



Evaluación de la presencia de hongos micotoxigénicos
del género *Alternaria* en alimentos

Ekitaldi-aretoa,
Eusko Jaurlaritza,
2022ko apirilaren 7a

**ELIKAGAIEN
SEGURTASUNAREN
ARLOKO IKERKETA
EMAITZAK
TRANSFERITZEKO**

IX. JARDUNALDIA
JORNADA DE
TRANSFERENCIA DE
RESULTADOS DE
INVESTIGACIÓN

Salón de Actos,
Gobierno Vasco, Lakua
7 abril 2022

ÍNDICE

1. Porqué surge el proyecto?
2. Objetivos
3. Participación/Cooperación con agentes de la cadena agroalimentaria vasca
4. Resultados relevantes para reducir riesgos en la cadena agroalimentaria vasca
5. Actividades de difusión y transferencia realizadas



¿PORQUÉ *Alternaria*?

Alternaria spp.: patógeno, saprófito, amplio rango de huéspedes vegetales



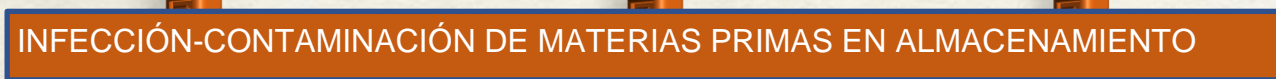
Fuente: Portalfruticola, INRA y NEIKER



Micotoxinas en la cadena alimentaria

¿PORQUÉ *Alternaria*?

ELIKAGAIEN
SEGURTASUNAREN
ARLOKO IKERKETA
EMAITZAK
TRANSFERITZEKO
IX. JARDUNALDIA
JORNADA DE
TRANSFERENCIA DE
RESULTADOS DE
INVESTIGACIÓN



¿Qué son las micotoxinas?

- Toxinas producidas por microorganismos del Reino de los Hongos (hongos y levaduras)
- Algunas conocidas históricamente (fuego de san Antonio)
- Que pueden afectar a la salud de los animales y las personas, además de otros efectos sobre bacterias, plantas, artrópodos, etc
- Metabolitos secundarios *

¿PORQUÉ *Alternaria*?

Alternaria spp.: produce 4 tipos de micotoxinas, con efectos graves para las personas

Table 13: Chronic dietary exposure to *Alternaria* toxins (ng/kg bw per day) in the age class 'Adults' as estimated in the 2011 EFSA scientific opinion (EFSA CONTAM Panel, 2011) and in this scientific report

	2011 EFSA scientific opinion			Current dietary exposure (2016)		
	Minimum	Median	Maximum	Minimum	Median	Maximum
Mean dietary exposure (LB-UB, ng/kg bw per day)						
AOH	1.9-16	3.6-26	5.7-39	1.0-6.9	2.2-9.2	3.1-15
AME	0.8-2.1	1.6-3.6	3.0-4.7	0.8-5.6	1.4-7.6	4.0-10
TeA	36-71	49-97	69-141	49-130	86-178	282-382
TEN	0.01-0.02	0.3-0.4	6.8-7.0	0.7-2.5	1.2-5.1	5.0-13
95th percentile dietary exposure^(a) (LB-UB, ng/kg bw per day)						
AOH	5.9-42	11-65	17-82	4.2-21	7.2-29	9.7-32
AME	3.1-6.1	6.6-11	12-15	3.3-13	5.2-19	6.6-22
TeA	89-169	142-254	219-362	96-260	228-593	300-760
TEN	0.0-0.0 ^(a)	0.9-1.2	13-13	2.2-8.1	4.5-15	10-32

AOH: alternariol; AME: alternariol monomethyl ether; TeA: tenuazonic acid; TEN: tentoxin; LB: lower bound; UB: upper bound; bw: body weight.

(a): The 95th percentile estimates equals zero because less than 5% of the samples were quantified.

