.*, 2007).

Por otra parte, estudios realizados en diferentes partes de México, han evidenciado la potencial exposición de la población a la AFM<sub>1</sub> a través de la leche de vaca y sus derivados durante diferentes estaciones del año. En Hermosillo Sonora, México, Cantú (2012) reportó que la concentración (0.616 µg AFM<sub>1</sub>/L) de AFM<sub>1</sub> en muestras de leche UHT analizadas en invierno fue significativamente superior ( $p < 0.05$ ) a la registrada en verano (0.380 µg AFM<sub>1</sub>/L). De forma similar, Rojas *et al.* (2013) informaron que la incidencia de AFM<sub>1</sub> en leche cruda obtenidas en verano fue de 3%, mientras que invierno encontraron una incidencia de 9%. En un estudio realizado por Asi *et al.* (2012) se analizaron un total de 356 muestras de leche de vaca, búfalos, cabras, ovejas y camellos. Los resultados de dicho trabajo evidenciaron que los niveles de detección de AFM<sub>1</sub> en la leche de estas especies fue mayor en invierno comparado con verano, en caso particular de la leche de vaca se observó una contaminación de 0.089 µg/L en invierno y 0.022 µg/L en verano, además

concluyeron que la concentración de AFM<sub>1</sub> en búfalos y vacas, que son alimentados principalmente con granos compuestos, fue mayor que en aquellas que son alimentadas con pastos verdes frescos.

En este sentido, se ha sugerido que el mayor nivel de contaminación por AFM<sub>1</sub> en invierno se debe principalmente por el tipo de alimento disponible para los animales productores en este periodo. Particularmente en verano, la mayoría de los ganaderos utilizan granos compuestos frescos, pastos, hierbas y forraje verde. Pero debido a la escasez de estos alimentos en invierno, tienden a sustituirlo con alimentos concentrado a base de maíz, semilla de algodón, trigo y derivados, entre otros, que fueron almacenados por largos periodos de tiempo y posiblemente están contaminados con AFs y en consecuencia aparece la AFM<sub>1</sub> en la leche (Asi *et al.*, 2012; Zafar *et al.*, 2013).

Por otro lado, al comparar los resultados obtenidos en este estudio con los límites máximos establecidos por la FDA, la NOM-184-SSA1-2002 (0.5 µg AFM<sub>1</sub>/L) y por la Unión Europea (0.05 µg AFM<sub>1</sub>/L) para leche y sus derivados (Figura 2), se determinó que a lo largo del estudio todas las muestras se encontraron por debajo estos límites. Sin embargo, considerando los límites máximos especificados por la Unión Europea y la legislación Suiza (0.025 y 0.01 µg AFM<sub>1</sub>/L, respectivamente) para fórmulas infantiles, se encontró que el 5% de las muestras estudiadas superó los límites establecidos por la Unión Europea, mientras que el 28% de las muestras superaron los límites establecidos por la legislación Suiza (Figura 5). Considerando el límite estipulado por la Unión Europea, en el mes de marzo se presentó una incidencia de 60%, mientras que considerando la legislación Suiza, la incidencia de AFM<sub>1</sub> fue del 100%, en los meses de febrero y marzo (Tabla 9).

**Tabla 9.** Porcentaje de muestras positivas por mes considerando la legislación de la Comunidad Europea y Suiza

Mes	Muestras positivas (%)	
	Regulación Suiza	Unión Europea
enero	16	0
febrero	100	0
marzo	100	60
abril	0	0
mayo	0	0
junio	40	0
julio	20	0
agosto	0	0

Los hallazgos del presente estudio concuerdan con lo reportado por El-Nezami *et al.* (1995), quienes estudiaron un total de 73 muestras colectadas en diferentes periodos y concluyeron que los niveles de AFM<sub>1</sub> detectados en los meses de invierno (0.159 µg/L) fueron significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) con lo encontrado durante los meses de verano (0.062 µg/L).

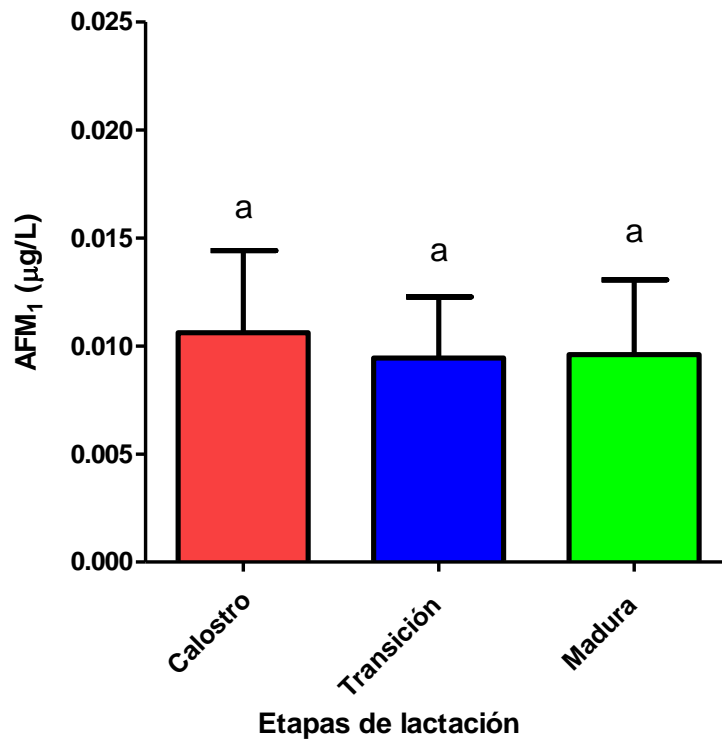
En contraste, Polychronaki *et al.* (2007), dieron seguimiento durante un año a 50 madres lactantes en Egipto. Los resultados mostraron una tendencia de incremento de concentración de ésta micotoxina a partir del mes de enero hasta julio. Además el promedio más alto de AFM<sub>1</sub> se detectó en el mes de

julio (0.064 µg/L) y el más bajo en enero (0.008 µg AFM<sub>1</sub>/L). Las tasas de detección siguieron el mismo patrón, observando las más altas durante los meses de verano, específicamente en junio (96%), y el más bajo en febrero (16%). De igual manera, en el estudio efectuado por Lamplugh *et al.* (1988) se observó que la incidencia de AFM<sub>1</sub> en los meses de verano fue mayor (41%) con respecto a detectada en los meses de invierno (28%).

