



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

Pyrrolizidine alkaloiden in kruidenpreparaten

RIVM Briefrapport 090437001/2014
L. de Wit et al.



Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu
*Ministerie van Volksgezondheid,
Welzijn en Sport*

Pyrrolizidine alkaloiden in kruidenpreparaten

RIVM Briefrapport 090437001/2014
L. de Wit et al.

Colofon

© RIVM 2014

Delen uit deze publicatie mogen worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), de titel van de publicatie en het jaar van uitgave.

Lianne de Wit (VPZ)
Liesbeth Geraets (VSP)
Bas Bokkers (VSP)
Suzanne Jeurissen (VPZ)

Contact:
Suzanne Jeurissen
VPZ
suzanne.jeurissen@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van NVWA, in het kader van Kennisvraag 9.4.37

Dit is een uitgave van:

**Rijksinstituut voor Volksgezondheid
en Milieu**

Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven

www.rivm.nl

Publiekssamenvatting

Pyrrolizidine alkaloiden in kruidenpreparaten

Pyrrolizidine alkaloiden (PA's) zijn stoffen die van nature in veel plantensoorten voorkomen, onder andere in kruiden. Deze stoffen zijn schadelijk als mensen ze in te grote hoeveelheden binnenkrijgen. Ze hebben kankerverwekkende eigenschappen en kunnen de lever ernstig beschadigen. Er bestaat een productnorm voor de maximaal toegestane hoeveelheid PA's in kruidenpreparaten (1 microgram per kilo).

Het RIVM heeft onderzocht of de productnorm nog steeds overeenkomt met de huidige wetenschappelijke inzichten. Voor kruidenthee en voedingssupplementen met kruiden is dat het geval. Vanuit wetenschappelijk oogpunt zou voor deze productgroepen een iets minder strenge norm mogelijk zijn (5 microgram per kilo). Maar vanwege de kankerverwekkende eigenschappen van PA's is het wenselijk om de blootstelling zo laag mogelijk te houden.

Behalve voor kruidenthee en voedingssupplementen met kruiden geldt de productnorm ook voor andere levensmiddelen waaraan kruiden(extracten) zijn toegevoegd. Voorbeelden hiervan zijn frisdranken of snoepjes met kruidenextracten. Over de samenstelling en consumptie van deze 'overige kruidenpreparaten' is te weinig bekend om conclusies over een aanpassing van de huidige productnorm te trekken.

Dit blijkt uit onderzoek van het RIVM waarin op basis van de huidige wetenschappelijke inzichten een risicobeoordeling is opgesteld. Dit onderzoek is uitgevoerd in opdracht van de Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit (NVWA).

Trefwoorden: Pyrrolizidine alkaloiden, kruidenthee, kruidensupplementen, risicobeoordeling

Abstract

Pyrrrolizidine alkaloids in herbal preparations

Pyrrrolizidine alkaloids (PAs) are natural toxins occurring in a wide variety of plants, including herbs. When excessive amounts are ingested, these toxins are harmful to humans because PAs are carcinogenic and may cause severe liver damage. The quantity of PAs present in herbal preparations may not exceed 1 microgramme per kilo.

The Dutch National Institute for Public Health and the Environment (RIVM) has investigated whether this limit value is still in accordance with the latest scientific insights. This is indeed the case for herbal teas and food supplements containing herbs. From a scientific point of view, it is even possible to adopt a slightly less strict limit value (5 microgrammes per kilo). Because PAs are genotoxic carcinogens, however, it is advisable to minimize exposure to these toxins.

In addition to herbal teas and food supplements containing herbs, the limit value also applies to other food products and beverages containing herbs or herbal extracts, such as soft drinks or sweets containing herbal extracts. The precise composition and consumption levels of these 'other herbal preparations' are unknown, making it impossible at this time to draw any conclusions on adjusting the limit value for these types of products.

These are the main findings of a study conducted by RIVM which included a risk assessment of PAs based on the latest scientific insights. The study was commissioned by the Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority (NVWA).

Key words: Pyrrrolizidine alkaloids, herbal teas, herbal supplements, risk assessment

Inhoudsopgave

Samenvatting – 9

1 **Introductie – 11**

2 **Wetgeving pyrrolizidine alkaloiden in kruidenpreparaten – 13**

- 2.1 Warenwetbesluit Kruidenpreparaten – 13
- 2.2 Wetgeving in andere landen – 14
- 2.3 Activiteiten rondom PA's – 15

3 **Toxicologie – 17**

- 3.1 Beschrijving toxiciteit PA's – 17
- 3.2 Voorgaande beoordelingen RIVM – 17
- 3.3 Beschikbare gezondheidkundige grenswaarden en uitgangspunten voor de risicobeoordeling van PA's – 18
- 3.4 Dosis-respons analyse voor het meest kritische effect – 19

4 **Innameberekeningen en risicobeoordeling – 21**

- 4.1 Gehaltes PA's in kruidenthee en kruidensupplementen – 21
- 4.2 Blootstellingsschatting – 22
 - 4.2.1 Blootstelling via kruidenthee – 22
 - 4.2.2 Blootstelling via kruidensupplementen – 22
 - 4.2.3 Blootstelling via TCM – 23
 - 4.2.4 Blootstelling uit andere voedingsmiddelen – 23
- 4.3 Risicobeoordeling – 24

5 **Discussie en normstelling – 27**

- 5.1 Discussie – 27
 - 5.1.1 Risicobeoordeling genotoxische carcinogenen – 27
 - 5.1.2 Gebruikte BMDL₁₀ vs. gemeten PA's in de kruidenpreparaten – 28
 - 5.1.3 Blootstellingsberekeningen – 28
- 5.2 Aanbevelingen voor normstelling – 28
- 5.3 Conclusies met betrekking tot vragen NVWA – 30

Dankwoord – 33

Referenties – 35

Bijlagen – 39

Samenvatting

Pyrrolizidine alkaloiden (PA's) zijn natuurlijke toxinen die in ca. 3% van alle bloeiende planten voorkomen, zoals in bijvoorbeeld jacobskruiskruid. Er zijn meer dan 600 PA's geïdentificeerd, waarvan ongeveer de helft voor de mens toxische eigenschappen bezit. PA's kunnen zowel acute, chronische, carcinogene, genotoxische als teratogene effecten hebben. Het meest frequent gerapporteerde toxische effect van PA's bij de mens is leverschade. In proefdieren is daarnaast het ontstaan van tumoren, met name in de lever maar ook in andere weefsels, aangetoond. Mensen kunnen aan PA's worden blootgesteld via onder meer de consumptie van kruidenpreparaten. Voorbeelden van kruidenpreparaten zijn kruidenthee en voedingssupplementen met kruiden.

De huidige wettelijke norm voor PA's in kruidenpreparaten in Nederland bedraagt 1 µg/kg respectievelijk 1 µg/L. In opdracht van de NVWA heeft het RIVM onderzocht waar deze productnorm van 1 µg/kg op gebaseerd is, en of er aanleiding is om de norm te herzien. De herkomst van de productnorm voor PA's van 1 µg/kg is onduidelijk. De productnorm is niet voorgesteld/afgeleid door het RIVM. Mogelijk houdt de norm verband met de gezondheidkundige grenswaarde van het Duitse Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) van 1 µg/dag, maar dit valt niet meer te herleiden.

Of de huidige productnorm aangepast kan worden, is onderzocht door een hernieuwde risicobeoordeling uit te voeren voor PA's. Hiervoor is allereerst een BMDL₁₀¹ afgeleid op basis van orale carcinogeniteitsstudies met riddelline en lasiocarpine in rat en/of muis met het ontstaan van lever hemangiosarcomen² als meest kritische effect. De berekende BMDL₁₀ bedraagt 0,3 mg/kg lg/dag.

Omdat PA's bij hogere dosering ook acute effecten (veno-occlusive disease, VOD) kunnen veroorzaken, wordt aanbevolen om te onderzoeken of een Acute Reference Dose (ARFD) voor PA's afgeleid kan worden. Dit om in te kunnen schatten bij welke PA-gehalten in kruidenpreparaten of andere voedingsmiddelen acute effecten niet uit te sluiten zijn.

Daarnaast wordt een overzicht gegeven van de beschikbare analysegegevens voor PA's in kruidenpreparaten, geanalyseerd met een analysemethode met een limit of quantification (LOQ) van 5 µg/kg. In 40 van de 187 geanalyseerde kruidenpreparaten zijn PA's gemeten, in gehalten die sterk varieerden tussen en binnen de groepen: 23-600 µg/kg product in kruidenthee (n=11), 10-4200 µg/kg product in kruidensupplementen (n=20), en 30-60.400 µg/kg product in Traditional Chinese Medicines (TCMs) (n=8). Van één kruidenpreparaat kon niet worden vastgesteld wat voor type product het betreft. De overige kruidenpreparaten hebben PA-gehalten onder de LOQ van 5 µg/kg, maar het is niet bekend of deze preparaten voldoen aan de productnorm (1 µg/kg) of niet. Voor de kruidenthee en kruidensupplementen waarin PA's zijn gemeten, is een innameschatting en risicobeoordeling uitgevoerd door middel van de Margin of Exposure (MOE)-benadering. Voor TCM's was dit niet mogelijk door het ontbreken van specifieke gebruiksinformatie. Uitgaande van een worst

¹ Ondergrens van het betrouwbaarheidsinterval van de benchmark dose (BMD) die gerelateerd is aan een 10% toename in kankerrisico

² Tumoren in de bloedvaten

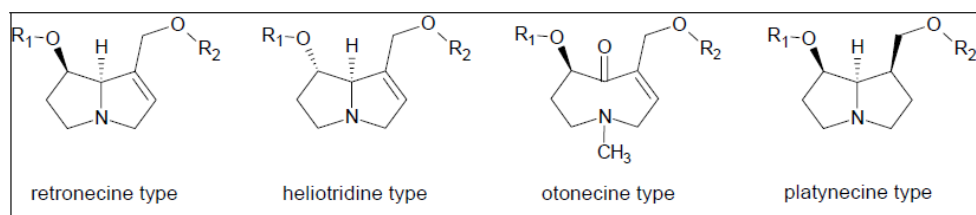
case blootstellingsscenario komt voor 9 van de 11 kruidenthee en 7 van de 20 kruidensupplementen de MOE onder de grens van 10.000 uit. Hierdoor kan een gezondheidsrisico door blootstelling aan PA's via de consumptie van deze kruidenpreparaten niet uitgesloten worden. Uitgaande van een gemiddeld blootstellingsscenario geldt dit nog voor 4 van de 11 kruidenthee en 4 van de 20 kruidensupplementen. Hierbij moet de kanttekening geplaatst worden dat er een aantal aannames gedaan zijn met betrekking tot de wijze van gebruik van de kruidenpreparaten en dat er geen rekening gehouden is met gecombineerde blootstelling met andere kruidenpreparaten of voedingsmiddelen die PA's bevatten.

Op dit moment is er een productnorm geldend voor alle kruidenpreparaten, maar omdat er voor 'overige kruidenpreparaten', anders dan kruidenthee en kruidensupplementen, meer informatie nodig is over de aard van de preparaten en de consumptie ervan, kan op dit moment niet geconcludeerd worden dat de productnorm voor deze kruidenpreparaten verhoogd kan worden. Daarom wordt een aparte norm voorgesteld voor kruidenthee en kruidensupplementen. Er is ruimte om de productnorm voor kruidenthee en kruidensupplementen eventueel te verhogen naar 5 µg/kg als wordt uitgegaan van een MOE van 10.000 ten opzichte van de nieuw afgeleide toxicologische grenswaarde, de BMDL₁₀ van 0,3 mg/kg lg/dag. Echter, omdat PA's genotoxische carcinogenen zijn, is het wenselijk de blootstelling aan PA's zo laag mogelijk te houden, rekening houdend met onvermijdbare contaminatie van kruidenpreparaten met toxische PA's. Uiteindelijk is het een beleidskeuze of verhoging van de productnorm voor PA's nodig en wenselijk is, waarbij bovenstaande aspecten moeten worden meegewogen.

1 Introductie

Pyrrolizidine alkaloiden (PA's) zijn natuurlijke toxinen die in zeer veel verschillende plantensoorten voorkomen. Zo zijn er meer dan 6000 soorten waarvan gedacht wordt dat ze deze natuurlijke toxinen bevatten, wat neerkomt op ca. 3% van alle bloeiende planten. Het jacobskruiskruid (*Senecio jacobaea*) is daarvan de bekendste vertegenwoordiger in Nederland. Er zijn meer dan 600 PA's geïdentificeerd, waarvan ongeveer de helft voor de mens toxische eigenschappen bezit.

PA's zijn heterocyclische verbindingen die voornamelijk terug te voeren zijn op vier verschillende type necine-basen: retronecine, heliotridine, otonecine en platynecine (zie Figuur 1.1). De PA's gebaseerd op de platynecine-basen worden geacht niet toxisch te zijn doordat ze een andere biotransformatieroute doorlopen, waarschijnlijk vanwege het feit dat deze PA's verzadigde bindingen hebben (Ruan et al., 2014).



Figuur 1.1 Basisstructuur van de vier necine-basen die in de meeste PA's aangetroffen worden (Hartmann en Witte, 1995).

Blootstelling aan PA's kan negatieve gevolgen voor de gezondheid hebben voor in het wild levende dieren, landbouwhuisdieren en de mens. Voor de mens kunnen onder meer kruidenpreparaten een bron van blootstelling aan PA's vormen. Het toenemend aanbod en gebruik van kruidenpreparaten in de laatste jaren kan een verhoogd risico voor individuen met zich meebrengen.

In Nederland is er een wettelijke norm voor PA's in kruidenpreparaten vastgelegd in het Warenwetbesluit Kruidenpreparaten (artikel 4): "*De hoeveelheid toxische pyrrolizidine-alkaloïden van kruidenpreparaten die bestaan uit materiaal dat geheel of ten dele afkomstig is van planten, bedoeld in onderdeel I van de bijlage, of van andere planten waarvan wordt aangenomen dat ze toxische pyrrolizidine-alkaloïden bevatten, bedraagt niet meer dan 1 µg per kg, onderscheidenlijk per liter.*"

De NVWA heeft in kennisvraag 9.4.37 gevraagd om te onderzoeken waar deze huidige norm op gebaseerd is, en of er aanleiding is om deze norm en de formulering in het Warenwetbesluit aan te passen.

In dit briefrapport zal op de bovenstaande punten nader worden ingegaan. In hoofdstuk 2 zal de huidige wetgeving met betrekking tot PA's worden besproken evenals de achtergrond ervan en een voorstel tot wijziging en vereenvoudiging van de wettekst. Ook zal een beknopt overzicht worden gegeven van de wetgeving in andere landen. Hoofdstuk 3 zal een overzicht geven van de toxicologie. In dit hoofdstuk zal tevens een dosis-respons afleiding voor het meest kritische effect beschreven worden. In hoofdstuk 4 wordt een overzicht

gegeven van de beschikbare analysegegevens voor PA's in kruidenpreparaten. Voor de beschikbare preparaten is een innameschatting en risicobeoordeling uitgevoerd. In hoofdstuk 5 zal tenslotte de discussie worden gepresenteerd als ook aanbevelingen voor de normafleiding en de conclusies.

2 Wetgeving pyrrolizidine alkaloiden in kruidenpreparaten

2.1 Warenwetbesluit Kruidenpreparaten

Kruidenpreparaten worden meer en meer gebruikt vanwege de (al dan niet vermeende) gunstige gezondheidseffecten. Keerzijde is dat er ook schadelijke gezondheidseffecten kunnen optreden. Het Warenwetbesluit biedt daarom regelgeving op dit gebied. Kruidenpreparaten zijn in het besluit gedefinieerd als "een kruidensubstantie, al dan niet bewerkt, die bestemd is te worden gebruikt door de mens, daaronder begrepen kruidenextracten". Niet alle kruidenpreparaten vallen onder de werking van dit Warenwetbesluit. Voor het gebruik van kruiden in/als geneesmiddelen, cosmetische producten, specerijen en kruiden en levensmiddelenaroma's geldt andere wetgeving. Onder het kruidenbesluit vallen eet- en drinkwaren (bijvoorbeeld voedingssupplementen, frisdranken en snoepjes met kruiden) maar ook kruidenpreparaten die voor uitwendig gebruik bestemd zijn. Kruidenpreparaten mogen geen kruidensubstanties bevatten die schadelijk zijn voor de volksgezondheid. In de praktijk blijkt dat dit echter niet altijd het geval is. Voor een aantal kruiden en stoffen zijn daarom specifiekere bepalingen vastgelegd. Met betrekking tot PA's is het volgende vastgelegd:

"De hoeveelheid toxische pyrrolizidine-alkaloïden van kruidenpreparaten die bestaan uit materiaal dat geheel of ten dele afkomstig is van planten, bedoeld in onderdeel I van de bijlage, of van andere planten waarvan wordt aangenomen dat ze toxische pyrrolizidine-alkaloïden bevatten, bedraagt niet meer dan 1 µg per kg, onderscheidenlijk per liter."

