

Wirkungsbezogene Analytik in der Lebens- und Futtermittelkontrolle

Können zellgestützte Hochdurchsatz-Bildgebungsverfahren als neue Untersuchungsstrategie genutzt werden?

Stefano Di Fiore¹, Yvonne Dürr^{1,2}, Rainer Fischer¹, Roland Goerlich²

¹Fraunhofer IME, Forckenbeckstr. 6, 52074 Aachen, ²Institut für Immunologie, Universitätsklinikum Aachen, Pauwelsstr. 30, 52074 Aachen
Kontakt: Fh IME: stefano.difiore@ime.fraunhofer.de, UK Aachen: goerlich@ukaachen.de

Hintergrund

Lebensmittel dürfen laut Verordnung (EG) 178/ 2002 (1) nur in den Verkehr gebracht werden, wenn sie keine negativen Auswirkungen auf die Gesundheit des Verbrauchers besitzen. Die gängige Praxis mit physikalisch-chemischen Methoden bei der Lebensmittelkontrolle orientiert sich am Einzelstoffnachweis, für den in der Regel gesetzlich festgelegte Grenzwerte bzw. Höchstmengen existieren. Aussagen zu gesundheitlichen Auswirkungen können mit diesen Methoden nicht gemacht werden. Dies ist aber mit biologischen Wirkungstests möglich. Hier werden biologische Effekte, ausgelöst durch Stoffstrukturen in Lebensmitteln, mit biologischen Zielstrukturen gemessen. Diese Effekte stellen Summenparameter für mögliche toxische Wirkungen dar (2). Zeigt sich ein Effekt, muss mit der physikalisch-chemischen Analytik die dafür verantwortliche Substanz identifiziert werden (2), siehe Abb. 1.

Hochdurchsatz-Screening mit dem Opera-System

Das Opera-System (s. Abb. 2) ist ein vollautomatisches konfokales Fluoreszenzmikroskop mit mehreren Anregungslasern. Es besitzt drei unabhängige digitale Kameras mit denen gleichzeitig bis zu vier Fluoreszenzsignale aufgenommen werden können. Biologische Effekte können so im Zellscreening anhand von Fluoreszenzfärbungen detektiert werden. Im Gegensatz zur konventionellen Mikroskopie sind mit dem Opera-System Bildaufnahmen im Hochdurchsatz möglich: Innerhalb von 8 h können mithilfe von 96 Well Platten ca. 20000 Bilder von ca. 4000 Proben aufgenommen werden. Mit konventioneller Mikroskopie können im gleichen Zeitraum lediglich ca. 200-600 Bilder von ca. 100-200 Proben aufgenommen werden. Im Opera-System integriert ist eine Software für die Bildanalyse, die eine Bewertung biologischer Effekte auf zellulärer Ebene ermöglicht.

Wirkungsbezogene Analytik am Beispiel Perfluorierte Tenside

Perfluorierte Tenside (PFTs) sind künstlich hergestellte fluorierte Komponenten, die in einer Vielzahl industrieller Produkte aufgrund ihrer grenzflächenaktiven Eigenschaften genutzt wurden (Teflon, Feuerlöschschaum, u. a.). Perfluorooctansäure (PFOA) und Perfluorooctansulfonat (PFOS) sind zwei der meist verbreiteten PFTs. Sie sind biopersistent und bioakkumulativ und wurden sowohl im tierischen, als auch im menschlichen Organismus detektiert (3). Es wurden u. a. kanzerogene (3) sowie immuntoxische Effekte (4) nachgewiesen. In Lebensmitteln sind sie vor allem in Innereien vom Wild sowie in Fisch (5) enthalten.

