

## Les enniatines, micotoxines d'interès emergent

### Origen i estructura química

Les enniatines (ENN) són un grup de micotoxines emergents produïdes per espècies del gènere *Fusarium*. Tenen una estructura hexadepsipeptídica cíclica que disposa de tres aminoàcids d-2 hidrocarboxílics i tres aminoàcids N-metilamino units de forma alternada.

Les enniatines s'han trobat predominantment en els cereals en gra, com l'ordi, panís, civada, blat i arròs, però també s'han arribat a detectar en la fruita seca, fruita dessecada, plàtan, herbes medicinals xineses i aigua de riu. Es coneixen fins a 29 anàlegs naturals de les enniatines, però només set (A, A1, A2, B, B1, B2 i B3) s'han detectat en els cereals i els seus derivats, i les enniatines A, A1, B i B1 són les trobades més freqüentment en aliments i pinsos.

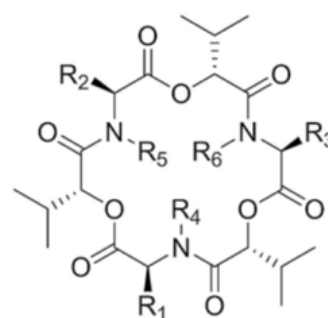


Figura. Estructura molecular de les enniatines; els grups funcionals que ocupen les posicions R1-R6 determinen el tipus d'enniatina de què es tracta.

### Taula. Grups funcionals que ocupen les posicions R de la figura i que determinen l'enniatina.

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

# acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Gener - Febrer 2021

Ja que tenen un origen en la mateixa espècie fúngica, les enniatines es troben concomitantment en els aliments amb altres micotoxines de *Fusarium*, com el deoxinivalenol, la moniliformina i les fumonisines, i especialment amb la beauvericina, una altra micotoxina d'interès emergent, ja que, a més, també en comparteix l'estructura hexadipepsídica. Aquesta coincidència d'origen i estructural fa que la beauvericina sigui agrupada analíticament i toxicològicament amb les enniatines. A més, les dades analítiques demostren una alta concomitància entre les enniatines i la beauvericina en els grans dels cereals.

## Presència en els aliments

Com totes les micotoxines, la presència i distribució de les enniatines en els aliments depèn del desenvolupament del fong productor en cada aliment i, per tant, de factors com les condicions climàtiques, la naturalesa de l'aliment i les seves condicions de producció i emmagatzematge. Les dades disponibles sobre la presència d'enniatives en els aliments no són gaires, ja que moltes dades no són fiables perquè s'han obtingut amb mètodes analítics que avui no es consideren prou satisfactoris. Així, només es disposa de dades a partir de l'any 2000 i l'EFSA només pren en consideració les que han estat obtingudes per LC-MS/MS (cromatografia líquida acoblada a espectrometria de masses/masses). Per disposar de suficients dades i avaluar la presència d'enniatives (i beauvericina) en els aliments i pinsos, l'any 2010 l'EFSA va efectuar una crida per obtenir informació de la presència de diferents micotoxines en els aliments (entre les quals, les enniatives).

En les dades recollides, es van detectar enniatives en el 37 % de les mostres d'aliments, el 68% de les mostres de pinsos i el 76% de les mostres de cereal en gra. D'entre els aliments respecte dels quals es disposa d'un nombre significatiu de dades, destaquen els cereals i derivats (200 µg/kg de mitjana aproximada), la fruita seca (180 µg/kg de mitjana aproximada) i els aliments per a infants (90 µg/kg de mitjana aproximada). En el pinso compost se'n va trobar una mitjana de 45 µg/kg i en el cereal en gra se'n van trobar concentracions mitjanes d'entre 100 i 1.000 µg/kg, segons el

producte. Cal tenir en compte que aquestes mitjanes són orientatives i poc representatives degut a la poca representativitat de les mostres, a la gran dispersió entre els components de cada grup alimentari i a alguns resultats individuals molt extrems.

També es van comprovar els efectes del processament mecànic dels cereals, de manera que, respecte al gra sencer, el producte refinat en conté una concentració més baixa, i els subproductes, una concentració més alta. Les enniatives es mantenen estables en els processos d'assecatge i ensitjament. Així mateix, la poca informació disponible indica que la presència significativa d'enniatives o metabòlits actius en els aliments d'origen animal, a partir del consum de pinsos contaminats, és molt improbable.