EFSA y AESAN: Necesidad de estudios prospectivos para análisis de riesgo

SEGURIDAD ALIMENTARIA

OBJETIVOS DEL PROYECTO

Evaluación de la presencia de hongos micotoxigénicos del género *Alternaria* en alimentos animales y humanos

1. Estudio prospectivo de la incidencia (presencia y abundancia) de especies del género *Alternaria* mediante aproximaciones genómicas y químicas (HPLC/UPLC) en alimentos vegetales en la CAPV

Puesta a punto de métodos para evaluar la incidencia de *Alternaria* spp. y sus micotoxinas derivadas en alimentos de consumo humano y animal.

2. Evaluar los factores ambientales (temperatura, humedad, método de almacenamiento etc.) y microbianos que influyen en la proliferación de *Alternaria* y la producción de micotoxinas, para definir pautas de manipulación/almacenamiento del alimento

3. Establecer pautas para reducir el riesgo de contaminación de *Alternaria* e ingesta de sus micotoxinas.

GRUPOS E INVESTIGADORES PARTICIPANTES

Evaluación de la presencia de hongos micotoxigénicos del género *Alternaria* en alimentos animales y humanos

ELIKAGAIEN
SEGURTASUNAREN
ARLOKO IKERKETA
EMAITZAK
TRANSFERITZEKO
IX. JARDUNALDIA
JORNADA DE
TRANSFERENCIA DE
RESULTADOS DE
INVESTIGACIÓN

1. **NEIKER:** Amaia Ortiz Barredo y Ana Aragonés



2. **UPV/EHU-1: GENOMIC RESOURCES.** Andone Estonba, Iratxe Zarraonaindía (co-IP)

3. **UPV/EHU-2: EKOFISKO.** Antonio Hernández (Co-IP), Jose María Becerril.

4. **UPV/EHU-3: FISIOClima CO₂.** Alberto Muñoz Rueda, Maite Lacuesta, Amaia Mena, Jon Miranda, Usue Perez (co-IP)



3-RESULTADOS RELEVANTES

Intensidad del muestreo: N total 225

Muestras recogidas entre JUNIO 2020-Diciembre 2021

2020 + 2021	nº	
HIPERMERCADO	164	73%
SUPERMERCADO		
MINORISTA	61	27%
TOTAL	225	

20 vegetales de mayor consumo

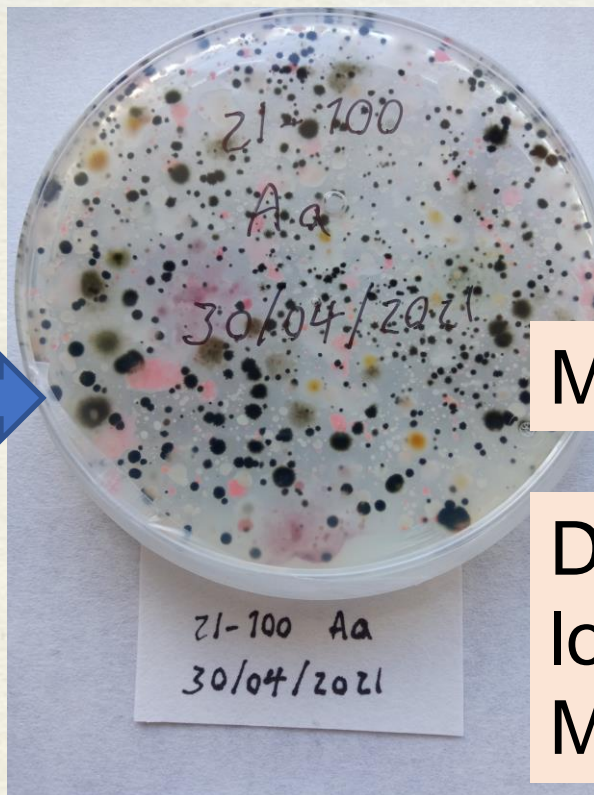
2 épocas agrícolas:
otoño-invierno
primavera-verano



