

Las enniatinas, micotoxinas de interés emergente

Origen y estructura química

Las enniatinas (ENN) son un grupo de micotoxinas emergentes producidas por especies del género *Fusarium*. Tienen una estructura hexadepsipeptídica cíclica que dispone de tres aminoácidos d-2 hidroxycarboxílicos y tres aminoácidos N-metilamino unidos de forma alternada.

Las enniatinas se han encontrado predominantemente en los cereales en grano, como la cebada, maíz, avena, trigo y arroz, pero también se han llegado a detectar en los frutos secos, fruta desecada, plátano, hierbas medicinales chinas y agua de río. Se conocen hasta 29 análogos naturales de las enniatinas, pero solo siete (A, A1, A2, B, B1, B2 y B3) se han detectado en los cereales y sus derivados, y las enniatinas A, A1, B y B1 son los hallazgos más frecuentemente en alimentos y piensos.

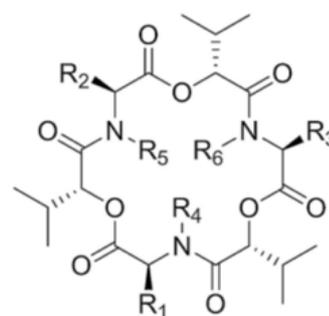


Figura. Estructura molecular de las enniatinas; los grupos funcionales que ocupan las posiciones R1-R6 determinan el tipo de enniatina de que se trata.

Tabla. Grupos funcionales que ocupan las posiciones R de la figura y que determinan la enniatina.

Enniatina	R1	R2	R3	R4	R5	R6
A	<i>sec</i> -butil	<i>sec</i> -butil	<i>sec</i> -butil	CH3	CH3	CH3
A1	<i>iso</i> -propil	<i>sec</i> -butil	<i>sec</i> -butil	CH3	CH3	CH3
A2	<i>iso</i> -propil	<i>sec</i> -butil	<i>iso</i> -propil	CH3	CH3	CH3
B	<i>iso</i> -propil	<i>iso</i> -propil	<i>iso</i> -propil	CH3	CH3	CH3
B1	<i>iso</i> -propil	<i>iso</i> -propil	<i>sec</i> -butil	CH3	CH3	CH3
B2	<i>iso</i> -propil	<i>iso</i> -propil	<i>iso</i> -propil	H	CH3	CH3
B3	<i>iso</i> -propil	<i>iso</i> -propil	<i>iso</i> -propil	H	H	CH3
B4	<i>iso</i> -propil	<i>iso</i> -propil	<i>iso</i> -butil	CH3	CH3	CH3
Beauvericina	bencilo	bencilo	bencilo	CH3	CH3	CH3

acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Enero - Febrero 2021

Ya que tienen un origen en la misma especie fúngica, las enniatinas se encuentran concomitantemente en los alimentos con otras micotoxinas de *Fusarium*, como el deoxinivalenol, la moniliformina y las fumonisinas, y especialmente con la beauvericina, otra micotoxina de interés emergente, ya que, además, también comparte la estructura hexadipeptídica. Esta coincidencia de origen y estructural conlleva que la beauvericina sea agrupada analítica y toxicológicamente con las enniatinas. Además, los datos analíticos demuestran una alta concomitancia entre las enniatinas y la beauvericina en los granos de los cereales.

Presencia en los alimentos

Como todas las micotoxinas, la presencia y distribución de las enniatinas en los alimentos depende del desarrollo del hongo productor en cada alimento y, por lo tanto, de factores como las condiciones climáticas, la naturaleza del alimento y sus condiciones de producción y almacenaje. Los datos disponibles sobre la presencia de enniatinas en los alimentos no son muy numerosos, ya que muchos datos no son fiables porque se han obtenido con métodos analíticos que a día de hoy no se consideran lo bastante satisfactorios. Así, solo se dispone de datos a partir del año 2000 y la EFSA únicamente toma en consideración los que han sido obtenidos por LC-MS/MS (cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas/masas). Para disponer de suficientes datos y evaluar la presencia de enniatinas (y beauvericina) en los alimentos y piensos, en el año 2010 la EFSA efectuó un llamamiento para obtener información de la presencia de diferentes micotoxinas en los alimentos (entre ellas, las enniatinas).