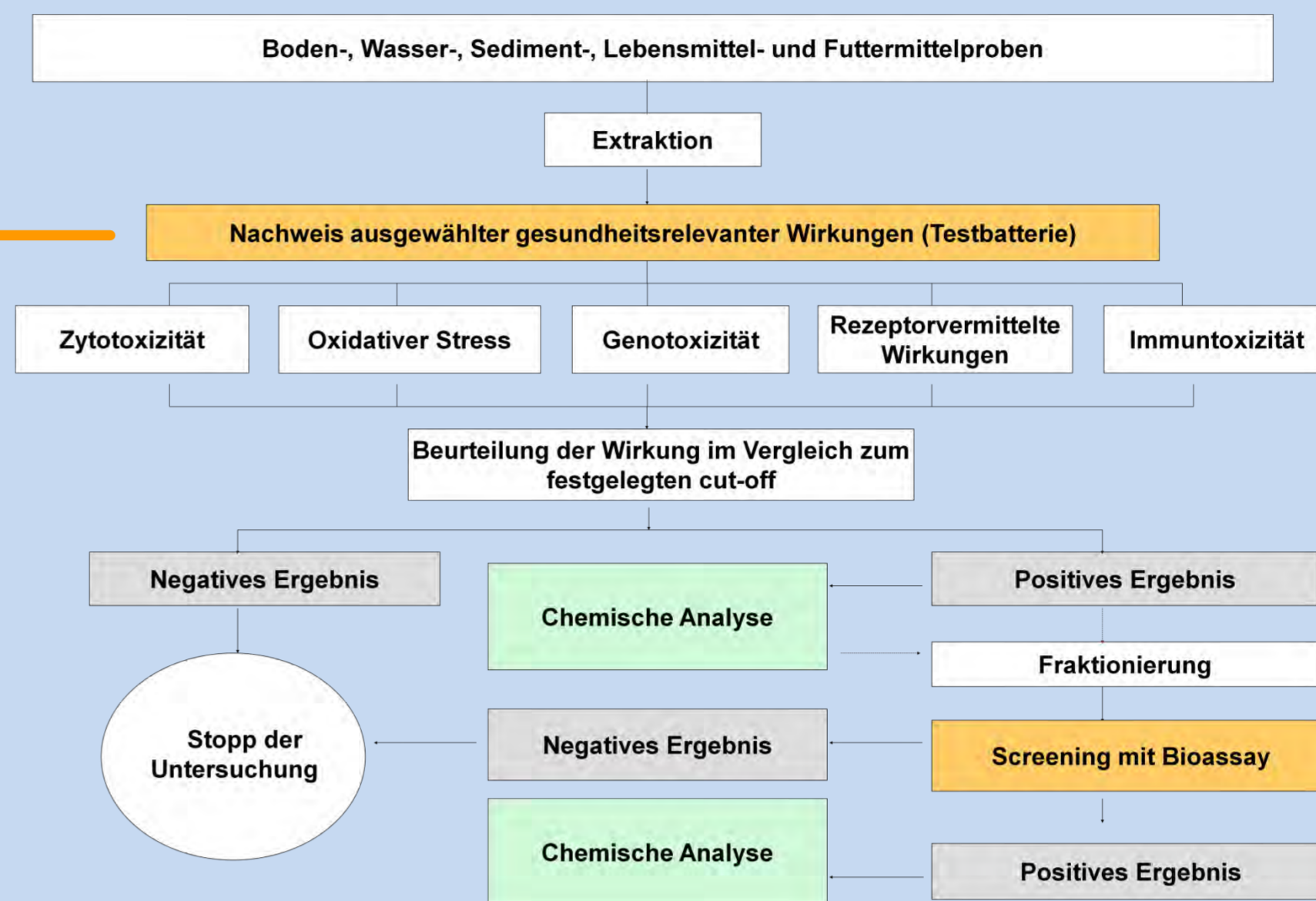


Abb.1: Vorgehensweise beim Einsatz der wirkungsbezogenen Analytik mit verschiedenen Testsystemen im Bereich der Futter- und Lebensmittelkontrolle (modifiziert nach (2)).

