



Notat

Til [redacted] Fødevarestyrelsen

Vedr. Vurdering af en virksomheds sikkerhedsvurdering af fire kosttilskud med indhold af hellig basilikum (*Ocimum tenuiflorum* L.)

Fra [redacted]

10. juli 2019
J. nr. 19/1027700

Forespørgsel

Kosttilskudsgruppen har bedt DTU Fødevareinstituttet om at vurdere dokumentationen for sikkerheden af fire kosttilskud, som indeholder hellig basilikum (*Ocimum tenuiflorum* L. synonym *Ocimum sanctum* L.). Virksomheden [redacted] mener ikke, at det er sundhedsmæssigt betænkeligt at følge den af virksomheden anbefalede daglige dosis for de fire kosttilskud på 100-300 mg tørrede blade fra hellig basilikum.

Baggrund

DTU Fødevareinstituttets har tidligere risikovurderet *Ocimum tenuiflorum*. Vurderingen fra 8. november 2012 havde følgende konklusion: "Denne vurdering bygger på, at bladet fra *Ocimum tenuiflorum* og præparater heraf i dyreforsøg udført i tre dyrearter mus, rotte og kanin, har forårsaget forskellige forandringer i vævet i både hanlige og hunlige kønsorganer, har påvirket sædkvaliteten negativt hos hanner og frugtbarheden hos både han- og hundyr. Der har måttet foretages forskellige antagelser for at beregne forholdet mellem de doser blad, der har givet effekt på reproduktionen i dyreforsøg og de doser som mennesker kan indtage med kosttilskud eller te. Ved disse beregninger er der i dyreforsøg set effekter i doser, der er sammenlignelige med doser af det tørrede blad som er anbefalet af forhandlere af kosttilskud og hvad det formodes man kan indtage med en te fremstillet fra det tørrede blad. Også andre plantedele (frøet) har i dyreforsøg haft effekt på reproduktionen. Det er ikke muligt på baggrund af ovennævnte dyreforsøg eller mangelfulde kliniske undersøgelser på mennesker at angive en dosis, hvorunder indtagelse af den tørrede plante, ekstrakter af planten eller te udvundet fra planten vurderes som sundhedsmæssig ubetænkelig."

Konklusion

DTU Fødevareinstituttet har gennemgået virksomhedens dokumentation for sikkerheden af indholdet af blade fra hellig basilikum (*Ocimum tenuiflorum* L.) i kosttilskuddene. Dokumentationen ændrer ikke DTU Fødevareinstituttets tidligere vurdering.

DTU Fødevareinstituttet vurderer, at sikkerhedsmargin er for lille mellem den dosis af blad, der har givet skadelige effekter på kønsorganer og frugtbarhed i et forsøg med kaniner, og den anbefalede daglige dosis af kosttilskuddene (100-300 mg tørret blad). Den faktor er på mellem 14 og 41 (beregnet for et vok-

sent menneske på 70 kg). Det skal bemærkes, at man som den normale praksis ved håndtering af stoffer med aktiv biologisk effekt tilstræber en faktor på mindst 100 fra den dosis i forsøgsdyr, som ikke har nogen effekt, til eksponeringen for mennesker.

Modtaget materiale

Kosttilskudsgruppen har 27. juli 2018 fremsendt dokumentation modtaget fra virksomheden [redacted] [redacted] vedrørende hellig basilikum (*Ocimum tenuiflorum* L. synonym *O. sanctum* L.). Der er modtaget 8 dokumenter:

- Dokument 1: Titel: Vedrørende anmodning om fremsendelse af dokumentation for 4 kosttilskud indeholdende *Ocimum sanctum*
- Dokument 2: Analysecertifikat: "Organic Tulsi Leaves Powder". Analyse foretaget 7. maj 2016.
- Dokument 3: Titel: "Sikkerhedsrapport angående sag nr. J. nr. 2018-26-727-379888"
- Dokument 4: Produktinformation om kosttilskuddet [redacted]
- Dokument 5: Produktinformation om kosttilskuddet [redacted]
- Dokument 6: Produktinformation om kosttilskuddet [redacted]
- Dokument 7: Produktinformation om kosttilskuddet [redacted]
- Dokument 8: Svar på partshøring "Opdatering i forhold til brugen af Hellig basilikum, i DK i kosttilskud"

I dokument 3 henvises til fem videnskabelige artikler:

Raina P, Chandrasekaran CV, Deepak M, Agarwal A, Ruchika K-G (2015) Evaluation of subacute toxicity of methanolic/aqueous preparation of aerial parts of *O. sanctum* in Wistar rats: Clinical, haematological, biochemical and histopathological studies. *J Ethnopharmacol* 175: 509-517.

