

Toxikologische Bewertung von Chloramphenicol

Empfehlung der BfR-Kommission für Pharmakologisch wirksame Stoffe und Tierarzneimittel vom 20. März 2014

Die BfR-Kommissionen setzen sich aus externen, unabhängigen Sachverständigen zusammen. Die Empfehlungen der BfR-Kommissionen müssen nicht der Meinung des BfR entsprechen.

Pharmakologisch wirksame Stoffe ohne ADI (Acceptable Daily Intake)- und MRL (Maximum Residue Limit)-Wert dürfen bei lebensmittelliefernden Tieren nicht eingesetzt werden. Dennoch sind vereinzelt Rückstände solcher Stoffe in Lebensmitteln nachweisbar. Aufgrund der fehlenden toxikologischen Referenzwerte stellt die gesundheitliche Bewertung dieser Rückstände eine besondere Herausforderung an die Risikobewertung dar. Aus diesem Grund hat sich die BfR-Kommission für „Pharmakologisch wirksame Stoffe und Tierarzneimittel“ Stoffen ohne ADI/MRL-Wert mit dem Ziel gewidmet, eine Empfehlung für die Risikobewertung von Rückständen dieser Stoffe in Lebensmitteln auszusprechen.

Chloramphenicol (CAP) ist ein Wirkstoff, für den kein ADI/MRL-Wert festgelegt werden konnte, der jedoch in Untersuchungen des Nationalen Rückstandskontrollplans in tierischen Matrices gelegentlich gefunden wird.

Die Basis der Bewertung zu diesem Stoff beruhte u.a. auf den Angaben zur Toxizität von CAP, der Überprüfung der Anwendbarkeit des TTC-Konzeptes (Threshold of Toxicological Concern), der Bedeutung des Nitrosometaboliten, der Exposition nach Gabe von CAP-Augensalbe und der mutmaßlichen Exposition der Bevölkerung basierend auf den analytischen Befunden bzgl. der Konzentration von CAP in lebensmittelliefernden Tieren. Durch einen Ausschuss wurde darüber hinaus die vorhandene Literatur gesichtet und auch unter epidemiologischen Fragestellungen bewertet. Nach abschließenden Diskussionen kam die Kommission zu folgendem Ergebnis:

Basierend auf einer wissenschaftlich unzureichenden Datenlage kann eine Gesundheitsgefährdung durch CAP in Lebensmitteln nicht ausgeschlossen werden. Aufgrund der in der Literatur beschriebenen toxischen Effekte des CAPs können andere wissenschaftlich basierte toxikologische Abschätzungskonzepte, wie z.B. das TTC-Konzept, hier nicht angewendet werden.

1 Einleitung

Chloramphenicol (CAP) ist ein bakteriostatisch wirkendes Antibiotikum, das sowohl auf intrazellulär als auch auf extrazellulär gelegene grampositive und gramnegative Bakterien sowie wenige weitere Organismen wirkt. Der Wirkstoff gehört zur Gruppe der Phenicol und wurde erstmals 1947 aus *Streptomyces venezuelae* isoliert (1-4). In Deutschland wird CAP für den humanmedizinischen Gebrauch derzeit nur noch als Monopräparat in Posifenicol® C 1 % Augensalbe angeboten (5). Das ehemals als Dermatikum eingesetzte Kombinationspräparat Ichthoseptal® wurde wegen häufig auftretender Kontaktsensibilisierungen mittlerweile vom Anbieter vom Markt genommen, jedoch wurden 2011 noch 1,2 Mio. definierte Tagesdosen verordnet (6).

2 Wirkungsmechanismus und pharmakologisches Profil

Der exakte antibakterielle Wirkungsmechanismus von CAP ist nicht abschließend geklärt, jedoch wird angenommen, dass es durch aktive Transportmechanismen in den Erreger aufgenommen wird (7-12). Dort interagiert es reversibel mit der 50S Untereinheit des bakteriellen Ribosoms und hemmt die Transacylierung der Peptidyl-Transferase. Das Wirkungsspektrum umfasst grampositive Bakterien, wie z.B. *Bacillus anthracis*, *Corynebacterium diphtheriae*, und gramnegative Bakterien, wie z.B. *Neisseria meningitidis*, aerobe Bakterien sowie sporenlose Anaerobier (Bacteroides, Fusobakterien, Peptokokken- und Peptostreptokokkenarten). Die minimale Hemmkonzentration *in vitro* reicht von 0,25 bis etwa 10 mg/l, wobei die Wirksamkeit im Wesentlichen von der Zeitdauer abhängt, in der der Wirkstoffspiegel oberhalb der minimalen Hemmkonzentration des Erregers liegt (7, 8, 13).