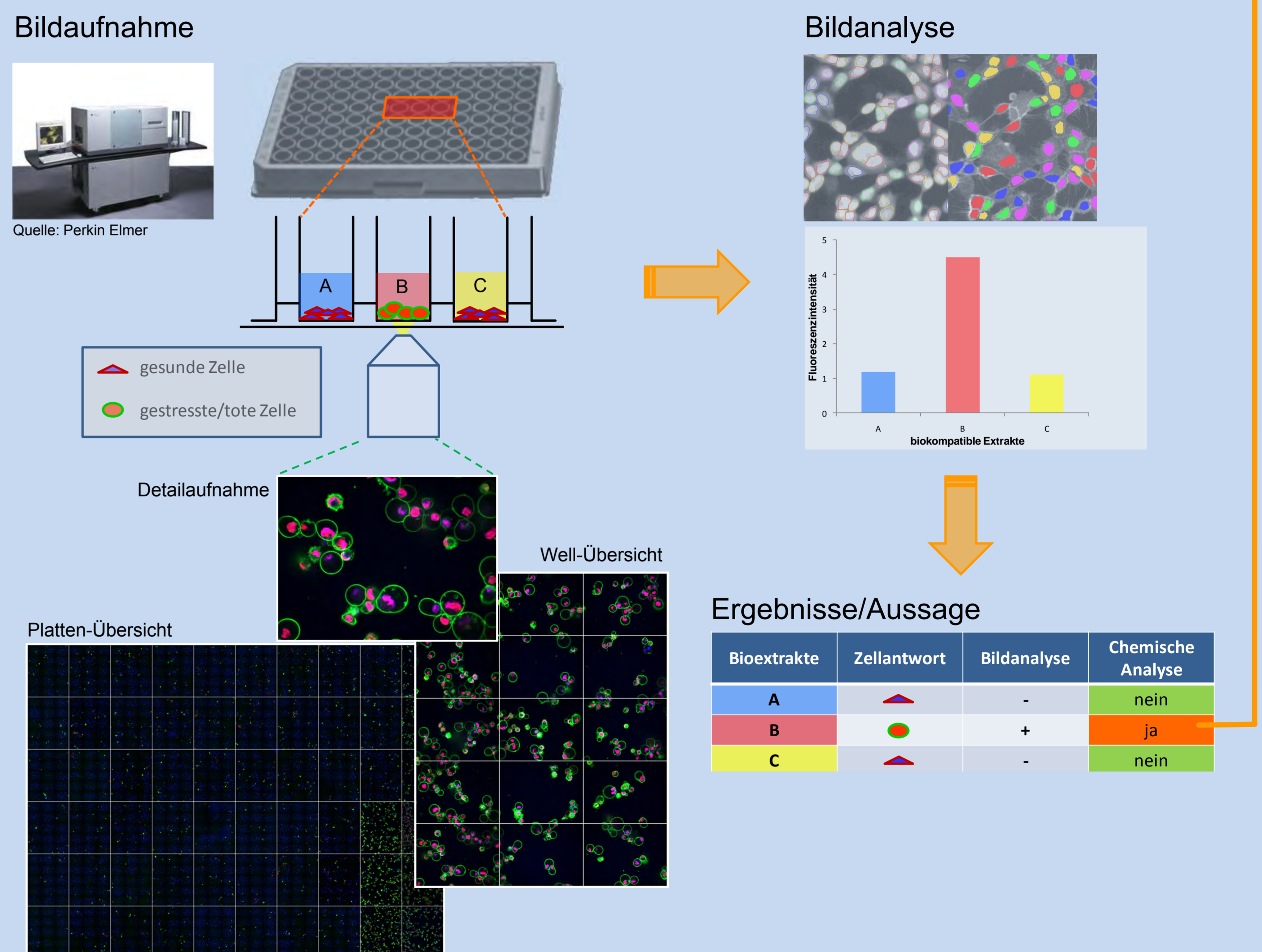


Abb. 2: Vorschlag eines typischen bildgebenden Hochdurchsatz Screening-Ablaufs für die wirkungsbezogene Analytik