### **6.2.2 Cuantificación de AFM<sub>1</sub> por Etapas de Lactación**

Los resultados de las muestras estudiadas, de acuerdo la etapa de lactación, mostraron niveles de contaminación en un rango de 0.00145 a 0.02725 µg AFM<sub>1</sub>/L para calostro, 0.00127 a 0.03027 µg AFM<sub>1</sub>/L para transición y 0.00176 a 0.0342 µg AFM<sub>1</sub>/L para leche madura. Cabe resaltar que aunque no se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) entre las muestras según la etapa de lactación (Figura 6), el calostro mostró la concentración promedio más alta (0.01061 µg AFM<sub>1</sub>/L). Estos datos concuerdan con los hallazgos reportados por Polychronaki *et al.* (2006) quienes reportaron que la incidencia (58%) de AFM<sub>1</sub> en calostro fue significativamente mayor ( $p < 0.05$ ) que la presente en leche de transición.

Estudios relacionados con otros tipos de contaminantes en leche materna, específicamente organoclorados, han reportado niveles de contaminación superiores en calostro (0.174 µg/L) que en la leche madura (0.0157 µg/L) (Yu *et al.*, 2007). En ese mismo sentido, Waliszewski *et al.* (2001) efectuaron un estudio con 60 madres, tomando muestras en los primeros días de la lactancia y treinta días después del parto, en conclusión el contenido de compuestos organoclorados se redujo significativamente hasta 36% de calostro a la leche madura.



**Figura 6.** Concentración de AFM<sub>1</sub> en las muestras de leche materna por etapas de lactación (Media ± DS). Letras diferentes entre etapas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

Considerando que la AFM<sub>1</sub> presenta alta afinidad hacia las proteínas (Lawrence, 1999; Polychronaki *et al.*, 2006), es posible que los mayores niveles de AFM<sub>1</sub> en calostro se deban al alto contenido de proteínas en relación a la presente en la leche madura (Sabillón & Abdu, 1997). Los componentes de la leche materna pueden variar considerablemente dependiendo del periodo de lactación y es posible que los cambios en el contenido total de proteínas y grasas jueguen un papel importante en términos de acumulación y movilización de AFs y otros compuestos xenobióticos (Calero, 2011).

### 6.3 Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos

De acuerdo a la información obtenida a partir de los cuestionarios de frecuencia de consumo, se estimó que la ingesta de alimentos se presentó en un rango de 10-3633 g durante todo el periodo experimental. Siendo cereales, lácteos, carnes y otros los grupos de alimentos de mayor consumo con un promedio de 234.2, 243.9, 195.2 y 396.3 g/semanas, respectivamente (Figura 7). De forma general, se observó un mayor consumo de los principales grupos de alimentos durante la época de invierno (296.4 g/semanas) comparado con lo consumido en primavera (251.3 g/semanas) y verano (254.5 g/semanas). El promedio de consumo de los alimentos clasificados dentro de los grupos de oleaginosas y frutas secas fueron los más bajos encontrados en distintos periodos, 12.17 y 2.76 g/semana, respectivamente.

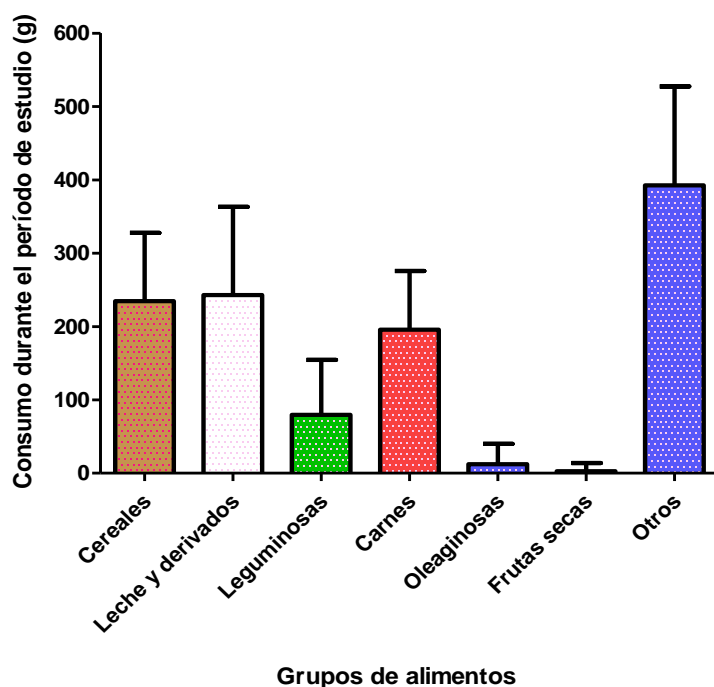
Dentro del grupo de cereales, los principales alimentos más consumidos fueron tortilla de maíz, pasta, arroz, pan y cereal de caja; para el caso de los productos lácteos fueron leche, yogurt, crema y queso, para el grupo de carnes fueron huevo, pollo, res, cerdo y embutidos; mientras que para el grupo de otros fueron refresco de cola, café, aceite de girasol, cerveza y aceite de maíz. Los porcentajes de consumo para estos alimentos variaron dependiendo de la época del año (Tabla 10).

Estudios han evidenciado que el consumo de alimentos está condicionado por diferentes factores entre los que se encuentran la estacionalidad y los días de la semana (Basiotis *et al.*, 1989). En los países desarrollados la estación del año tiene relativamente poca influencia en la variación en la ingesta de alimentos; sin embargo, en los países subdesarrollados la influencia estacional es mucho mayor (Willet *et al.*, 1987). La variabilidad de los resultados en función de la estacionalidad en este trabajo coinciden con los resultados presentados en un estudio de la ingesta dietética durante un año realizado por Piwoz *et al.* (1994) y Bacardí *et al.* (1997) donde se encontró que el promedio

de la ingesta de energía varía significativamente de acuerdo a la estación del año, siendo diferentes las ingestas en invierno y verano con respecto a aquellas en otoño y primavera.