Während der Therapie kommt es im Allgemeinen nicht zu einer Resistenzentwicklung, doch wurden zunehmend Unempfindlichkeiten gegenüber CAP beschrieben (8). Am häufigsten wird die Übertragung einer Acetylgruppe durch Acetyltransferasen auf Hydroxylgruppen des CAP als Mechanismus angesehen, wodurch die Affinität von CAP zu seinem ribosomalen Rezeptor deutlich vermindert wird. Es besteht eine Kreuzresistenz mit verwandten Wirkstoffen aus der Phenicolgruppe wie Thiamphenicol und Azidamphenicol (13).

CAP wird beim Menschen rasch und nahezu vollständig resorbiert (7, 8, 13-15). Die perorale Bioverfügbarkeit beträgt mehr als 90 %. Maximale Blutspiegel treten innerhalb der ersten drei Stunden auf. Die C_{max} -Werte betragen nach einer oralen Einzeldosis von 0,5 g ungefähr 4 – 6 mg/l, nach einer Dosis von 1 g CAP zwischen 10 – 18,5 mg/l. Die Serumspiegel sinken innerhalb eines Zeitraums von acht Stunden nicht unter 1 - 2 mg/l. Auch Neugeborene und Kleinkinder resorbieren CAP gut und bauen wirksame Blutspiegel auf: In Neugeborenen werden maximale Serumspiegel von 20 – 24 mg/l nach peroraler Gabe von 40 mg/kg Körpergewicht (KG) erreicht; Kleinkinder erreichen maximale Serumspiegel von 14 mg/l nach Gabe von 26 mg/kg KG.

3 Toxikologisches Profil

Akut toxische Effekte

Nach intravenöser bzw. intraperitonealer Gabe einer Einzeldosis wurden LD_{50} Werte von 200 und 1320 mg/kg KG für Mäuse bestimmt (14). Letale Dosen von CAP, die peroral oder parenteral gegeben werden, führen zu respiratorischem Versagen (14). Ratten, die mit 50 bzw. 100 mg/kg KG CAP behandelt wurden, zeigten Erhöhungen des Lipidgehalts der Leber und von Leberenzymen im Serum (14). Untersuchungen beim Menschen zeigten außer bei Neugeborenen („Grey-Syndrom“) ein relativ geringes akut schädigendes Potential von CAP (13).

Chronisch toxische Effekte

In einer 1962 durchgeführten Studie wurden Gruppen von drei Monate alten Mäusen einmal täglich CAP-Dosen von 20, 40 und 100 mg/kg KG über einen Zeitraum von drei Monaten i.p. verabreicht. Dosisabhängig traten in der Folge Spleno- und Hepatomegalie, Lymphadenopathien sowie Hypertrophien des Thymus auf (14).

Genotoxische Effekte

CAP zeigte in verschiedenen Studien schädigende Wirkungen auf das Knochenmark bzw. Knochenmarkszellen, wie z.B. ein verminderter Eintritt von sich teilenden Knochenmarkszellen der Maus in die S-Phase oder Knochenmarksschädigungen in Hunden und Katzen (14). Die pathologischen Veränderungen beinhalteten Veränderungen der myeloiden und erythro-

poetischen Vorläuferzellen, Knochenmarkshypoplasie bei Katzen, Suppression der Erythropoese und eine reduzierte Rate der Granulozytenbildung in Hunden (14). Weitere Studien zeigten eine dosisabhängige Hemmung von Granulozyten und Erythrozyten in Mäusen und eine Hemmung der DNA-Synthese in Rattenknochenmarkszellen (14). Interessanterweise war dieser Befund reversibel nach Gabe der CAP-Muttersubstanz, nicht jedoch nach Einsatz des Nitrosoderivates (14,16). Auch die mitochondriale Proteinsynthese wird durch CAP gehemmt (14).