Chandrasekaran CV, Srikanth HS, Anand MS, Allan JJ, Viji MMH, Amit A (2013) Evaluation of the mutagenic potential and acute oral toxicity of standardized extract of *Ocimum sanctum* (OciBest™). *Hum Exp Toxicol* 32, 9: 992-1004.

Gautam MK, Goel RK (2014) Toxicological study of *Ocimum sanctum* Linn leaves: hematological, biochemical, and histopathological studies. *Journal of Toxicology* Volume 2014, Article ID 135654 <http://dx.doi.org/10.1155/2014/135654>.

Jamshidi N, Cohen MM (2017) The clinical efficacy and safety of tulsi in humans: a systematic review of the literature. *Evid-Based Compl Alt*, Article ID 9217567. <http://dx.doi.org/10.1155/2017/9217567>.

Verma A, Pragya S, Singh VN (2016) Reversible anti-fertility effects of aqueous leaf extract of *Ocimum sanctum* (Linn.) in male mice. *International Journal of Life Sciences Research* 2, 4: 434-437.

Litteratursøgning

DTU Fødevarerinstitutionen har løbende fulgt litteraturen om *O. tenuiflorum* og foretog senest en litteratursøgning 12. juni 2019 i databasen Web of Science med søgeordene "ocimum sanctum or ocimum tenuiflorum or holy basil or tulsi". Abstract blev gennemgået og relevante artikler blev fremskaffet og læst.

Anbefalet daglig dosis

Med den af virksomheden anbefalede daglige dosering (2 kapsler) vil der blive indtaget fra 100-300 mg tørrede blade fra *O. tenuiflorum*. Der vil per dagsdosis blive indtaget 100 mg med kosttilskuddet [redacted] 200 mg med de to kosttilskud [redacted] og [redacted] og endelig 300 mg med kosttilskuddet [redacted]

Gennemgang af den indsendte dokumentation

Virksomheden har indsendt to dokumenter om produksikkerheden: sikkerhedsrapporten (dokument 3) og partshøringen (dokument 8). De fem artikler, der henvises til i sikkerhedsrapporten bekræfter ifølge virksomheden sikkerheden ved brug af *O. tenuiflorum* og er publiceret efter 2012, hvor DTU foretog en risikovurdering af planten. DTU Fødevarerinstitutionen vil i det følgende se på den sikkerhedsmæssige vurdering og vil begynde med at gennemgå de fem artikler, der henvises til i dokument 3, efterfulgt af kommentarer til dokument 8.

Artikel af Raina *et al.* (2015)

Virksomheden skriver bl.a.: "I det nedenstående studie ses fra 2015 ingen bivirkninger. Konklusion: Vores resultater viste, at oral administration af ekstrakt fra OSE ikke var toksisk for Wistar-rotter hos mænd og kvinder op til den højeste dosis, der blev testet, hvilket tyder på dets kliniske anvendelighed."

DTU Fødevarerinstitutionens gennemgang og kommentarer

Forsøget er udført efter OECDs guideline 407 for et 28-dages forsøg (OECD 2008). Der er i undersøgelsen anvendt en ekstrakt udvundet fra hele planten. Ekstraktionsmidlerne er methanol og vand. Det vil sige, at det ikke er udført med samme plantedel (bladet), som indgår i virksomhedens kosttilskud. Undersøgelsen blev udført i Wistar-rotter (5 hanner og 5 hunner per hold). Ekstrakten blev givet gennem munden (oralt) med mavesonde i doser på 0 (kontrolhold, der fik destilleret vand), 250, 500 eller 1000 mg/kg legemsvægt per dag i 28 dage, hvorefter rotterne blev aflivet. I undersøgelsen indgik yderligere to hold, der fik 0 (kontrol) eller 1000 mg ekstrakt/kg legemsvægt i 28 dage efterfulgt af en doseringsfri periode. Længden af den doseringsfri periode er ikke oplyst. Forfatterne konkluderede, at der ikke blev set toksiske effekter i nogle af holdene, inklusiv det højest doserede.