**Tabla 10.** Porcentaje de consumo de los principales alimentos en diferentes épocas de estudio

	Alimento consumido (%)		
	Invierno	Primavera	Verano
Cereales	Tortilla de maíz (18.0)	Tortilla de maíz (15.5)	Tortilla de maíz (14.0)
	Pasta (9.0)	Pasta (5.0)	Pasta (5.5)
	Arroz (7.0)	Arroz (4.0)	Arroz (4.0)
	Pan (4.0)	Pan (3.5)	Pan (3.20)
	Cereal (2.5)	Galletas (2.0)	Galletas (2.6)
Leche y productos lácteos	Leche (25.3)	Leche (21.0)	Leche (23.30)
	Yogurt (4.3)	Yogurt (9.3)	Yogurt (6.0)
	Crema (2.3)	Queso (1.87)	Crema (2.0)
	Queso (1.50)	Crema (1.27)	Queso (1.65)
Carnes	Huevo (14.0)	Huevo (12.0)	Huevo (11.0)
	Pollo (8.2)	Pollo (9.0)	Pollo (8.2)
	Res (5.3)	Res (4.50)	Embutidos (6.5)
	Cerdo (4.7)	Embutidos (3.7)	Cerdo (4.0)
	Embutidos (3.1)	Cerdo (3.0)	Res (2.5)
Otros	Refresco de cola (23.0)	Refresco de cola (13.0)	Refresco de cola (16.0)
	Café (13.10)	Café (12.0)	Café (14.8)
	Aceite de girasol (1.8)	Aceite de girasol (1.3)	Manteca vegetal (1.4)
	Cerveza (0.6)	Cerveza (0.4)	Aceite de girasol (1.1)
	Aceite de maíz (0.5)	Aceite de maíz (0.3)	Aceite de maíz (0.6)



**Figura 7.** Grupos de alimentos consumidos durante el periodo de estudio

#### 6.4 Regresión Lineal Múltiple

Las muestras de leche materna que superaron los límites máximos permitidos por la Unión Europea y la Legislación Suiza para fórmulas infantiles, fueron consideradas para establecer la relación entre los niveles AFM<sub>1</sub> determinados y la ingesta de los alimentos por parte las madres donadoras, para ello se construyó un modelo matemático utilizando la rutina de selección de variables conocida como “todas las combinaciones posibles”. De esta forma, se seleccionó el mejor modelo matemático de 13 variables independientes, basándose en la R<sup>2</sup>, cuadrados medios del error y el criterio de mallow. La ecuación del modelo de regresión lineal múltiple estimado fue:

$$AFM_1 = 0.0345 - 0.0004^* \text{Café} - 0.0022^* \text{Carne de cerdo} - 0.0029^* \text{Cereal} + 0.0007^* \text{Refresco de cola} - 0.0011^* \text{Crema de leche} - 0.0011^* \text{Frijoles} + 0.0014^*$$



Aceite de girasol - 0.0023\* Tortillas de maíz - 0.0013\* Pan + 0.0010\* Pasta + 0.0009\* Pollo + 0.0014\* Queso - 0.0016\* Yogurt

El modelo estimado cumplió con los supuestos de normalidad, linealidad y homocedasticidad. El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) del modelo fue de 0.8018, lo cual significó que el 80.18% de los niveles de AFM<sub>1</sub> fueron explicados por las variables independientes incluidas en el modelo. Asimismo, el modelo fue significativo con una probabilidad de 0.0005. Por el contrario, la información general de las participantes tales como peso-estatura, nivel de estudio-nivel socioeconómico, y edad de las participantes no se correlacionaron con los niveles de AFM<sub>1</sub> determinados. Posiblemente, porque el incremento de estas variables como edad, peso y estatura de las madres donadoras no reflejó un incremento en la concentración final de AFM<sub>1</sub>, es decir a más edad y/o peso no correspondió mayor nivel de AFM<sub>1</sub>. Además, la mayoría de las participantes incluidas en el estudio pertenece al mismo estatus socioeconómico y presentan el mismo nivel educativo, lo que dificulta una diferenciación entre estas características y al mismo tiempo entre los niveles de AFM<sub>1</sub> determinado.

Por otra parte, la regresión lineal múltiple demostró que los alimentos más importantes que podrían determinar la presencia de AFM<sub>1</sub> en leche materna fueron: café, carne de cerdo, cereal, refresco de cola, crema, frijoles, aceite de girasol, tortillas de maíz, pan, pasta, pollo, queso y yogurt (Tabla 11). Siendo estos alimentos algunos de los más consumidos por las donadoras (apartado 6.2.3), lo cual explicaría, cuando menos de forma parcial, la tendencia en los niveles de aflatoxina M<sub>1</sub> en los diferentes meses y/o estaciones del año.

**Tabla 11.** Alimentos que podrían determinar la presencia de AFM<sub>1</sub> en leche materna (regresión lineal múltiple)

Covariable	Coefficiente	Probabilidad
Café	-0.0004	0.2243
Carne de cerdo	-0.0022	0.0382*
Cereal	-0.0029	0.0076*
Refresco de cola	0.0007	0.0799
Crema	-0.0011	0.1252
Frijoles	-0.0011	0.1025
Aceite de girasol	0.0014	0.0003*
Tortillas de maíz	-0.0023	0.0188*
Pan	-0.0013	0.0196*
Pasta	0.0010	0.1870
Pollo	0.0009	0.1299
Queso	0.0014	0.1182
Yogurt	-0.0016	0.0296*

\*Covariables significativos ( $p < 0.05$ )

La relación de los granos, cereales, tortillas de maíz, frijoles y derivados del trigo con el contenido de AFM<sub>1</sub> en este líquido biológico, es justificable ya que en gran medida estos alimentos son uno de los sustratos más susceptibles a la contaminación fúngica en el campo desde la semilla hasta el periodo post-cosecha, transporte y almacenamiento (García & Heredia, 2006; Castillo-Urueta *et al.*, 2011). Principalmente, porque existen condiciones ineficientes de manejo y almacenamiento, donde los parámetros de temperatura,

humedad, viento, entre otros, son favorables para el desarrollo de los hongos aflatoxigénicos. Adicionalmente, por la capacidad de los hongos para crecer en un amplio rango de temperatura que va desde 5 a 55 °C con una temperatura óptima de 36 a 38 °C, y la producción óptima de AFs de 25 a 35 °C (Carvajal, 2013).

De igual forma, los distintos subproductos hechos a base de granos son susceptibles a presentar concentraciones variables de AFs. Se asume que la presencia de estos compuestos tóxicos, es posible en los productos finales, tales como café, refresco de cola, y aceite. Principalmente, por las características fisicoquímicas de las AFs, ya que son estables a cualquier proceso tecnológico, incluyendo aquellos que emplean temperaturas superiores a los 200 °C.