Toxische PA's zijn hierbij gedefinieerd als "esteralkaloïden die zijn afgeleid van necinediol (7-hydroxy-1-hydroxymethylpyrrolizidine) met een 1,2-onverzadigde binding, inclusief de onderscheiden N-oxides". In onderdeel I van de bijlage van het Warenwetbesluit is weergegeven welke plantensoorten geacht worden toxische PA's te bevatten. In de nota van toelichting bij het Warenwetbesluit Kruidenpreparaten staat dat deze lijst geen limitatieve opsomming is, maar de plantensoorten bevat waarvan op het moment van vaststellen van het Warenwetbesluit in 2001 bekend was dat deze toxische PA's bevatten. Van andere plantensoorten die ervan verdacht worden toxische PA's te bevatten zal door middel van analyse duidelijkheid verkregen moeten worden in hoeverre deze plantensoorten geschikt zijn voor gebruik in kruidenpreparaten. Deze planten vallen door de zinsnede "andere planten waarvan wordt aangenomen dat ze toxische pyrrolizidine-alkaloïden bevatten" onder de bepalingen van het Warenwetbesluit.

Gezien de formulering in het Warenwetbesluit kan de NVWA niet volstaan met het vaststellen van een te hoog gehalte toxische pyrrolizidine alkaloiden in een kruidenpreparaat. De NVWA moet ook de herkomst hiervan aantonen. Een vereenvoudiging dan wel verduidelijking van deze zinsnede is inmiddels opgenomen in de conceptwijziging van het Warenwetbesluit (VWS, 2014). Hierin wordt de volgende formulering met betrekking tot PA's voorgesteld:

"De hoeveelheid toxische pyrrolizidine-alkaloïden van kruidenpreparaten bedraagt niet meer dan 1 µg per kg, onderscheidenlijk per liter."

Onderdeel I van de bijlage zal daarbij vervallen, er wordt dus geen lijst met planten die toxische PA's bevatten meer gegeven. Hierdoor wordt duidelijker gesteld dat er niet meer dan de genoemde hoeveelheid PA's in kruidenpreparaten mag zitten, zonder verder in te gaan op waar die PA's vandaan komen.

De herkomst van de productnorm voor PA's van 1 µg/kg is onduidelijk. In het RIVM rapport uit 1997 getiteld "Pyrrolizidine Alkaloïden" is de, toen nog voorgestelde, productnorm beoordeeld. Deze concept productnorm is dus niet voorgesteld/afgeleid door het RIVM. In het RIVM rapport is geconcludeerd dat er geen aanwijzingen waren dat de productnorm van 1 µg/kg voor PA's in kruidenpreparaten op basis van de destijds beschikbare literatuur te hoog was (van Engelen et al., 1997). Er wordt ook kort verwezen naar de norm die in Duitsland door het Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) is afgeleid in het kader van de registratie van fytotherapeutische, homeopathische en antroposofische geneesmiddelen. Dit betreft een gezondheidskundige grenswaarde in plaats van een productnorm en deze is vastgesteld op 1 µg PA's/dag bij oraal gebruik. Het zou kunnen dat de Nederlandse productnorm verband houdt met deze gezondheidskundige grenswaarde van BfR. Echter, het is niet meer te herleiden of deze gezondheidskundige grenswaarde inderdaad ten grondslag ligt aan de productnorm in het Warenwetbesluit en wat de overwegingen waren om deze gezondheidskundige grenswaarde eventueel te vertalen naar de productnorm van 1 µg/kg. Dit is eerder geprobeerd in opdracht van de NVWA, maar niet gelukt (Van der Zee, 2005; Hans van Egmond, persoonlijke communicatie). De definities voor toxische PA's in het Warenwetbesluit en zoals opgesteld door de BfR zijn overigens wel hetzelfde: 1,2-onverzadigde PA's, inclusief PA N-oxides (PANO's) (Kempf et al., 2010).

2.2 Wetgeving in andere landen

Er zijn een aantal landen die wetgeving hebben met betrekking tot het gebruik van planten en plantbestanddelen die PA's kunnen bevatten in voedingsmiddelen, of die specifieke adviezen geven. Hieronder volgt een beknopt overzicht.

In Australië en Nieuw-Zeeland is de Australia New Zealand Food Standards Code van kracht, welke een lijst bevat met planten die niet *bewust* toegevoegd mogen worden aan voedingsmiddelen of als voedingsmiddel verkocht mogen worden. Hierop staan diverse planten die PA's bevatten zoals de kruiskruidfamilie (*Senecio* spp) en smeerwortel (*Symphytum* spp). Dit geldt niet alleen voor de plant in zijn geheel, maar ook voor delen van de plant, derivaten van de plant en voor stoffen gewonnen uit de plant (ANZFSC, 2011).

Ook in België bestaat een negatieve lijst met planten, waaronder planten die PA's bevatten, die niet in de handel gebracht mogen worden als - of verwerkt in - voedingsmiddelen. Voor bernagie olie (afkomstig van *Borago* spp.) is daarbij opgenomen dat het wel gebruikt mag worden in voedingssupplementen als met een analysemethode met een adequate detectielimiet aangetoond kan worden dat er geen PA's in zitten (Koninklijk besluit, 1997). Daarnaast is het verboden geneesmiddelen voor inwendig gebruik in de handel te brengen die samengesteld zijn uit één of meer van de volgende PA-bevattende planten of plantendelen, of afgeleide derivaten hiervan: *Borago officinalis* L., *Eupatorium*

cannabinum L., *Petasites officinalis* Moench., *Jacobaea vulgaris* Gaertn., *Senecio vulgaris* L., *Symphytum officinale* L., en *Tussilago farfara* L. (Fagg, 2013).

Sinds 1992 is in Duitsland het gebruik van PA-bevattende planten en preparaten daarvan in kruidengeneesmiddelen gereguleerd. Slechts een beperkt aantal (preparaten van) PA-bevattende planten mogen op de markt gebracht worden. Daarnaast moet op de verpakking van producten waarin PA's kunnen zitten de waarschuwing staan dat dergelijke producten niet gebruikt mogen worden tijdens de zwangerschap en lactatieperiode (Bundesgesundheitsamt, 1992 uit Kempf et al., 2010).

Net als in Duitsland, mogen in Oostenrijk slechts een paar PA-bevattende planten als geheel of als preparaat worden gebruikt als kruidengeneesmiddel. Daarnaast moet met 'state of the art' analysemethoden aangetoond worden dat het uiteindelijke product geen PA's bevat (Bundesgesetzblatt, 1989 uit Kempf et al., 2010).

In de Verenigde Staten heeft de US Food and Drug Administration (FDA) geadviseerd orale preparaten die smeerwortel bevatten of producten die PA's bevatten uit andere bron van de markt te halen (FDA, 2001). In een aantal andere landen, zoals Japan, het Verenigd Koninkrijk en Zuid-Afrika, is de verkoop van smeerwortel (*Symphytum* spp.), of producten die smeerwortel bevatten, verboden (article 6.2 Food Sanitation Law, Min Health Labour and Welfare, 2004 uit FAO/WHO, 2011; Kempf et al., 2010; DAFF, 2008).

2.3 Activiteiten rondom PA's

Binnen de Codex Alimentarius is een discussiedocument over PA's geschreven omdat erkend werd dat deze natuurlijke contaminanten een serieuze impact op de volksgezondheid kunnen hebben (FAO/WHO, 2011). Dit discussiedocument, dat is opgesteld door een werkgroep waarvan het RIVM namens Nederland trekker was, geeft een overzicht van de informatie die destijds beschikbaar was omtrent PA's. Hierin werd tevens geconcludeerd dat er behoefte was aan het verder ontwikkelen van analytische referentiestandaarden en gevalideerde analysemethoden, data met betrekking tot het vóórkomen van PA's in voedsel en veevoer, en informatie over welke PA's met name een gezondheidsrisico vormen. Als gevolg van deze feiten werd besloten nog niet te beginnen met het vaststellen van maximale limieten (MLs), maar PA's op de 'priority list' voor JECFA te plaatsen. JECFA is gevraagd te identificeren welke PA's met name een risico vormen en een risicobeoordeling uit te voeren als dat mogelijk is, en anders te identificeren welke informatie ontbreekt. Als voorzet hierop zal in de loop van 2014 begonnen worden met een systematisch review over PA's, getrokken door Nederland. Wel is inmiddels tijdens de 8^e sessie van de Codex Committee on Contaminants in Food (31 maart t/m 4 april 2014) een draft Code of Practice met betrekking tot onkruidbestrijding, om zo contaminatie van voedsel met PA's te voorkomen dan wel te beperken, besproken en door de vergadering aangenomen om verder te gaan in de stappenprocedure.

De European Medicines Agency (EMA) heeft eind 2013 een public statement gepubliceerd met betrekking tot het gebruik van kruidengeneesmiddelen die toxische, onverzadigde PA's bevatten (EMA, 2013). De EMA beveelt aan dat de blootstelling aan PA's 'as low as practically achievable' gehouden moet worden, vanwege hun bekende toxiciteit en carcinogene eigenschappen.

Verder vindt er momenteel een survey van PA's plaats voor EFSA onder coördinatie van RIKILT. In dit kader worden in diverse landen binnen Europa monsters verzameld van producten van dierlijke oorsprong, kruidenthee (150 monsters) en op kruiden gebaseerde voedingssupplementen (150 monsters). De monsters worden in 2014 door RIKILT en BfR geanalyseerd. In deze analyse wordt naar een groot aantal PA's, waaronder riddelliine en lasiocarpine gekeken. De resultaten worden aan EFSA gerapporteerd en zullen naar verwachting begin 2015 via EFSA beschikbaar zijn (persoonlijke communicatie, Hans Mol, RIKILT).

3 Toxicologie

3.1 Beschrijving toxiciteit PA's

In deze paragraaf wordt beknopt een opsomming van de toxische eigenschappen van de PA's gepresenteerd. Een uitgebreider overzicht (Engelstalig) van de toxicologie van de PA's wordt gepresenteerd in Bijlage 1. Deze bijlage is grotendeels gebaseerd op een discussiestuk voor de Codex Committee on Contaminants in Food (FAO/WHO, 2011), en een EFSA opinie over PA's (EFSA, 2011).

PA's kunnen zowel acute, chronische, carcinogene, genotoxische als teratogene effecten hebben. PA's kunnen in de lever gemetaboliseerd worden tot reactieve verbindingen (pyrrolesters) welke een reactie met verschillende celbestanddelen kunnen aangaan (bv. DNA en eiwitten). De lever wordt gezien als het belangrijkste doelorgaan. Het meest frequent gerapporteerde toxische effect van PA's bij de mens is leverschade, in het bijzonder 'veno-occlusive disease' (VOD; leverziekte met aderafsluitingen). De activatie van de PA's tot de pyrrolesters en de daaropvolgende reactie met het DNA (o.a. vorming van DNA-adducten) wordt beschouwd als de belangrijkste route die tot de genotoxische effecten van de PA's kan leiden. In proefdieren is het ontstaan van tumoren (met name in de lever, maar ook in andere weefsels) aangetoond. Een drietal PA's (lasiocarpine, riddelliine en monocrotaline) zijn door het International Agency for Research on Cancer (IARC) geclassificeerd als categorie 2B 'possibly carcinogenic to humans'.

3.2 Voorgaande beoordelingen RIVM

Het RIVM heeft in de afgelopen jaren diverse rapporten over PA's in kruidenpreparaten uitgebracht (in opdracht van de NVWA).

In 1997 is de destijds voorgestelde productnorm van 1 µg/kg getoetst aan de hand van een drempelwaardebenadering (Van Engelen et al., 1997). Aangezien de destijds beschikbare informatie te beperkt was om de gehele groep van PA's als genotoxisch carcinogeen te beschouwen, werd deze benadering acceptabel bevonden. Hierbij werd de laagste dosering aan PA's waarbij bij de mens effecten werden waargenomen (lowest observed effect level, LOEL) gebruikt om de productnorm te toetsen. Deze (geschatte) dosering was gelijk aan een dagelijkse inname van 0,015 mg/kg lg ofwel 0,9 mg/dag voor een persoon van 60 kg. Omdat tussen deze LOEL en de voorgestelde productnorm van 1 µg/kg een factor 900 zit (uitgaande van een consumptie van 1 kg kruidenpreparaat per dag en 100% beschikbaarheid), werd geconcludeerd dat op basis van de beschikbare literatuur geen aanwijzingen waren dat deze voorgestelde waarde van 1 µg/kg te hoog zou zijn. Er is in deze beoordeling geen gezondheidskundige grenswaarde vastgesteld op basis van de LOEL, hiervoor was de beschikbare informatie te beperkt (Van Engelen et al., 1997).

In 2005 is de huidige productnorm van 1 µg/kg opnieuw geëvalueerd (Van der Zee, 2005). Vanwege de uiteenlopende potenties van de verschillende PA's is toen gekozen voor de afleiding van een gezondheidskundige grenswaarde op basis van één van de meest toxische PA's, te weten riddelliine, en het meest gevoelige effect, te weten genotoxische carcinogeniteit. Door het toepassen van de lineaire extrapolatiemethode is een Virtually Safe Dose (VSD) bepaald van

0,43 ng/kg lg/dag, equivalent aan ~30 ng/dag (voor een volwassene met een lichaamsgewicht van 65 kg). Deze VSD komt overeen met de dosis die bij levenslange blootstelling van 1 miljoen personen leidt tot één extra kankergeval. Ter vergelijking werd tevens een "toelaatbare inname" van 0,1 µg/kg lg/dag (equivalent aan 6,5 µg/dag voor een volwassene met een lichaamsgewicht van 65 kg) als grenswaarde voor niet-carcinogene effecten voorgesteld. Vanwege de onbekende en uiteenlopende consumptiehoeveelheden van PA-bevattende kruiden, de variërende PA-gehalten in die kruiden, en de verschillen in toxische potentie van de verschillende PA's, is voorgesteld om de productnorm van 1 µg/kg te vervangen door een innamenorm van 30 ng/dag op basis van de aanbevolen dosering volgens het etiket (Van der Zee, 2005). De VSD is gebruikt bij diverse risicobeoordelingen voor het RIVM-RIKILT Front Office Voedselveiligheid (FO).

In 2013 is een FO-beoordeling opgesteld over de aanwezigheid van PA's in een specifiek voedingssupplement ('Bijen Pollen') (FO, 2013a). Hierbij zijn aan de hand van een Margin of Exposure (MOE) benadering de mogelijke humane gezondheidsrisico's als gevolg van consumptie van dit voedingssupplement beoordeeld. Hierbij is een BMDL₁₀ (=ondergrens van het betrouwbaarheidsinterval van de benchmark dose (BMD) die gerelateerd is aan een 10% toename in kankerrisico) afgeleid op basis van de NTP carcinogeniteitsstudie met riddelliine die ook gebruikt is voor de afleiding van de VSD. Riddelliine leverde samen met zijn N-oxide-vorm de grootste bijdrage (90%) aan het totale gehalte PA's in het betreffende voedingssupplement.

3.3 Beschikbare gezondheidkundige grenswaarden en uitgangspunten voor de risicobeoordeling van PA's

In Tabel 3.1 en Tabel 3.2 wordt een overzicht van enkele gezondheidkundige grenswaarden en uitgangspunten voor de risicobeoordeling (PoD; point of departure) voor respectievelijk niet-carcinogene en carcinogene eindpunten gepresenteerd.