## Bioactivitat i efectes tòxics

Les enniatives (i també la beauvericina) tenen un seguit d'efectes biològics ben coneguts: són molècules ionòfores, antimicrobianes, antibiòtiques i produeixen inhibició enzimàtica i estrès oxidatiu. A més, tenen activitat citotòxica sobre diferents tipus cel·lulars, on hi indueixen l'apoptosi.

No es disposa de gaire informació sobre els efectes tòxics de les enniatives i la majoria prové de la fusafungina, una barreja d'enniatives que s'ha fet servir com a tractament antiinflamatori tòpic i antimicrobià en infeccions de vies respiratòries altes, i una altra informació sobre aquests efectes fa referència a molècules d'estructura química i efectes bioactius similars, com alguns antibiòtics ionòfors. A més no és té constància de cap toxicosi associada al consum d'aliments contaminats amb enniatives.

Sí que es disposa alguna informació sobre la seva toxicitat aguda i subaguda en ratolins (LD<sub>50</sub> de 350 mg/kg p.c. per la fusafungina), sobre certa capacitat immunotòxica i mielotòxica demostrada en experiments *in vitro*, aquests últims relacionats amb la formació de plaquetes, encara que amb una capacitat inferior a la resta de toxines derivades dels *Fusarium* però que mai no s'han demostrat *in vivo*. No hi ha estudis sobre la seva toxicitat crònica per via oral, ni per la via dèrmica, ni dels seus efectes sobre el desenvolupament, ni

# acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Gener - Febrer 2021

neurotoxicitat, ni de la seva carcinogenicitat. Hi ha alguns estudis a curt termini que no han pogut demostrar cap mecanisme ni efecte genotòxic de les enniatines. Les enniatines no estan classificades en cap grup de la IARC (Agència Internacional de Recerca sobre el Càncer).

S'han dut a terme alguns estudis dels seus efectes adversos per via oral en aviram, però no en consta cap sobre la resta d'espècies productores d'aliments, peixos o animals de companyia.

L'escassa informació disponible impossibilita que se n'hagi derivat cap valor de seguretat toxicològic, ni d'efectes aguts (ARfD) ni crònics (IDT). De fet, a la base de dades toxicològiques de l'EFSA només hi ha publicats tres punts de referència toxicològica en pollastres, i el més sensible és un índex NOAEL obtingut a partir d'un estudi en gallines ponedores, que dona un interval de valors d'entre 216 a 674 µg/kg p.c. i dia, basant-se en els seus efectes sobre el pes viu i la ingesta de pinso.

No obstant, l'EFSA en va fer una avaluació aproximativa tenint en compte les poques dades disponibles derivades de la informació obtinguda a partir de l'ús terapèutic de la fusafungina. Per a l'avaluació dels efectes aguts, va fer servir l'LD<sub>50</sub> en ratolins (350 mg/kg p.c.) i, per als efectes crònics, un LOAEL per a una dosi oral d'una barreja d'enniatives (0,09-0117 mg/kg p.c. i dia).

## Avaluació del risc

Amb les incerteses associades a la presència de les enniatines en els aliments i a la impossibilitat de definir amb certesa un valor de referència, no se'n pot dur a terme una avaluació del risc prou sòlida. En realitat, a escala mundial només hi ha l'aproximació que en va fer l'EFSA el 2014.

Per dur a terme aquesta avaluació, l'EFSA va estimar, tant per a persones com per a les espècies animals, la ingesta dels aliments susceptibles de ser contaminats per *Fusarium* i, per tant, de contenir enniatines. L'estimació té un grau d'incertesa important degut a l'escassa disponibilitat de dades i a la necessitat d'emprar factors de conversió per estimar la concentració d'enniatives

en els productes elaborats, ja que en la majoria dels casos la informació analítica feia referència al producte sense processar.

Per a l'exposició crònica en el cas de les persones, se'n va fer l'estimació individual segons els consums i els pesos corporals per cada grup d'edat per a cadascuna de les 26 enquestes disponibles a la base de dades de l'EFSA i, posteriorment, se'n van calcular les mitjanes i els percentils per al conjunt de la població europea. Tenint en compte tots els escenaris i els grups d'edat, l'interval d'exposició mitjana crònica a les enniatines anava de 0,42 a 1,82 µg/kg p.c. i dia, i, si es considerava el percentil 95, aquest interval es tancava en 3,28 µg/kg p.c. i dia. La contribució més gran era deguda al consum d'aliments de la categoria "Grans i productes derivats", seguida dels de "Brioxeria" i "Pasta", aquesta última arran d'un consum elevat en alguns països. En el cas dels adults, també hi havia una contribució significativa de la categoria "Cafè", mentre que en els infants l'exposició estava associada a aliments a base de cereals. De la comparació d'aquestes ingestes amb el LOAEL derivat de l'ús terapèutic de la fusafungina (0,09-0117 mg/kg p.c. i dia), se n'obtenen marges d'entre 400 a 50, en el cas de les mitjanes, i d'entre 190 a 30, en el cas dels percentils 95. Tot i les incerteses esmentades i que no es pot treure cap conclusió en ferm, l'EFSA convé que amb aquests marges no es pot afirmar que no hi hagi risc crònic en l'exposició estimada per a les enniatives pel consum d'aliments.