I artiklen er alle organvægte opgivet i gram med en decimal. Det gælder også organer, der vejer mindre end et gram f.eks. binyrer, æggestokke (ovarier), livmodere, bitestikler, hjerte, milt og brissel (thymus). Den ringe følsomhed på vejetalene betyder, at læseren ikke er i stand til at vurdere, om der er forskelle i organvægtene mellem holdene. F.eks. står der i artiklen, at der hos hunner sås en signifikant stigning i den absolutte vægt af binyrerne i den laveste og den højeste dosisgruppe. I tabel 5b har alle hold samme binyrevægt på 0,1 g. Ifølge tabellen var det kun forskellen i den højeste dosisgruppe, der er statistisk signifikant forskellig fra kontrolholdet. For hannerne (tabel 5a) var binyrevægten i kontrolholdet 0 g, mens vægtene i alle andre hold var 0,1 g. Her er forskellen ikke angivet som statistisk signifikant. Der er forskellige (skrive)fejl i tabellerne f.eks. i tabel 5a, hvor hjernevægten i den højeste dosisgruppe var 0,2 g sammenlignet med 1,8-1,9 g i de øvrige hold. Der er andre fejl f.eks. i tabel 6a, hvor de relative vægte af prostata/sædblærer i holdene varierede fra 40,0-59,4 men var 0,5 i kontrolholdet ("recovery group") og den relative levervægt varierede fra 3,8-4,2 i de øvrige hold, men var 0,4 i kontrolholdet ("recovery group"). I tabel 6b mangler der data for de relative vægte af ovarier og livmodere i holdet med en doseringsfri periode. DTU Fødevarerinstitutionen har beregnet relative organvægte og kommer ikke frem til de værdier, der ses i tabel 6a (hanner) og 6b (hunner). Værdierne for de relative organvægte er ganget med 100, hvilket

ikke er nævnt i artiklen. De relative organvægte er angivet med en decimal. Det problematiske i at beregne relative organvægte ud fra absolutte tal med ringe følsomhed (i gram med en decimal) ses f.eks. i tabel 6a for de relative vægte af binyrerne, som er 0,3 i kontrolholdet sammenlignet med 0 for alle øvrige hold. I tabel 6b var de relative ovarievægte for alle hold 0,1, men de er 0,121 (kontrol), 0,125 (laveste dosisgruppe) og 0,057 (mellemste dosisgruppe), når DTU regner på tallene ($100 \times$ (ovarievægt/legemsvægt)).

I OECDs guideline for et 28-dages forsøg bemærkes, at hvis der er mistanke om påvirkninger af hormonsystemet (hormonforstyrrende stoffer) bør thyroidea (skjoldbruskkirtlen) vejes og undersøges (OECD 2008). Det er ikke sket i forsøget. Det skal også bemærkes, at OECD specielt gør opmærksom på, at et 28-dages forsøg, mangler følsomhed, når der skal identificeres stoffer, der virker (anti)-androgene eller (anti)-østrogene. Det beskrives på følgende måde i guideline "Consequently, the lack of effects related to these modes of action can not be taken as evidence for the lack of effects on the endocrine system."

Forfatterne erklærer, at de ikke har interessekonflikter. Tre af artiklens fem forfattere er ansat i den indiske virksomhed Natural Remedies Pvt., som ifølge oplysninger i Chandrasekaran *et al.* (2013), producerer den undersøgte ekstrakt under varemærket "OciBest".

Det kan konkluderes, at der er manglende omhu i rapporteringen af forsøget f.eks. er der ikke oplysninger om varigheden af den doseringsfri periode og der er fundet en række (skrive)fejl i tabellerne. DTU Fødevareinstituttets risikovurdering har specielt fokuseret på effekter på reproduktion og fertilitet. Et 28-dages forsøg vurderes ikke som egnet til at finde forandringer forårsaget af stoffer eller her en plante, der har (anti)-østrogene eller (anti)-androgene virkninger, som andre dyreforsøg peger på, at bladene fra hellig basilikum har. Selv hvis 28-dages forsøget var egnet til at vurdere den type effekter, er organvægte rapporteret med så lille følsomhed (0,1 g), at det ikke er sandsynligt, at eventuelle vægtforskelle af reproduktionsorganer som æggestokke, livmodere og prostata/sædblærer ville blive opdaget.

Artikel af Chandrasekaran *et al.* (2013)

Virksomheden: Et studie fra 2013 viser ingen bivirkninger.

DTU Fødevareinstituttets gennemgang og kommentarer

I denne artikel undersøges "OciBest", en ekstrakt fremstillet af hele planten fra *O. tenuiflorum* med methanol og vand som ekstraktionsmidler, i et akut forsøg i mus. Et sådant akut forsøg udføres for at fastlægge en enkelt dosis af et stof (her ekstrakten af *O. tenuiflorum*), der slår 50% af dyrene ihjel. Forsøget er ikke designet på en måde, så der kan udledes data om eventuelle toksiske effekter på reproduktionsorganer eller fertilitet. Forsøget vil derfor ikke blive yderligere omtalt.