Tabel 3.1. Overzicht van gezondheidkundige grenswaarden voor *niet*-carcinogene eindpunten, afgeleid door verschillende instanties

Land	Gezondheidskundige grenswaarde ^A	afgeleid o.b.v.	referentie
Australië / Nieuw-Zeeland	PTDI 1 µg/kg lg/dag	PA's totaal	FSANZ/ANZFA, 2001
Nederland	TDI 0,1 µg/kg lg/dag	riddelliine	RIVM, 2005
Verenigd Koninkrijk	TDI 0,1 µg/kg lg/dag	riddelliine	COT, 2008
Duitsland	TDI 0,1 µg/dag (>6 weken) 1 µg/dag (<6 weken)	1,2-onverzadigde PA's	BfR, 1992

^A Geldt voor PA's totaal

Tabel 3.2. Overzicht van gezondheidkundige grenswaarden en uitgangspunten voor de risicobeoordeling (PoD) voor genotoxische carcinogeniteit afgeleid door verschillende instanties

Land	Gezondheidskundige grenswaarde / PoD ^A	afgeleid o.b.v.	referentie
Nederland	VSD	0,43x10 ⁻⁶ mg/kg lg/dag	riddelliine
	BMDL ₁₀	0,3 mg/kg lg/dag	riddelliine
Verenigd Koninkrijk	BMDL ₁₀	0,073 ^B mg/kg lg/dag	lasiocarpine ^C
EFSA	BMDL ₁₀	0,07 mg/kg lg/dag	lasiocarpine ^C

^A Geldt voor PA's totaal

^B Deze BMDL₁₀ waarde is door COT (UK Committee on Toxicity of chemicals in food, consumer products and the environment) overgenomen van COC (UK Committee on Carcinogenicity of chemicals in food, consumer products and the environment) en gebruikt in de risicobeoordeling. Echter, in het originele COC-rapport wordt als de laagste BMDL₁₀ (op basis van analyses voor lasiocarpine en riddelliine) een waarde van 0,078 mg/kg lg/dag gerapporteerd.

^C Zowel EFSA (2011) als COC (2008) hebben ook voor riddelliine een BMDL₁₀ afgeleid (respectievelijk 0,180 mg/kg lg/dag en 0,301 mg/kg lg/dag). Echter de laagst verkregen BMDL₁₀, die van lasiocarpine, is geselecteerd voor de risicobeoordeling van de groep PA's

In de FO-beoordeling uit 2013 is een BMDL₁₀ afgeleid op basis van riddelliine, omdat deze beoordeling specifiek een kruidenpreparaat betrof waar riddelliine inzat. Lasiocarpine is destijds buiten beschouwing gelaten. In de volgende paragraaf wordt daarom een BMD-analyse gepresenteerd voor beide PA's.

3.4 Dosis-respons analyse voor het meest kritische effect

Het ontstaan van lever hemangiosarcomen in ratten en muizen na herhaalde orale blootstelling aan PA's kan beschouwd worden als het meest kritische effect van PA's. De orale NTP carcinogeniteitsstudies met de PA's riddelliine (rat en muis; toediening via gavage) en lasiocarpine (rat; toediening via het voer) zijn door ons geselecteerd om een BMD-analyse uit te voeren en een BMDL₁₀ te berekenen (NTP, 1978; NTP, 2003). Een korte samenvatting van deze twee carcinogeniteitsstudies is te vinden in Bijlage 2. Een beschrijving van de BMD-analyse en een overzicht van de resultaten is te vinden in Bijlage 3. De BMD-analyse resulteerde in een BMDL₁₀ van 0,3 mg/kg lg/dag. Deze BMDL₁₀ is afgeleid op basis van de data voor riddelliine én lasiocarpine. Deze BMDL₁₀ voor riddelliine én lasiocarpine samen is gelijk aan de BMDL₁₀ welke in 2013 door RIVM afgeleid is voor riddelliine (FO, 2013a).

Kort beschreven is de huidige BMDL₁₀ berekend door de datasets voor tumorincidentie (lever hemangiosarcoma) van riddelliine (rat (m/v)) en lasiocarpine (rat (m)) samen te analyseren, waarbij de vrouwtjes rat lasiocarpine data niet meegenomen zijn in de analyse vanwege vroege sterfte in de studie. De vroege sterfte heeft zeer waarschijnlijk de tumorincidentie beïnvloedt, aangezien de (meeste) dieren in deze groepen niet lang genoeg leefden om tumoren te kunnen ontwikkelen. Bij de gecombineerde analyse is uitgegaan van de aanname dat beide PA's via hetzelfde werkingsmechanisme tumoren veroorzaken. Bij deze analyse is getoetst of de beide stoffen verschillen in potentie. Hieruit bleek dat beide PA's equipotent waren wat betreft de inductie van hemangiosarcomen in het proefdier. Dit resulteerde in één en dezelfde BMDL₁₀-waarde voor beide PA's (0,3 mg/kg lg/dag).

EFSA heeft recent in haar opinie over PA's ook BMD-analyses uitgevoerd voor het ontstaan van lever hemangiosarcomen als meest kritische effect (EFSA, 2011). Hierbij zijn ook de NTP-carcinogeniteitsstudie met riddelliine (NTP, 2003) en de NTP-carcinogeniteitsstudie met lasiocarpine (NTP, 1978) geselecteerd. Ook gebruikt EFSA de vrouwtjes rat lasiocarpine data niet vanwege de vroege

sterfte. Echter, EFSA analyseert daarnaast de mannetjes rat riddelliine data niet omdat ze aannemen dat de vrouwtjes gevoeliger zijn. In tegenstelling tot onze analyse toetst EFSA niet of beide PA's mogelijk even potent zijn. Op basis van de carcinogeniteitsstudie met riddelliine in vrouwtjes ratten is door EFSA een BMDL₁₀ van 0,18 mg/kg lg/dag afgeleid. Voor de studie met lasiocarpine in mannetjes ratten is door EFSA een BMDL₁₀ van 0,070 mg/kg lg/dag afgeleid. De BMDL₁₀ voor lasiocarpine is door EFSA geselecteerd voor hun risicobeoordeling. Beide door EFSA berekende BMDL₁₀'s voor riddelliine (0,18 mg/kg lg/dag) en lasiocarpine (0,070 mg/kg lg/dag) zijn lager dan de door ons berekende BMDL₁₀ voor riddelliine én lasiocarpine samen (0,3 mg/kg lg/dag).

Uit onze analyse is gebleken dat mannetjes en vrouwtjes ratten even gevoelig zijn om tumoren te krijgen na blootstelling aan riddelliine én dat riddelliine en lasiocarpine even potent zijn om tumoren te induceren. Daarom zijn in onze uiteindelijke analyse de mannetjes en vrouwtjes rat data voor riddelliine samen met de mannetjes rat data voor lasiocarpine in één analyse gemodelleerd. Aangezien bij het gecombineerd analyseren gebruik gemaakt wordt van meer data, wordt het betrouwbaarheidsinterval van de BMD kleiner (en dus de BMDL₁₀ hoger). Wij beschouwen hierdoor de BMDL₁₀'s van EFSA als onnodig conservatief. Tevens heeft EFSA in haar analyse van de mannetjes lasiocarpine data gemodelleerd door de gebruikte modellen bepaalde beperkingen (minder vrijheid) op te leggen. Het opleggen van die beperkingen is volgens EFSA nodig omdat de modellering zonder die beperkingen resulteert in een groot betrouwbaarheidsinterval wat, volgens EFSA, zou duiden op een lage betrouwbaarheid van de analyse. Naar onze mening wordt het grote betrouwbaarheidsinterval niet veroorzaakt door een lage betrouwbaarheid van de analyse maar door een slechte kwaliteit van de dataset. In zulke gevallen dient meer informatie verkregen te worden om een betrouwbare BMDL₁₀ af te leiden (zoals ook aangegeven in de EPA benchmark dose guidance (EPA, 2012) en door Slob en Setzer (in preparation)). Mede hierdoor zijn door ons de lasiocarpine-data en de riddelliine-data samen geanalyseerd.

4 Innameberekeningen en risicobeoordeling

4.1 Gehaltes PA's in kruidenthee en kruidensupplementen

In de periode 2010-2013 zijn door RIKILT in opdracht van NVWA kruidenthee en kruidensupplementen onderzocht op een groot aantal secundaire plantmetabolieten. Dit gebeurde in het kader van toezicht op de naleving van het Warenwetbesluit. Voor dit rapport zijn de volgende analysesresultaten beschikbaar gesteld door NVWA:

- 45 monsters uit 2010-2011, bemonsterd in supermarkten, drogisterijen, reformwinkels; Traditional Chinese Medicines via gespecialiseerde winkels
- 89 monsters van diverse kruidenpreparaten uit 2012
- 53 monsters van afslankpreparaten en prestatieverhogende preparaten uit 2013.

De monsters zijn geanalyseerd met vloeistofchromatografie in combinatie met massaspectrometrie. Bij deze analyse is onder andere gekeken naar de aanwezigheid van een aantal toxische PA's, namelijk echimidine, erucifoline, erucifoline N-oxide, heliotrine, jacobine, jacobine N-oxide, lycopsine, monocrotaline, retrorsine, retrorsine N-oxide, senecionine, senecionine N-oxide, seneciophylline, seneciophylline N-oxide en senkirkine. Deze PA's voldoen aan de definitie van toxische PA's uit het Warenwetbesluit. In totaal zijn 187 kruidenpreparaten onderzocht, waar bij 40 preparaten in ieder geval PA's aangetroffen zijn met gehalten boven de productnorm van 1 µg/kg. Het is echter niet zo dat dit betekent dat de overige kruidenpreparaten geen PA's in gehalten boven de productnorm bevatten, omdat de LOQ van de gebruikte analysemethode 5 µg/kg bedraagt. Het is dus mogelijk dat onder deze 147 kruidenpreparaten, ook preparaten zitten die niet voldoen aan het Warenwetbesluit. Daarnaast kunnen deze kruidenpreparaten ook PA's bevatten die niet meegenomen zijn in deze analysemethode, zoals bijvoorbeeld riddelliine en lasiocarpine.

Tabel 4.1 geeft een overzicht van de kruidenpreparaten waarin PA's aangetroffen zijn. Eén preparaat is daarin niet meegenomen, omdat er te weinig informatie beschikbaar was om te achterhalen wat voor een kruidenpreparaat het betreft. De geanalyseerde kruidenpreparaten zijn onderverdeeld in de groepen kruidenthee (n=11), kruidensupplementen (n=20) en Traditional Chinese Medicine (TCM) producten (n=8). De groep kruidenthee omvat thee voor regulier gebruik en thee waar een bepaald wenselijk effect aan wordt toegeschreven, zoals gewichtsverlies of verjonging. De kruidensupplementen zijn verder onderverdeeld in capsules en tabletten. De gemeten hoeveelheid PA's varieerde sterk tussen en binnen de groepen: 23-600 µg/kg product in kruidenthee, 10-4200 µg/kg product in kruidensupplementen, en 30-60.400 µg/kg product in TCM's (Tabel 4.1).

Tabel 4.1. Kruidenpreparaten waarin PA's aangetroffen zijn (LOQ = 5 µg/kg)

kruidenpreparaten	type	aantal	minimale hoeveelheid gemeten PA's (µg/kg)	maximale hoeveelheid gemeten PA's (µg/kg)
kruidenthee	kruidenthee	11	23	600
kruidensupplementen	capsules	10	10	4200
	tabletten	10	18	1300
Traditional Chinese Medicine (TCM)	-	8	30	60.400

4.2 Blootstellingsschatting

De blootstelling aan PA's via de inname van kruidenpreparaten is geschat op basis van de aangeleverde concentratiedata en aannames of beschikbare informatie over het gebruik van kruidenpreparaten. De geschatte blootstellingen alsmede de informatie over het gebruik en de hoeveelheid aangetroffen PA's zijn te vinden in Bijlage 4 (tabellen B4.1 en B4.2). De blootstellingsschatting zal hieronder verder worden toegelicht.

4.2.1 Blootstelling via kruidenthee

De blootstelling aan PA's via kruidenthee is voor twee gebruikscenario's geschat: een gemiddeld en een worst case gebruikscenario. Voor kruidenthee 1-7 in Bijlage 4 - Tabel B4.1 is uitgegaan van een gebruik van 3 g thee per kop (o.b.v. gebruiksadvisen) en een consumptie van gemiddeld 3 koppen per dag of worst case 11 koppen per dag (o.b.v. VCP data, P97,5 van 1650 mL en 150 mL per kopje) (van Rossum et al., 2011). Hieronder vallen de reguliere kruidenthee en kruidenthee met als claim dat het zou helpen bij afvallen. De blootstelling aan PA's door de inname van deze typen kruidenthee varieert van 0,21 µg/dag tot 2,9 µg/dag bij gemiddeld gebruik en van 0,76 µg/dag tot 11 µg/dag bij worst case gebruik. Dit komt voor een persoon van 70 kg overeen met 0,003 µg/kg lg/dag tot 0,04 µg/kg lg/dag bij gemiddeld gebruik en 0,01 µg/kg lg/dag tot 0,15 µg/kg lg/dag bij worst case gebruik.

Vier van de kruidenthees (8-11) betreffen preparaten die een afwijkend gebruikadvies hebben, doordat ze met andere bedoelingen worden gebruikt, bijvoorbeeld tegen impotentie of dat het verjongend zou werken. Daarom is voor deze vier uitgegaan van hun eigen gebruikadvies en dat vertaald naar wat één persoon zou kunnen gebruiken. Als voorbeeld, kruidenthee 8 wordt gebruikt met als doel de seksuele potentie te vergroten. Het gebruikadvies is 30 g voor een sterke thee voor 2 personen. Een persoon zou daarom ca. 15 g per keer gebruiken. Wat betreft het aantal keer dat deze thee gebruikt zal worden, wordt uitgegaan van gemiddeld 1 tot 2 keer per dag. Hetzelfde is gedaan voor de kruidenthee 9. Voor kruidenthee 10 en 11 is omgerekend hoeveel gram één kopje van 150 mL bevat, en wordt wel uitgegaan van een meer regulier gebruik van gemiddeld 3 kopjes per dag en worst case 11 kopjes per dag. De blootstelling aan PA's via dit soort kruidenthee ligt, deels vanwege de grotere gebruikshoeveelheden, hoger dan bij de reguliere kruidenthee: variërend van 2,1 tot 18 µg/dag (0,03 tot 0,26 µg/kg lg/dag voor een persoon van 70 kg).

4.2.2 Blootstelling via kruidensupplementen

Zoals eerder vermeld, zijn de kruidensupplementen opgedeeld in capsules en tabletten. Voor beide groepen is de gemiddelde blootstelling aan PA's geschat op

basis van het respectievelijke gebruiksadvies (minimale – maximale aanbevolen inname) en de aanname dat een capsule en een tablet gemiddeld 1 g wegen. Bijvoorbeeld, van kruidensupplement 4 wordt aangeraden 3 maal daags 1 capsule in te nemen. Er wordt echter tevens bij vermeld dat er maximaal 6 capsules per dag genomen mogen worden. Vandaar dat beide gebruikshoeveelheden doorgerekend worden. Voor kruidensupplementen waarvoor maar één gebruiksadvies gegeven staat, is ook maar één gebruiksscenario doorgerekend. Daarnaast is voor alle kruidensupplementen een worst case blootstellingsscenario doorgerekend met 10 supplementen per dag (o.b.v. VCP data, uitgaande van P97,5 van 10 g/dag) (Van Rossum et al., 2011).

De blootstelling aan PA's via de inname van kruidensupplementen varieert sterk van 0,077 tot 42 µg/dag overeenkomend met 0,001 tot 0,60 µg/kg lg/dag voor een persoon van 70 kg. Deze variatie wordt veroorzaakt door de hoeveelheid gemeten PA's en het aantal capsules dan wel tabletten die ingenomen worden per dag.

4.2.3 *Blootstelling via TCM*

De blootstelling aan PA's via TCM's kan niet geschat worden door het ontbreken van specifieke gebruiksinformatie. Aangezien TCM's wel de grootste hoeveelheden PA's per kg product bevatten, is deze informatie weergegeven in Bijlage 4 in Tabel B4.3.

4.2.4 *Blootstelling uit andere voedingsmiddelen*

Ook andere voedingsmiddelen kunnen PA's bevatten, bijvoorbeeld honing, dierlijke producten en salade (BfR, 2007; FO, 2008; 2013a, 2013b; Hoogenboom et al., 2011; EFSA, 2011).

EFSA heeft gedurende oktober 2010 t/m januari 2011 een oproep gedaan tot het aanleveren van data betreffende het voorkomen van PA's in humane voeding en diervoeder. Dit resulteerde in één dataset voor PA's in veevoeder en twee datasets met informatie over PA's in honing ('bulk' en 'retail'). De gemiddelde gehalten van de verschillende PA's varieerden van 0.1 – 10 µg/kg (upper bound) in 'bulk' honing en van 1 – 6.7 µg/kg (upper bound) in 'retail' honing. De maximale aangetroffen gehalten van specifieke PA's lagen echter op 2031 µg/kg (echimidine N-oxide) in 'bulk' honing en 150 µg/kg (echimidine) in 'retail' honing. Aangezien beide honing-datasets afkomstig waren van één lidstaat kunnen de resultaten niet als representatief voor de hoeveelheid PA's in honing binnen de gehele Europese Unie beschouwd worden. Concentratiedata van PA's in andere voedingsproducten dan honing waren niet beschikbaar. Als gevolg hiervan heeft EFSA haar risicobeoordeling alleen kunnen baseren op blootstelling aan PA's door consumptie van honing. EFSA concludeerde dat, alleen al op basis van blootstelling aan PA's via honing, voor peuters en kinderen met hoge honing-consumptie een mogelijk gezondheidsrisico niet uitgesloten kon worden (EFSA, 2011).