En los datos recogidos, se detectaron enniatinas en el 37% de las muestras de alimentos, el 68% de las muestras de piensos y el 76% de las muestras de cereal en grano. De entre los alimentos respecto de los cuales se dispone de un número significativo de datos, destacan los cereales y derivados (200 µg/kg por término medio aproximado), los frutos secos (180 µg/kg por término medio aproximado) y los alimentos para niños (90 µg/kg por término medio aproximado). En el pienso compuesto se encontró una media de 45 µg/kg

y en el cereal en grano se encontraron concentraciones medias de entre 100 y 1.000 µg/kg, según el producto. Hay que tener en cuenta que estas medias son orientativas y poco representativas debido a la poca representatividad de las muestras, a la gran dispersión entre los componentes de cada grupo alimentario y a algunos resultados individuales muy extremos.

También se comprobaron los efectos del procesamiento mecánico de los cereales, de manera que, con respecto al grano entero, el producto refinado contiene una concentración más baja, y los subproductos, una concentración más alta. Las enniatinas se mantienen estables en los procesos de secado y ensilaje. Asimismo, la poca información disponible indica que la presencia significativa de enniatinas o metabolitos activos en los alimentos de origen animal, a partir del consumo de piensos contaminados, es muy improbable.

Bioactividad y efectos tóxicos

Las enniatinas (y también la beauvericina) tienen un conjunto de efectos biológicos bien conocidos: son moléculas ionóforas, antimicrobianas, antibióticas y producen inhibición enzimática y estrés oxidativo. Además, tienen actividad citotóxica sobre diferentes tipos celulares, en que inducen su apoptosis.

No se dispone de mucha información sobre los efectos tóxicos de las enniatinas y la mayoría proviene de la fusafungina, una mezcla de enniatinas que se ha utilizado como tratamiento antiinflamatorio tópico y antimicrobiano en infecciones de vías respiratorias altas, y otras informaciones sobre estos efectos hacen referencia a moléculas de estructura química y efectos bioactivos similares, como algunos antibióticos ionóforos. Además, no se tiene constancia de toxicosis asociadas al consumo de alimentos contaminados con enniatinas.

Sí se dispone alguna información sobre su toxicidad aguda y subaguda en ratones (LD₅₀ de 350 mg/kg p.c. para la fusafungina), sobre cierta capacidad inmunotóxica y mielotóxica demostrada en experimentos *in vitro*, estos últimos relacionados con la formación de plaquetas, aunque con una capacidad inferior al resto de toxinas derivadas de los *Fusarium*

pero que nunca se han demostrado *in vivo*. No existen estudios sobre su toxicidad crónica por vía oral, ni por la vía dérmica, ni de sus efectos sobre el desarrollo, ni neurotoxicidad, ni de su carcinogenicidad. Existen algunos estudios a corto plazo que no han podido demostrar mecanismos ni efectos genotóxicos de las enniatinas. Las enniatinas no están clasificadas en ningún grupo de la IARC (Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer).

Se han llevado a cabo algunos estudios de sus efectos adversos por vía oral en aves de corral, pero no constan sobre el resto de especies productoras de alimentos, peces o animales de compañía.

La escasa información disponible sobre ello imposibilita que se haya derivado algún valor de seguridad toxicológico, ni de efectos agudos (ARfD) ni crónicos (IDT). De hecho, en la base de datos toxicológicos de la EFSA solo figuran publicados tres puntos de referencia toxicológica en pollos, y el más sensible es un índice NOAEL obtenido a partir de un estudio en gallinas ponedoras, que da un intervalo de valores de entre 216 a 674 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. y día, basándose en sus efectos sobre el peso vivo y la ingesta de pienso.

