



СИГУРНОСТ ВСЕКИ ДЕН

БЪЛГАРСКА АГЕНЦИЯ ПО БЕЗОПАСНОСТ НА ХРАНИТЕ ЦЕНТЪР ЗА ОЦЕНКА НА РИСКА

✉ гр. София, 1606, бул. "Пенчо Славейков" № 15А

☎ +359 (0) 2 915 98 20, 📠 +359 (0) 2 954 95 93, www.babh.government.bg

НАУЧНО СТАНОВИЩЕ НА EFSA ОТНОСНО НАЛИЧИЕТО НА АЛКАЛОИДИ НА МОРАВОТО РОГЧЕ В ХРАНИТЕ И ФУРАЖИТЕ

През март 2012г. Европейската Комисия е установила препоръки за наблюдение на наличието на алкалоиди от мораво рогче във фуражите и храните (1). Подчертана е необходимостта да се набавят повече данни за наличието на такива алкалоиди не само при несмлени зърна, но и при зърнени продукти и комбинирани фуражи и храни, както и да се свърже наличието на алкалоиди от мораво рогче с наличното количество склероции. Препоръчва се, държавите-членки, с активното участие на стопанските субекти в областта на фуражите и храните, да извършват наблюдение върху наличието на алкалоиди от мораво рогче в зърнените храни и зърнените продукти, предназначени за консумация от човека или за хранене на животни. С оглед на преобладаващото им присъствие в зърнените култури, е целесъобразно това наблюдение да се насочи към шестте основни алкалоида, а именно ергометрин, ерготамин, ергозин, ергокрисин, ергокриптин и ергокорнин, както и техните епимери.



С цел защита здравето на консуматорите, Европейската Комисия е отправила искане към Панела на EFSA „Замърсители в хранителната верига“ (CONTAM) за изготвянето на научно становище за оценка на риска за здравето на хората и животните от наличието на алкалоиди на моравото рогче в храните и фуражите (2).

Известно е че, алкалоиди на моравото рогче се продуцират от няколко представителя на разред гъби *Hypocreales* и *Eurotiales*. Представители от род *Claviceps*, на разред *Hypocreales* засягат предимно тревисти и житни растения. На местата на заразените плодници по класовете вместо зърна се развиват дълги 1–3 см черновиолетови рогчета. Те са образувани от гъсто преплетени гъбни хифи и представляват презимуващия стадий от развитието на гъбата — склероций. Тези, така наречени склероции са тъмни на цвят, с форма на полумесец и изпъкнали от нормалния житен клас. Те представлява крайния стадий на заболяването. Склероциите на *Claviceps* spp. са известни като мораво рогче.

Алкалоидите на моравото рогче се класифицират като алкалоиди производни на триптофана и физиологичните им ефекти са познати от векове. През средните векове, консумацията на замърсени с алкалоиди на моравото рогче зърнени продукти, брашно или хляб е причинявала тежки епидемии. Днес, причината за заболяването, наречено

ерготизъм, е добре известна. Развитието на научните постижения и подобренията в селскостопанските практики и техниките на смилане са довели до елиминирането на епидемиите свързани с ерготизъм.

Освен риск от замърсяване на храните, алкалоидите на моравото рогче показват и широк спектър от фармакологични ефекти и са намерили приложение в някои медицински препарати. Те са прилагани или тествани като инхибитори на пролактин, при лечение на Паркинсон, при cerebro-васкуларна недостатъчност, тромбози, емболии, и дори все още се прилагат например при мигрени.

Идентифицирани са повече от 50 различни алкалоида на моравото рогче. От *Claviceps* spp. в Европа най-широко разпространен е *Claviceps purpurea*. Известно е че, той поражда повече от 400 растителни вида, включително и някои важни от икономическа гледна точка зърнени култури като ръж, пшеница, тритикале, ечемик, просо и овес. Въз основа на установените в склероциите на *C. purpurea* алкалоиди на моравото рогче и последните литературни данни, Панелът CONTAM прави заключение че, анализът трябва да се базира на основните алкалоиди на *C. Purpurea*, а именно ергометрин, ерготамин, ергозин, ергокрисдин, ергокриптин (който е смес от α - и β -изомери), ергокорнин, и съответните епимери. Въпреки че, едната епимерна форма е описвана като биологически неактивна, поради възможността за взаимното им превръщане една в друга, Панелът CONTAM прави оценката на риска въз основа на двете епимерни форми на ергометрин, ерготамин, ергокрисдин, α - и β -ергокриптин и ергокорнин. Информацията налична за другите продуциращи алкалоиди гъби, и по специално *C. fusiformis*, характерен за просото и *C. africana*, характерен за соргото, е доста ограничена. Ендифитни инфекции на тревисти видове като *Lolium arundinaceum* причинени от токсини на гъби от рода *Neotyphodium* са добре известни извън Европа и охарактеризирани въз основа на тяхната токсичност, особено при гризачи и коне. Понастоящем обаче, в Европа няма индикации за експозиция на селскостопански животни и рискът, свързан с тези токсини при зърнени култури, използвани във фуражите не е обект на това становище.