In een duplicaatvoeding studie uitgevoerd door RIKILT zijn 32 PA's gemeten in 62 24-uurs duplicaatvoedingen van volwassenen (25-65 jaar) in Nederland (Mulder et al., 2013). Van de 62 verzamelde duplicaatvoedingen bevatten er 23 PA's, voornamelijk integerrimine, senecionine, retrorsine en heliotrine. Bij 16 van de 23 positieve duplicaatvoedingen hadden de respondenten honing of thee geconsumeerd. PA-gehalten in de duplicaatvoedingen varieerden van

0,1 tot 5,3 µg/kg (gemiddeld 0,29 µg/kg)³. De gemiddelde geschatte PA-blootstelling is door de auteurs geschat op 1,28 ng/kg lg/dag, waarbij vrouwen (2,26 ng/kg lg/dag) een hogere blootstelling hadden dan mannen (0,27 ng/kg lg/dag).

De hierboven beschreven data laten zien dat er blootstelling aan PA's plaatsvindt via het voedsel in Nederland. Nader onderzoek is nodig om vast te stellen welke voedingsmiddelen, naast honing en (kruiden)thee, bijdragen aan deze PA-blootstelling, en hoe deze bevindingen geëxtrapoleerd kunnen worden naar de gehele Nederlandse bevolking.

4.3 Risicobeoordeling

De risicobeoordeling is uitgevoerd door middel van de MOE-benadering. Voor genotoxische carcinogenen wordt een MOE groter dan 10.000 als "of low concern from a public health point of view" beschouwd (EFSA, 2005). De MOE is als volgt berekend:

$$\text{MOE} = \frac{\text{BMDL}_{10}}{\text{Geschatte humane blootstelling}}$$

Hierbij is de BMDL_{10} van 0,3 mg/kg lg/dag gebruikt, en de geschatte humane blootstelling aan totaalgehalte toxische PA's voor de volgende blootstellingsscenario's:

1. Blootstelling aan PA's door consumptie PA-bevattende thee
2. Blootstelling aan PA's door consumptie PA-bevattende supplementen

In de tweede kolom van Tabel 4.2 worden voor deze blootstellingsscenario's de bijbehorende blootstellingsschattingen weergegeven. De derde kolom geeft vervolgens een overzicht van de bijbehorende MOE-ranges. De MOE-waarden voor de individuele kruidenpreparaten zijn te vinden in Bijlage 4.

Tabel 4.2. Overzicht geschatte blootstelling aan PA's door inname van kruidenthee en kruidensupplementen en bijbehorende margin of exposure (MOE)

Scenario	geschatte blootstelling PA's (µg/kg lg/dag)	MOE
1. Thee	0,003 - 0,13 ^A 0,01 - 0,26 ^B	2.333 - 101.449 ^A 1.167 - 27.668 ^B
2. Supplementen	0,0004 - 0,06 ^C 0,001 - 0,60 ^D	5.000 - 700.000 ^C 500 - 210.000 ^D

^A MOE bepaald op basis van gemiddelde kruidentheconsumptie

^B MOE bepaald op basis van worst case kruidentheconsumptie

^C MOE bepaald op basis van geadviseerde supplementconsumptie of geschatte minimale kruidensupplementenconsumptie

^D MOE bepaald op basis van geschatte maximale kruidensupplementenconsumptie

Voor zowel de kruidensupplementen als de kruidenthe variëren de MOE's van onder de 10.000 tot ver boven de 10.000. De data laten verder zien dat bijna alle kruidenthee (9 van 11) op basis van een worst case blootstellingsschatting de berekende MOE onder de 10.000 uitkomt. Zelfs als de blootstelling aan PA's berekend is aan de hand van een gemiddelde kruidentheconsumptie, blijft de MOE voor sommige van deze kruidentheeproducten (4 van 11) nog onder de 10.000. Voor de kruidensupplementen geldt dat voor 7 van de 20 supplementen een MOE van onder de 10.000 berekend kan worden in geval van een worst case

³ De LOQ van de in dit onderzoek gebruikte analysemethode bedraagt 0,1 µg/kg.

blootstellingsschatting. In het geval van een gemiddelde blootstellingsschatting kan er nog voor een vijfde van de supplementen (4 van de 20) een MOE van onder de 10.000 berekend worden. Dit houdt in dat voor de kruidenpreparaten waarbij de MOE onder de grens van 10.000 uitkomt, een gezondheidsrisico door blootstelling aan PA's via de consumptie van deze kruidenpreparaten niet uitgesloten kan worden.

Zoals gezegd zijn er voor de TCM's onvoldoende gegevens beschikbaar om een blootstelling te schatten en een MOE te berekenen. Wel kan berekend worden dat voor deze TCM's, met een PA-gehalte variërend van 30 tot 60.400 µg/kg, een consumptie van 0,03 – 70 gram per dag voor een persoon van 70 kg overeenkomt met een blootstelling die leidt tot een MOE van 10.000.

Bij de berekening van de MOE's bij deze blootstellingsscenario's moet worden aangetekend dat er alleen naar het afzonderlijk gebruik van kruidenthee en kruidensupplementen is gekeken. Zo is er niet gekeken naar gecombineerd gebruik van kruidenthee en -supplementen, en is er geen rekening gehouden met de totale PA-blootstelling uit het gehele consumptiepakket. Ook is het gebruik van andere kruidenproducten die onder het Warenwetbesluit Kruidenpreparaten vallen, zoals frisdranken met kruiden en snoepjes met kruiden, niet meegenomen, omdat hiervoor geen concentratiedata beschikbaar waren.

De innameberekeningen zoals gerapporteerd in paragraaf 4.2 zijn daarnaast ook vergeleken met geschatte humane blootstellingen beschreven in case reports van humane PA-intoxicaties waarbij VOD in de lever als belangrijkste effect gezien is (zie Bijlage 1). Deze geschatte humane blootstellingen lagen over het algemeen tussen de 0.5 en 3 mg/kg lg/dag. Echter in één case report lag de geschatte blootstelling vele malen lager, namelijk 15 µg/kg lg/dag⁴. Uit deze vergelijking blijkt dat de berekende innamen ongeveer een factor 25 tot 1000 onder de in de literatuur beschreven blootstellingen, waarbij acute gezondheidseffecten in mensen optraden, blijven.

⁴ Hierbij moet worden aangemerkt dat de auteurs aangeven dat er waarschijnlijk nog additionele bronnen van PA-blootstelling geweest moeten zijn.

5 Discussie en normstelling

In dit hoofdstuk worden de onzekerheden met betrekking tot bovenstaande risicobeoordeling en de discussiepunten voor de afleiding van een productnorm voor PA's in kruidenpreparaten besproken. Tot slot worden overwegingen voor het al dan niet aanpassen van de productnorm van PA's in kruidenpreparaten aangedragen.

5.1 Discussie

5.1.1 *Risicobeoordeling genotoxische carcinogenen*

Er bestaat momenteel internationaal gezien nog geen wetenschappelijke consensus over de vraag wat de beste aanpak is voor het evalueren van de mogelijk gezondheidsrisico's als gevolg van blootstelling aan genotoxische carcinogenen. Wel wordt algemeen aangenomen dat voor genotoxische carcinogenen geldt dat elke blootstelling ongewenst is, aangezien zelfs na blootstelling aan kleine hoeveelheden en vooral wanneer er sprake is van herhaalde blootstelling er al een mogelijk gezondheidsrisico kan zijn. Daarom wordt geadviseerd de blootstelling aan genotoxische carcinogenen te reduceren tot niveaus die 'as low as reasonable achievable' zijn (het zogenaamde ALARA-principe).

Voor de risicobeoordeling van genotoxische carcinogenen zijn in de afgelopen jaren en binnen de diverse kaders verschillende methoden toegepast. Zo werd op het gebied van voedselveiligheid veelal de lineaire extrapolatiemethode toegepast. Hierbij werd een VSD afgeleid welke overeenkomt met een dosis die bij levenslange blootstelling van één miljoen personen leidt tot één extra kankergeval. EFSA adviseert tegenwoordig om voor de risicobeoordeling van genotoxische carcinogenen de MOE-benadering te gebruiken (EFSA, 2005). Bij de MOE-benadering wordt de geschatte humane blootstelling afgezet tegen een uitgangspunt (Point of Departure, PoD) welke een BMDL voor het meest relevante toxicologische eindpunt uit de bepalende dierstudie is. Hierbij wordt, in tegenstelling tot de lineaire extrapolatiemethode, géén kwantitatieve uitspraak gedaan over het kankerrisico. Bij het toepassen van de MOE-benadering voor genotoxische carcinogenen wordt door EFSA een MOE groter dan 10.000 beschouwd als "of low concern from a public health point of view" (EFSA, 2005). Deze referentiewaarde voor de MOE van 10.000 zou gezien kunnen worden als een 'afsprake' voor het beoordelen van kankerrisico's, waarbij wordt aangenomen dat het bijbehorende kankerrisico voldoende laag is, zonder de indruk te wekken dat het berekend kan worden (Slob et al., 2013). Recent zijn door het RIVM in een discussiestuk drie verschillende aanpakken bediscussieerd: lineaire extrapolatie, MOE en integrated probabilistic risk assessment (IPRA) (Slob et al., 2013). Hierbij werd aangeraden de lineaire extrapolatiemethode te vermijden, de MOE-benadering toe te passen (bij voorkeur inclusief een onzekerheidsanalyse), en, eventueel als 'second tier', de IPRA-benadering toe te passen als de MOE kleiner dan 10.000 is of niet ver boven deze waarde ligt. De huidige risicobeoordeling van PA's in kruidenpreparaten is conform EFSA (2005) en Slob et al. (2013) uitgevoerd met een MOE-benadering waarbij de onzekerheden bediscussieerd zullen worden.

5.1.2 *Gebruikte BMDL₁₀ vs. gemeten PA's in de kruidenpreparaten*

De toegepaste analysemethode voor PA's in kruidenpreparaten omvat diverse toxische PA's (zie hoofdstuk 4), maar niet lasiocarpine en riddelliine. Het is daarom niet bekend of lasiocarpine en riddelliine in de geanalyseerde kruidenpreparaten aanwezig waren.

Voor de huidige risicobeoordeling is gebruik gemaakt van een BMDL welke afgeleid is op basis van betrouwbare en bruikbare carcinogeniteitstudies met de toxische PA's lasiocarpine en riddelliine (NTP, 1978; NTP, 2003). Vergelijkbare data (van orale, langdurige blootstelling) met betrekking tot de carcinogene potentie van andere PA's zijn op dit moment niet beschikbaar. Riddelliine en lasiocarpine (en monocrotaline) zijn door het IARC geclassificeerd als categorie 2B 'possibly carcinogenic to humans'. Op basis van *in vivo* en *in vitro* data over de vorming van DNA-adducten door verschillende PA's kunnen riddelliine en lasiocarpine als meest toxische van de onderzochte PA's beschouwd worden (beiden ongeveer equipotent). Het kan echter niet worden uitgesloten dat met het beschikbaar komen van aanvullende betrouwbare data uit langdurige, orale toxiciteitsstudies er toxische PA's geïdentificeerd worden. Anderzijds zullen er ook PA's zijn die minder potent zijn dan lasiocarpine en riddelliine. Hierdoor kan zowel een over- als onderschatting van het risico optreden wanneer uitgegaan wordt van de BMDL voor lasiocarpine en riddelliine voor de som van de toxische PA's.

5.1.3 *Blootstellingsberekeningen*

Bij de blootstellingsschattingen zijn enkele aannames gedaan welke tot onzekerheden in de risicobeoordeling hebben geleid. Logischerwijs konden er alleen blootstellingsschattingen gedaan worden voor de kruidenpreparaten waarin PA's gemeten en gekwantificeerd waren. Echter doordat de LOQ (5 µg/kg) van de gebruikte analysemethode boven de huidige productnorm (1 µg/kg) ligt en de aanwezigheid van andere toxische PA's zoals riddelliine en lasiocarpine niet is gekwantificeerd, kan niet met zekerheid gesteld worden dat alle negatieve monsters per definitie aan de productnorm voldoen.

Verder is bij de blootstellingsschatting via consumptie van kruidenthee de conservatieve aanname gedaan dat 100% van de PA's vanuit de kruiden in het theewater terecht komen omdat de precieze overdracht onbekend is.

Ook was er voor de kruidensupplementen niet in alle gevallen informatie over het gewicht van de tabletten en capsules beschikbaar. In die gevallen is uitgegaan van een gewicht van 1 gram per capsule/tablet.

5.2 **Aanbevelingen voor normstelling**

De BMDL₁₀ van 0,3 mg/kg lg/dag die is afgeleid op basis van riddelliine en lasiocarpine kan gebruikt worden als basis voor de normstelling voor toxische PA's. Bij het toepassen van een MOE-benadering voor genotoxische carcinogenen wordt door EFSA een MOE groter dan 10.000 beschouwd als "of low concern from a public health point of view" (EFSA, 2005).

Omgerekend geldt dat een blootstelling aan PA's van maximaal 30 ng/kg lg/dag resulteert in een MOE van minimaal 10.000 ten opzichte van de BMDL₁₀ van 0,3 mg/kg lg/dag. Een blootstelling van 30 ng/kg lg/dag komt overeen met 2100 ng/dag voor een volwassen persoon van 70 kg en met 450 ng/dag voor

een kind van 15 kg. De huidige productnorm in het Warenwetbesluit Kruidenpreparaten is 1 µg/kg. Wanneer aangenomen wordt dat kruidenpreparaten de enige blootstelling vormen aan PA's betekent dit dat een volwassen persoon (van 70 kg) 2100 g en een kind (van 15 kg) 450 g kruidenpreparaten met een PA-gehalte gelijk aan de productnorm van 1 µg/kg kan consumeren om tot een blootstelling van 30 ng/kg lg/dag te komen. De dagelijkse consumptie van voedingssupplementen en kruidenthee (P97,5) ligt één tot drie ordes van grootte lager dan deze theoretische hoeveelheden.

Er lijkt dus ruimte te zijn voor een eventuele verhoging van de productnorm. Om te schatten hoe groot deze ruimte is, is een inschatting gemaakt hoeveel PA's kruidenpreparaten maximaal zouden mogen bevatten uitgaande van een MOE van 10.000 en de BMDL₁₀ van 0,3 mg/kg lg/dag. Deze berekening is uitgevoerd voor volwassenen en kinderen en de resultaten zijn weergegeven in Tabel 5.1. Voor beide groepen is uitgegaan van een worst case blootstellingsscenario (P97,5-waarden voor 'consumers only'). Voor volwassenen is gerekend met een inname van kruidenthee van 1650 mL/dag (overeenkomend met 33 g kruiden; uitgaande van 3 gram kruiden per 150 ml thee) en een inname van voedingssupplementen van 10 g/dag (van Rossum et al., 2011). Voor kinderen is gerekend met een inname van 8 g/dag aan voedingssupplementen, maar waren onvoldoende data beschikbaar om een betrouwbare consumptie van kruidenthee af te leiden (Ocké et al., 2007). Voor 'overige kruidenpreparaten' zijn de 97,5^{ste} percentielen van de consumptie van vruchtensappen/frisdranken genomen, omdat dit naar onze inschatting een conservatieve weergave geeft van de inname aan 'overige kruidenpreparaten', waaronder frisdranken met kruiden. Deze percentielen voor vruchtensappen/frisdranken zijn 908-1934 g/dag voor volwassenen (van Rossum et al., 2011) en 773-915 g/dag voor kinderen (Ocké et al., 2007). Zo zijn er verschillende scenario's doorgerekend: 1) dat kruidenpreparaten de enige blootstelling aan PA's vormen, 2) dat kruidenpreparaten 50% van de totale blootstelling aan mogen PA's vormen en 3) dat kruidenpreparaten 10% van de totale blootstelling aan mogen PA's vormen.