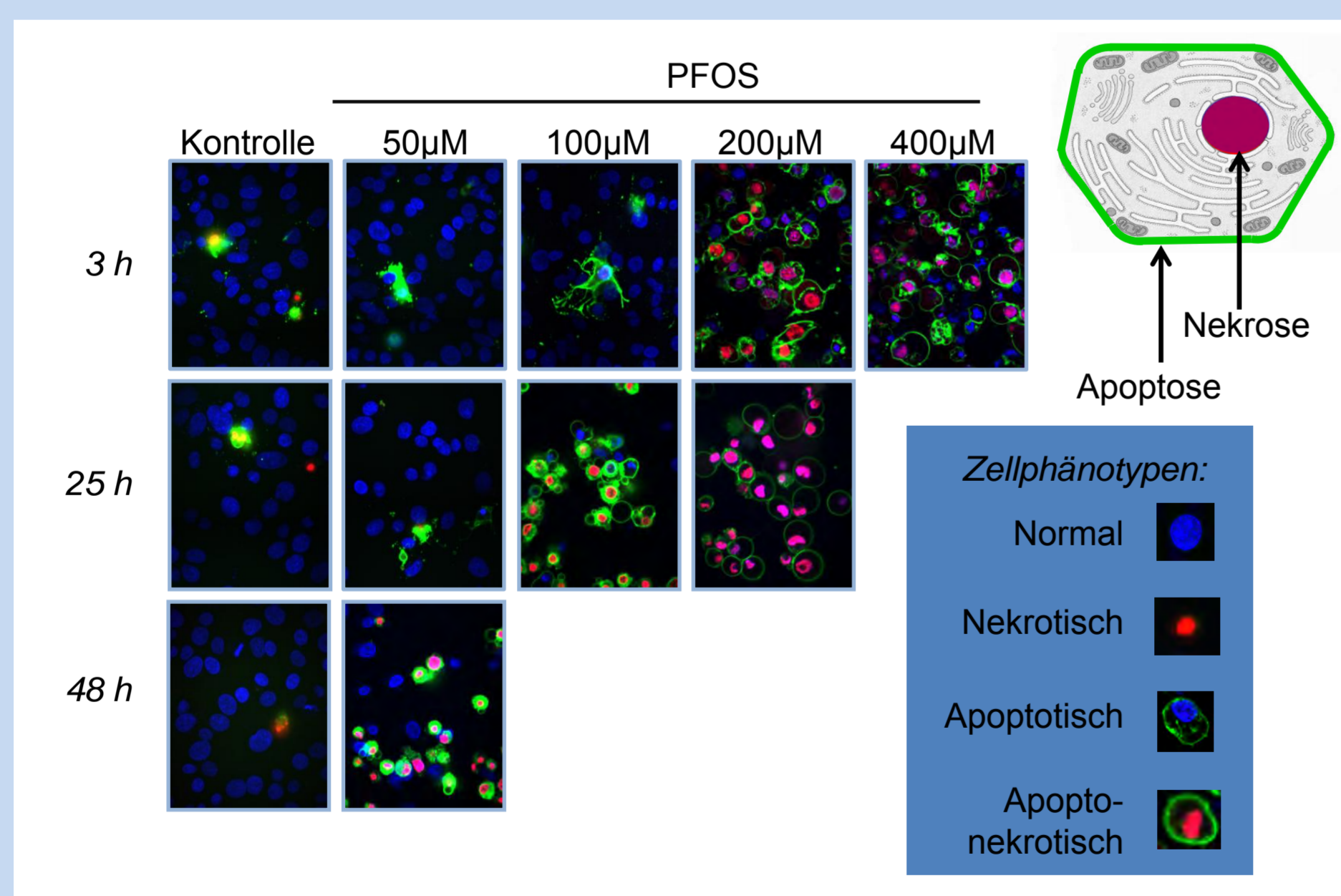


Abb. 3: Hep G2 Zellen wurden 3, 25 oder 48h mit 50-400µM PFOS behandelt. Der induzierte Zelltod (Apoptose / Nekrose) wurde durch Färbung mit Annexin V CF 488 und Propidiumiodid gemessen. Kerne wurden mit Hoechst 33342 gefärbt.