За момента, единствено техники като високоефективна течна хроматография с флуоресцентна детекция (HPLC-FLD) и високоефективна течна хроматография с тандем мас-спектрометрия (HPLC-MS/MS) позволяват определянето на индивидуални алкалоиди на моравото рогче в храните и фуражите. Известен е един общопризнат и валидиран HPLC-FLD метод за определяне на алкалоиди на *C. purpurea* в зърно и брашно. Поради взаимното превръщане на епимерите на алкалоидите на моравото рогче е необходимо да се осъществява аналитично определяне и на двете форми. Скрининг на склероциите в зърнените култури съобразно настоящото Европейско законодателство може да бъде постигната чрез визуална инспекция, спектрални техники в близката инфрачервена област или чрез определянето на рицинолова киселина чрез газова хроматография с пламъчно-йонизационен детектор (GC-FID).

В следствие на обявена от Европейския орган по безопасност на храните (EFSA) покана за данни за алкалоидите на моравото рогче в храните и фуражите, 14 европейски държави са предоставили общо 25 840 резултата. След валидиране и проверка на данните са налични общо 20 558 аналитични резултата в 2 279 проби, от които 1 716 са храни, 496 са фуражи и 67 са за непеработено зърно. Тези данни

включват и резултати от 803 проби от храни и фуражи, получени посредством проект на EFSA за организациите по чл.36 от Регламент (ЕС) 178/2002. Всички проби са събрани за периода между 2004 и 2011г. Основно данните са предоставени от Германия, но също и от Холандия, Чехия, Финландия, Великобритания, Белгия и др. Повечето от докладваните проби са за непреработени или минимално преработени храни (основно смлени зърнени продукти - 1 193 проби) и приблизително 250 проби са от преработени храни. Данните за наличието на алкалоиди на моравото рогче във фуражи са също ограничени, като основно включват ръж и продукти от ръж (253 проби) и пшеница и пшенични продукти (161 проби). Резултати са налични само за няколко проби от ечемик, въпреки същественото значение на тази зърнена култура като фуражна суровина. Броят на алкалоидите, установяван в пробите варира от 1 до 12 при различни граници на детектиране (LOD) и на количествено определяне (LOQ). Около 60 % от аналитичните резултати по отношение на пробите за храни и повече от 75 % от фуражите са под LOD или LOQ.

Данните предоставени на EFSA показват наличието на алкалоиди като ерготамин, ергокристин, ергозин и ергокорнин в по-голяма степен в сравнение с α - и β -ергокриптин и ергометрин. Най-високи концентрации са докладвани за ръж, продукти от ръж и ръжено брашно. При процесите на преработка, основно при печене, общото количество на алкалоидите на моравото рогче намалява, а смилането води до преразпределяне на склероциите в различните млевни фракции. За продукти, готови за консумация, които съдържат цели зърна, ефекта на преразпределение и разреждане не е приложим. Характерно е че, в такива случаи единична склероция може да попадне в единична порция от консумирания продукт и да доведе до сравнително висока експозиция за консуматорите на съответния продукт.

Оценката на експозицията на алкалоиди на моравото рогче за населението е силно повлияна от факта че, данните в *Обширната база данни за консумацията на храни в Европа* на EFSA се отнася за преработените храни, и съществува ограничен набор от данни за тези типове храни.