Op dit moment is er een productnorm voor alle kruidenpreparaten, maar omdat er voor 'overige kruidenpreparaten', zoals frisdranken of snoepjes die kruiden bevatten, meer informatie nodig is over de aard van de preparaten en de consumptie ervan, kan op dit moment niet de conclusie getrokken worden dat de productnorm verhoogd kan worden voor deze groep. Voor kruidenthee en kruidensupplementen is wel genoeg informatie beschikbaar. Daarom wordt een aparte norm voorgesteld voor kruidenthee en kruidensupplementen. Omdat er onvoldoende betrouwbare data beschikbaar zijn om de totale blootstelling aan PA's in de Nederlandse bevolking te kunnen schatten maar bij de analyse van de duplicaatvoedingen wel bleek dat 23 van de 62 duplicaatvoedingen PA's bevatten, lijkt het uit voorzorg het beste om er vanuit te gaan dat kruidenthee en kruidensupplementen maximaal 10% van de totale 'toelaatbare' PA-blootstelling mogen vormen. Op basis van een MOE van 10.000 is er dan ruimte om de productnorm voor kruidensupplementen en kruidenthee te verhogen naar 5 µg/kg (zie Tabel 5.1).

Tabel 5.1 Maximale PA-gehalte in kruidenpreparaten uitgaande van een MOE van 10.000

	Maximale PA-gehalte in kruidenpreparaten ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
	Maximale bijdrage van kruidenpreparaten aan de totale PA-blootstelling		
	<i>100%</i>	<i>50%</i>	<i>10%</i>
Volwassenen (70 kg)			
Kruidenpreparaat:			
Kruidenthee	64	32	6,4
Kruidensupplementen	210	105	21
'Overige kruidenpreparaten' ^B	1,1 – 2,3	0,5 – 1,2	0,1 – 0,2
Kinderen (15 kg)			
Kruidenpreparaat:			
Kruidenthee ^A	-	-	-
Kruidensupplementen	56	28	5,6
'Overige kruidenpreparaten' ^B	0,5-0,6	0,25 - 0,3	0,05 – 0,06

^A betrouwbare consumptiedata voor kruidenthee bij jonge kinderen waren niet beschikbaar.

^B Voor de groep 'overige kruidenpreparaten' is bij de blootstellingsberekening gebruik gemaakt van de consumptiedata voor frisdranken/vruchtensappen. Voor andere kruidenpreparaten zou het maximale gehalte PA's in de kruidenpreparaten hoger kunnen zijn, omdat de consumptie ervan lager zal zijn.

Als voor de volledigheid dezelfde exercitie uitgevoerd zou worden met de BMDL₁₀ zoals bepaald door EFSA, zou het maximale gehalte aan PA's in kruidenthee en kruidensupplementen 1,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ mogen zijn om er vanuit te kunnen gaan dat ze maximaal 10% van de totale 'toelaatbare' blootstelling aan PA's vormen. De BMDL₁₀ van 0,3 mg/kg lg/dag, die in dit rapport is afgeleid op basis van carcinogeniteitsgegevens voor riddelliine én lasiocarpine, is hoger dan de BMDL₁₀ die EFSA heeft afgeleid op basis van carcinogeniteitsgegevens van alleen lasiocarpine. Er wordt voorgesteld om de nieuwe BMDL₁₀ voor de normstelling voor toxische PA's te gebruiken.

Echter, omdat PA's genotoxische carcinogenen zijn is het wenselijk de blootstelling aan PA's zo laag mogelijk te houden. Genotoxische carcinogenen mogen niet bewust aan voedsel worden toegevoegd. De hoogte van de productnorm zou daarom ingegeven moeten worden door onvermijdbare contaminatie van kruidenpreparaten met toxische PA's. Uiteindelijk is het vaststellen van de productnorm voor PA's in kruidenpreparaten een beleidskeuze waarin deze aspecten moeten worden meegenomen.

NB. Voor de afleiding van de productnorm wordt uitgegaan van het meest kritische effect van PA's, namelijk genotoxische carcinogeniteit. Wereldwijd spelen er echter ook op geregelde basis grote problemen met de acute toxiciteit van PA's: het optreden van VOD en de daarmee samenhangende, soms fatale, gevolgen (Kakar et al., 2010; Bane et al., 2012). Het zou daarom raadzaam zijn te onderzoeken of er voldoende data beschikbaar zijn om ook een 'acute reference dose' (ARfD) af te leiden voor PA's. Dit om in te kunnen schatten bij welke PA gehalten in kruidenpreparaten of ander levensmiddelen acute effecten niet uit te sluiten zijn.

5.3 Conclusies met betrekking tot vragen NVWA

Het doel van dit rapport is de NVWA antwoord te geven op de volgende vragen, zoals geformuleerd in kennisvraag 9.4.37:

Waarop is de norm van 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ gebaseerd?

De herkomst van de productnorm voor PA's van 1 µg/kg is onduidelijk. Mogelijk houdt de Nederlandse productnorm verband met de gezondheidkundige grenswaarde van BfR van 1 µg/dag. Echter, het is niet meer te herleiden of deze gezondheidkundige grenswaarde inderdaad ten grondslag ligt aan de productnorm in het Warenwetbesluit en wat de overwegingen waren om deze gezondheidkundige grenswaarde eventueel te vertalen naar de productnorm van 1 µg/kg. De productnorm is in ieder geval niet voorgesteld/afgeleid door het RIVM.

De zinsnede in het Warenwetbesluit Kruidenpreparaten: “.. of van andere planten waarvan wordt aangenomen dat ze toxische pyrrolizidine-alkaloïden bevatten..” is lastig te interpreteren. Waar is deze zin op gebaseerd - wat is de achtergrond ervan? Hoe kan deze zin worden aangepast zodat duidelijk wordt om welke planten het gaat (dus welke planten, met welke kenmerken vallen hieronder)?

Een vereenvoudiging en verduidelijking van deze zinsnede is inmiddels opgenomen in de conceptwijziging van het Warenwetbesluit: *“De hoeveelheid toxische pyrrolizidine-alkaloïden van kruidenpreparaten bedraagt niet meer dan 1 µg per kg, onderscheidenlijk per liter.”* Onderdeel I van de bijlage met een lijst van planten die toxische PA's bevatten zal daarbij vervallen. Hierdoor wordt duidelijker gesteld dat er niet meer dan genoemde hoeveelheid PA's in kruidenpreparaten mag zitten, zonder verder in te gaan op waar die PA's vandaan komen.

Is er aanleiding om de norm aan te passen op basis van recente literatuur of andere informatie?

Sinds een paar jaar worden andere methoden van risicobeoordeling toegepast. Zo zijn in 2013 in een FO-beoordeling de mogelijke humane gezondheidsrisico's als gevolg van consumptie van een voedingssupplement dat riddelliine bevatte beoordeeld aan de hand van een benchmark dose (BMD) en Margin of Exposure (MOE) benadering. Deze methodieken zijn in de huidige risicobeoordeling gebruikt om de mogelijke gezondheidsrisico's in te schatten van kruidenpreparaten die PA-gehalten boven de productnorm bevatten, en handvaten te geven voor het eventueel vaststellen van een nieuwe productnorm.

Er is een BMDL₁₀ van 0,3 mg/kg lg/dag afgeleid voor toxische PA's op basis van orale NTP carcinogeniteitsstudies met riddelliine en lasiocarpine in rat en/of muis met het ontstaan van lever hemangiosarcomen als meest kritische effect. Op basis van het terugrekenen van de productnorm naar potentiële blootstelling en deze te vergelijken met de BMDL₁₀ uitgaande van een MOE van 10.000, is er in principe ruimte voor een eventuele verhoging van de productnorm voor kruidensupplementen en kruidenthee. De dagelijkse consumptie van supplementen en kruidenthee ligt namelijk één tot drie ordes van grootte lager dan de berekende hoeveelheid kruidenpreparaten die een persoon van 70 kg en een kind van 15 kg mogen consumeren om uit te komen op een MOE van 10.000 ten opzichte van de BMDL₁₀ van 0,3 mg/kg lg/dag.

Omdat er voor 'overige kruidenpreparaten', zoals frisdranken of snoepjes die kruiden bevatten, meer informatie nodig is over de aard van de preparaten en de consumptie ervan, kan op dit moment niet de conclusie getrokken worden dat de productnorm verhoogd kan worden voor deze groep. Voor kruidenthee en

kruidensupplementen is wel genoeg informatie beschikbaar. Daarom wordt een aparte norm voorgesteld voor kruidenthee en kruidensupplementen. Omdat er onvoldoende betrouwbare data beschikbaar zijn om de totale blootstelling aan PA's in de Nederlandse bevolking te kunnen schatten maar bij de analyse van de duplicaatvoedingen wel bleek dat 23 van de 62 duplicaatvoedingen PA's bevatten, lijkt het uit voorzorg het beste om er vanuit te gaan dat kruidenthee en kruidensupplementen maximaal 10% van de totale 'toelaatbare' PA-blootstelling mogen vormen. Op basis van een MOE van 10.000 is er dan ruimte om de productnorm voor kruidensupplementen en kruidenthee te verhogen naar 5 µg/kg.

Als voor de volledigheid dezelfde exercitie uitgevoerd zou worden met de BMDL₁₀ zoals bepaald door EFSA, zou het maximale gehalte aan PA's in kruidenthee en kruidensupplementen 1,5 µg/kg mogen zijn om er vanuit te kunnen gaan dat ze maximaal 10% van de totale 'toelaatbare' blootstelling aan PA's vormen. De BMDL₁₀ van 0,3 mg/kg lg/dag, die in dit rapport is afgeleid op basis van carcinogeniteitsgegevens voor riddelliine én lasiocarpine, is hoger dan de BMDL₁₀ die EFSA heeft afgeleid op basis van carcinogeniteitsgegevens van alleen lasiocarpine. Wij stellen voor om de nieuwe BMDL₁₀ voor de normstelling voor toxische PA's te gebruiken.

Echter, omdat PA's genotoxische carcinogenen zijn, is het wenselijk de blootstelling aan PA's zo laag mogelijk te houden en moet de hoogte van de productnorm ingegeven worden door onvermijdbare contaminatie van kruidenpreparaten met toxische PA's. Uiteindelijk is het vaststellen van de productnorm voor PA's in kruidenpreparaten een beleidskeuze waarin deze aspecten moeten worden meegenomen.

Als extra aanbeveling is het raadzaam om te onderzoeken of een ARfD voor PA's afgeleid kan worden op basis van de huidige beschikbare data. Dit om in te kunnen schatten bij welke PA-gehalten in kruidenpreparaten of andere voedingsmiddelen acute effecten niet uit te sluiten zijn.

Dankwoord

De auteurs willen de volgende personen bedanken voor hun bijdrage aan dit rapport. Gerda van Donkersgoed voor het verstrekken en analyseren van de VCP data. Hans Mol (RIKILT Wageningen UR) voor de informatie over de analyse van PA's in kruidenpreparaten.

Referenties

ANZFSC (2011). Australia New Zealand Food Standards Code. Toegankelijk via: <http://www.foodstandards.gov.au/code/Pages/default.aspx>, bezocht maart 2014.

Bane A, Seboxa T, Mesfin G et al. (2012). An outbreak of veno-occlusive liver disease in Northern Ethiopia, clinical findings. *Ethiop. Med. J.* 50, suppl 2: 9-16.

BfR, Bundesinstitut für Risikobewertung. (2007). Salatmischung mit Pyrrolizidinalkaloid-haltigem Greiskraut verunreinigt, Stellungnahme Nr.028/2007 des BfR vom 10. Januar 2007, Berlin, Deutschland. http://www.bfr.bund.de/cm/208/salatmischung_mit_pyrrolizidinalkaloid_haltige_m_geiskraut_verunreinigt.pdf

BfR, Bundesinstitut für Risikobewertung (2011). Analytik und Toxizität von Pyrrolizidinalkaloiden sowie eine Einschätzung des gesundheitlichen Risikos durch deren Vorkommen in Honig, Stellungnahme Nr. 038/2011 des BfR vom 11. August 2011, ergänzt am 21. Januar 2013, Berlin, Deutschland. <http://www.bfr.bund.de/cm/343/analytik-und-toxizitaet-von-pyrrolizidinalkaloiden.pdf>

COC (2008). Committee on carcinogenicity of chemicals in food, consumer products and the environment (UK). Pyrrolizidine alkaloids in food – initial assessment of carcinogenicity. CC/08/13. Annex C: Benchmark dose modelling of riddelline and lasiocarpine.

COT (2008). Committee on toxicity of chemicals in food, consumer products and the environment (UK). COT statement on pyrrolizidine alkaloids in food.

DAFF (2008). Warning against sale and use of banned Comfrey. Department of Agriculture, Forestry and Fisheries, South Africa.

EFSA (2005). Opinion of the scientific committee on a request from EFSA related to a harmonized approach for risk assessment of substances which are both genotoxic and carcinogenic. *EFSA Journal* 2005, 282:1-31

EFSA (2009). Scientific opinion. Use of the benchmark dose approach in risk assessment. Guidance of the scientific committee. *The EFSA Journal* (2009) 1150, 1-72. <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1150.pdf>

EFSA (2011). Scientific Opinion on Pyrrolizidine alkaloids in food and feed. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). *EFSA Journal* 2011, 9(11):2406. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2406.htm>

EMA (2013). Public statement on the use of herbal medicinal products containing toxic, unsaturated pyrrolizidine alkaloids (PAs). European Medicines Agency, 2nd draft. EMA/HMPC/893108/2011.

EPA (2012) Benchmark Dose Technical Guidance. EPA/100/R-12/001 June 2012 http://www.epa.gov/raf/publications/pdfs/benchmark_dose_guidance.pdf

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization), 2011. Discussion paper on pyrrolizidine alkaloids, Joint FAO/WHO food standards programme, CODEX Committee on Contaminants in Foods, 5th Session, The Hague, The Netherlands, 21 – 25 March 2011.
ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/cccf/cccf5/cf05_14e.pdf

FAGG (2013). Federaal agentschap voor geneesmiddelen en gezondheidsproducten. Advies met betrekking tot Koninklijk besluit houdende verbod van de aflevering van geneesmiddelen op basis van bepaalde planten met inbegrip van Pau pereira.

FDA, US Food and Drug Administration. (2001). 'FDA Advises Dietary Supplement Manufacturers to Remove Comfrey Products From the Market'. FDA Office of Nutritional Products, Labeling, and Dietary Supplements, July 6, 2001.
<http://www.fda.gov/food/recallsoutbreaksemergencies/safetyalertsadvisories/ucm111219.htm>

FO (2008). Risicobeoordeling inzake aanwezigheid van pyrrolizidine alkaloiden in diervoeder. RIVM-RIKILT Front Office Voedselveiligheid.

FO (2013a). Risicobeoordeling inzake aanwezigheid van pyrrolizidine alkaloiden in 'Bijen Pollen'. RIVM-RIKILT Front Office Voedselveiligheid.

FO (2013b). Risicobeoordeling inzake aanwezigheid van pyrrolizidine alkaloiden in hooi. RIVM-RIKILT Front Office Voedselveiligheid.

Hartmann T, Witte L (1995). Chemistry, biology and chemoecology of the pyrrolizidine alkaloids. In: Alkaloids: Chemical and biological perspectives, S.W. Pelletier (ed) vol 9. pp 155-233.

Hoogenboom LAP, Mulder PPJ, Zeilmaker MJ, van den Top HJ, Rimmelink GJ, Brandon EFA, Klijnstra M, Meijer GAL, Schothorst R, van Egmond HP (2011). Carry-over of pyrrolizidine alkaloids from feed to milk in dairy cows. Food Additives and Contaminants 28 (3): 359-372.

IARC (2002). IARC (International Agency for Research on Cancer) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 82: Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. Lyon, France, IARC press.

Kaker F, Akbarian Z, et al. (2010). An outbreak of hepatic veno-occlusive disease in Western Afghanistan associated with exposure to wheat flour contaminated with pyrrolizidine alkaloids. J. Toxicol. 1-7.

Kempf M, Reinhard A, Beuerle T (2010). Pyrrolizidine Alkaloids (PAs) in honey and pollen-legal regulation of PA levels in food and animal feed required. Mol. Nutr. Food Res. 54:158-168.

Koninklijk besluit van 29 AUGUSTUS 1997 betreffende de fabricage van en de handel in voedingsmiddelen die uit planten of uit plantenbereidingen samengesteld zijn of deze bevatten (Stbl. 21.XI.1997).

Mulder PPJ, Klijnstra MD, Nijs WCM de, Hoogenboom LAP (2013). Pyrrolizidine alkaloids: toxic plant metabolites in our diet. Prague, Czech Republic.