Störungen der Blutbildung können in zwei unterschiedlichen Grundformen auftreten. Bei der dosisabhängigen Knochenmarksdepression, die frühzeitig auftritt und reversibel verläuft, kommt es zu einem Absinken der Retikulozyten, der Leukozyten und des Hämoglobins. Durch die verminderte Hämoglobinsynthese wird ein Anstieg des Serumeisens beobachtet. Diese Form soll insbesondere bei CAP-Plasmakonzentrationen auftreten, die 25 mg/l übersteigen. Als Ursache wird eine Hemmung der mitochondrialen Proteinsynthese von Knochenmarkszellen vermutet (7, 14, 15, 17, 18).

Die zweite durch CAP hervorgerufene Störung der Blutbildung äußert sich in einer aplastischen Anämie bzw. verwandten Krankheitsbildern. Sie ist möglicherweise dosisunabhängig, irreversibel, idiosynkratisch und wird nach unterschiedlich langen Latenzzeiten beobachtet (7, 8, 13, 14, 19). In vielen Fällen soll sie auch erst Jahre nach der Behandlung auftreten und hat eine schlechte, häufig letale Prognose von etwa 50 % bzw. neonatal von etwa 40 % (19). Je später die CAP-induzierte aplastische Anämie während der Therapie auftritt, umso schlechter ist die Prognose. Jedoch ist nicht ausgeschlossen, dass Überlebende, die früh während der Therapie eine aplastische Anämie erleiden, nachfolgend eine Leukämie entwickeln. Studien lassen vermuten, dass es ethnische Unterschiede gibt und Patienten schwarzer Hautfarbe stärker betroffen sind. Insgesamt ist es jedoch ein seltenes Ereignis mit einer Häufigkeit von 1:20.000 bis 1:50.000, wobei es nach lokaler, ophthalmologischer Anwendung noch viel seltener ist (19).

Hauptsächlich peroral gegebenes CAP soll eine aplastische Anämie hervorrufen, obwohl diese angeblich auch nach i.v.-Gabe aufgetreten ist. Bislang ist es nicht gelungen, prädisponierende Faktoren bei gefährdeten Patienten zu identifizieren. Als auslösendes Agens wird u.a. ein Nitrobenzylradikal vermutet, das die DNA-Synthese in Knochenmarkstammzellen hemmt. Gestärkt wird dies durch die Beobachtung, dass Thiamphenicol, welches kein Nitrobenzylradikal bilden kann, keine aplastische Anämie verursachen soll (19). Nach einer weiteren Theorie werden aber auch Metabolite vermutet, die von Bakterien gebildet werden und um ein Vielfaches toxischer als die Muttersubstanz sein sollen (19). Dies teilweise auch deshalb, weil sie im menschlichen Organismus noch weiter biotransformiert werden und die aplastische Anämie verursachende Intermediate bilden könnten. Eine weitere Hypothese geht von einem genetischen metabolischen Defekt bzw. einer entsprechenden genetischen Prädisposition aus (19). CAP soll diesen Defekt induzieren bzw. verstärken und damit undifferenzierte Stammzellen des Knochenmarks zerstören. Keine dieser Theorien hat sich aber bislang durchgesetzt.

Während die reversible Knochenmarksdepression auch im Tierversuch reproduziert werden konnte, fehlt dieser Nachweis für die aplastisch anämische Form (19). Dies könnte für genetisch/immunologische Mechanismen sprechen, wie sie für andere Substanzen gefunden wurden, jedoch für CAP bislang nicht belegt sind. Die statistische Auswertung der Sterbefälle in Deutschland im Zeitraum von 1980 bis 2010 listet drei Todesfälle (1985, 1990, 2009) in Zusammenhang mit CAP auf (20). Im gleichen Zeitraum wurden 127 Todesfälle in Zusammenhang mit anderen Antibiotika registriert. Insgesamt betragen die entsprechenden Zahlen aller Sterbefälle bzw. von Todesfällen in Zusammenhang mit aplastischen und sonstigen

Anämien von 1980 bis 2010 zwischen 818.271 und 952.356 bzw. 302 und 1.037 Fälle pro Jahr (33). In einer früheren Untersuchung aus einem Zeitraum, in dem CAP noch häufiger angewendet wurde, konnte das Risiko einer Panmyelopathie (aplastischen Anämie) nach Chloramphenicolgabe auf 1 : 6.000 bis 1 : 60.000 geschätzt werden (21).