Установената хронична експозиция от храните за възрастното население варира средно между 0.007 и 0.08 $\mu\text{g}/\text{kg}$ телесно тегло (т.т.) на ден и достига до 0.014 и 0.19 $\mu\text{g}/\text{kg}$ т.т. на ден при тези, за които е характерна консумация на големи количества от такива продукти. Острата експозиция за възрастното население е средно между 0.02 и 0.23 $\mu\text{g}/\text{kg}$ т.т. на ден и съответно между 0.06 и 0.73 $\mu\text{g}/\text{kg}$ т.т. на ден при консумация на големи количества. Най-високата хронична експозиция на алкалоиди на моравото рогче е установена при децата. За деца до три години средно експозицията е между 0.03 и 0.17 $\mu\text{g}/\text{kg}$ т.т. на ден, докато при по-големите деца е между 0.02 и 0.17 $\mu\text{g}/\text{kg}$ т.т. на ден. Децата също така показват и най-високата остра експозиция на алкалоиди на моравото рогче. Средно при деца до три години, тя е между 0.08 и 0.42 $\mu\text{g}/\text{kg}$ т.т. на ден, а за по-големите деца е между 0.05 и 0.36 $\mu\text{g}/\text{kg}$ т.т. на ден. В страните, за които е характерна по-висока консумация на ръжен хляб и ръжени тестени изделия, е установена по-висока, както остра така и хронична експозиция при различните възрастови групи.

Данните за специфични групи (като вегетарианци и такива, които по-често консумират пълнозърнести продукти) са ограничени. Резултатите за тях не показват съществени различия в сравнение с основното население.

Експозиция на алкалоиди на моравото рогче при селскостопанските и домашните животни е най-вероятна при консумацията на фуражи съдържащи зърнени култури, най-вече ръж, сорго и просо. В рамките на Европейския Съюз ръж, сорго и просо не са широко използвани за хранене на селскостопанските животни. Замърсени фуражи могат да представляват риск в тези области, където условията на околната среда са благоприятни за развитието на склероциите, но при спазването на добри селскостопански и животновъдни практики този риск може да бъде понижен значително.

Данните за токсикокинетиката на алкалоидите на моравото рогче са оскъдни и са налични за тези представители, които са имали фармацевтично приложение. Налични литературни данни предполагат, че тези алкалоиди се абсорбират посредством стомашно-чревния тракт и търпят окислителни биологични трансформации главно посредством ензимните системи на Цитохром P450 3A4, като някои алкалоиди на моравото рогче могат в последствие да конюгираат с глюкоренова киселина.

На база стойностите за LD₅₀, алкалоидите на моравото рогче проявяват умерена остра токсичност при орален прием. Сублетални дози могат да предизвикат невротоксичност, безпокойство, състояние на миоза или мидриаза, мускулна слабост и тремор. Алкалоидите на моравото рогче действат върху редица невротрансмитерни рецептори, като адренергичните, допаминергичните и серотонинергичните рецептори. При многократни дози от различни алкалоиди, тези въздействия върху рецепторите водят до исхемия, особено се засягат крайниците, като например опашките при плъховете, характерни са загуба на тегло и хормонални изменения. Изследвания при плъхове са показали, че няма съществени количествени различия по отношение на токсичността на ерготамин, ергометрин и α -ергокриптин и е определено ниво, при което не се наблюдава неблагоприятен ефект (NOAEL) в интервала 0.22 - 0.60 mg/kg т.т. на ден.

Алкалоидите на моравото рогче показват поредица ефекти върху репродуктивната система при плъхове. Такива ефекти, основно са наблюдавани при по-високи дози. С изключение на ерготамин са налични малък брой изследвания за генотоксичност. Наличните данни за ерготамин не показват мутации при бактериалните клетки или клетките на бозайници. Ранни изследвания са показали хромозомни увреждания *in vitro* и *in vivo*, въпреки че в последствие не са категорично потвърдени. При изследване за канцерогенност, плъхове, третирани с ерготоксин в продължение на две години са развили тумори и Панелът CONTAM прави заключение, че въз основа на наличната информация, алкалоидите на моравото рогче могат да предизвикат образуването на тумори по не-генотоксичен механизъм.

Взаимодействието на алкалоидите на моравото рогче с невротрансмитерните рецептори може да доведе до остри, а също и хронични ефекти и за това Панелът счита, че е подходящо да бъде установена както остра референтна доза (ARfD), така и допустима дневна доза (TDI) за тези токсини.

Панелът CONTAM стига да заключението, че вазоконстриктивните ефекти, водещи до мускулна атрофия на опашката при плъховете е основния ефект за характеристиката на опасността и получаването на нормативно ниво на безопасен прием. Изчислена е стойност за бенчмарк доза при долната доверителна граница-

BMDL₁₀ (дозата, при която се наблюдава отговор спрямо неблагоприятния ефект при 10 % от случаите) от 0.33 mg/kg т.т на ден за случаите с развитие на мускулна атрофия на опашката при плъхове, хранени с ерготамин. При установяването на ARfD, Панелът определя фактор на несигурност 3, който да отчете недостатъчните данни, като например непълната информация за токсичните ефекти по отношение на репродуктивната система. Заедно с основния фактор на несигурност от 100, който отчита междувидовите различия и различията в рамките на вида, Панелът прилага общ фактор от 300 към стойността на BMDL₁₀ от 0.33 mg/kg т.т. на ден, което дава стойност за ARfD от 1 µg/kg т.т.