Además, la alta solubilidad de las AFs en solventes orgánicos, empleados en la obtención extractos para la fabricación de bebidas carbonatadas, como el refresco de cola, aumenta la posibilidad de contaminación en estos productos. En este respecto, Moreno *et al.* (2005) cuantificaron los niveles de aflatoxinas en una marca de refresco de cola comercializada en México. Los resultados mostraron que el refresco de cola es un producto con alta susceptibilidad a contaminarse con AFs, ya que se encontraron niveles de contaminación de 1 µg AFs/L, los cuales supera 2 veces los límites establecidos por la Norma Oficial Mexicana para leche de consumo humano, y 20 veces la norma Europea.

Por otro lado, se ha demostrado que las AFs al ser moléculas lipofílicas, son extraídas con facilidad de granos y cereales durante el proceso de extracción de grasas y aceites. En este respecto, el Departamento de Higiene Ambiental y Alimentos de Hong Kong, emitió un informe enfatizando que las grasas y aceites al tratarse de productos concentrados y lipofílicos, son unos de los grupos más susceptibles a contaminación por las AFs, ocupando así el 46%

de susceptibilidad, mientras que cereales y subproducto se ubicaron por debajo del 20% (FEHD, 2001).

Adicionalmente, diversos estudios (Carvajal *et al.*, 2003; Sandoval, 2003; Pérez *et al.*, 2008; Hernández-Mendoza, 2008; Cantú, 2012; Gutiérrez *et al.*, 2013), han puesto de manifiesto la susceptibilidad de estos alimentos de consumo habitual en México para ser potencialmente contaminados con AFB<sub>1</sub> y/o AFM<sub>1</sub>.

Investigaciones similares al presente estudio han demostrado que los cereales (arroz y maíz) y subproductos, leche, cacahuates y otros (aceite y café) han sido relacionados de manera significativa con la concentración de AFM<sub>1</sub> en la leche materna (Turconi *et al.*, 2004; Polychronaki *et al.*, 2007; Sedeghi *et al.*, 2009; Mahdavi *et al.*, 2010). Aunque los alimentos citados por los diversos reportes coinciden con los de este estudio de investigación, es evidente que en nuestro trabajo la concentración de AFM<sub>1</sub> se logró correlacionar con más grupos de alimentos, pudiendo deberse estos resultados a la alta ingesta de los granos, cereales y subproductos por parte la población mexicana, además de la duración del estudio y los niveles de AFM<sub>1</sub> encontrados.

## VII. CONCLUSIÓN

En este estudio se determinó y se cuantificó la presencia de AFM<sub>1</sub> en la leche materna, encontrando una incidencia de 95%, y un nivel promedio de contaminación de 0.00986 µg AFM<sub>1</sub>/L. Ninguna de las muestras evaluadas superó los niveles máximos permitidos por las agencias nacionales e internacionales para leche y derivados de consumo humano. Sin embargo el 5% de las muestras superó los límites máximos establecidos por la Unión Europea para formulas infantiles, mientras que 28% sobrepaso los límites determinados por la legislación Suiza.

La presencia de AFM<sub>1</sub> fue dependiente del mes de muestro, observándose los mayores niveles de contaminación en invierno, lo cual sugiere un mayor consumo de alimentos contaminados con aflatoxinas B<sub>1</sub> y/o M<sub>1</sub> durante esta época del año. Los niveles de AFM<sub>1</sub> en las muestras de calostro, leche de transición y leche madura fueron lineales, lo cual demostró que no existen diferencias según la etapa de lactación. Alimentos como carne de cerdo, cereal, aceite de girasol, tortillas de maíz, pan y yogurt podrían ser aquellos factores principales que influyen sobre la presencia de AFM<sub>1</sub> en la leche materna. Por otra parte el peso-estatura, nivel de estudio-nivel socioeconómico y edad no se correlacionaron con los niveles de AFM<sub>1</sub> determinados.

Estos hallazgos, revelan el riesgo latente de exposición de los lactantes a la Aflatoxina M<sub>1</sub>, por lo tanto, se hace evidencia la necesidad de continuar con más estudios al respecto que permitan conocer la variabilidad de los niveles de contaminación en diferentes regiones y épocas del año, y finalmente estudiar los posibles efectos en la salud por la exposición de los infantes a la AFM<sub>1</sub> a través de la leche materna.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarca M.L., Bragulat M.R., Castellá G., Accensi F., Cabañes F.J. 2000. Hongos productores de micotoxinas emergentes. *Revista Iberoamericana de Micología*. 17:563-568.
- Abdulrazzaq Y.M., Osman N., Yousif Z.M., Al-Falahi S. 2003. Aflatoxin M<sub>1</sub> in breast-milk of UAE women. *Annals of Tropical Pediatrics*. 23(3):173-179.
- Adejumo O., Atanda O., Raiola A., Somorin Y., Bandyopadhyay R., Ritieni A. 2013. Correlation between aflatoxin M<sub>1</sub> content of breast milk, dietary exposure to aflatoxin B<sub>1</sub> and socioeconomic status of lactating mothers in Ogun State, Nigeria. *Food and Chemical Toxicology*. 56:171–177.
- Afshar P., Shokrzadeh M., Kalhori S., Babe Z., Saeedi Saravi S.S. 2013. Occurrence of Ochratoxin A and Aflatoxin M<sub>1</sub> in human breast milk in Sari, Iran. *Food Control*. 31(2):525-529.
- Antón A., & Lizaso J. 2001. Hongos y micotoxinas. *Fundación ibérica para la seguridad alimentaria*. 312:14-21.
- Apeageyi F., Lamplugh S.M., Hendrickse R.G., Afframy K., Lucas S. 1982. Aflatoxins in the liver of children with kwashiorkor in Ghana. *Tropical & Geographical Medicine*. 9-12.
- Asi M.R., Iqbal S.Z., Ariño A., Hussain A. 2012. Effect of seasonal variations and lactation times on aflatoxin M<sub>1</sub> contamination in milk of different species from Punjab, Pakistan. *Food Control*. 25:34-38.
- Atanda O., Oguntubo A., Adejumo O., Ikeorah J., Akpan I. 2007. Aflatoxin M<sub>1</sub> contamination of milk and ice cream in Abeokuta and Odeda local governments of Ogun State, Nigeria. *Chemosphere*. 68(8):1455-1458.