Artikel af Gautam & Goel (2014)

Virksomheden gengiver ordret, hvad der står i artiklens abstract, som slutter med sætningen: "Our result showed that *Ocimum sanctum* extract could be safe for human use" og tilføjer intet yderligere.

DTU Fødevareinstituttets gennemgang og kommentarer

I artiklen indgår to undersøgelser: et akut forsøg udført i mus og et 28-dages forsøg udført i rotter. I begge forsøg undersøges en ethanolekstrakt af bladet fra *O. tenuiflorum*. Som allerede tidligere nævnt under gennemgangen af artiklen af Chandrasekaran *et al.* (2013) er et akut forsøg ubrugeligt til at vurdere sikkerheden for reproduktionsorganer og fertilitet. Derfor vil det akutte forsøg ikke blive yderligere beskrevet.

Artiklens forfattere skriver, at forsøget i rotter, er udført efter OECDs guideline nr. 407 for et 28-dags dyreforsøg. Ifølge denne guideline skal man som minimum bruge ti dyr (fem hanner og fem hunner) i hver dosisgruppe. I undersøgelsen anvendes kun tre hanner og tre hunner per hold. Da der er forskelle mellem de to køn, afrapporteres resultaterne i toksikologiske undersøgelser altid hver for sig for hanner og hunner. Det gør artiklen ikke. Her rapporteres resultater for begge køn samlet for: legemsvægte, indtag af foder og vand, hæmatologiske og biokemiske undersøgelser og organvægte, bortset fra at organvægte for f.eks. ovarier og testikler, kun kan stamme fra tre dyr. Der burde endvidere ifølge OECDs guideline og af særlig betydning for at vurdere effekten på reproduktionsorganerne fra hannerne have været udtaget og vejjet: bitestikler, prostata og sædblæren og fra hunnerne livmoderen. Hypofysen og skjoldbruskkirtlen burde undersøges pga. mulige effekter på hormonsystemet. De nævnte organer skulle også have været undersøgt histologisk.

DTU Fødevareinstituttet kan konkludere, at selvom forfatterne påstår, at de har fulgt OECDs guidelines, er dette ikke korrekt. Undersøgelsen er ikke pålidelig på grund af det fejlagtige forsøgsdesign: for få dyr i hver gruppe, at data for hanner og hunner ikke angives separat, det utilstrækkeligt antal udtagne organer, herunder reproduktionsorganer, og manglende makroskopiske og histologiske undersøgelser. Man kan ikke på baggrund af dette dyreforsøg, som ikke er velgennemført, konkludere, at der ikke er toksiske effekter i dyrene, herunder toksiske effekter på reproduktionsorganer. Som tidligere beskrevet er et 28-dages forsøg, selv hvis det var velgennemført, ikke velegnet til at drage konklusioner om effekter af stoffer, der virker på hormonsystemet ((anti)-østrogent eller (anti)-androgent)).

Artikel af Jamshidi & Cohen (2017)

Virksomheden henviser til artiklen, fordi den mener, der ingen bivirkninger ses og dette review bekræfter sikkerheden, der er brugt doser under 300 mg og at "dyreforsøg rangerer lavere end forsøg på mennesker".

DTU Fødevareinstituttets gennemgang og kommentarer

Reviewartiklen gennemgik 24 kliniske studier, hvor forsøgspersonerne havde indtaget "tulsi". Forfatterne skriver, at de brugte navnet "tulsi" om to *Ocimum*-arter: *O. tenuiflorum* L. og *O. gratissimum* L. DTU Fødevareinstituttet har gennemlæst 20 af de originale publikationer, der indgik i artiklen. De sidste fire publikationer var to indiske afhandlinger (Prasad 2014, Sarvaiya 1986), som DTU ikke forsøgte at skaffe hjem, og to artikler af Sharma (1983) og Rajalakshmi *et al.* (1986) kunne ikke fremskaffes. I tre artikler (Agrawal *et al.* 1996, Bhargava *et al.* 2013 og Venkatesan & Sengupta 2015) var det umuligt at fastslå hvilken art af *Ocimum*, der indgik i undersøgelsen. I artiklen af Agrawal *et al.* (1996) var det endda en tredje *Ocimum*-art (*O. basilicum*), som muligvis indgik og ikke de to arter, som Jamshidi & Cohen (2017) nævner. Forskellige plantearter kan indeholde forskellige indholdsstoffer og kan dermed have forskellige virkninger. De tre ovennævnte artikler burde derfor ikke indgå i reviewet, da det er fagligt uacceptabelt at sammenblende data fra forskellige plantearter.