Mutagene und kanzerogene Effekte

Es gibt zahlreiche Untersuchungen zum mutagenen und tumorerzeugenden Potential von CAP. *In-vivo*- und *in-vitro*-Untersuchungen zum Nachweis von Chromosomenmutationen ergaben widersprüchliche Ergebnisse. Hieraus wurde geschlussfolgert, dass aufgrund methodischer Mängel der Untersuchungen eine wissenschaftlich valide und exakte Beurteilung der Relevanz vorhandener positiver Befunde für den Menschen gegenwärtig nicht möglich ist (22). Die International Agency for Research on Cancer stellt in einer 1990 publizierten Monographie (letzte Aktualisierung: 11.11.1997) fest, dass für den Menschen CAP wahrscheinlich karzinogen ist (14). Die Daten zum tumorerzeugenden Potential bei Tieren sind jedoch inadäquat. Das National Toxicology Program (NTP) Board of Scientific Counselors Report on Carcinogens Subcommittee der USA, das dem National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS) berichtet, stellt in einem Meeting Report im Jahre 2000 fest, dass CAP wahrscheinlich für den Menschen karzinogen ist, wobei Kinder möglicherweise eine besonders empfindliche Subpopulation darstellen (23). Bestätigt wird diese Auffassung durch das NIEHS 2011, das von einem Zusammenhang zwischen CAP und einem erhöhten Risiko für Leukämie ausgeht (24).

Rückstände in Lebensmitteln

CAP wird gelegentlich in Lebensmitteln nachgewiesen (19), obwohl seine Anwendung bei lebensmittelliefernden Tieren in vielen Ländern verboten ist. Insbesondere in Aquakulturen aus Drittländern, die der Lebensmittelgewinnung dienen, kann es nachgewiesen werden. Darüber hinaus wird CAP auch in Spurenkonzentrationen in Erdböden gefunden, möglicherweise als Folge der Produktion durch natürlich vorkommende Bakterien (25). Dieses CAP kann durch Pflanzen aufgenommen werden und so in die Nahrungskette gelangen. Die zu erwartenden Konzentrationen sind jedoch äußerst gering.

4 Empfehlung der BfR-Kommission für pharmakologisch wirksame Stoffe und Tierarzneimittel

Obwohl bisher noch kein Fall einer aplastischen Anämie nach Aufnahme von CAP über kontaminierte Lebensmittel beschrieben wurde und diese bei Anwendung therapeutischer Dosen mit einer Häufigkeit von 1 : 20.000 bis 1 : 50.000 nach CAP-Gabe auch ein sehr seltenes Ereignis darstellt, ist ein Auftreten jedoch nicht auszuschließen. Insofern folgt die Kommission den Äußerungen der WHO aus dem Jahr 2004, wonach eine Gesundheitsgefährdung durch CAP nicht ausgeschlossen werden kann (26). Die Anwendbarkeit neuer toxikologischer Konzepte zur Risikobewertung von CAP (z.B. das TTC-Konzept) wurde von der Kommission umfangreich geprüft. Obwohl das toxikologische Profil von Chloramphenicol einer Bewertung mit dem TTC-Konzept grundsätzlich nicht im Wege steht, weist CAP mit der aplastischen Anämie im Menschen eine weitere wichtige Nebenwirkung auf, die möglicherweise dosisunabhängig, irreversibel und potentiell tödlich ist, sowie im Tierversuch nicht nachstellbar ist. Der Kommission stellte sich somit die Frage, inwieweit diese Nebenwirkung möglicherweise vom TTC-Konzept abgedeckt ist. Im Rahmen der Ableitung des TTC-Konzepts wurde Kanzerogenität als empfindlichster toxikologischer Endpunkt identifiziert und der TTC-Wert von Ergebnissen von Kanzerogenitätsstudien an Nagetieren abgeleitet. Man kann spekulieren, dass der Endpunkt der aplastischen Anämie von der Kanzerogenität ebenfalls abgedeckt ist. Da die aplastische Anämie als Folge einer Chloramphenicolgabe im Tierversuch nicht nachstellbar ist, gibt es für diese Annahme keinen Beleg. Folgerichtig muss die

Kommission einen konservativen Standpunkt einnehmen und davon ausgehen, dass die aplastische Anämie im Menschen nicht vom TTC-Konzept abgedeckt ist. Somit können aufgrund der in der Literatur beschriebenen toxischen Effekte des CAPs andere wissenschaftlich basierte toxikologische Abschätzungskonzepte, wie z.B. das TTC-Konzept, hier nicht angewendet werden.