No obstante, la EFSA realizó una evaluación aproximativa teniendo en cuenta los pocos datos disponibles derivados de la información obtenida a partir del uso terapéutico de la fusafungina. Para la evaluación de los efectos agudos, utilizó la LD50 en ratones (350 mg/kg p.c.) y para los efectos crónicos un LOAEL para una dosis oral de una mezcla de enniatinas (0,09-0117 mg/kg p.c. y día).

Evaluación del riesgo

Con las incertidumbres asociadas a la presencia de las enniatinas en los alimentos y a la imposibilidad de definir con certeza un valor de referencia, no se puede llevar a cabo una evaluación del riesgo lo bastante sólida. En realidad, a escala mundial solo se dispone de la aproximación que hizo la EFSA en 2014.

Para llevar a cabo esta evaluación, la EFSA estimó, tanto para personas como para las especies

animales, la ingesta de los alimentos susceptibles de ser contaminados por *Fusarium* y, por lo tanto, de contener enniatinas. La estimación tiene un grado de incertidumbre importante debido a la escasa disponibilidad de datos y a la necesidad de utilizar factores de conversión para estimar la concentración de enniatinas en los productos elaborados, ya que en la mayoría de los casos la información analítica hacía referencia al producto sin procesar.

Para la exposición crónica en el caso de las personas, se hizo la estimación individual según los consumos y pesos corporales por cada grupo de edad para cada una de las 26 encuestas disponibles en la base de datos de la EFSA y, posteriormente, se calcularon las medias y percentiles para el conjunto de la población europea. Teniendo en cuenta todos los escenarios y grupos de edad, el intervalo de exposición media crónica en las enniatinas iba de 0,42 a 1,82 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. y día, y, si se consideraba el percentil 95, este intervalo se cerraba en 3,28 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. y día. La mayor contribución era debida al consumo de alimentos de la categoría "Granos y productos derivados", seguida de los de "Bollería" y "Pasta", esta última a raíz de un consumo elevado en algunos países. En el caso de los adultos, también existía una contribución significativa de la categoría "Café", mientras que en los niños la exposición estaba asociada a alimentos a base de cereales. De la comparación de estas ingestas con el LOAEL derivado del uso terapéutico de la fusafungina (0,09-0117 mg/kg p.c. y día), se obtienen márgenes de entre 400 a 50, en el caso de las medias, y de entre 190 a 30, en el caso de los percentiles 95. A pesar de las incertidumbres mencionadas y de que no se puede obtener conclusión en firme, la EFSA conviene que con estos márgenes no se puede afirmar que no exista riesgo crónico en la exposición estimada para las enniatinas por el consumo de alimentos.

Para la evaluación de la exposición aguda a las enniatinas, se utilizaron los datos derivados de las encuestas basadas en los datos de ingesta en los días de consumo de productos susceptibles de ser contaminantes, considerando en un día solo el consumo del producto al que se le atribuía una exposición más elevada. Teniendo en cuenta todos los escenarios y grupos de edad, el intervalo de exposición media aguda a las enniatinas iba de 1,01 en 4,67 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. y día,

acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Enero - Febrero 2021

y, si se consideraba el percentil 95, este intervalo se cerraba en 10,1 µg/kg p.c. y día. Los grupos "Pasta", "Pan" y "Alimentos infantiles a base de cereales" fueron los grupos con más contribución a la exposición aguda. De la comparación de estas ingestas con la LD50 establecida para los ratones (350 mg/kg p.c.), se obtienen márgenes de entre 99000 a 21500, en el caso de las medias, y de entre 45500 a 9900, en el caso de los percentiles 95.

Así, a pesar de la prevención debida a dichas incertidumbres, la EFSA concluye que, con estos márgenes, se puede descartar que exista un riesgo agudo en la exposición estimada para las enniatinas debido al consumo de alimentos.