Det skal bemærkes, at kun tre af undersøgelse blev udført i raske forsøgspersoner (Mondal *et al.* 2011 og 2012, Sampath *et al.* 2015) og at de samme 22 forsøgspersoner indgik i begge artikler af Mondal *et al.* (2011 og 2012). Formålet med de øvrige kliniske undersøgelser var at undersøge, om forskellige plantedele af *O. tenuiflorum* eller præparationer heraf (f.eks. ekstrakter) kunne have behandlingsmæssige virkninger. Hovedparten af undersøgelse blev udført i forsøgspersoner med type 2 diabetes (f.eks. Devra *et al.* 2012, Dineshkumar *et al.* 2010, Prasadacharyulu 2014), men reviewet inkluderede også en-

kelte undersøgelser, hvor forsøgspersonerne led af f.eks. generaliseret stress (Saxena *et al.* 2012), urin-syreigt (Ahmad *et al.* 2013) og virusinduceret hjernehindebetændelse, en livstruende, akut sygdom (Das *et al.* 1983). Undersøgelserne inkluderet i reviewet dækker samlet ikke over et større antal forsøgspersoner. Der indgik f.eks. kun tre deltagere i Prasadacharyulu (2014). I ingen af artiklerne beskrives, hvordan man opsamlede eventuelle bivirkninger, selvom nogle artikler beskriver bivirkninger. I artiklen af Satapathy *et al.* (2017) omtales, at der var forsøgspersoner, der lejlighedsvis havde kvalme efter indtag af *O. tenuiflorum* og i artiklen af Mondal *et al.* (2011) havde en person kvalme og en anden løs afføring. Det skal bemærkes, at det ikke sandsynligt, at effekter på reproduktion og fertilitet ville blive opdaget selv, hvis der var indsamlet bivirkninger. Det ville kræve, at der indgik målinger af relevante parametre f.eks. sædkvalitet eller niveauer af kønshormoner i blodet. DTU Fødevarerinstitutionen konkluderer derfor, at artiklen ikke kan bruges som dokumentation for, at der ikke er skadelige effekter på kønsorganer eller fertilitet hos mennesker, der indtager produkter indeholdende *O. tenuiflorum*, da dette ikke er undersøgt.

Artikel af Verma *et al.* (2016)

Virksomheden mener ikke, at der er betænkeligheder ved at bruge planten, selv med fokus på reproduktionen. Virksomheden skriver: "I nogle studier fremhæves dette som værende positiv, specielt fordi ved endt brug er alt reversibel"... "Ved dette rotteforsøg ses en mening med brugen, mod antifertilitet på en naturlig måde, uden bivirkninger og med reversible tilstande. Endnu engang må konkluderes at det ikke er farligt eller betænkeligt at indtage. Tværtimod kan det bruges mangfoldigt og uden skader."

DTU Fødevarerinstitutionens gennemgang og kommentarer

Af artiklens introduktion fremgår, at baggrunden for at undersøge planten er vigtigheden af at kontrollere befolkningstilvæksten og finde frem til effektive antikonceptionsmidler til mænd. Undersøgelsen er foretaget med en vandig ekstrakt af blade fra *O. tenuiflorum*. Hanmus (Swiss albino, vægt 25-30 g, 6 dyr per hold) fik dagligt gennem munden 0,1 ml destilleret vand (et kontrolhold) eller 0,1 ml ekstrakt svarende til en dosis på 250 mg ekstrakt/kg legemsvægt/dag. Hold doseret med ekstrakt blev aflivet efter 10, 20, 30, 40 eller 50 dages dosering. Et ekstra hold blev aflivet efter 90 dage, hvor det havde fået ekstrakt i 50 dage efterfulgt af 40 dage uden dosering. Kønsorganer og accessoriske kønsorganer blev udtaget og vejet og de relative organvægte (mg/100 g legemsvægt) vises i en tabel. Fra bitestiklen blev der udtaget sædceller til undersøgelse af sædkvaliteten. Efter 10 dages dosering med ekstrakt var der sammenlignet med kontrolholdet statistisk signifikante lavere sædcelleantal, lavere procentdel af sædceller, der bevægede sig, og en stigning i procentdelen af sædceller med unormal form (morfologi). Ved stigende doseringslængde sås forværring af de beskrevne forandringer. De relative organvægte af testikel, bitestikel (epididymis), sædleder (vas deferens), sædblære (vesicula seminalis) og den ventrale prostata var alle statistisk signifikant reducerede sammenlignet med kontrolholdet efter 30, 40 og 50 dages dosering. For den ventrale prostata var reduktionen statistisk signifikant allerede efter 20 dage. For alle organer reduceredes den relative vægt yderligere for hver 10 dages dosering med ekstrakt. For holdet, der blev doseret i 50 dage med ekstrakt efterfulgt af en 40 dages doseringsfri periode, konkluderede forfatterne, at effekterne var reversible.