- Aydin A., Aksu H., Gunsen U. 2011. Mycotoxin levels and incidence of mould in Turkish rice. *Environmental Monitoring and Assessment*. 178(4): 271-280.
- Bacardí M., Segura C., Jiménez A. 1997. Inter and intra individual variability of elderly using a dietary registry in Mexico. IFT Annual Meeting and Food Expo. Orlando, Florida, U.S.A.
- Bañuelos M.T.Á., Moreno M.C., Peón N.R., Rojo F. 2000. Aductos-ADN-Aflatoxina como biomarcadores de exposición en grupos de riesgo de cáncer de hígado. *Revista Cubana Oncología*. 16(1):35-39.
- Basiotis P.P., Thomas R.G., Kelsay J.L., Mertz W. 1989. Sources of variation in energy intake by men and women as determined from one year's daily dietary records. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 50:448-453.
- Bennett J., & Klich M. 2003. Mycotoxins *Clinical Microbiology*. 16:497-516.
- Biendl M. 2004. Actividad anticancerígenas: un nuevo aspecto de las sustancias contenidas en el lúpulo. *Orverde*. 2.
- Bogantes-Ledezma P., Bogantes-Ledezma D., Bogantes-Ledezma S. 2004. aflatoxinas. *Acta Médica Costarricense*. 46:174-178.
- Busby W.F, & Wogan G.N. 1981. Aflatoxins. En *Mycotoxins in foodstuffs. Proceedings of MIT Symposium*. Ed. G. H. Wogan. March 18-19, MIT Press Cambridge. 175-186.
- Calero A.E.J. 2011. Estudio de las relaciones entre pesticidas organoclorados, ácidos grasos poliinsaturados y antioxidantes no enzimáticos presentes en la leche humana. Editorial de la Universidad de Granada.
- Cantú C.F. 2012. Estudio de la incidencia de aflatoxina M<sub>1</sub> en leche para consumo humano en el Estado de Sonora. Tesis de licenciatura, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.
- Carvajal M. 2013. Transformación de la aflatoxina B<sub>1</sub> de alimentos, en el cancerígeno humano, aducto AFB<sub>1</sub>-ADN. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 16(2):109-120.



- Carvajal M., Bolaños A., Rojo F., Méndez I. 2003. Aflatoxin M<sub>1</sub> in pasteurized and ultrapasteurized milk with different fat content in Mexico. *Journal Food Protection*. 66:1885-92.
- Castillo-Urueta P., Carvajal M., Méndez I., Meza F., Gálvez A. 2011. Survey of aflatoxins in maize tortillas from Mexico City. *Food Additives & Contaminants*. 4(1):42-51.
- Christensen C.M. 1987. *Food and Beverage Mycology* 2. Ed. New York: Van Nostrand Reinhold. 23-134.
- Chu E. 1991. Mycotoxins: food contamination, mechanism, carcinogenic potential and preventive measures. *Mutation Research*. 259:291-306.
- Cruz-Sánchez S., Espinosa-Plascencia E.M., Vázquez-Moreno A., Grijalva-Haro L., Bermúdez-Almada M.I. 2002. Determinación de aflatoxinas en alimentos de consumo infantil. Disponible en: <http://www.ciad.mx/boletin/mar-abr-03/resumen3.pdf>. Consultado el 23.01.14.
- Denli M., & Pérez J.F. 2006. Contaminación por micotoxinas en los piensos: efectos, tratamiento y prevención. XXII Curso de Especialización. FEDNA. 1-18.
- El-Nezami H.S., Nicoletti G., Neal G.E., Donohue D.C., Ahokas J.T. 1995. Aflatoxin M<sub>1</sub> in human breast milk samples from Victoria, Australia and Thailand. *Food Chemical Toxicology*. 33(3): 173-179.
- Elzupir A.O., Abas A.A., Fadul M.H., Modwi A.K., Ali N.M., Jadian A.F., Ahmed N. A., Adam S.Y., Ahmed N.A., Khairy E.A. 2012. Aflatoxin M<sub>1</sub> in breast milk of nursing Sudanese mothers. *Mycotoxin Research*. 28(2):131-134.
- Espinosa E.T., Askar K.A., Naccha Torres L.R., Olvera R.M., Santa Anna J.P.C. 1995. Quantification of aflatoxins in corn distributed in the city of Monterrey, Mexico. *Food Additives & Contaminants* 12(3):383-386.
- FAO. 1996, Alimentos para el consumidor: comercialización, elaboración y distribución. Cumbre Mundial Sobre la Alimentación. 13-17 de Noviembre, Roma Italia. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/003/w2612s/w2612s08.htm#BM6>. Consultado el: 18.08.2014.

- FAO. 2004. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003. Estudio FAO Alimentación y Nutrición. N° 81. Disponible en: <http://www.fao.org/3/contents/70abfa45-43cf-531c-93f8-80854c60c41b/y5499s07.htm#bm07.4.1>. Consultado el: 13.08.2014.
- FEHD. 2001. Food and Enviromental Hygiene Deparment, Hong Kong. Disponible en <http://www.fehd.gov.hk/english/publications/text/anual/2001/annual2001.html>. Consultado el. 08.02.2014.
- Filazi A., & Sireli U.T. 2013. Occurrence of Aflatoxins in Food. Ed. Mehdi Razzaghi-Abyaneh Aflatoxins-Recent Advances and Future Prospects, InTech. 143-170.
- FSSAI, Food Safety Standards Authority of India. 2011. Food Safety and Standards (contaminants, toxins and residues) regulations. Disponible en: <http://www.fssai.gov.in>. Consultado el. 10.08.2014.
- Fu Z., Huang X., Mina S. 2008. Rapid determination of aflatoxins in corn and peanuts. Journal of Chromatography A. 1209:271-274.
- García S., & Heredia N. 2006. Mycotoxins in México: Epidemiology, management, and control strategies. Mycopathologia. 162(3):255-264.
- Gimeno A. 2004. Aflatoxina M<sub>1</sub> en la leche riesgo para la salud pública prevención y control. Alimentación Animal. 49:32-44.
- Gimeno A. 2005. Aflatoxina M<sub>1</sub> en la leche. Riesgos para la Salud Pública, Prevención y Control. Disponible en [http://www.engormix.com/aflatoxina\\_m1\\_leche\\_riesgos\\_articulos\\_372\\_MYC.htm](http://www.engormix.com/aflatoxina_m1_leche_riesgos_articulos_372_MYC.htm) Consultado el: 22.01.14.
- Gong Y.Y., Egal S., Hounsa A., Turner P.C., Hall A.J., Cardwell K.F., Wild C.P. 2003. Determinants of aflatoxin exposure in young children from Benin and Togo, West Africa: The critical role of weaning. International Journal of Epidemiology. 32:556-562.
- Gratz S. 2007. "Aflatoxin Binding by Probiotics: Experimental studies on intestinal aflatoxin transport, metabolism and toxicity". Tesis de Doctorado. School of Public Health and Clinical Nutrition, Clinical Nutrition and Food and Health Research Centre. University of Kuopio. Finland. 85.