En el caso de los animales, la falta de información sobre la presencia de enniatinas en forrajes y heno hizo basar toda la estimación de la ingesta de enniatinas a partir del peor escenario en el consumo de grano y productos derivados. La baja consistencia de los datos de consumo y presencia de enniatinas en las materias para alimentación animal y la carencia de datos toxicológicos en las diferentes especies animales conduce a que la EFSA se limite a manifestar que se ve improbable que exista riesgo crónico en pollos ni riesgo agudo en el conjunto de especies animales, ya sean de producción o de compañía.

Valores legales y alertas

Como se trata de un conjunto de micotoxinas de interés emergente y la información sobre su presencia en los alimentos y el riesgo que se deriva es escasa, todavía no se dispone de legislación que fije su contenido máximo en alimentos o piensos en la Unión Europea ni en el resto del mundo.

Asimismo, tampoco constan alertas o notificaciones al respecto en la base de datos del RASFF.

Gestión

No hay requerimientos ni recomendaciones específicas para la gestión o buenas prácticas para la prevención y el control en cuanto a las enniatinas, pero, por su naturaleza y origen, se puede prever que una buena gestión tiene que ser actuar según todo lo que es de aplicación a las micotoxinas, en especial a las micotoxinas asociadas a los hongos del género *Fusarium*.

Desde el control oficial, y teniendo en cuenta la dispersión de los resultados analíticos y la necesidad de mejorar la información derivada, es necesario recordar los requerimientos de muestreo y conservación de las muestras recogidas para control oficial de micotoxinas, con el fin de garantizar la representatividad y conservación adecuada de las muestras.

En todas las fases de la producción y comercialización de alimentos, deben aplicarse las buenas prácticas establecidas para minimizar el crecimiento de hongos, específicamente los del género *Fusarium*, ya que ello también minimiza la presencia de micotoxinas, en general, y de las enniatinas, en particular.

Situación en Cataluña

En Cataluña, la ACSA, con la colaboración de la Unidad de Micología Aplicada de la Universidad de Lleida, está llevando a cabo un estudio de dieta sobre las micotoxinas asociadas al género *Fusarium* donde se incluyen las enniatinas. De los datos analíticos y los estudios preliminares, se puede adelantar que la enniatina B se ha detectado en el 68% de las muestras analizadas y está presente en todas las tipologías de las muestras recogidas ("Cereales y sus derivados") en concentraciones entre 5-270 µg/kg. En el caso particular de la papilla para alimentación infantil, la enniatina B solo se detecta en una minoría de las muestras (28%) y siempre en concentraciones inferiores a 17 µg/kg.

Bibliografia

- EFSA. Scientific Opinion on the risks to human and animal health related to the presence of beauvericin and enniatins in food and feed. EFSA Journal 2014;12(8):3802. Disponible en: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2014.3802>
- EFSA. In vivo toxicity and genotoxicity of beauvericin and enniatins. Combined approach to study in vivo toxicity and genotoxicity of mycotoxins beauvericin (BEA) and enniatin B (ENNB). EFSA Supporting publication 2018:EN-1406. Disponible en: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/sp.efsa.2018.EN-1406>
- Marin S, Ramos AJ, Cano-Sancho G, Sanchis V, 2013. Mycotoxins: Ocurrence, toxicology, and exposure assessment. Food and Chemical Toxicology, 60, 218-237. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.047>
- Prosperini A, Berrada H, Ruiz MJ, Cloni F, Coccini T, Spicer LJ, Perego MC, Lafranconi A. A review of the mycotoxin Enniatin B. Frontiers in Public Health, November 2017, Volume 5, Article 304. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpubh.2017.00304/full>
- Renaud JB, Kelman, MJ, McMullin DR, Yeung KK-C, Sumarah MW, 2017. Application of C8 liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of enniatins and bassianolides. Journal of Chromatography A, 1508, 65-72. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2017.05.070>