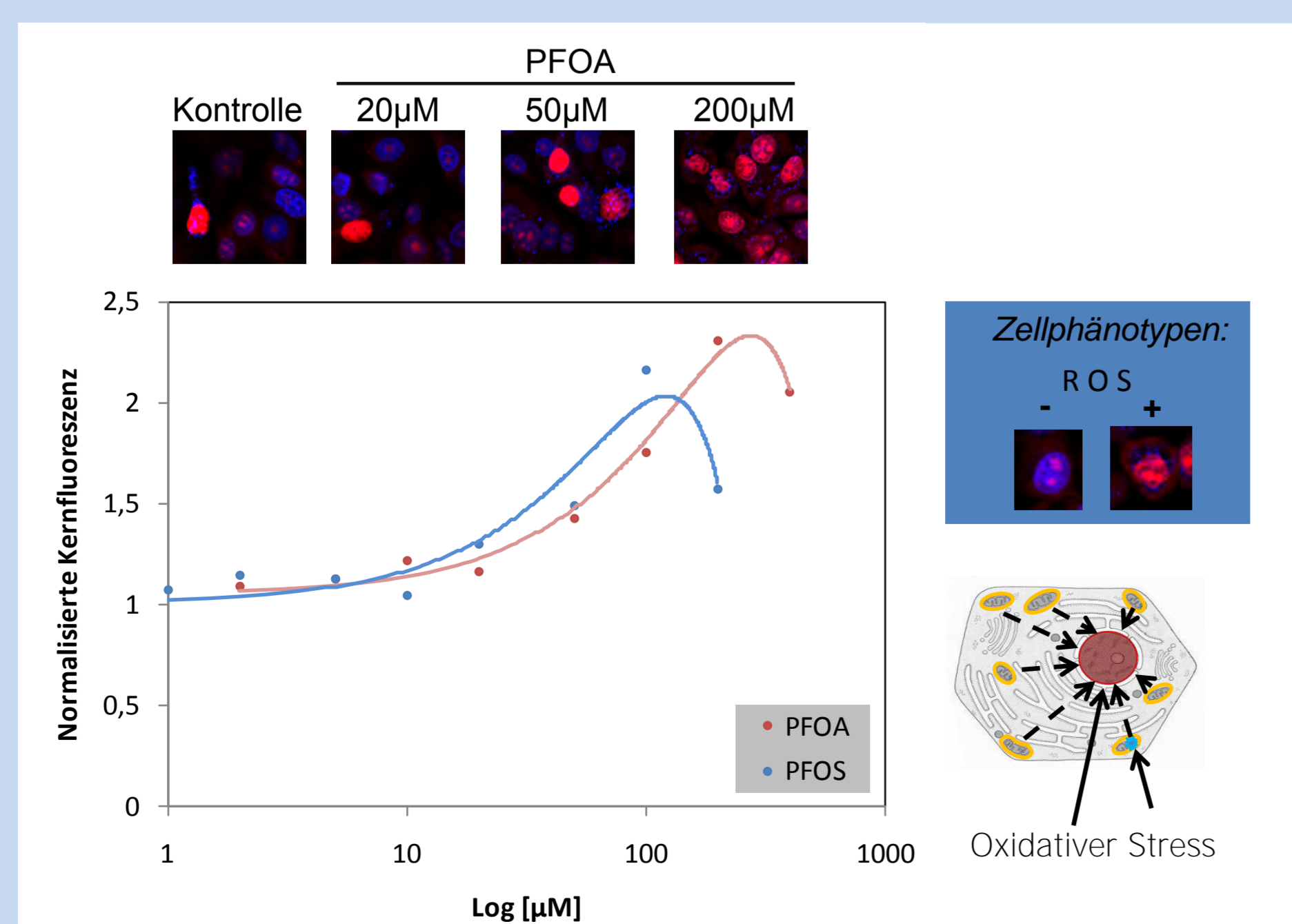


Abb. 4: Hep G2 Zellen wurden 2,5 St. mit 2-400µM PFOA bzw. PFOS behandelt. Die Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) wurde anhand Färbung mit Dihydroethidium gemessen.

Ausblick

Um die Vorteile der wirkungsbezogenen Analytik in einem noch breiteren Maße in der Lebensmittelkontrolle zu nutzen, sollten die bekannten, zur Verfügung stehenden *in vitro*-Tests dahingehend betrachtet werden, welche für die Lebensmittelkontrolle relevanten Stoffgruppen hiermit erfasst werden. Ein nächster Schritt könnte weiterhin darin bestehen verschiedene Substanzgruppen den jeweiligen Wirkungen (z.B. Mutagenität, Genotoxizität, Immuntoxizität) und den hierzu bekannten biologischen Testsystemen zuzuordnen. Hierdurch könnten dann, je nach Fragestellung, verschiedene biologische Testsysteme zielorientiert gekoppelt werden, sodass mehrere Wirkstoffgruppen summenparametrisch mit Hilfe einer Testbatterie erfasst werden könnten (2). Im Sinne eines umfassenden Verbraucherschutzes entsprechend der VO (EG) Nr. 187/2002 sollte auch angestrebt werden, zusätzlich zu Grenzwerten für einzelne Kontaminanten, Grenzwerte für bestimmte Effekte zu etablieren.

Förderung

Diese Arbeiten wurden im Rahmen des SafeGuard- INTERREG IV A Programms Deutschland-Niederland (www.deutschland-niederland.eu) gefördert.

Literatur

- 1) Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 zur Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung des Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit (ABI.Nr. L 031/1), zuletzt geändert am 22. Juli 2003 (ABI Nr. L 245/4)
- 2) Böhmler G., Brack W., Gareis M., Goerlich R. (2006) Von der Wirkung zur Substanz: Wirkungsbezogene Analytik als neue Untersuchungsstrategie in der Lebensmittelkontrolle. J VERBR LEBENSM 1 (4), 294-300
- 3) Eriksen K.T., Raaschou-Nielsen O., Sørensen M., Roursgaard M., Loft S., Møller P. (2010): Genotoxic potential of the perfluorinated chemicals PFOA, PFOS, PFBS, PFNA and PFHxA in human HepG2 cells. In: Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, Jg. 700(1-2), S. 39-43
- 4) Brieger A., Bienefeld N., Hasan R., Goerlich R., Haase H.: Impact of Perfluorooctanesulfonate and Perfluorooctanoic Acid on Human Peripheral Leukocytes. 2011 Toxicology in Vitro in press.
- 5) Stellungnahme 004/2009 des BfR vom 11. September 2008: Gesundheitliche Risiken durch PFOS und PFOA in Lebensmitteln sind nach dem derzeitigen wissenschaftlichen Kenntnisstand unwahrscheinlich