За установяване на TDI, и в съгласие с препоръките на Научния Комитет на EFSA, Панелът CONTAM, счита че е необходимо да се приложи допълнителен фактор от 2 за екстраполация на данните от субхроничната токсичност към хронична токсичност. За тава Панелът прилага общ фактор на несигурност 600 към BMDL₁₀ от 0.33 mg/kg т.т. на ден и установява TDI от 0.6 µg/kg т.т. на ден.

Тъй като на база наличните данни алкалоидите на моравото рогче не показват съществени различия по отношение на потенциала си да предизвикват неблагоприятни ефекти, Панелът CONTAM определя обща ARfD от 1 µg/kg т.т. и TDI от 0.6 µg/kg т.т. на ден за групата от алкалоиди на моравото рогче.

Познанията за зависимостта доза-ефект при хора са основно на база терапевтичните употреби на ерготамин и неговите соли. Най-ниската използвана еднократна доза ергометрин е 2 µg/kg т.т., използвана за индуциране на контракции на матката. Тази доза е използвана като първоначално прилагана терапевтична доза и в случай че, не предизвика ефект са се прилагали по-високи нива. Разликата между стойността на тази терапевтично прилагана, най-ниска доза и определената ARfD от 1 µg/kg т.т. е приемлива, което потвърждава валидността на получената от Панела стойност на ARfD.

При лечение на мигрена, най-ниската предписвана доза ерготамин (която не е показала убедително доказателство за фармакологична активност) е 13-26 µg ерготамин/kg т.т., което е 10 до 20 пъти по-високо от ARfD и 20 до 40 пъти по-високо от TDI. Освен това, максималната препоръчвана орална терапевтична доза ерготамин за възрастни е 8 µg/kg т.т. на ден за период от 30 дни с цел избягване на възможни усложнения, свързани с предозиране. Това е 13 пъти по-високо от стойността на TDI. Тези сравнения с дозите използвани в хуманната медицина осигуряват допълнителна подкрепа за установената стойност на ARfD и TDI.

Установената хронична експозиция от храните на групата от алкалоиди на моравото рогче за всички възрастни групи от европейското население са под установената от Панела стойност на TDI от 0.6 µg/kg т.т. на ден. Тези оценки характеризират алкалоидите на моравото рогче, които доминират в храните, и дори дават възможност за допълнителен принос от други алкалоиди, които не са измерени или докладвани и показват че, ***няма повод за безпокойство от гледна точка на здравето на консуматорите.***

Оценената средна остра експозиция на сумата от алкалоидите на моравото рогче, присъстващи в храните за европейското население са под стойността на Острата референтна доза от 1 µg/kg т.т., установена от Панела CONTAM и не

показва риск за здравето на консуматорите, както за възрастното население, така и за децата. Панелът подчертава че, тя се основава на ограничен брой от категориите храни и не трябва да се пренебрегва възможността от допълнителен принос от други неизследвани хранителни източници.

Оценката на експозицията и нивата на алкалоидите на моравото рогче в зърнени храни, докладвани за Европа, предполага, че при нормални обстоятелства рискът от токсикоза за селскостопанските животни е нисък. Освен това, риск от ерготизъм при селскостопанските животни като резултат от консумацията на контаминирани зърнени култури, или комбинирани фуражи, произведени от такива, се понижава при прилагането на подходящи практики на почистване на зърното.

Панелът CONTAM препоръчва да продължат усилията за събиране на необходимите данни за наличието и нивата на алкалоидите на моравото рогче в храните и фуражите. Мониторинг би следвало да се извършва поне за веществата, обект на това становище, като основни компоненти на склероцията на *C. Purpurea*. Тъй като *C. africana* и *C. fusiformis* могат да бъдат характерни за определени храни, специфични диети и внесени в ЕС продукти, е необходимо да бъдат изследвани наличието и нивата на характерните за тях алкалоиди, в частност дихидроергозин и агроклавин. Освен това е необходимо да се осигурят търговски налични референтни стандарти, и по-конкретно изотопно-белязани вътрешни стандарти и сертифицирани референтни материали.

Литература:

1. OB L 77, 16.3.2012 г., стр. 20.
2. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on Ergot alkaloids in food and feed. EFSA Journal 2012;10(7):2798.