NTP (1978). Bioassay of Lasiocarpine for possible carcinogenicity. NTP Technical Report, 39, 1-66. Beschikbaar via:

http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT_rpts/tr039.pdf

NTP (2003). NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of rid-delliine (Cas No. 23246-96-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). NIH publication No. 03-4442.

http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT_rpts/tr508.pdf

Ocké MC, van Rossum CTM, Fransen HP, Buurma EM, de Boer EJ, Brants HAM, Niekerk EM, van der Laan JD, Drijvers JJMM, Ghameshlou Z (2007). Dutch National Food Consumption Survey – Young children 2005/2006. RIVM rapport 350070001/2007 RIVM, Bilthoven.

Ruan J, Liao C, Ye Y, Lin G (2014). Lack of metabolic activation and predominant formation of an excreted metabolite of nontoxic platynecine-type pyrrolizidine alkaloids. Chem. Res. Toxicol. 27: 7-16.

Slob W, Bokkers B, Bakker M, Mengelers M (2013). 'Methoden voor risicoschatting van carcinogenen en acceptabel risico: Tijd voor een heroverweging?' Discussiestuk opgeleverd in het kader van het project "IPRA: Risicobeoordeling bij normoverschrijding". 27 juni 2013. RIVM, Bilthoven.

Slob W, Setzer W (in preparation). Shape and steepness of toxicological dose-response relationships of quantal endpoints.

Van Engelen JGM, van Egmond HP, Speijers GJA (1997). Pyrrolizidine Alkaloiden. Centrum voor Stoffen en Risicobeoordeling rapport 05666A00. RIVM, Bilthoven.

Van Rossum CTM, Fransen HP, Verkaik-Kloosterman J, Buurma-Rethans EJM, Ocké MC (2011). Dutch National Food Consumption Survey 2007 – 2010. Diet of children and adults aged 7 to 69 years. RIVM rapport 350050006/2011 RIVM, Bilthoven.

Van der Zee M (2005). Herevaluatie norm toxische pyrrolizidine alkaloiden. RIVM rapport 09685A00. RIVM, Bilthoven.

VWS (2014). Wijziging Warenwetbesluit Kruidenpreparaten versie maart 2014.

Bijlagen

Bijlage 1 Overview of toxicology of PAs

The information below is mainly based on EFSA (2011) and FAO/WHO (2011).

Toxicokinetics

Upon oral exposure, PAs are rapidly absorbed followed by distribution to the liver where metabolism occurs. In addition, distribution of PAs to other tissues such as red blood cells, kidney and lung has also been described. Further, low levels were shown to be transferred in the milk.

Three metabolic pathways have been identified for PAs (see Figure B1.1).

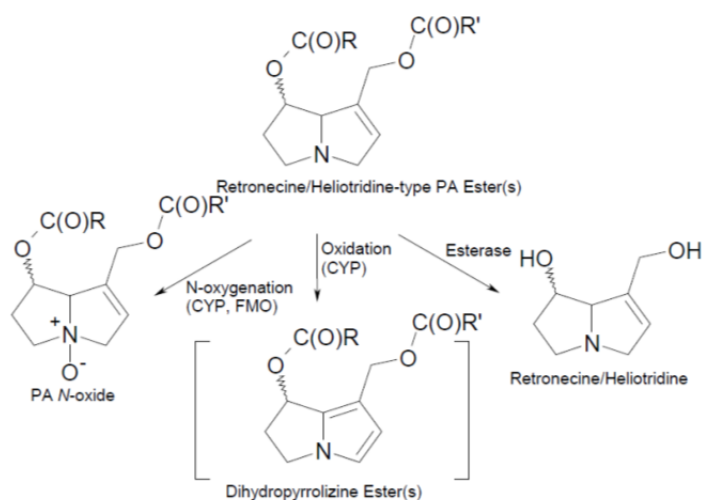


Figure B1.1. Major metabolic pathways of pyrrolizidine alkaloids (EFSA, 2011)

The different pathways can lead either to detoxification or to bioactivation, ultimately determining the toxicity of the various PAs. The formation of the PA *N*-oxides (PANOs) as catalyzed by cytochrome P450 (CYP) and flavin-containing monooxygenase (FMO) is generally considered as a detoxification pathway, though for PANOs this pathway is metabolically reversible and thus does not appear to fully prevent the formation of reactive toxic metabolites from PAs. Metabolic activation of PAs occurs via an oxidative pathway leading to formation of pyrrolic esters. CYP3A and 2B isoforms are mainly responsible for this pathway, though CYP2C11 has been implicated in male rat liver. Pyrrolic esters can further undergo ester hydrolysis leading to the formation of racemic (\pm)-6,7-dihydro-7-hydroxy-1-hydroxymethyl-5H-pyrrolizine (DHP). Both pyrrolic esters as well as DHP react readily with a wide array of cellular components (such as proteins and DNA). Pyrrolic esters can also undergo Phase II detoxification by reacting with glutathione (GSH). Finally, excretion of PAs occurs mainly within 24h after exposure via urine and faeces. The balance among the detoxification/activation pathways is likely responsible for the observed different species-, strain-, and sex-specific sensitivity to 1,2-saturated PA toxicity.

General toxicity

PA poisoning is usually manifested as acute veno-occlusive disease (VOD) characterized by a dull dragging ache in the right upper abdomen, rapidly filling ascites resulting in marked distension of the abdomen, and sometimes associated with oliguria and massive pleural effusion. Acute liver damage includes centrilobular haemorrhagic necrosis and hepatomegaly with accompanying ascites (Prakash et al., 1999). It can also manifest as sub-acute disease with vague symptoms and persistent hepatomegaly. Children are particularly vulnerable. Many cases progress to cirrhosis. Mortality can be high with death due to hepatic failure in the acute phase or due to haematemesis resulting from ruptured oesophageal varices caused by cirrhosis (IPCS, 1988). It was reported that significant acute poisoning in man would result in death in approximately 20% of the cases and in complete recovery in 50% of the patients. Of the survivors, about 20% may still develop cirrhosis and liver failure years later (FSANZ, 2001). The mortality of VOD is approximately 50% (Stickel & Seitz, 2000). In addition, also the pulmonary, renal and cardiovascular systems may be affected.

Genotoxicity and carcinogenicity

The genotoxicity of PAs has been extensively evaluated in *in vitro* and *in vivo* studies. Metabolic activation of PAs to pyrrolic ester(s) and the subsequent formation of DNA adducts is considered to be the key pathway leading to the genotoxic effects. Other genotoxic mechanisms are chromosomal aberrations and mutations.

Various PAs have been evaluated by the International Agency for Research on Cancer (IARC). Three PA's, i.e. lasiocarpine, monocrotaline and riddelliine, are classified by IARC as category 2B 'possibly carcinogenic to humans', while isatidine, retrorsine, senkirkine, hydroxysenkirkine, jacobine, seneciphylline and symphytine have been classified as Group 3 (not classifiable as to its carcinogenicity to humans) (IARC, 2002).

The main carcinogenic site in experimental animals is considered to be the liver (liver haemangiosarcoma), although tumours have been reported in many other tissues as well. There are no human epidemiological data on PA carcinogenesis.

Reproductive toxicity

Various developmental toxicity studies are available which evaluate the effects of PAs on this endpoint. EFSA (2011) concluded that developmental toxicity of PAs has mainly been observed following parenteral administration. Further, EFSA concluded that it is not possible to determine whether the observed developmental effects are related to maternal toxicity. Therefore, these effects were not included in EFSA's risk characterization (EFSA, 2011).

One case report is presented in literature on an incidence of VOD in a human fetus caused by PA intake by the mother (Rasenack et al., 2003). A preterm neonate who was symptomatic with hepatomegaly and ascites was delivered by caesarean section for threatening fetal asphyxia and died 12h afterwards. Postmortem examination revealed veno-occlusive disease typical for PA poisoning. Analysis of liver tissue for pyrrolizidine alkaloids yielded high amounts of toxic metabolites. A herbal mixture which was used daily for cooking contained significant amounts of different pyrrolizidine alkaloids. The pyrrolizidine alkaloids found are observed in heliotropium and comfrey. Authors estimated a mean daily intake of 20-30 µg PAs (Rasenack et al., 2003).

Differences between PAs

Data on toxicity of individual PAs and their relative potencies are still very limited. For the endpoint mortality an overview of available LD₅₀ values after intraperitoneal (i.p.) and intravenous (i.v.) injection is presented in Tables B1.1 and B1.2. Oral LD₅₀ values are not available.

Table B1.1. LD₅₀-values of several PAs after i.p. injection in rats (EFSA, 2011)

PA	LD ₅₀ (mg/kg)	Observation period	Strain and sex ^a
7-O-Angeloylheliotridine	250	< days (deaths occurred few hours after dosing)	Hooded Wistar, male
Cynaustine	260	3 days	Strain not specified, male
Echimidine	200	Not reported	Strain not specified, male
Echinatine	350	Not reported	Strain not specified, male
Europine	>1000	Not reported	Strain not specified, male
Heleurine	140	Not reported	Strain not specified, male
Heliosupine	60	Not reported	Strain not specified, male
Heliotridine	1500	Not reported	Hooded Wistar, male
Heliotrine	296	3 days	Hooded strain, male
	478	3 days	Hooded strain, female
Heliotrine- <i>N</i> -oxide	>5000	8 days	Hooded strain, male
Indicine	>1000	Not reported	Strain not specified, male
Intermedine	1500	Not reported	Strain not specified, male
Jacobine	138	3 days	Strain not specified, female
Jaconine	168	3 days	Strain not specified, female
Lasiocarpine	77	3 days	Hooded strain, male
	79	3 days	Hooded strain, female
Lasiocarpine- <i>N</i> -oxide	547	3 days	Hooded strain, male
	181	3 days	Hooded strain, female
Latifoline	125	3 days	Strain not specified, male
Lycopsamine	1500	Not reported	Strain not specified, male
Monocrotaline	175	Not reported	Strain not specified, male
	109	4 days	Strain not specified, male
	230	4 days	Strain not specified, female
Platyphylline	252	Not reported	Hooded Wistar, male
Retrorsine	153	7 days	Strain not specified, female
	34-38	7 days	Strain not specified, male
Retrorsine- <i>N</i> -oxide	250	7 days	Strain not specified, male
Rinderine	550	3 days	Strain not specified, male
Senecionine	85	Not reported	Strain not specified, male
	50	7 days	Strain not specified, male
Seneciphylline	77	3 days	Strain not specified, male
	83	3 days	Strain not specified, female
Senkirkine	220	Not reported	ACI, male
Spectabiline	220	3 days	Strain not specified, male
Supinine	450	Not reported	Strain not specified, male
Symphytine	130	Not reported	ACI, male
	300	Not reported	Strain not specified, male
Triacetyлиндicine	164	4 days	Strain not specified, male

Table B1.2. LD₅₀-values of several PAs after i.v. injection (EFSA, 2011)

PA	LD ₅₀ (mg/kg)	Observation period	species ^a
Heliotrine	274	7 days	Rat
	255	7 days	Mouse
Integerrimine	78	7 days	Mouse
Jacobine	77	7 days	Mouse
Lasiocarpine	88	5 days	Rat
	85	5 days	Mouse
	67.5	5 days	Hamster
Retrorsine	38	7 days	Rat
	59	7 days	Mouse
Retrorsine-N-oxide	834	7 days	Mouse
riddelliine	105	7 days	Mouse
Senecionine	64	7 days	Mouse
	61	7 days	Hamster
Seneciophylline	90	7 days	Mouse
Spartiodine	80	7 days	Mouse

^a Sex and strain not specified

In contrast to 1,2-unsaturated PAs, 1,2-saturated PAs do not undergo metabolic activation to reactive pyrrolic species responsible for hepatotoxicity and genotoxicity. The toxicity of 1,2-unsaturated PAs is determined by the proportion and rate of conversion to the pyrrole, and the chemical reactivity of the pyrrole produced.

Based on *in vivo* and *in vitro* data on DHP-derived DNA adduct formation by various PAs (Xia et al. (2006), Xia et al. (2008), Yan et al. (2008) and Wang et al. (2005a, 2005b)), FAO/WHO (2011) deduced the following order of potency for DNA-adduct formation: riddelliine \approx lasiocarpine > retrorsine > monocrotaline \approx retrorsine N-oxide \geq riddelliine N-oxide > heliotrine \approx retronecine > retronecine N-oxide.

Human poisoning

There are two cases in literature describing dose levels leading to acute poisoning of humans after a relatively short time of exposure, i.e. 4 and 14 days, respectively. Both cases concern young children of respectively two and six months old exposed to PAs via herbal tea. Based on analyses of the herbal teas and the respective body weights, it was estimated that the children were exposed daily to 0.8 – 1.7 mg/kg bw for 14 days and to 3 mg/kg bw for 4 days to a mixture of PAs, with riddelliine and retrorsine N-oxide as main components. In addition, in literature, some cases of VOD after longer times of exposure can be found with given estimations of PA exposure. In one case, a 4-month exposure to processed comfrey leaves containing up to 0.27 g/kg in combination with a 6-month exposure to herbal tea containing PA's led to VOD. The authors estimated that the person was exposed to at least 15 μ g PA's/kg/day, mainly as echimidine. However, the authors argued that also other sources of exposure must have been present. Another case concerned four Chinese women who were exposed to 0.59, 0.49 (lethal outcome), 0.60 or 0.71 mg heliotrine/kg/day for 45, 46, 19 or 21 days, respectively, by consuming herbal teas based on *Heliotropium lasiocarpum*. Further, two cases of VOD were reported in India after exposure to 3.3 mg heliotrine/kg/day for 20 to 50 days by ingestion of *Heliotropium eichwaldii* for medical reasons.

References

BfR (2013). Pyrrolizidinalkaloïde in Krautertees und Tees. – Stellungnahme 018/2013 des BfR vom 5. Juli 2013. Bundesinstitut fur Risikobewertung, Berlin, Germany.

EFSA (2011). Scientific Opinion on Pyrrolizidine alkaloids in food and feed. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). EFSA Journal 2011, 9(11):2406

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization), 2011. Discussion paper on pyrrolizidine alkaloids, Joint FAO/WHO food standards programme, CODEX Committee on Contaminants in Foods, 5th Session, The Hague, The Netherlands, 21 – 25 March 2011. Available from: ftp://ftp.fao.org/codex/meetings/cccf/cccf5/cf05_14e.pdf

FSANZ (2001). Pyrrolizidine alkaloids in food. A toxicological review and risk assessment. Food Standards Australia New Zealand Technical report series no.2. Beschikbaar via: <http://www.foodstandards.gov.au/publications/documents/TR2.pdf>

IPCS (1988). International Programme on Chemical Safety (WHO). Pyrrolizidine Alkaloids. Environmental Health Criteria 80. Geneva. Beschikbaar via: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc080.htm>

Prakash AS, Pereira TN, Reilly PE, Seawright AA (1999). Pyrrolizidine alkaloids in human diet. Mutation Reserach 443(1-2); 53-67.

Rasenack R, Muller C, Kleinschmidt M, Rasenack J, Wiedenfeld H (2003). Veno-occlusive disease in a fetus caused by pyrrolizidine alkaloids of food origin. Fetal Diagn Ther 18(4): 223-225.

Stickel F, Seitz HK (2000). The efficacy and safety of comfrey. Public Health Nutrition 3(4A): 501-508.

Wang, Y.-P., P.P. Fu, et al. (2005a). Metabolic activation of the tumorigenic pyrrolizidine alkaloid, retrorsine, leading to DNA adduct formation in vivo. Int. J. Environ. Res. Public Health [Electronic Resource] 2(1): 74-79.

Wang, Y.-P., J. Yan, et al. (2005b). Human liver microsomal reduction of pyrrolizidine alkaloid *N*-oxides to form the corresponding carcinogenic parent alkaloid. Toxicol. Lett. 155(3): 411-420.

Xia, Q., M.W. Chou, et al. (2006). Formation of DHP-derived DNA adducts from metabolic activation of the prototype heliotridine-type pyrrolizidine alkaloid, lasiocarpine. Cancer Lett. 231(1): 138-145.

Xia, Q., J. Yan, et al. (2008). Formation of DHP-derived DNA adducts from metabolic activation of the prototype heliotridine-type pyrrolizidine alkaloid, heliotrine. Toxicol. Lett. 178(2): 77-82.

Yan, J., Q. Xia, et al. (2008). Metabolic activation of retronecine and retronecine *N*-oxide - formation of DHP-derived DNA adducts. Toxicol. Ind. Health 24(3): 181-188.