Per a l'avaluació de l'exposició aguda a les enniatives, es van fer servir les dades derivades de les enquestes basades en les dades d'ingesta en els dies de consum de productes susceptibles de ser contaminants, considerant en un dia només el consum del producte al qual se li atribuïa una exposició més elevada. Tenint en compte tots els escenaris i els grups d'edat, l'interval d'exposició mitjana aguda a les enniatives anava d'1,01 a 4,67 µg/kg p.c. i dia, i, si es considerava el percentil 95, aquest interval es tancava en 10,1 µg/kg p.c. i dia. Els grups "Pasta", "Pa" i "Aliments infantils a base de cereals" van ser els grups amb més contribució a l'exposició aguda. De la comparació d'aquestes ingestes amb l'LD<sub>50</sub> establerta per als ratolins (350 mg/kg p.c.), se n'obtenen marges d'entre 99000 a 21500,

# acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Gener - Febrer 2021

en el cas de les mitjanes, i d'entre 45500 a 9900, en el cas dels percentil 95.

Així, tot i la prevenció deguda a les incerteses esmentades, l'EFSA conclou que, amb aquests marges, es pot descartar que hi hagi cap risc agut en l'exposició estimada per a les enniatines degut al consum d'aliments.

En el cas dels animals, la manca d'informació sobre la presència d'enniatives en farratges i fenc va fer basar tota la estimació de la ingesta d'enniatives a partir del pitjor escenari en el consum de gra i productes derivats. La baixa consistència de les dades de consum i presència d'enniatives en les matèries per a alimentació animal i la mancança de dades toxicològiques en les diferents espècies animals fa que l'EFSA es limiti a manifestar que es veu improbable que hi hagi cap risc crònic en pollastres ni cap risc agut en el conjunt d'espècies animals, ja siguin de producció o de companyia.

## Valors legals i alertes

Com que es tracta d'un conjunt de micotoxines d'interès emergent i la informació sobre la seva presència en els aliments i el risc que se'n deriva és escassa, encara no hi ha legislació que en fixi el contingut màxim en cap aliment o pinso a la Unió Europea ni a la resta del món.

Així mateix, tampoc en consta cap alerta o notificació a la base de dades del RASFF.

## Gestió

No hi ha requeriments ni recomanacions específiques per a la gestió o bones pràctiques per a la prevenció i el control quant a les enniatives, però, per la seva naturalesa i origen, és pot preveure que una bona gestió ha de ser actuar segons tot allò que és aplicable a les micotoxines, en especial a les micotoxines associades als fongs del gènere *Fusarium*.

Des del control oficial, i tenint en compte la dispersió dels resultats analítics i la necessitat de millorar-ne la informació derivada, cal recordar els requeriments de

mostreig i conservació de les mostres recollides per a control oficial de micotoxines, per tal de garantir la representativitat i conservació adequada de les mostres.

En totes les fases de la producció i la comercialització d'aliments, cal aplicar les bones pràctiques establertes per minimitzar el creixement de fongs, específicament els del gènere *Fusarium*, ja que això també minimitza la presència de micotoxines, en general, i de les enniatives, en particular.

## Situació a Catalunya

A Catalunya, l'ACSA, amb la col·laboració de la Unitat de Micologia Aplicada de la Universitat de Lleida, està duent a terme un estudi de dieta sobre les micotoxines associades al gènere *Fusarium* on s'hi inclouen les enniatives. De les dades analítiques i els estudis preliminars, es pot avançar que l'enniativa B s'ha detectat en el 68% de les mostres analitzades i està present en totes les tipologies de les mostres recollides ("Cereals i els seus derivats") en concentracions entre 5-270 µg/kg. En el cas particular de les farinetes per a alimentació infantil, l'enniativa B només es detecta en una minoria de les mostres (28%) i sempre en concentracions inferiors a 17 µg/kg.

# acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Gener - Febrer 2021

## 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 a: <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 a: <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 a: <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 a: <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 a: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2017.05.070>