Der er flere mangler i forsøgsbeskrivelsen f.eks. er den anvendte statistik ikke beskrevet. Det fremgår ikke, hvornår det eneste kontrolhold blev aflivet. Da eventuelle effekter ikke alene kan være påvirkede af ekstrakten men også af musenes alder, burde der have været aflivet et kontrolhold hver gang et doseret hold blev aflivet. Det er ud fra data næppe korrekt, at alle effekter er reversible efter 50 dages dosering efterfulgt af en doseringsfri periode, men forfatterne viser ikke eventuelle statistiske forskelle.

DTU Fødevarerinstitutionen har sammenlignet artiklen af Verma *et al.* (2016) med artiklen af Pragya *et al.* (2012), som indgik i DTU Fødevarerinstitutionens risikovurdering i 2012. Det er delvis samme data for sædkvaliteten, der indgår i de to artikler. Pragya er medforfatter på artiklen af Verma *et al.* (2016), som ikke følger god forskningsskik, da forfatterne ikke gør opmærksom på, at dele af artiklens indhold tidligere har været publiceret, og ikke henviser til Pragya *et al.* (2012). Der er også forskelle i artiklerne. Musene blev i artiklen af Pragya doseret i 30 dage. Begge artikler indeholder målinger af sædkvaliteten, mens resultater for organvægte kun findes i Verma *et al.* (2016). I artiklen af Pragya opgives procenter af døde sædceller, mens identiske tal (for tre ud af 4 målinger) ifølge Verma skulle vise sædceller med abnorm morfologi. Procentdelen af sædceller, der bevæger sig, var reduceret i begge artikler, men med forskellige tal for målinger på de samme tidspunkter. Antallet af sædceller/ml er forskelligt, hvor der f.eks. i kontrolholdet ifølge Pragya var 209×10^4 fandt Verma 10 gange flere (21 millioner/ml). Denne forskel på faktor 10 genfindes i de øvrige målinger, men ud over forskellen på faktor 10, er tallene er ikke identiske for målinger på de samme dage. Det er utroværdigt, at der opgives forskellige tal for de samme målinger og at de samme procenttal i den ene artikel viser døde sædceller og i den anden unormale sædceller. Da resultaterne af sædkvalitet ikke er samstemmende i de to artikler, er det vanskeligt at tro på, at Verma *et al.* (2016) har vist omhu i rapporteringen af andre data (vægte af kønsorganer). DTU Fødevarerinstitutionen vil derfor ikke lægge vægt på data fra Verma *et al.* (2016) i denne vurdering.

DTU Fødevarerinstitutionen skal understrege, at virksomhedens vurdering ikke er faglig korrekt, når den skriver, at den type effekter, som blev beskrevet i artiklen af Verma *et al.* (2016), ikke skal vurderes som skadelige effekter. Dårlig sædkvalitet og/eller lavere vægte af kønsorganer anses af toksikologer for at være toksiske effekter. Denne vurdering gælder uanset om effekterne er reversible, hvis doseringen ophører.

Partshøringen

Virksomheden fremsætter i partshøringen en række udsagn:

- At planten er sikker, fordi den er brugt af mennesker i mange tusind år... med ingen alvorlige bivirkninger, der kan give hellig basilikum prædikatet af "farlig fødevarer"
- "Endvidere viser forskningen tydeligt at rotter bruges som bedste forsøgsdyr. Der er meget stor lighed mellem rottefostre og menneskefostre i og med, at det i begge tilfælde er testosteron, der styrer udviklingen af kønsorganer i de to arter. Derfor ses der bort fra studiet i kaniner"
- Studier i mennesker – dem som DTU Fødevarerinstitutionen har gennemgået samt dem virksomheden selv har gennemlæst har "ikke påvist farlige bivirkninger, der kan ligge til grund for at forbyde salget eller kalde det en farlig fødevarer"
- [redacted] markedsføres ikke til mænd
- "Derefter er det korrekt at det kan påvirke reproduktionen." Det er også almindelig kendt i historien af *O. sanctum* er kendt som erstatning for p-pillen.