Bijlage 2

Samenvatting van de carcinogeniteitsstudies met de PA's riddelliine and lasiocarpine in het kader van het Amerikaanse National Toxicology Program (NTP).

Riddelliine (NTP, 2003)

Ratten: In een NTP carcinogeniteitstudie werd gedurende 105 weken riddelliine oraal toegediend aan F344/N ratten en B6C3F1 muizen (NTP, 2003). Vijf dagen per week werd aan groepen van 50 mannelijke en 50 vrouwelijke ratten 0 of 1 mg riddelliine/kg lg per dag toegediend via gavage. Aan extra groepen van 50 vrouwelijke ratten werd 0,01, 0,033, 0,1, of 0,33 mg/kg lg per dag toegediend. De behandeling van vrouwelijke ratten duurde 105 weken; door de hoge sterfte werd de behandeling van mannelijke ratten in week 72 beëindigd. Alle vrouwelijke ratten in de 1 mg/kg lg groep stierven voor week 97. Hemangiosarcomen waren aanwezig in de lever van 86% van de mannelijke ratten en 76% van de vrouwelijke ratten in de 1 mg/kg lg groep, en werden verantwoordelijk gehouden voor de hoge sterfte in deze groep. Ook werden bij deze dosering hepatocellulaire adenomen of carcinomen en mononucleaire cel leukemie aangetroffen. Bij lagere doseringen in vrouwelijke ratten werden niet significant meer tumoren aangetroffen dan in controle ratten. Wel werden vanaf 0.033 mg/kg lg/dag non-neoplastische laesies gerapporteerd.

Muizen: Vijf dagen per week werd aan groepen van 50 mannelijke en 50 vrouwelijke muizen 0 of 3 mg riddelliine/kg lg per dag toegediend via gavage gedurende 105 weken. Aan extra groepen van 50 mannelijke muizen werd 0.1, 0.3, of 1 mg/kg lg per dag toegediend. De overleving was significant lager in de 3 mg/kg lg groep dan in de controle groep. Hemangiosarcomen van de lever werden aangetroffen in 62% van de mannelijke muizen van de 3 mg/kg lichaamsgewicht groep. In vrouwelijke muizen in deze doseringsgroep werd geen significant verhoogd aantal hemangiosarcomen in de lever aangetroffen. Wel was in de longen het aantal adenomen of carcinomen significant verhoogd. Bij lagere doseringen in mannelijke muizen werden vanaf 0.3 mg/kg lg/dag non-neoplastische laesies gerapporteerd.

Lasiocarpine (NTP, 1978)

In een NTP-carcinogeniteitsstudie werd gedurende 104 weken lasiocarpine oraal toegediend aan F344 ratten (NTP, 1978). Groepen van 24 mannelijke en 24 vrouwelijke ratten werden via de voeding blootgesteld aan 0 - 0,35 - 0,75 - 1,5 mg lasiocarpine/kg lg/dag. De overleving bij de vrouwtjes ratten was in alle blootstellingsgroepen sterk verlaagd ten opzichte van de controle groep. Bij de mannetjes ratten was dit vooral het geval voor de hoge dosis groep. Zowel bij de mannetjes als de vrouwtjes ratten werden verschillende typen tumoren waargenomen. Het aantal lever hemangiosarcomen was significant verhoogd in de 0,75 en 1,5 mg/kg lg/dag groep voor de mannetjes ratten en in de 0,35 en 0,75 mg/kg lg/dag groep voor de vrouwtjes ratten. Het gecombineerde aantal lever adenomen én carcinomen was bij de vrouwtjes dieren significant verhoogd in de 1,5 mg/kg lg/dag groep. Het gecombineerde aantal van lymfomen en leukemie was bij de vrouwtjes dieren significant verhoogd in de 0,35 en 0,75 mg/kg lg/dag groepen. Het kan niet uitgesloten worden dat de vroege sterfte,

gezien bij zowel de vrouwtjes en in minder mate bij de mannetjes, de aantallen tumoren beïnvloed heeft.

Referenties

NTP (1978). Bioassay of Lasiocarpine for possible carcinogenicity. NTP Technical Report, 39, 1-66.

NTP (2003). NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of rid-delliine (Cas No. 23246-96-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). NIH publication No. 03-4442.

Bijlage 3

BMD-analyses riddelliine and lasiocarpine

The critical effect of riddelliine and lasiocarpine is the formation of hemangiosarcomas in the liver after chronic exposure. This effect is observed for riddelliine in a NTP study (2003) in which male and female rats and mice are exposed via gavage during two years. For lasiocarpine, this effect is observed in a NTP study (1978) in which male and female rats are exposed via their diet during two years. See Table B3.1 for dose groups, group sizes and incidences of hemangiosarcomas in these two studies. Female mouse data are not included in Table B3.1. These females were exposed to 0 and 3 mg riddelliine/kg bw/day, but no relevant increase in hemangiosarcoma incidence was observed (control: 0/49, dosed group: 1/50).

Table B3.1. Dose response information for riddelliine from the NTP (2003) and lasiocarpine from the NTP (1978).

PA	Dose (ppm)	Dose (mg/kg bw/dy)*	sex ^a	species	No. animals with hemangio-sarcoma	Number examined
lasiocarpine	0	0	m	Rat	0	23
lasiocarpine	7	0.35	m	Rat	5	24
lasiocarpine	15	0.75	m	Rat	11	23
lasiocarpine	30	1.5	m	Rat	13	23
lasiocarpine	0	0	f	Rat	0	24
lasiocarpine	7	0.35	f	Rat	8	22
lasiocarpine	15	0.75	f	Rat	7	24
lasiocarpine	30	1.5	f	Rat	2	23
riddelliine	NA	0	m	Rat	0	50
riddelliine	NA	1	m	Rat	43	50
riddelliine	NA	0	f	Rat	0	50
riddelliine	NA	0.01	f	Rat	0	50
riddelliine	NA	0.033	f	Rat	0	50
riddelliine	NA	0.1	f	Rat	0	50
riddelliine	NA	0.33	f	Rat	3	50
riddelliine	NA	1	f	Rat	38	50
riddelliine	NA	0	m	Mouse	2	50
riddelliine	NA	0.1	m	Mouse	1	50
riddelliine	NA	0.3	m	Mouse	0	50
riddelliine	NA	1	m	Mouse	2	50
riddelliine	NA	3	m	Mouse	31	50

^a m = male, f = female

* dose in mg/kg bw/dy of lasiocarpine is derived and reported by EFSA (2011)

For a correct analysis of these data it is also necessary to take into account the high mortality in some of the dose groups.

Animals in the high dose groups of riddelliine died earlier compared to their control groups. In the male high dose group almost all animals died before week

70, while all control animals survived until termination of the study (week 72 for the male rats). In the female high dose group almost all animals died before week 90, while approx. 70% of the control animals survived until termination of the study (week 105 for the female rats). However, we assume that the high dose group animals lived sufficiently long to develop hemangiosarcomas, because hemangiosarcomas are already observed in the animals dying earliest. Therefore, there is sufficient confidence that the high dose group data do not underestimate the actual tumour incidence to an extent that will have major impact on the magnitude of the final BMDL.

In the NTP lasiocarpine report the individual days of death and corresponding presence or absence of hemangiomas are not reported. The female rats in the high dose lasiocarpine group were all dead at approximately 70 weeks. We assume that these early deaths cause the low (2/23) hemangiosarcoma incidence. The animals probably did not live long enough to develop tumours. This probably also applies to (a part of) the lasiocarpine-treated females of the mid doses group and lasiocarpine-treated males in the high dose group. The early deaths in these lasiocarpine-treated groups result in unreliable tumour incidence data. Therefore the female lasiocarpine data were not used in further analysis.

When the male high dose group of lasiocarpine is included in a dose response analysis this leads to an unrealistically low BMDL (0.0007 mg/kg bw/dy) and a wide BMD confidence interval (data not shown). EFSA (2011, page 130) performed a similar analysis and concluded that they have a low confidence in the analysis. To circumvent the large confidence intervals EFSA performed a restricted analysis (i.e. constraints on parameter c in the log-logistic, Weibull and gamma models are set for $c > 0$ to $c > 1$).

We do not agree with the conclusion of EFSA that large BMD confidence intervals result in a low confidence in the analysis. The large confidence interval is rather considered to reflect the fact that the data do not constrain the lower end of the dose-response curve. In other words, the BMDL derived here does not depend on data but on the selected model. In such cases more informative data should be obtained to derive a reliable BMDL. This situation is clearly described in the EPA benchmark dose guidance document (EPA 2012) (see texts below) and Slob and Setzer (in prep.).

Therefore, we excluded the male high dose group of lasiocarpine and investigated whether the remaining lasiocarpine data and the riddelliine data should be analysed separately or simultaneously (see lasiocarpine analysis below).

From the EPA (2012) Chapter 2.3.3.3:

"... In models in which dose is raised to a power that is a parameter to be estimated (such as a Weibull model), the slope of the dose-response curve becomes very steep at low doses for power parameter values less than 1. This can raise difficult questions for

the assessor. On the one hand, it is not uncommon for data in the observed range to show a supralinear response pattern, so excluding power parameters less than 1 may not provide the best fit to the data or allow adequate evaluation of uncertainty in response in the observed range. In principle, as BMD modeling does not generally seek to extrapolate to very low doses, the high slopes seen for some unconstrained models near the origin is not in itself a fundamental problem. On the other hand, in some instances, calculated BMDs and BMDLs can be very low when the power parameter is less than 1. This reflects the fact that the data do not constrain the lower end of the dose-response curve. [...] Using such an unconstrained model, however, can result in very imprecise BMDs because the data do not constrain the dose-response curve in this lower dose range, where all the change in response is occurring. In theory, other models could be found that force the BMD to be anywhere between the lowest BMDL and the lowest administered dose. Thus, the BMD computed here depends solely on the model selected, and goodness-of-fit provides no help in selecting among the possibilities. The unfortunate reality in such situations is that the data provide little useful information about the dose-response relationship; the ideal solution is to collect further data in the dose range missed by the studies in hand."

All BMD analyses below are performed according to the EFSA guideline (2009) using the PROAST software (<http://www.proast.nl/>).

Riddelliine

The usual set of models is applied to describe the mouse and rat data simultaneously (Table B3.2). Analysis showed no significant ($p=0.05$) differences between male and female rats (according to all accepted models, data not shown). Therefore, the data for the both sexes have been lumped. Species is set as a possible covariate for background (parameter a) and sensitivity (parameter b), i.e. for each model a statistical test is applied to determine if there is a difference in background and sensitivity between species. According to the goodness-of-fit test ($p=0.05$) seven models are selected

(*accept* in Table B3.2) that provide a good description of the data. The BMD confidence intervals of the accepted models are derived for a benchmark response (BMR) of 10% extra risk. As an illustration the dose-response curve of the log-probit model (providing the lowest BMDL) is shown in Figure B3.1. The lowest BMDL₁₀ of 0.3 mg/kg bw/day is obtained using the log-probit model and the highest BMDU₁₀ of 0.5 mg/kg lg/day with the logistic model. These BMDL₁₀ and BMDU₁₀ (for explanation of BMDL and BMDU, see note below Table B3.2) are obtained from the rat study, because analysis showed that mouse is less sensitive to develop tumours compared to rat. Five of the accepted models (those with a covariate for parameter *a* and *b* in Table B3.2) show that there is a difference in background (parameter *a*) and sensitivity (parameter *b*) between both species. According to the logistic and LVM E2 models there is only a difference in sensitivity (covariate = *b*).

Table B3.2. Results of the BMD analysis for riddelliine. Lowest BMDL and highest BMDU are printed in bold.

model	Parameters requiring a covariate	Number of parameters	Log likelihood	accepted	BMDL10 ^a	BMDU10 ^b	level
null	NA	1	-310.91	--	NA	NA	--
full	NA	13	-114.05	--	NA	NA	--
two-stage	ab	5	-149.53	no	NA	NA	Rat
log-logist	ab	5	-116.33	yes	0.312	0.469	Rat
Weibull	ab	5	-116.46	yes	0.328	0.506	Rat
log-prob	ab	5	-116.28	yes	0.307	0.44	Rat
gamma	ab	5	-116.3	yes	0.315	0.459	Rat
logistic	b	3	-119.81	yes	0.386	0.508	Rat
LVM E2	b	3	-120.24	yes	0.338	0.442	Rat
LVM H3	ab	5	-116.65	yes	0.323	0.47	Rat
covariate: species BMR: 10% extra risk constraint: no P-value 0.05 GoF							

^a lower 5th percent confidence bound of the BMD

^b upper 95th percent confidence bound of the BMD

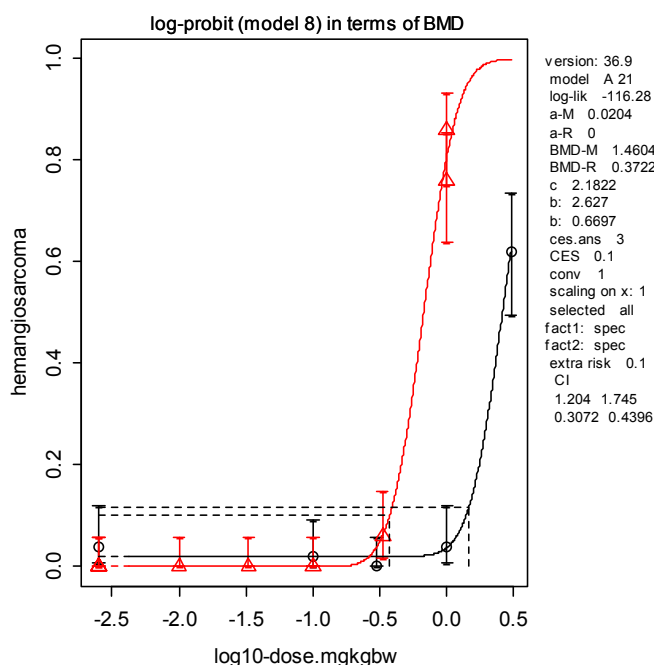


Figure B3.1. the fraction of animals with liver hemangiosarcoma against the (log₁₀) doses (mg riddelliine/kg bw/day). The dose response curves are obtained using the log-probit model. Triangles indicate the male and female rats, circles are the male mice. Error bars show the 90% confidence intervals around the data points. BMDs for mouse (M) and rat (R) are reported in the legend as well as their confidence intervals (under CI), i.e. BMDL and BMDU.

Lasiocarpine

As already mentioned many of the lasiocarpine dose groups from the NTP (1978) study do not provide reliable information on the hemangiosarcoma incidence. No informative additional dose response data from other studies is available on the carcinogenic effects of lasiocarpine. Therefore, the dose response data of riddelliine was included to get information on the shape of the lasiocarpine dose response curve. It is assumed that both PAs have the same mode of action (MoA) and that the between-rat variation is similar in both studies. As a consequence, the shapes of the dose response curves of both PAs can be considered the same (on a log (dose) scale). When the potencies of both substances differ, then the dose responses will start to increase at different levels of exposure. In other words, the dose response curves will be parallel. These assumptions are also used in the derivation of relative potency factors for compounds with the same MoA, e.g. OPs (Bosgra et al 2009; Slob and Setzer in prep.). Thus, the shape of the dose response curve of lasiocarpine can be derived from the shape of the riddelliine dose response curve. A statistical (likelihood ratio) test (Slob 2002; EFSA 2009) is applied to determine whether the potency of both PAs is the same or not.

The usual set of models is applied to describe the lasiocarpine and riddelliine rat data simultaneously (Table B3.3). Analysis showed no significant ($p=0.05$) differences between the riddelliine exposed male and female rats (according to

all accepted models, data not shown). Therefore the data for the both sexes have been lumped. Substance is set as a possible covariate for background (parameter *a*) and sensitivity (parameter *b*), i.e. for each model a statistical test is applied to determine if there is a difference in background and sensitivity between substances.

The results in Table B3.3 show that, irrespective of the model, there is no difference in potency between both PAs (no covariates are applied). As a consequence for each model only one BMDL is estimated, which is applicable to both PAs. According to the goodness-of-fit test ($p=0.05$) seven models are selected (*accepted* in Table B3.3) that provide a good description of the data. The BMD confidence intervals of the accepted models are derived for a benchmark response (BMR) of 10% extra risk. The lowest BMDL₁₀ of 0.3 mg/kg bw/day is obtained using the Weibull model and the highest BMDU₁₀ of 0.5 mg/kg lg/day with the logistic model. This BMDL₁₀ – BMDU₁₀ range is considered relevant because it includes all possible BMD₁₀s obtained from all accepted models.