- Gross-Steinmeyer K., Eaton D.L. 2012. Dietary modulation of the biotransformation and genotoxicity of aflatoxin B<sub>1</sub>. *Toxicology*. 299(2):69-79.
- Gurbay A., Atasaya R.S., Sabuncuog A., Girgin G., Ahin G., Yurdakok B., Tekinalp G. 2010. Exposure of newborns to aflatoxin M<sub>1</sub> and B<sub>1</sub> from mothers' breast milk in Ankara, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*. 48(1):314-319.
- Gutiérrez R., Vega S., Pérez J.J., Ruiz J.L., Yamazaki A., Rivera J.G., Escobar A. 2013. Evaluación de aflatoxina M<sub>1</sub> en leche orgánica producida en Tecpatán, Chiapas, México. *Revista de Salud Animal*. 35(1):33-37.
- Guzmán de Peña D. 2007. La exposición a la aflatoxina B<sub>1</sub> en animales de laboratorio y su significado en la salud pública. *Revista Salud Pública México*. 49(3):227-235.
- Hernández-Mendoza A. 2008. Estudio de la capacidad de bacterias probióticas para ligar aflatoxina B<sub>1</sub> y su efecto en la biodisponibilidad en un modelo Marino, Tesis de Doctorado, Instituto Tecnológico de Veracruz-UNIDA, Veracruz, México.
- Heshmati A., & Milani J.M. 2010. Contamination of UHT milk by aflatoxin M<sub>1</sub> in Iran. *Food Control*. 21:19-22.
- Hooper D.G., Bolton V.E., Guilford F.T., Straus D.C. 2009. Mycotoxin detection in human samples from patients exposed to environmental molds. *International Journal of Molecular Sciences*.10:1465-1475.
- Hussain I., Anwar J., Munawar M.A., Asi M.R. 2008. Variation of levels of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk from different localities in the central areas of Punjab, Pakistan. *Food Control*. 19:1126-1129.
- Hussein H.S., & Brasel J.M. 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*. 167:101-134.
- IARC, International Agency for Research on Cancer. 2002. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. 82:69.
- Kirk G.D., Lesi O.A., Mendy M., Szymańska K., Whittle H., Goedert J.J., Montesano R. 2005. 249ser TP53 mutation in plasma DNA, hepatitis B

viral infection, and risk of hepatocellular carcinoma. *Oncogene*. 24(38):5858-5867.

Lamplugh S.M., Hendrickse R.G., Apeageyi F., Mwanmut D.D. 1988. Aflatoxins in breast milk, neonatal cord blood, and serum of pregnant women. *British Medical Journal*. 296(6627):968.

Lawrence R.A. 1999. *Breastfeeding: a guide for the medical profession*. 5th ed. St. Louis, London, Mosby.

Leong Y.H., Latiff A.A., Ahmad N.I., Rosma A. 2012. Exposure measurement of aflatoxins and aflatoxin metabolites in human body fluids. A short review. *Mycotoxin Research*. 28(2):79-87.

Mahdavi R., Nikniaz L., Arefhosseini S.R., Vahed-Jabbari M. 2010. Determination of aflatoxin M<sub>1</sub> in breast milk samples in Tabriz-Iran. *Matern Child Health Journal*. 14(1):141-145.

Malir F., Ostry V., Grosse Y., Roubal T., Skarkova J., Ruprich J. 2006. Monitoring the mycotoxins in food and their biomarkers in the Czech Republic. *Molecular Nutrition & Food Research*. 50:513-518.

Maxwell S.M. 1998. Investigations into the presence of aflatoxins in human body fluids and tissues in relation to child health in the tropics. *Annals of tropical paediatrics*. 18:41.

Méndez-Albores J.A., Arambula-Villa G., Preciado-Ortiz R.E., Moreno-Martínez M. 2004. Aflatoxins in pozol a nixtamalized, maize-based food. *International Journal Food Microbiology*. 94:211-215.

Miller D.M., & Wilson D.M., 1994. Veterinary diseases related to aflatoxins. In: Eaton DL, Groopman JD. Ed. *The toxicology of aflatoxins: human health and veterinary and agricultural significance*. New York: Academic Press. 347-64.

Moreno M., Sntoyo I., Obeso L., Peimbert F. 2005. Detección de aflatoxinas en refresco de cola. Academia de Ciencias de Morelos, A.C. Disponible en: <http://acmor.org.mx/?q=content/deteccion-de-aflatoxinas-en-refresco-de-cola-0>. Consultado el: 12.08.2014.

Moss M.O. 2002. Mycotoxin review-1. *Aspergillus* and *Penicillium*. *Mycologist*. 16(3):116-119.

- Mykkänen H., Zhu H., Salminen E., Juvonen R.O., Ling W., Ma J., Polychronaki N., Kemiläinen H., Mykkänen O., Salminen S., El-Nezami H. 2005. Fecal and urinary excretion of aflatoxin B<sub>1</sub> metabolites (AFQ<sub>1</sub>, AFM<sub>1</sub> and AFB-N<sup>7</sup>-guanine) in young Chinese males. *International Journal of Cancer*. 115:879-884.
- Navas S.A., Sabino M., Rodríguez-Amaya D.B. 2005. Aflatoxin M<sub>1</sub> and ochratoxin a in a human milk bank in the city of Sao Paulo, Brazil. *Food Additives & Contaminants*. 22(5):457-462.
- NOM, Norma Oficial Mexicana NOM-184-SSA1. Productos y Servicios. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Especificaciones Sanitarias Prefacio. 2002.
- NOM, Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1. Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias. Prefacio. 2002.
- Novoa J.R.U., & Díaz G.J. 2006. Aflatoxinas: mecanismos de toxicidad. *Revista de la Facultad Médica de la Universidad Nacional de Colombia*. 54(2):108-116.
- Ocampo I.O., Jaimez J., Contreras E., Carrazana J. 2005. Estudio de la Microflora y contenido de aflatoxinas presentes en cebada cultivada y almacenada en el estado de Hidalgo. *Memorias: VII Congreso Nacional de Ciencia de los Alimentos y III Foro de Ciencia y Tecnología de los Alimentos*. Guanajuato, Gto. 245-253.
- Ochoa M.A., Torres Ch.P., Moreno I.G., Yépez, G.S; Álvarez Ch.R., Marroquin J.A., Tequida M.M., Silveira G.M. 1989. Incidencia de Aflatoxina B<sub>1</sub> y Zearalenona en trigo y maíz almacenado en el estado de Sonora. *Revista de Ciencia y Alimentos*. 1:16-20.
- Palmgren M.S., & Hayes A.W. 1987. Aflatoxins in foods. En: *Mycotoxins in food*. Editorial Academic Press: London. 65-95.
- Pei S.C., Zhangm Y.Y., Eremin S.A., Lee W.J. 2009. Detection of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk products from China by ELISA using monoclonal antibodies. *Food Control*. 20:2080-2085.

