

Stellungnahme
zur toxikologischen Bewertung von
Tropanalkaloid-Gehalten in
Getreideprodukten für Kleinkinder

Hamburg, 18.03.2015



Dr. Birgit Schindler
Fachtoxikologin DGPT

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	3
2	Alternativer Ansatz zur Ableitung eines ARfDs	4
3	Maximaler Rückstandsgehalt von Tropanalkaloiden in Getreide berechnet für den Gruppen-ARfD der EFSA	6
4	Maximaler Rückstandsgehalt von Tropanalkaloiden in Getreide berechnet für den neu abgeleiteten ARfD	8
5	Derzeitiger Stand der Analytik von Tropanalkaloiden und Anwendbarkeit des EFSA-ARfDs in der Praxis	9
6	Literaturverzeichnis	10

1 Einleitung

Die Gruppe der Tropanalkaloide (TA) umfasst über 200 verschiedenen Alkaloiden die als natürliche Inhaltsstoffe in Pflanzen wie dem Bilsenkraut, der Engelstrompete, dem Stechapfel oder der Tollkirsche vorkommen. Die bekanntesten Vertreter sind Atropin, Hyoscyamin und Scopolamin.

Von medizinischer Relevanz sind insbesondere die beiden Tropanalkaloide Atropin und Scopolamin. Sie werden als Anticholinergica in Arzneimittel zur Behandlung von vermehrtem Speichelfluss (Hypersalivation), übermäßigem Schwitzen (Hyperhydrosis) und Spasmen im Gastrointestinaltrakt eingesetzt.

Pharmakokinetische und pharmakodynamische Daten liegen aus Studien am Tier und Menschen vor. Tropanalkaloide wirken an den muscarinergen Acetylcholinrezeptoren als Antagonisten des Neurotransmitters Acetylcholin.

Nach der Aufnahme geringer Mengen an TA zeigen sich erste Effekte wie Mundtrockenheit, trockene Haut durch verminderte Schweißabsonderung und eine leicht verlangsamte Herzfrequenz (Bradykardie). Höhere Dosen führen zu einer erhöhten Herzfrequenz (Tachykardie), Pupillenerweiterung (Mydriasis) bis hin zu zentral nervösen Wirkungen wie Halluzinationen und dem Tod durch Atemstillstand¹.

Im Schnellwarnsystem der EU (RASFF) wurden seit 2006 wiederholt Chargen von Getreide und Getreideprodukte gemeldet, die mit tropanalkaloid-haltigen Samen kontaminiert sind. Die Samen von Stechapfel und Bilsenkraut wurden als mögliche Kontaminationsquellen identifiziert.

Die europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) veröffentlichte daraufhin ein Dossier zur Risikobewertung von Tropanalkaloiden in Lebens- und Futtermitteln². Demnach sind Lebensmittel für Kinder und kleine Kinder auf Getreidebasis die als Getreidebreie zubereitet werden besonders häufig mit Tropanalkaloiden kontaminiert.

Weiter leitet die EFSA in dem Dossier einen Gruppen-ARfD für Hyoscyamin und Scopolamin von 0,016 µg/kg Körpergewicht ab. Datengrundlage hierfür war eine Studie an 20 jungen gesunden freiwilligen Männern und ein daraus abgeleiteter NOAEL (no observed adverse effect level) von 0.16 µg/kg Körpergewicht. Um die geringe Probandenzahl bei der Ableitung des ARfD zu berücksichtigen wurde ein Sicherheitsfaktors von 10 angesetzt.

2 Alternativer Ansatz zur Ableitung eines ARfDs

Der von der EFSA abgeleitete ARfD basiert auf einer vergleichsweise kleinen Studie an 20 erwachsenen Männern, die gegen Hyoscyamin und Scopolamin exponiert wurden. Mit Hilfe eines Sicherheitsfaktors von 10 berücksichtigt die EFSA den geringen Umfang der Studien bei Ihrer Ableitung des ARfDs.

Der ARfD wurde abgeleitet um anschließend eine Risikoabschätzung für TA in Getreidebreien durchzuführen. Die durch die Aufnahme von Getreidebreien exponierte Bevölkerungsgruppe sind nahezu ausschließlich Kleinkinder. Daher ist es sinnvoll den ARfD anhand von pharmako-/toxikokinetischen Daten im Kind abzuleiten.