Literatur

1. CliniPharm, Chloramphenicol – Chemie, www.vetpharm.uzh.ch/wir/00000005/6757_01.htm v. 09.02.2013
2. J. Knabe & H.-D. Höltje. Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie, S. 766ff., 12. Aufl., Wiss. Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 1991
3. H.-H. Frey & W. Löscher. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin, S. 376 ff., 2. Auflage, Enke / Georg Thieme-Verlag, Stuttgart, 2002
4. Europäisches Arzneibuch. Monographien zu Chloramphenicol, Grundwerk 2011, Band 2, S. 2502ff., 7. Ausgabe, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, Govi-Verlag-Pharmazeutischer Verlag GmbH, Eschborn, 2011
5. Rote Liste® Service GmbH. Rote Liste, 52. Auflage, 2012
6. U. Schwabe & D. Paffrath (Hrsg.) Arzneiverordnungsreport 2012, S. 554, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 2012
7. Martindale. The complete drug reference. S. 179-181, 33. Auflage, 2002
8. Monographie Chloramphenicol des BfArM
9. J.A. Dunkle, L. Xiong, A.S. Mankin, J.H.D. Cate. (2010). Structures of the *Escherichia coli* ribosome with antibiotics bound near the peptidyl transferase center explain spectra of drug action. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 17152-17157
10. D. N. Wilson. (2011). On the specificity of antibiotics targeting the large ribosomal subunit. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1241, 1-16
11. M. Freissmuth, S. Offermanns, S. Böhm. Pharmakologie & Toxikologie. S. 661, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, 2012
12. E. Mutschler, G. Geisslinger, H.K. Kroemer, S. Menzel, P. Ruth. Mutschler Arzneimittelwirkungen. 10. Auflage, Wiss. Verlagsgesellschaft, Stuttgart, 2013
13. Fachinformationen zu Posifenicol® C 1% (Stand 03/2013)
14. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human, 50, 169-193, 1990
15. Kurzgutachten Chloramphenicol. Bundesgesundheitsamt / BfArM, Juni 1987

16. C.S. Ambekar, B. Cheung, J. Lee, L.C. Chan, R. Liang, CR. Kumana. (2000). Metabolism of chloramphenicol succinate in human bone marrow. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 56, 405-409
17. L.M. Leiter, H.S. Thatte, C. Okafor, P.W. Marks, D.E. Golan, K.R. Bridges. (1999). Chloramphenicol-induced mitochondrial dysfunction is associated with decreased transferrin receptor expression and ferritin synthesis in K562 cells and is unrelated to IRE-IRP interactions. *J. Cell. Physiol.* 180, 334-344
18. C.T. Kong, D.E. Holt, S.K. Ma, A.K.W. Lie, L.C. Chan. (2000). Effect of antioxidants and a caspase inhibitor on chloramphenicol-induced toxicity of human bone marrow and HL-60 cells. *Human & Exper. Tox.* 19, 503-510
19. P. Shukla, F.W. Bansode, R.K. Singh. (2011). Chloramphenicol toxicity: A review. *J. Med. Med. Sci.* 2, 1313-1316
20. Todesursachenstatistik für Deutschland. Tabellen erstellt am 11.10.2012 unter www.gbe-bund.de erstellt
21. K. Hausmann, G. Skrandies, P. Sachtleben. (1974). Aktuelle Aspekte arzneimittelbedingter Knochenmarksschäden. *Münch. Med. Wschr.* 116, 1621-1626
22. Chloramphenicol. Hazardous Substances Data Bank (HSDB). National Library of Medicine's TOXNET system (<http://toxnet.nlm.nih.gov>), Ausdruck vom 08.03.2012
23. Report on Carcinogens (RoC) Background Document for Chloramphenicol vom 13.-14.12.2000, Meeting of the NTP Board of Scientific Counselors Report on Carcinogens Subcommittee, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC 27709, USA
24. Report on Carcinogens (RoC), 12th Edition.
<http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/twelfth/profiles/Chloramphenicol.pdf>
25. B. Berendsen, M. Pikkemaat, P. Römkens, R. Wegh, M. van Sisseren, L. Stolker, M.I. Nielsen. (2013). Occurrence of Chloramphenicol in Crops through Natural Production by Bacteria in Soil. *J. Agric. Food Chem.* 61, 4004-4010
26. WHO (2004) Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO food additives series 53. S. 7ff
(http://whqlibdoc.who.int/publications/2004/9241660538_chloramphenicol.pdf)