DTU Fødevarerinstitutionens kommentarer til partshøringen

Testosteron er af betydning for den normale kønsudvikling ligegyldigt, om det er hos mennesker, kaniner, mus eller rotter. Det gælder såvel under fosterudviklingen som senere i livet. Der er derfor ikke faglig korrekt kun at inddrage forsøg med rotter i en risikovurdering. Undersøgelser med kaniner og mus kan indgå på lige fod med undersøgelser i rotter.

Der er ikke dokumentation for sikker anvendelse af planten som fødevarer i mange tusind år, når virksomheden selv henviser til, at *O. tenuiflorum* kan påvirke reproduktionen og er kendt som en erstatning for p-pillen. Hvis man yderligere ser på dokumentation for sikkerheden for kvinder, har virksomheden i sikker-

hedsvurderingen henvist til Verma *et al.* (2016). I denne artikels introduktion nævnes, at blade fra *O. tenuiflorum* virker mod zygoten (dvs. den sammensmeltede æg- og sædcelle), de forhindrer implantation (dvs. at embryonet, det tidlige foster, sætter sig fast i livmoderen) og at de fremkalder abort hos kvinder og forsøgsdyr. DTU Fødevarerinstitutionen er som allerede omtalt skeptisk over for artiklens resultater. Men også i DTU Fødevarerinstitutionens vurdering fra 2012 indgår referencer, der beskriver, at planten i Indien har været brugt som abortfremkaldende middel. Resultater fra dyreforsøg støtter, at bladene har skadelige effekter på hunkønsorganer og forsøgsdyrs evne til at blive drægtige som f.eks. beskrevet i artiklen af Reghunandan *et al.* (1997), hvor 1 g frisk blad/kg legemsvægt to gange ugentligt til kaniner påvirkede frugtbarheden, så de ikke fik unger, og bl.a. forårsagede histologiske forandringer i kønsorganerne hos hunkaniner.

Mht. skadelige effekter på mænd anerkender virksomheden tilsyneladende, at der kan være skadelige effekt på reproduktionsorganer og sædkvalitet, da den ifølge partshøringen ikke vil markedsføre kosttilskuddene til mænd.

De publicerede studier i mennesker kan ikke bruges som dokumentation for, at der ikke er skadelige effekter på kønsorganer eller fertilitet hos mennesker, der indtager produkter indeholdende *O. tenuiflorum*, da dette ikke er undersøgt. Det kom DTU Fødevarerinstitutionen frem til i sin vurdering i 2012, hvor der blev omtalt to kliniske undersøgelser (Mondal *et al.* 2011 og Saxena *et al.* 2012). Det er yderligere beskrevet i DTUs gennemgang af de kliniske undersøgelser, der indgik i reviewartiklen af Jamshidi & Cohen (2017).

Sammendrag og konklusion

Virksomheden har i sin sikkerhedsvurdering henvist til fem artikler, som ikke har indgået i DTU Fødevarerinstitutionens risikovurdering fra 2012 og som ifølge virksomheden viser, at der ikke er signifikante bivirkninger ved anvendelse af en dagsdosis på 100-300 mg tørret blad. To forsøg i mus (Chandrasekaran *et al.* 2013, Gautam & Goel 2014) er akutte forsøg - en forsøgstype, som ikke er designet på en måde, så der kan udledes data om eventuelle toksiske effekter på reproduktionsorganer eller fertilitet. Gautam & Goel (2014) påstår, at de har udført et 28-dags forsøg i rotter, men forsøget er forkert designet og udført og giver ingen troværdige resultater. Raina *et al.* (2015) har udført et 28-dages forsøg i rotter, men mangler omhu i rapporteringen af resultater, som er angivet med ringe følsomhed, så eventuelle skadelige effekter ikke nødvendigvis vil blive opdaget. Dertil kommer at selv hvis de to 28-dages forsøg fulgte OECDs guideline (OECD 2008) og var velgennemførte, mangler den forsøgstype følsomhed til at identificere (anti)-østrogene og/eller (anti)-androgene effekter. Forsøgsresultater fra (Verma *et al.* (2016) viste effekter på sædkvalitet og relative organvægte af kønsorganer i mus. Data for sædkvaliteten stemte ikke overens med resultater fra samme forsøg beskrevet i en tidligere artikel (Pragya *et al.* 2012). Derfor finder DTU Fødevarerinstitutionen, at rapporteringen af data i Verma *et al.* (2016) er utroværdig. Den sidste artikel, et review af (Jamshidi & Cohen 2017), inkluderer resultater fra kliniske undersøgelser i mennesker. Artiklen kan ikke bruges som dokumentation for, at der ikke er skadelige effekter på kønsorganer eller fertilitet hos mennesker, der indtager produkter indeholdende *O. tenuiflorum*, da dette ikke er undersøgt.