Aus der Arzneimittelzulassung liegen umfangreiche Daten zur Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Tropanalkaloiden bei Kindern vor. Diese wurden in umfangreichen klinischen Studien erhoben, dokumentiert und bewertet. Sie sind unverzichtbar um die therapeutischen Dosen festzulegen und den sicheren Anwendungsbereich der Arzneimittel zu definieren. Tropanalkaloid-haltige Arzneimittel werden seit langem angewendet, weshalb auch zu unerwünschten Wirkungen und den entsprechenden Dosis-Wirkungs-Beziehungen eine breite Datenbasis vorliegt.

Im Folgenden wird daher ein alternativer Ansatz für die Ableitung eines ARfD anhand von Arzneimitteldaten bei Kindern vorgestellt. Generell ist dabei zu beachten, dass im Hinblick auf die Risikobewertung von Arzneimitteln und Lebensmitteln unterschiedliche Maßstäbe angelegt werden.

Die Hauptunterschiede liegen in:

- der Exposition:
Während die Allgemeinbevölkerung über Kontaminationen in Lebensmittel „unkontrolliert“ exponiert werden erfolgt die Gabe von Arzneimitteln gezielt. Möglicherweise vorbelastete Personen können bei Arzneimitteln von der Applikation ausgeschlossen werden.
- dem Nutzen für den Exponierten:
 - **Arzneimittel** haben einen klaren Nutzen (benefit) für den Patienten. Die Risikobewertung erfolgt daher unter Abwägung von Risiko und Nutzen. Mögliche Nebenwirkungen werden je nach Art und Häufigkeit im Hinblick auf den Nutzen für den Patienten abgewogen und ggf. in Kauf genommen. Deshalb wird „...ein vergleichsweise geringer Sicherheitsabstand zwischen therapeutischen und toxischen Konzentrationen als ausreichend angesehen...“³.
 - Über **kontaminierte Lebensmittel** wird der Konsument gegen eine Substanz exponiert ohne Kenntnis darüber oder einen Nutzen davon zu haben. Während bei Arzneimitteln eine Wirkung gewünscht ist möchte man diese für Lebensmittel bei allen exponierten Bevölkerungsgruppen sicher ausschließen.

Ausgangspunkt für die Ableitung des alternativen ARfD ist die niedrigste therapeutische Dosis an TA die für Arzneimitteln festgelegt wurde. Mit „niedrigste therapeutische Dosis“ bezeichnet man die Dosis bei der gerade eben noch ein Effekt zu beobachten ist. Für die Risikobewertung kann sie gleichgesetzt werden mit dem LOAEL, dem lowest observed adverse effect level.

Die Aufnahme und Bioverfügbarkeit einer Substanz hängt maßgeblich vom Aufnahmeweg (oral, dermal, etc.) ab. Daher wird die niedrigste therapeutische Dosis eines oral applizierten Medikaments verwendet.

Das Medikament „*Bellafit N Tropfen 0.5 mg/ml*“ ist für die orale Verabreichung bei Kindern zugelassen. Es enthält Atropin, ein Racemat der Isomeren (-)-Hyoscyamin und (+)-Hyoscyamin. 10 µg/kg Körpergewicht alle 4-6 h sind als therapeutische Dosis im Beipackzettel angegeben⁴. Bezieht man die Wirkung von Bellafit (Atropin) auf (-)-Hyoscyamin, so muss man die angegebene Dosis halbieren, da die Wirkstärke von (-)-Hyoscyamin ist doppelt so hoch wie die des Racemats Atropin ist. Es ergibt sich damit eine therapeutische Dosis von **5 µg/kg Körpergewicht**.

Im EFSA-Dossier wird als niedrigste therapeutische Dosis für Tropanalkaloide ein Wert von **1,4 µg (-)-Hyoscyamin je Kilogramm Körpergewicht** angegeben wobei keine Quelle für diesen Wert genannt wird. Für die weitere Berechnung des ARfD wird daher der Werte von **1,4 µg/kg Körpergewicht** zugrunde gelegt um von der niedrigsten therapeutischen Dosis auszugehen.

Die Ableitung eines ARfD erfolgt stets mit Hilfe von sogenannten Sicherheitsfaktoren. Diese sind notwendig um Intra- und Interspezies-Unterschiede zu berücksichtigen und Unsicherheitsfaktoren hinsichtlich der verwendeten Daten zu kompensieren.