- Pérez J., Gutiérrez R., Vega S. 2008. Ocurrencia de aflatoxina M<sub>1</sub> en leches cruda, ultrapasteurizadas y orgánica en el Altiplano Mexicano. *Revista de Salud Animal*. 30:103-109.
- Pier A. 1992. Major biological consequences of Aflatoxicosis in animal productions. *Journal of Animal Science*. 70:3964-67.
- Piwoz E., Creed de Kanashiro H., Black R., Brown K. 1994. Within and between individual variation in energy intakes by low income peruvian infants. *European Journal of Clinical Nutrition*. 48:333-340.
- Polychronaki N., Turner P.C., Mykkänen H., Gong Y., Amra H., Abdel-Wahhab M., El-Nezami H. 2006. Determinants of aflatoxin M<sub>1</sub> in breast milk in a selected group of Egyptian mothers. *Food additives & contaminants*. 23(7):700-708.
- Polychronaki N., West R.M., Turner P.C., Amra H., Abdel-Wahhab M., Mykkänen H., El-Nezami H. 2007. A longitudinal assessment of aflatoxin M<sub>1</sub> excretion in breast milk of selected Egyptian mothers. *Food and Chemical Toxicology*. 45:1210-1215.
- Ratnavathi C.V., Komala V.V., Kumar B.S.V., Das I.K., Patil J.V. 2012. Natural occurrence of aflatoxin B<sub>1</sub> in sorghum grown in different geographical regions of India. *Journal of the Science of Food and Agricultural*. 92(12):2416-2420.
- Rawal S., Kim J.E., Coulombe Jr.R. 2010. Aflatoxin B<sub>1</sub> in poultry: Toxicology, metabolism and prevention. *Research in Veterinary Science*. 89(3):325-331.
- Rojas D.E., Albertengo A., Lingua M., Paez R., Ricca A.P. 2013. Residuos de pesticidas y aflatoxina M<sub>1</sub> en leche. Disponible en <http://inta.gob.ar/documentos/residuos-de-pesticidas-y-aflatoxina-m1-en-leche> Consultado el: 20.07.14.
- Romero A.D.C., Ferreira T.R.B., Días C.T.D.S., Calori-Domingues M.A., da Gloria E.M. 2010. Occurrence of AFM<sub>1</sub> in urine samples of a Brazilian population and association with food consumption. *Food Control*. 21(4):554-558.

- Ruiqian L., Xian Y., Thanaboripat D. Thansukon P. 2004. Biocontrol of *Aspergillus flavus* and aflatoxin Production. KMITL Science Journal. 4:1685-2044.
- Sabillón F., & Abdu B. 1997. Composición de la leche materna. 28:120-124.
- SAGARPA. 2010. Retos y oportunidades del sistema agroalimentario de México en los próximos 20 años. 1-282.
- Sandoval C.D. 2003. Detección de aflatoxinas M<sub>1</sub> en leches ultrapasteurizadas y en polvo por medio de inmunoensayo ligado a enzima (ELISA). Tesis de licenciatura del tecnológico de los Mochis. Sinaloa México.
- Sedeghi N., Mohammad R.O., Behrooz J., Mannan H., Hengameh B., Forouzandeh J. 2009. Incidence of aflatoxin M<sub>1</sub> in human breast milk in Tehran, Iran. Food Control. 20(1):75-78.
- Shuaib F.M.B., Ehiri J., Abdullahi A., Williams J.H., Jolly P.E. 2010. Reproductive health effects of aflatoxins: A review of the literature. Reproductive Toxicology. 29:262-270.
- Soini Y., Chia S.C., Bennet W.P., Groopman J.D., Wang J.S., DeBenedetti V.M.G. 1996. An aflatoxin-associated mutational hotspot at codon 249 in the p53 tumor suppressor gene occurs in hepatocellular carcinomas from México. Carcinogénesis. 17:1007-1012.
- Strosnider H., Azziz-Baumgartner E., Banziger M., Bhat R.V., Breiman R., Brune M.N., ... & Wilson D. 2006. Workgroup report: public health strategies for reducing aflatoxin exposure in developing countries. Environmental Health Perspectives. 114:1898-1903.
- Turconi G., Guarcello M., Livieri C., Comizzoli S., Maccarini L., Castellazzi, A.M., Pietri A., Piva G., Roggi C. 2004. Evaluation of xenobiotics in human milk and ingestion by the newborn. European Journal of Nutrition. 43(4):191-197.
- Turner P.C., Collinson A.C., Cheung Y.B., Gong Y., Hall A.J., Prentice A.M., Wild C.P. 2007. Aflatoxin exposure in utero causes growth faltering in Gambian infants. International Journal of Epidemiology. 36:1119-1125.
- Turner P.C., Loffredo C., El-Kafrawy S., Ezzat S., Abdel-Latif Eissa S., El-Daly M., Nada O., Abdel-Hamid M. 2008. Pilot survey of aflatoxin-albumin