As an illustration the dose-response curve of the Weibull model (providing the lowest BMDL) is shown in Figure B3.2 upper graph. In Figure B3.2 lower graph the model is fitted allowing different potencies for both PAs. As a consequence two BMDLs are estimated, one for each PA. Comparing the log-likelihoods (using the likelihood ratio test; Slob 2002) of the analyses in Figure B3.2 shows that the potencies of both PAs are not statistically significantly different ($p=0.05$). Qualitatively this can also be concluded by comparing the very similar BMDLs (lasiocarpine: 0.2682 and riddelliine: 0.2693 mg/kg bw/day).

Table B3.3. Results of the BMD analysis of the lasiocarpine and riddelliine data. Lowest BMDL and highest BMDU are printed in bold

model	Parameters requiring a covariate	Number of parameters	Log likelihood	accepted	BMDL10 ^a (mg/kg bw/dy)	BMDU10 ^b (mg/kg bw/dy)
null	NA	1	-243.27	--	NA	NA
full	NA	11	-87.35	--	NA	NA
two-stage	--	3	-111.32	no	NA	NA
log-logist	--	3	-90.37	yes	0.281	0.407
Weibull	--	3	-90.03	yes	0.274	0.419
log-prob	--	3	-90.26	yes	0.282	0.393
gamma	--	3	-90.08	yes	0.277	0.402
logistic	--	2	-93.3	yes	0.374	0.496
LVM E2-	--	2	-91.72	yes	0.343	0.457
LVM H3-	--	3	-90.25	yes	0.282	0.398
covariate: substance BMR: 10% extra risk constraint: No P-value 0.05 GoF						

^a lower 5th percent confidence bound of the BMD

^b upper 95th percent confidence bound of the BMD

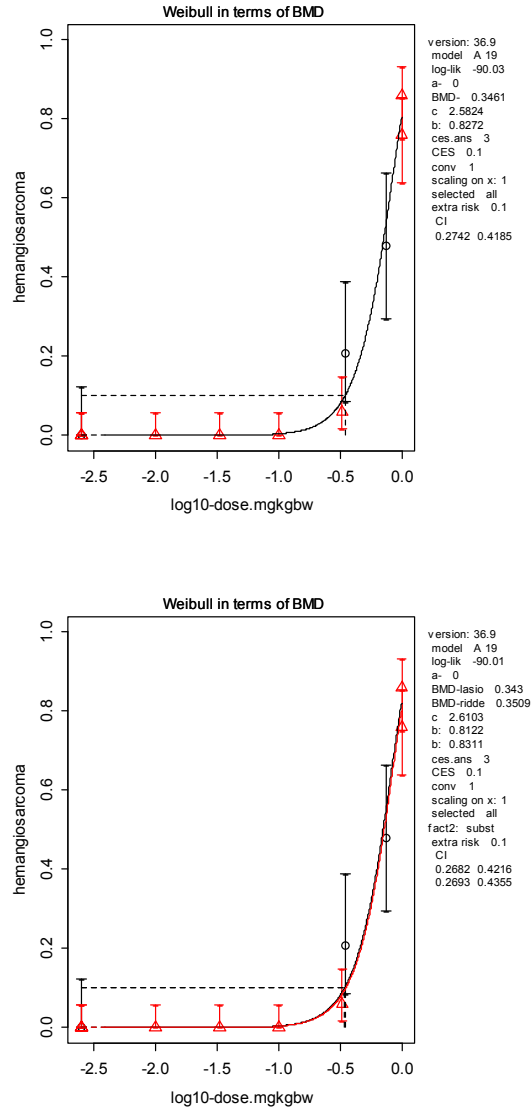


Figure B3.2. The Weibull model fitted to the fraction of rats with hemangiosarcoma against the (\log_{10}) dose (mg/kg bw/day). Red triangles are the male and female riddelliine data, black circles are the male lasiocarpine data. The high dose group of lasiocarpine is omitted. Error bars show the 90% confidence intervals around the data points. Upper graph: both PAs are equally potent. Lower graph: allowing different potencies does not result in significantly different BMDLs (lasiocarpine: 0.2682 and riddelliine: 0.2693 mg/kg bw/day). BMDs are reported in the legend as well as their confidence intervals (under CI), i.e. BMDL and BMDU.

Overall results & conclusion

Overall results are listed below (Table B3.4). The (rounded) lowest BMDL and the highest BMDU (not necessarily from the same accepted model) are provided.

Table B3.4. Overall BMD results

Substance	Sex and species	remarks	BMDL10 ^a (mg/kg bw/dy)	BMDU10 ^b (mg/kg bw/dy)	Table
riddelliine	Male & female rat	Info of mouse study included in analysis	0.3	0.5	B3.2
riddelliine & lasiocarpine	Riddelliine: male & female Rat Lasiocarpine: male Rat	High dose group of lasiocarpine male rat omitted	0.3	0.5	B3.3

^a lower 5th percent confidence bound of the BMD

^b upper 95th percent confidence bound of the BMD

From this analysis it can be concluded that

- 1) Riddelliine and lasiocarpine are equally sensitive (assuming the same MoA)
- 2) When analysed together the BMDL10 for both PAs is 0.3 mg/kg bw/dy

References

Bosgra, S., et al. (2009). "An integrated probabilistic framework for cumulative risk assessment of common mechanism chemicals in food: an example with organophosphorus pesticides." *Regul Toxicol Pharmacol* 54(2): 124-133.

EFSA (2009). "Guidance of the Scientific Committee on a request from EFSA on the use of the benchmark dose approach in risk assessment." *The EFSA Journal* 1150: 1-72. <http://www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1150.pdf>

EFSA (2011) Scientific Opinion on Pyrrolizidine alkaloids in food and feed. *EFSA Journal* 2011;9(11):2406 [134 pp.]. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2406.htm>

EPA (2012) Benchmark Dose Technical Guidance. EPA/100/R-12/001 June 2012 http://www.epa.gov/raf/publications/pdfs/benchmark_dose_guidance.pdf

NTP (1978) Technical report 39. Bioassay of lasiocarpine for possible carcinogenicity. http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT_rpts/tr039.pdf

NTP (2003) Technical report 508 on the toxicology and carcinogenesis studies of riddelliine (cas no. 23246-96-0) in F344/n rats and B6C3F1 mice. http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT_rpts/tr508.pdf

Slob, W. (2002). Dose-response modeling of continuous endpoints. *Toxicol Sci* 66(2): 298-312.

Slob W. and Setzer W. (in prep) Shape and steepness of toxicological dose-response relationships of quantal endpoints.

Bijlage 4

Blootstellingsschatting PA's en schatting MOE per kruidenpreparaat*

Tabel B4.1 Kruidenthee

Product	Gebruiksadvies	Gemeten PA	Totaal PA's (µg/kg)	Hoeveelheid product per gebruik (g)	Hoeveelheid PA's per gebruik (µg)	Aantal gebruiksmomenten per dag		Blootstelling per dag (µg/dag)		Blootstelling ^B (µg/kg lg/dag)		MOE schatting ^C	
						gemiddeld	worst case ^A	gemiddeld	worst case	gemiddeld	worst case	gemiddeld	worst case
kruidenthee 1	1 builtje (3g) 2-3x per dag	monocrotaline	23	3	0,069	3	11	0,21	0,76	0,003	0,01	101.449	27.668
kruidenthee 2	1 afgestreken theelepel oplossen in 1 kopje warm water. Max 1 / dag	monocrotaline	50	3	0,15	3	11	0,45	1,7	0,01	0,02	46.667	12.727
kruidenthee 3		erucifoline retrorsine N-oxide senecionine N-oxide seneciophylline N-oxide	200	3	0,6	3	11	1,8	6,6	0,03	0,09	11.667	3.182
kruidenthee 4	1 bag (2g)/cup	erucifoline retrorsine N-oxide senecionine N-oxide seneciophylline N-oxide	200	3	0,6	3	11	1,8	6,6	0,03	0,09	11.667	3.182
kruidenthee 5		senecionine senecionine N-oxide	70	3	0,21	3	11	0,63	2,3	0,01	0,03	33.333	9.091
kruidenthee 6	20 zakjes a 1.6g 1 zakje/kopje	erucifoline retrorsine N-oxide senecionine N-oxide seneciophylline N-oxide	320	3	0,96	3	11	2,9	11	0,04	0,15	7.292	1.989
kruidenthee 7	10 zakjes a 2.0g	erucifoline retrorsine N-oxide senkirkine	80	3	0,24	3	11	0,72	2,6	0,01	0,04	29.167	7.955

Product	Gebruiksadvies	Gemeten PA	Totaal PA's (µg/kg)	Hoeveelheid product per gebruik (g)	Hoeveelheid PA's per gebruik (µg)	Aantal gebruiksmomenten per dag		Blootstelling per dag (µg/dag)		Blootstelling ^B (µg/kg lg/dag)		MOE schatting ^C	
						gemiddeld	worst case ^A	gemiddeld	worst case	gemiddeld	worst case	gemiddeld	worst case
kruidenthee 8	30 g nodig voor sterke thee voor 2 personen	heliotrine	140	15	2,1	1	2	2,1	4,2	0,03	0,06	10.000	5.000
kruidenthee 9	30 g nodig voor sterke thee voor 2 personen	retrorsine retrorsine N-oxide senecionine senecionine N-oxide seneciphylline seneciphylline N-oxide	600	15	9	1	2	9	18	0,13	0,26	2.333	1.167
kruidenthee 10	30 g op 1/2L	senkirkine	130	9	1,17	3	11	3,5	13	0,05	0,18	5.983	1.632
kruidenthee 11	25 g op 1 L	retrorsine N-oxide senecionine senecionine N-oxide seneciphylline seneciphylline N-oxide	220	3,75	0,825	3	11	2,5	4,1	0,04	0,13	8.485	2.314

* Deze kruidenpreparaten zijn door het RIKILT geanalyseerd in opdracht van de NVWA.

^A Voor de worst case gebruikshoeveelheid is uitgegaan van de P97.5 (consumers only) van de VCP data. Alleen voor kruidenthee 8 en 9 is een eigen worst case schatting gedaan, omdat ze met andere bedoelingen worden gebruikt, bijvoorbeeld tegen impotentie of dat het verjongend zou werken.

^B Berekend voor een persoon van 70 kg.

^C MOE is berekend door de berekende BMDL (0,3 mg/kg lg/dag) te delen door de geschatte blootstelling (in µg/kg lg/dag).

Tabel B4.2 Kruidensupplementen*

Product	Gebruiksadvies	Gemeten PA	Totaal PA's (µg/kg)	Hoeveelheid product per gebruik (g)	Hoeveelheid PA's per gebruik (µg)	Aantal gebruiksmomenten per dag volgens gebruiksadvies		Blootstelling per dag (µg/dag)		Blootstelling ^B (µg/kg lg/dag)		MOE schatting ^C	
						min-max	worst case ^A	min-max	worst case	min-max	worst case	min-max	worst case
Capsules													
Kruidensupplement 1	4 capsules voor trainingsmoment/seksuele activiteit, op niet-actieve dagen 4x1 capsule	heliotrine	540	1	0,54	4	10	2,2	5,4	0,03	0,08	9.722	3.889
Kruidensupplement 2	1-2 capsules/dag	heliotrine	710	1	0,71	1-2	10	0,71-1,4	7,1	0,01-0,02	0,10	29.577-14.789	2.958
Kruidensupplement 3	1 capsule/dag	senecionine seneciphylline senkirkine	4200	1	4,2	1	10	4,2	42	0,06	0,60	5.000	500
Kruidensupplement 4	3 maal daags 1 capsule Maximaal 6 capsules per dag	senecionine seneciphylline	270	1	0,27	3-6	10	0,81-1,6	2,7	0,01-0,02	0,04	25.926-12.963	7.778
Kruidensupplement 5	1-3x daags 1 capsule	senecionine	77	1	0,077	1-3	10	0,077-0,23	0,8	0,001-0,003	0,01	272.727-90.909	27.273
Kruidensupplement 6	3 x daags 1 capsule	heliotrine	1000	1	1	3	10	3	10	0,04	0,14	7.000	2.100
Kruidensupplement 7	2 maal daags 4-6 capsules	heliotrine	10	1	0,01	8-12	10	0,08-0,12	0,1	0,001-0,002	0,001	262.500-175.000	210.000
Kruidensupplement 8	2 maal daags 4-6 capsules	heliotrine	20	1	0,02	8-12	10	0,16-0,24	0,2	0,002-0,003	0,003	131.250-87.500	105.000
Kruidensupplement 9	3 capsules/dag	senkirkine	10	1	0,01	3	10	0,03	0,1	0,0004	0,001	700.000	210.000
Kruidensupplement 10	3 capsules = dagelijkse dosis	erucifoline retrorsine N-oxide senecionine N-oxide seneciphylline	120	1	0,12	3	10	0,36	1,2	0,01	0,02	58.333	17.500
Tabletten													
Kruidensupplement 11	2 tabletten/dag	heliotrine	950	1	0,95	2	10	1,9	9,5	0,03	0,14	11.053	2.211

Product	Gebruiksadvies	Gemeten PA	Totaal PA's (µg/kg)	Hoeveelheid product per gebruik (g)	Hoeveelheid PA's per gebruik (µg)	Aantal gebruiksmomenten per dag volgens gebruiksadvies		Blootstelling per dag (µg/dag)		Blootstelling ^B (µg/kg lg/dag)		MOE schatting ^C	
						min-max	worst case ^A	min-max	worst case	min-max	worst case	min-max	worst case
Kruidensupplement 12	1-2 tabletten per dag voor slapengaan	senecionine seneciphylline	80	1	0,08	1-2	10	0,08-0,16	0,8	0,001-0,002	0,01	262.500-131.250	26.250
Kruidensupplement 13	3-4 x daags 2 tabletten	senecionine N-oxide seneciphylline N-oxide	150	1	0,15	6-8	10	0,9-1,2	1,5	0,01-0,02	0,02	23.333-17.500	14.000
Kruidensupplement 14	3-4 x daags 2 tabletten	seneciphylline N-oxide	56	1	0,056	6-8	10	0,34-0,45	0,56	0,005-0,01	0,01	62.500-46.875	37.500
Kruidensupplement 15	2 x daags 1 tablet	heliotrine	110	1	0,11	2	10	0,22	1,1	0,003	0,02	95.455	19.091
Kruidensupplement 16	3 x daags 1 tablet	heliotrine	18	1	0,018	3	10	0,054	0,18	0,001	0,003	388.889	116.667
Kruidensupplement 17	2x daags 1 tablet	heliotrine	1300	1	1,3	1-2	10	1,3-2,6	13	0,02-0,04	0,19	16.154-8.077	1.615
Kruidensupplement 18	2 x daags 1-2 tabletten tijdens of na de maaltijd	heliotrine	40	1	0,04	2-4	10	0,08-0,16	0,4	0,001-0,002	0,01	262.500-131.250	52.500
Kruidensupplement 19	1-2 tabletten per dag voor slapengaan	heliotrine monocrotaline	50	1	0,05	1-2	10	0,05-0,1	0,5	0,001-0,001	0,01	420.000-210.000	42.000
Kruidensupplement 20	3x2 tabletten per dag	erucifoline senecionine N-oxide seneciphylline N-oxide	110	1	0,11	6	10	0,66	1,1	0,01	0,02	31.818	19.091

* Deze kruidenpreparaten zijn door het RIKILT geanalyseerd in opdracht van de NVWA.

^A Voor de worst case gebruikshoeveelheid is uitgegaan van de P97.5 (consumers only) van de VCP data. Deze ligt in sommige gevallen lager dan de maximale gebruikshoeveelheid aangegeven op de verpakking van het kruidensupplement.

^B Berekend voor een persoon van 70 kg.

^C MOE is berekend door de berekende BMDL (0,3 mg/kg lg/dag) te delen door de geschatte blootstelling (in µg/kg lg/dag).

Tabel B4.3 Traditional Chinese Medicine (TCM) producten*

Product	gemeten PA's	hoeveelheid gemeten PA's (µg/kg)
TCM 1	lycopsine	30
TCM 2	lycopsine	37.000
TCM 3	senecionine senecionine N-oxide senkirkine	60.400
TCM 4	erucifoline senecionine N-oxide seneciphylline N-oxide	1.270
TCM 5	senecionine senecionine N-oxide senkirkine	52.100
TCM 6	erucifoline senecionine N-oxide seneciphylline seneciphylline N-oxide	1.400
TCM 7	lycopsine	35.000
TCM 8	lycopsine	30

* Deze kruidenpreparaten zijn door het RIKILT geanalyseerd in opdracht van de NVWA.

RIVM

De zorg voor morgen begint vandaag