Für die Ableitung des ARfD aus der niedrigsten therapeutischen Dosis wurden die folgenden Sicherheitsfaktoren eingesetzt:

- Ein Sicherheitsfaktor von 5, um von der niedrigsten therapeutischen Dosis (LOAEL) zum no observed adverse effect level (NOAEL) zu extrapolieren. Zum Vergleich: Der Abstand zwischen NOAEL und LOAEL bei der von der EFSA verwendeten Studie entspricht einem Faktor von 3.
- Ein Sicherheitsfaktor von 5 für besonders empfindliche Personen. Dieser Faktor berücksichtigt, dass über die Nahrung auch Personen mit Vorerkrankungen (z.B. am Herzen) exponiert sein können.
- Da die niedrigste therapeutische Dosis sich bereits auf eine Anwendung bei Kindern bezieht ist kein zusätzlicher Sicherheitsfaktor für diese besonderes empfindliche Bevölkerungsgruppe notwendig.

Abgeleitet aus der niedrigsten therapeutischen Dosis von 1,4 µg/kg KG (-)-Hyoscyamin und den beiden Sicherheitsfaktoren (je 5) ergibt sich der ARfD als:
 $1,4 \mu\text{g/kg KG} / (5 \times 5) = 0,14 \mu\text{g/kg KG}$

Dieser aus den Arzneimittel-Daten abgeleitete ARfD liegt etwa zehnfach höher als der ARfD der EFSA (0,016 µg/kg KG). Er deckt sich mit dem NOAEL aus der von der EFSA zugrunde gelegten Humanstudie (0,16 µg/kg KG)⁵.

Der abgeleitete ARfD kann analog dem von der EFSA abgeleiteten Wert als Gruppen-ARfD für die Tropanalkaloide Hyoscyamin und Scopolamin herangezogen werden.

Wie weiter oben bereits näher ausgeführt ist der Personenkreis der möglicherweise exponierten Personen bei Lebensmitteln deutlich größer als bei Arzneimitteln. Ein Ausschluss von Personen mit relevanten Vorerkrankungen erfolgt bei der Exposition über kontaminierte Lebensmittel im Gegensatz zu Arzneimitteln nicht. Diese wurden durch die entsprechenden Sicherheitsfaktoren bei der Ableitung des ARfD berücksichtigt.

Dennoch stellt sich häufig die Frage nach dem Sicherheitsabstand des ARfD zu einer möglichen Gefährdung des Konsumenten. Im Fall der Tropanalkaloide schließt sich an den per Definition sicheren Bereich unterhalb des ARfD ein Konzentrationsbereich an in dem es zu ersten vorübergehenden Effekten wie Mundtrockenheit und eine verlangsamte Herzfrequenz kommt. Dieser Bereich wird in Arzneimitteln als therapeutischer Bereich genutzt. Erst oberhalb der bei Arzneimitteln maximal verabreichten Dosis kommt es zu schwerwiegenden Effekten wie Halluzinationen oder Atemstillstand.

Die therapeutische Breite der tropanalkaloid-haltigen Arzneimittel liefert somit einen Anhaltspunkt für einen zusätzlichen Sicherheitsabstand zwischen dem ARfD und dem Auftreten von schwerwiegenden Effekten nach der Aufnahme von Tropanalkaloiden.

Die niedrigste therapeutische Dosis für ein einjähriges Kind mit 9 kg Körpergewicht liegt bei $1,4 \mu\text{g}/\text{kg Körpergewicht} * 9 \text{ kg KG} = 13 \mu\text{g}$ (-)-Hyoscyamin. Die Maximaldosis Bellafit bezogen auf (-)-Hyoscyamin beträgt $200 \mu\text{g}$ (innerhalb von 4-6 h). Somit entspricht der therapeutische Bereich (13-200 μg bei einem einjährigen Kind) in etwa einem zusätzlichen Sicherheitsfaktor von 15.

3 Maximaler Rückstandsgehalt von Tropanalkaloiden in Getreide berechnet für den Gruppen-ARfD der EFSA

Es soll berechnet werden, welche Menge an (-)-Hyoscyamin und (-)-Scopolamin in Getreide maximal enthalten sein dürfen, damit der ARfD der EFSA für TA auch für Kleinkinder nicht überschritten wird. Diese Berechnung soll als Anhaltspunkt für die Bewertung von Getreidechargen dienen.

Aus toxikologischer Sicht sollte der berechnete Wert auch für Getreide angewendet werden, das nicht explizit für den Verzehr durch Kleinkinder bestimmt ist. Getreidebreie für Kleinkinder können auch aus handelsüblichen Getreideprodukten wie beispielsweise Getreideflocken hergestellt werden und somit ist eine Exposition von Kleinkindern über kontaminierte Getreideprodukte jenseits der speziellen Kinderprodukte nicht sicher auszuschließen.