	2020	2021	TOTAL
BIZKAIA	19	51	70
ARABA	20	49	69
GIPUZKOA	15	71	86

3-RESULTADOS RELEVANTES

1. Identificación de *Alternaria* spp. por qPCR-Multiplex



Extracción ADN



Material vegetal en punto de compra

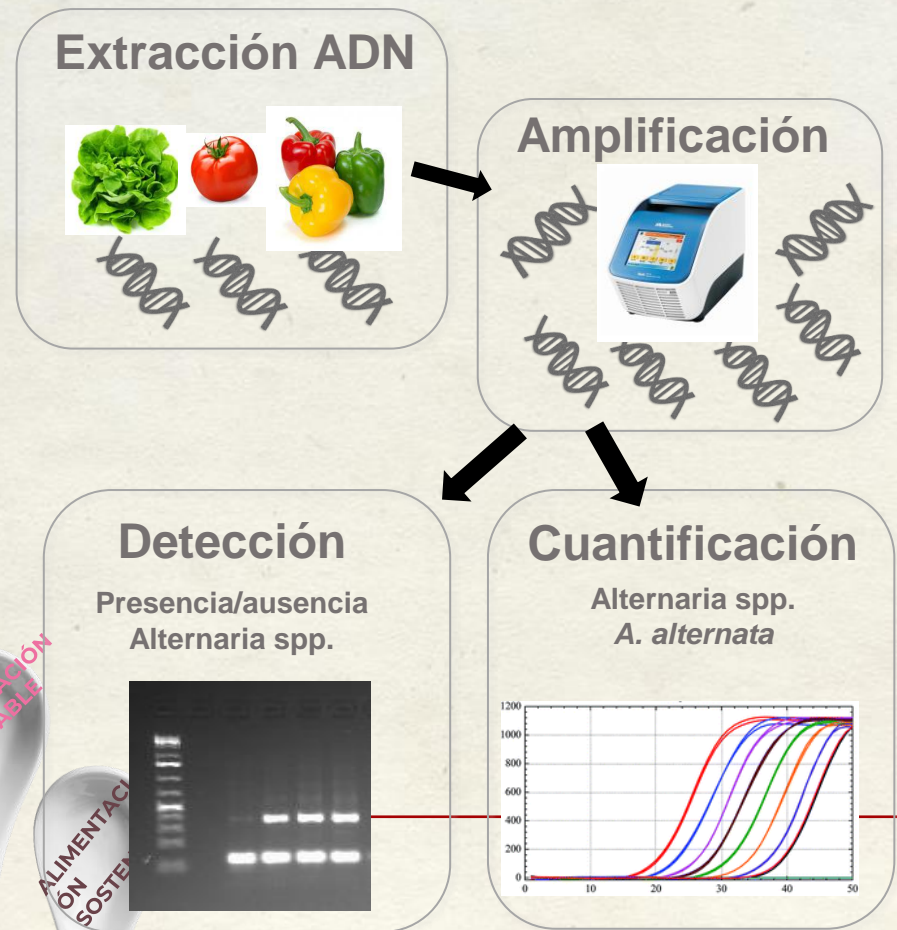
Detección sobre tejido sensible a los hongos (sin manipulación)
Muestra única alicuotada

SEGURIDAD ALIMENTARIA

ALIMENTACIÓN SOSTENIBLE

3-RESULTADOS RELEVANTES

1. Identificación de *Alternaria* spp. por qPCR-Multiplex



Complejo fúngico



3-RESULTADOS RELEVANTES

Extracción, detección y cuantificación de 4 micotoxinas: Alternariol (AOH), Alternariol metil éter (AME), Tentoxina (TEN) Y Ácido Tenuazoico (TeA)

SEGURIDAD ALIMENTARIA
ALIMENTACIÓN SALUDABLE
ALIMENTACIÓN SOSTENIBLE

Extracción

La homogenización se realiza con la mezcla del fruto procesado con 10 mL de agua y con 10 mL de acetonitrilo acidificado con ácido fórmico.

Se realiza una primera extracción selectiva mediante QuEChERS, que se compone principalmente de sales como sulfato de magnesio y cloruro sódico

Una segunda extracción dispersiva líquido-líquido elimina los ácidos orgánicos, azúcares lípidos y pigmentos fotosintéticos, para su análisis mediante UHPLC.