- adducts in sera from Egypt. *Food Additives & Contaminants*. 25(5):583-587.
- Urbán G., Pérez J., Martínez F., Gutiérrez R., Vega S., Coronado M. Escobar A. 2010. Aflatoxina M<sub>1</sub> en leche y queso de cabra producidos en paseo El Grande, Guanajuato, México. *Revista de Salud Animal*. 32(2):84-88.
- Uribe-Yunda D.F. 2012. Mecanismos moleculares involucrados en la mutagenicidad inducida por aflatoxina B<sub>1</sub>. *Ciencias de la Salud*. 10(3), 403-419.
- Urrego Novoa, J. R., & Díaz, G. J. 2006. Aflatoxinas: mecanismos de toxicidad en la etiología de cáncer hepático celular. *Revista Facultad de Medicina*. (Bogotá). 54(2):108-116.
- Van Egmond H.P. 1989. "Aflatoxin M<sub>1</sub>: Occurrence, Toxicity, Regulation" in *Mycotoxins in Dairy Products*. Hans P. Van Egmond (Ed.) Elsevier Applied Science, London and New York. Chapter 2. 11-55.
- Vargas E.A., Preis R.A., Castro L. Silva C.M.G. 2001. Occurrence of aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, zearalenone and fumonisin B<sub>1</sub> in Brazilian corn. *Food Additives and Contaminants*. 18(11):981-986.
- Villalobos C.M.B., Cabriales J.J.P., Guzmán de Peña D.G. 2001. Producción de aflatoxinas en maíz *in vitro*. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 19(2):218-222.
- Waliszewski S.M., Aguirre A.A., Infanzon R.M., Silva C.S., Siliceo J. 2001. Organochlorine pesticide levels in maternal adipose tissue, maternal blood serum, umbilical blood serum, and milk from inhabitants of Veracruz, Mexico. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 40:432-438.
- Wild C.P., & Montesano R.A. 2009. Model of interaction: aflatoxins and hepatitis viruses in liver cancer aetiology and prevention. *Cancer Letters*. 286:22-28.
- Willet W.C., Reynolds R.D., Cottrell-Hoehner S., Sampson L., Brown M.L. 1987. Validation of a semi-quantitative food frequency questionnaire: comparison with a 1 year diet record. *Journal of the American Dietetic Association*. 1:43-47.



- Williams J.H., Phillips T.D., Jolly P.E., Stiles J.K., Jolly C.M., Aggarwal D. 2004. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *American Journal of Clinical Nutrition*. 80:1106-1122.
- Yu Z., Palkovicova L., Drobna B., Petrik J., Kocan A., Trnovec T., Hertz-Picciotto I. 2007. Comparison of organochlorine compound concentrations in colostrum and mature milk. *Chemosphere*. 66(6):1012-1018.
- Zafar S.I., Rafique M.A., Jinap S. 2013. Variation of aflatoxin M<sub>1</sub> contamination in milk and milk products collected during winter and summer seasons. *Food Control*. 34:714-718.
- Zain M.E. 2011. Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemical Society*. 15(2):129-144.
- Zarba A., Wild C.P., Hall A.J., Montesano R., Hudson G.J., Groopman J.D. 1992. Aflatoxin M<sub>1</sub> in human breast milk from the Gambia, West Africa, quantified by combined monoclonal antibody immunoaffinity chromatography and HPLC. *Carcinogenesis*. 13(5):891-894.
- Zhu J.Q., Zhang L.S., Hu X., Xiao Y., Chen J.S., Xu Y.C., Fremy J., Chu F.S. 1987. Correlation of dietary aflatoxin B<sub>1</sub> levels with excretion of aflatoxin M<sub>1</sub> in human urine. *Cancer Research*. 47:1848-1852.
- Zinedine A., Gonzalez-Osnaya L., Soriano J.M., Molto J.C., Idrissi L., Manes J. 2007. Presence of aflatoxin M<sub>1</sub> in pasteurized milk from Morocco. *International Journal of Food Microbiology*. 114(1):25-29.

## ANEXO 1

### Carta de comité de ética

#### COMITÉ DE ÉTICA

CE/012/2014

Hermosillo, Sonora. Enero 29, 2014

**Dr. Adrian Hernández Mendoza**  
**Investigador Titular**  
**Coordinación Tecnología de Alimentos de Origen Animal**  
**Presente**

**Estimado Investigador:**

Por medio de la presente me permito informarle que este H. Comité ha estudiado el protocolo **“Evaluación de la Incidencia y Niveles de Aflatoxina M<sub>1</sub> en Leche de Madres Lactantes Mexicanas”**

En base a lo anterior, el comité dictaminador ha recomendado únicamente que la toma de muestra de leche materna sea realizada bajo supervisión de personal técnico apropiado y ha concluido que el anterior protocolo cumple con las normas internacionales vigentes por la “Declaration of Helsinki” (2013) y el “Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en Salud”.

Por lo tanto, el comité no tiene inconveniente en aprobar el desarrollo del estudio bajo su responsabilidad.

Sin otro particular por el momento, le deseamos el mayor de los éxitos

**Atentamente**



**Dr. Luis QUIHUI COTA**

**Presidente**

C.c.p. Archivo

## ANEXO 2

### Formulario de información general

Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

<b>Apellidos:</b>	
<b>Nombre(s):</b>	<b>Fecha de nacimiento:</b>
<b>Nivel Max de Estudios:</b>	<b>Ocupación:</b>
<b>Estatura:</b>	<b>Peso:</b>
<b>Número de hijos:</b>	<b>Abortos involuntarios:</b>
<b>Meses de lactancia:</b>	<b>Edad del bebe</b>
<b>Padecimiento(s) preexistente(s):</b>	
<b>Recibe vacunas u otros medicamentos?:</b>	
<b>Consume alcohol o tabaco durante la lactancia?:</b>	
<b>Teléfono:</b>	<b>e-mail:</b>

### ANEXO 3

#### Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos

Fecha: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

<b>Nombre:</b>	<b>Semana No.</b>
----------------	-------------------

Indique, de la forma más exacta posible, la frecuencia y cantidad en la que ha consumido los siguientes alimentos durante la última semana

GRUPOS DE ALIMENTOS	ALIMENTOS	FRECUENCIA (por semana)	CANTIDAD APROXIMADA	OBSERVACIONES	
Cereales	Pan (caja, salada, dulce)				
	Pasta				
	Arroz				
	Tortilla	Maíz			
		Harina			
	Cereal de caja				
	Avena				
	Elote (mazorca o grano)				
Galletas					
Leche y productos lácteos	Leche				
	Queso				
	Yogurt				
	Crema				

Leguminosas	Frijoles					
	Lentejas					
	Habas					
	Garbanzo					
	Soya					
Carnes	Pollo					
	Res					
	Cerdo					
	Embutidos					
	Huevo					
Oleaginosas	Cacahuete					
	Nueces					
	Pistache					
	Aceituna					
	Almendra					
Frutas	Frutas secos (ciruela, dátil, higos, pasas)					
Otros	Refresco de cola					
	Cerveza					
	Vino (tinto)					
	Aceite	Girasol/cártamo				
		Olivo				
		Maíz				
		Manteca vegetal				
Café						