Bei „Kleinkindern“ handelt es sich um die empfindlichste Bevölkerungsgruppe die durch TA-kontaminiertes Getreide exponiert werden kann. Die Nahrungsaufnahme von Kindern liegt bezogen auf ihr Körpergewicht etwa 3-4fach höher als die Erwachsener⁶. Gleichzeitig sind die speziell für Kleinkinder bestimmten Getreideprodukte (Getreidebreie) laut den Daten der EFSA am stärksten mit TA kontaminiert. Die

EFSA bezeichnet diese Lebensmittelgruppe als „simple cereals which are or have to be reconstituted with milk or other appropriate nutritious liquids“.

Verzehrmengen:

Der maximal tolerierbare Rückstandsgehalt an TA in Getreide ist abhängig von den von Kleinkindern verzehrten Mengen an Getreidebrei.

Verzehrsdaten werden im Rahmen von epidemiologischen Verzehrsstudien erhoben. Dazu werden die Verzehrsgewohnheiten für unterschiedliche Bevölkerungsgruppen (Säuglinge, Kleinkinder, Jugendliche, Erwachsene, ältere Menschen) über einen definierten Zeitraum hinweg umfangreich dokumentiert und anschließend statistisch ausgewertet.

Für Kleinkinder (Alter 1-3 Jahre) liegen laut EFSA derzeit in der EU zwei derartige Studien vor:

- die DONALD-Studie (2006-2008) aus Deutschland und
- die finnische DIPP-Studie.

Die darin erhobenen Verzehrsdaten sind nach Lebensmittelgruppen aufgeschlüsselt in der in der „Comprehensive European Food Consumption Database“ der EFSA hinterlegt. Über die Homepage der EFSA frei zugänglich sind dabei die Daten der ersten beiden Level (FoodEx Level 1 und 2) ⁷. FoodEx Level 3, welcher der Eingruppierung der Verzehrsdaten in die Untergruppe der „simple cereals which are or have to be reconstituted with milk or other appropriate nutritious liquids“ entspricht ist nicht öffentlich zugänglich.

Die entsprechenden Verzehrsdaten lassen sich jedoch aus der Berechnung der EFSA zur Exposition bei Kleinkindern (Abschnitt 6.1.2 des EFSA-Berichts) wie folgt ermitteln:

DONALD-Studie (Kleinkinder 1-3 Jahre)

Die EFSA berechnet für Getreide mit einem TA-Gehalt von 18 µg/kg:

- Für Normalverzehrer:
eine aufgenommene TA-Menge von 0,039 µg/kg KG pro Tag
- Für Hochverzehrer:
eine aufgenommene TA-Menge von 0,081 µg/kg KG pro Tag

Daraus ergeben sich die Verzehrmengen wie folgt:

- Normalverzehrer:
18 µg TA sind in 1 kg (1000 g) Getreide enthalten. Demnach entsprechen 0,039 µg TA 2,2 g Getreide
→ **Verzehrmenge: 2,2 g/kg KG pro Tag.**
- Hochverzehrer:
Die über Getreide aufgenommene TA-Menge von 0,081 µg entsprechen 4,5 g Getreide
→ **Verzehrmenge 4,5 g/kg KG pro Tag**

Um die Plausibilität der auf diese Weise erhaltenen Daten zu prüfen wurden diese mit den Verzehrsempfehlungen auf einem „HiPP Bio-Getreidebrei feine Hirse“ verglichen. Dort wird 1x täglich ein Getreidebrei mit 22 g Getreide empfohlen.

Nimmt man für ein einjähriges Kind ein Körpergewicht von 9 kg an ⁸ so ergibt sich aus der Verzehrsmenge für Normalverzehrer von 2,2 g/kg KG pro Tag eine absolute Verzehrsmenge von 2,2 g/kg KG pro Tag * 9 kg KG = 20 g/Tag. Diese stimmt gut mit der HiPP-Verzehrsempfehlung überein.

Maximale tolerierbarer Rückstandsgehalt

Der ARfD bezieht sich auf die Aufnahme eines Fremdstoffs über die Nahrung innerhalb eines kurzen Zeitraums, üblicherweise innerhalb einer Mahlzeit oder an einem Tag ⁹. Er wird für Stoffe abgeleitet, die eine hohe akute Toxizität aufweisen.

Berechnet man aus dem Gruppen-ARfD den maximalen Rückstandsgehalt in einem Lebensmittel, so ist zu beachten, dass selbst nach dem Verzehr einer großen Portion des Lebensmittels keine Gefahr für den Verbraucher ausgeht. Dieser Tatsache wird dadurch Rechnung getragen, dass der maximale Rückstandsgehalt anhand der Verzehrsmengen eines Hochverzehrs berechnet wird.