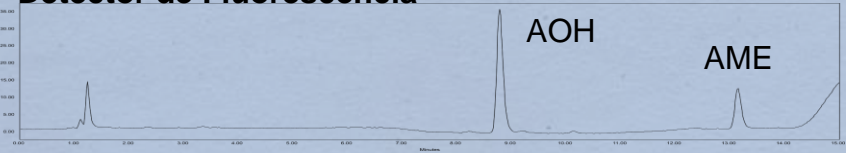
Cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC)



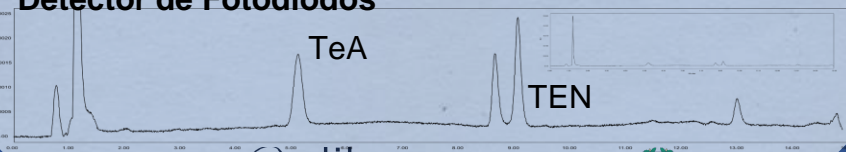
Detección

Para la detección mediante UHPLC de cuatro micotoxinas del género Alternaria, se utiliza una columna Intersil de la marca GL Sciences, sobre la que se aplica un gradiente de solventes (Agua acidificada: Metanol-Acetonitrilo) durante 15 minutos y la posterior detección mediante el detector de fluorescencia y el detector de fotodiodos

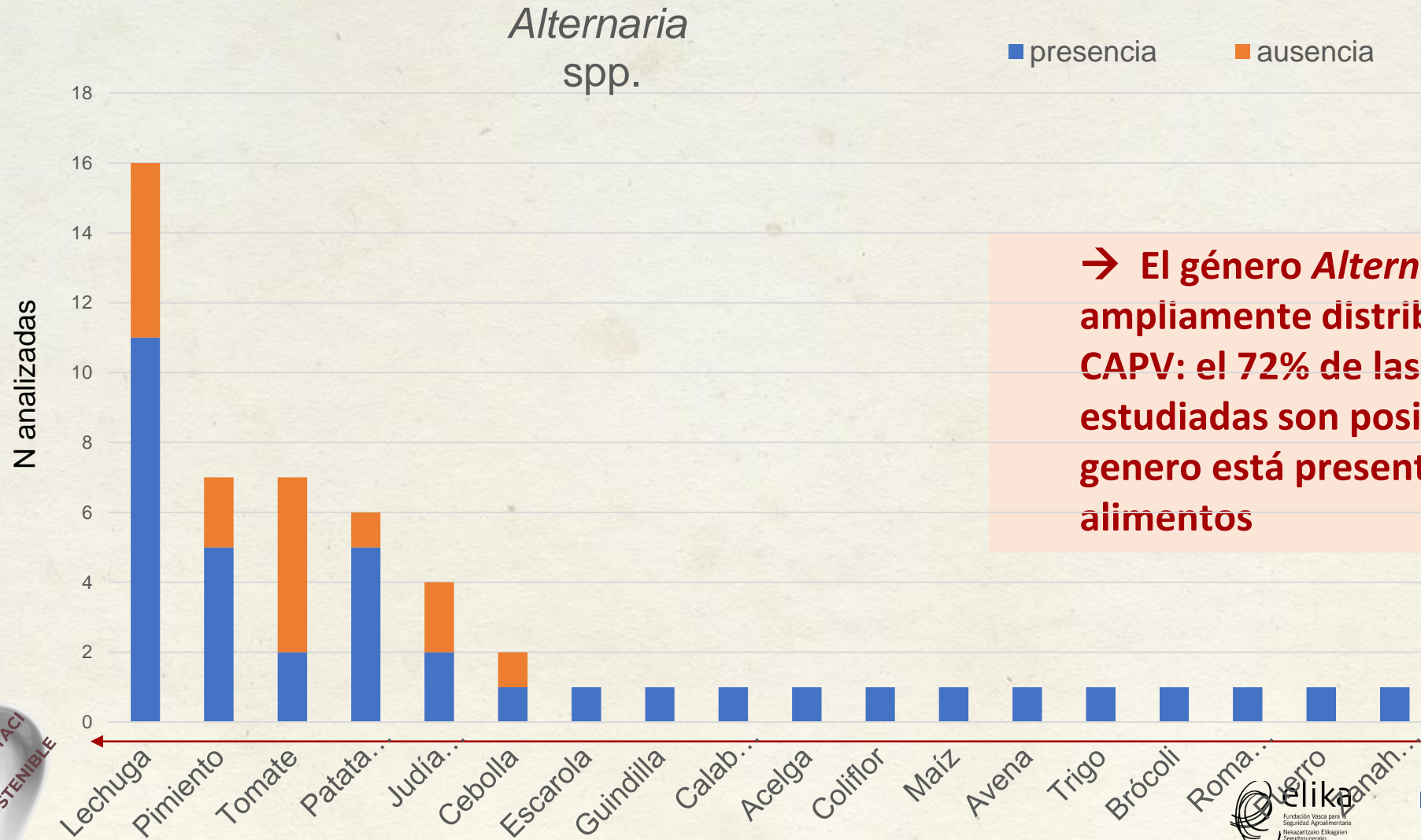
Detector de Fluorescencia



Detector de Fotodiodos



3-RESULTADOS RELEVANTES



→ El género *Alternaria* está ampliamente distribuido en la CAPV: el 72% de las muestras estudiadas son positivas y el género está presente en todos los alimentos



3-RESULTADOS RELEVANTES

→ La incidencia de *A. alternata* es similar en comercio local y supermercado: 23%

	Total analizadas	+ %	<i>A. alternata</i>
Comercio local	54	13	24.07
Super/Hipermercado	164	38	23.17



3-RESULTADOS RELEVANTES

→ La **lechuga** es el alimento con mayor incidencia de especie *A. alternata* y donde mayor número de copias del hongo hemos observado, seguida del **tomate, coliflor y escarola**

	Totales Analizados	Positivos	% Positivos
Tomate	47	7	15%
Lechuga	36	14	39%
Judía verde	14	3	21%
Cebolla	13	1	8%
Patata	13		
Zanahoria	13	2	15%
Pimientos (Gernika etc.)	11	1	9%
Puerro	10	1	10%
Calabacín	9	1	11%
Pimiento verde	9	2	22%
Acelga	8	1	13%
Pimiento rojo	8	2	25%
Brocoli	6	2	33%
Pepino	4		
Coliflor	3	2	67%
Escarola	3	3	100%
Guindilla	3		
Espinaca	2	1	50%
Romanescu	2		
Ajo tierno	1		
Avena	1		
Berza	1		
Boniato	1		
Calabaza	1	1	100%
Cebolleta	1		
Cogollos	1		
Kale	1	1	100%
Maíz	1	1	100%
Repollo	1		
Trigo	1		



3-RESULTADOS RELEVANTES

TOXINAS DE ALTERNARIA:

En el 4,9 % de las muestras de comercio local y el 0,6 % en muestras de supermercado.

Especie	Origen	TEN ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	AOH ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	AME ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
Pimiento	Supermercado	0,19	0,03	0,04
Acelga	Comercio local	0,09	-	-
Cebolla roja	Comercio local	-	0,31	-
Tomate granel	Comercio local	-	0,31	-

→ La concentración de micotoxinas está situada en el **rango bajo/muy bajo** de las descritas en la bibliografía y los informes de la EFSA, lo que hace que **el riesgo asociado a su ingesta es muy bajo**

Concentración de micotoxinas de *Alternaria* en alimentos vegetales en función de su origen. Tentoxina (TEN), Alternariol monometil éter (AME), Ácido tenuazoico (TeA)



3-Resultados relevantes para reducir riesgos en la cadena agroalimentaria vasca Puesta a punto de la metodología

Presentaremos los resultados en diversos congresos como pueden ser el International Food Safety Congress, en Estambul en Noviembre 2022, en una participación que llevaría por título

Título: *First steps for the risk evaluation of Alternaria alternata mycotoxigenic fungi in the Basque Country*

Autores: Iratxe Aguado, Unai Artetxe, Amaia Ortíz, Jon Miranda-Apodaca, Alberto Muñoz-Rueda, Jose M^a Becerril, Andone Estonba, Usue Pérez-López, Antonio Hernandez & Iratxe Zarraonaindia



Si se necesita, nombre de presentación