Die EFSA hat für TA eine ARfD von 0,016 µg/kg KG pro Tag abgeleitet. Es wird angenommen, dass Kleinkinder TA ausschließlich über Getreidebreie aufnehmen und keine weiteren TA-Quellen zur Exposition beitragen. 0,016 µg TA /kg KG werden somit über den Verzehr der 4,5 g Getreidebrei/kg KG aufgenommen.

Getreide muss demnach weniger als 0,016 µg TA / 4,5 g Getreide enthalten damit der ARfD für Kleinkinder unterschritten ist.

Das entspricht einem Gehalt von **weniger als 3,6 µg/kg TA**.

4 Maximaler Rückstandsgehalt von Tropanalkaloiden in Getreide berechnet für den neu abgeleiteten ARfD

Die Berechnung des maximalen Rückstandsgehalts in Getreide für den anhand von Arzneimitteldaten abgeleiteten ARfD (s. Abschnitt 2) erfolgt analog zu der im Abschnitt 3 ausgeführten Berechnung. Es werden die Verzehrdaten für Hochverzehrer von Getreidebrei aus der DONALD-Studie verwendet.

Der neu abgeleitete ARfD beträgt 0,14 µg/kg KG pro Tag. Ein Kleinkind aus der Gruppe der Hochverzehrer nimmt täglich 4,5 g Getreide je Kilogramm Körpergewicht auf.

Somit muss Getreide weniger als 0,14 µg TA / 4,5 g Getreide enthalten damit der neu abgeleitete ARfD nicht überschritten wird.

Das entspricht einem Gehalt von **31 µg/kg TA**. **Verglichen mit dem Rückstandsgehalt der auf Basis des EFSA-ARfD berechnet wurde liegt der tolerierbare Gehalt nach dieser Berechnung etwa zehnfach höher.**

5 Derzeitiger Stand der Analytik von Tropanalkaloiden und Anwendbarkeit des EFSA-ARfDs in der Praxis

Tropanalkaloide werden erst seit wenigen Jahren in Lebensmitteln analysiert. Die Zahl der Labore, die eine entsprechende Analytik etabliert haben ist vergleichsweise gering.

Derzeit ist keine allgemein anerkannte Analysenmethode verfügbar. Dies zeigt sich auch in der Zusammenstellung der EFSA, die verschiedenste Analysenmethoden für die Quantifizierung von Tropanalkaloiden nennt. Die meisten Verfahren beschränken sich auf den Nachweis von Hyoscyamin und Scopolamin. Verwendet werden sowohl GC-MS/MS als auch LC-MS(/MS). Die Bestimmungsgrenzen der von der EFSA zusammengestellten Methoden liegen zwischen 1 und 6 µg/kg (GC) und 3 µg/kg (LC) für die beiden Alkaloide.

Derzeit ist weder Referenzmaterial für die Tropanalkaloide verfügbar noch wurde ein Laborkompetenztest für diese Substanzen durchgeführt. Es ist somit fraglich, ob im in der Routine ein ARfD von < 4 µg/kg in Getreide mit den verfügbaren Analysemethoden valide überprüfbar ist.

6 Literaturverzeichnis

1. Forth, W., Henschler, D., Rummel, W. & Starke, K. *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*. (1998).
2. EFSA (European Food and Safety Authority). Scientific Opinion on Tropane alkaloids in food and feed. *EFSA J.* **11**, 1–113 (2013).
3. Vohr, H.-W. *Toxikologie*. (WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2010).
4. Streuli Pharma. Fachinformation des Arzneimittel-Kompendium der Schweiz, Bellafit® N Tropfen 0.5 mg/ml. (2010).
<https://www.compendium.ch/mpro/mnr/5115/html/de>
5. Perharič, L., Juvan, K. A. & Stanovnik, L. Acute effects of a low-dose atropine/scopolamine mixture as a food contaminant in human volunteers. *J. Appl. Toxicol.* **33**, 980–990 (2013).
6. BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung). Kinder in der gesundheitlichen Bewertung stofflicher Risiken. *Stellungnahme vom 12.12.2003* (2003).
7. EFSA (European Food and Safety Authority). Umfassende Europäische Datenbank der EFSA über den Lebensmittelverzehr. (2015).
<http://www.efsa.europa.eu/de/datexfoodcdb/datexfooddb.htm>
8. WHO (World Health Organization). WHO Child Growth Standards, Weight for age. (2000).
9. WHO (World Health Organization). *Food consumption and exposure assessment of chemicals. Rep. a FAO/WHO Consult.* 98 (1997).