DTU Fødevarerinstitutionens samlede gennemgang af de fem artikler viser, at ingen af dem indeholder oplysninger, der kan bruges til at afklare, om der er eventuelle skadelige effekter på reproduktion eller fertilitet efter dosering med blade fra *O. tenuiflorum*. Udsagnene i partshøringen indeholder ikke videnskabelige data, der støtter, at planten er sikker at anvende. Tværtimod nævner virksomheden, at planten har en virkning på reproduktionen og har været anvendt i stedet for p-piller.

Der er heller ikke ved en opdateret litteratursøgning frem til 12. juni 2019 fundet referencer, der ændrer på DTU Fødevareinstituttets tidligere toksikologiske vurdering. DTU Fødevareinstituttet rapporterede her om, at doser af *O. tenuiflorum* ("hellig basilikum") (blade, ekstrakter heraf og også andre plantedele), gav anledning til toksiske effekter på reproduktionsorganer, sædkvaliteten og frugtbarheden i forsøgsdyr. Ingen af forsøgene var designet på en sådan måde, at man kunne finde frem til en dosis, hvor der ikke ses en toksisk effekt, det såkaldte "No observed adverse effect level (NOAEL)". Et kaninforsøg (Reghunandan *et al.* 1997) viste, at 1 g frisk blad/kg legemsvægt to gange ugentligt (svarende til 57,1 mg tørret blad/kg legemsvægt/dag), påvirkede frugtbarheden, så kaninerne ikke fik unger, og forårsagede histologiske forandringer i kønsorganerne hos både han- og hunkaniner. Der er en faktor på mellem 14 (300 mg tørret blad/dag, svarende til et indtag på 4,3 mg/kg legemsvægt for et voksent menneske på 70 kg) og 41 (100 mg/dag tørret blad/dag, svarende til et indtag på 1,4 mg/kg legemsvægt for et voksent menneske) mellem de anbefalede doser af kosttilskuddene og den dosis, der har givet anledning til toksiske effekter i kaninforsøget. Det skal bemærkes, at man som den normale praksis ved håndtering af stoffer med aktiv biologisk effekt tilstræber en faktor på mindst 100 fra den dosis i forsøgsdyr, som ikke har nogen effekt, til eksponeringen for mennesker. DTU Fødevareinstituttet vurderer derfor, at sikkerhedsmargin er for lille.

Referencer

- Agrawal P, Rai V, Singh RB (1996) Randomized placebo-controlled, single blind trial of holy basil leaves in patients with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics* 34, 9: 406-409.
- Ahmad M, Faraazi AA, Aamir MN (2013) The effect of *Ocimum sanctum* and *Ledum palustre* on serum uric acid level in patients suffering from gouty arthritis and hyperuricaemia. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia* 27, 3: 469-473.
- Bhargava A, Gangwar L, Grewal HS (2013) To study the effect of holy basil leaves on low blood pressure (hypotension) women aged 18-30 years. *International Conference on Food and Agricultural Sciences* 55, 16: 83-86.
- Das S, Chandra A, Agarwal S, Singh N (1983) *Ocimum sanctum* (tulsi) in the treatment of viral encephalitis (A preliminary clinical trial). *Antiseptic* 80: 323-327.
- Devra DK, Mathur KC, Agrawal RP, Bhadu I, Goyal S, Agarwal V (2012) Effect of tulsi (*Ocimum sanctum* Linn) on clinical and biochemical parameters of metabolic syndrome. *Journal of Natural Remedies* 12, 1: 63-67.
- Dineshkumar B, Analava M, Manjunatha M (2010) Antidiabetic and hypolipidaemic effects of few common plants extract in type 2 diabetic patients at Bengal. *International Journal of Diabetes and Metabolism* 18, 2: 59-65.
- Mondal S, Varma S, Bamola VD, Naik SN, Mirdha BR, Padhi MM, Mehta N, Mahapatra SC (2011) Double-blinded randomized controlled trial for immunomodulatory effects of tulsi (*Ocimum sanctum* Linn.) leaf extract on healthy volunteers. *Journal of Ethnopharmacology* 136: 452-456.



Mondal S, Mirdha BR, Padhi MM, Mahapatra SC (2012) Dried leaf extract of tulsi (*Ocimum sanctum* Linn) reduces cardiovascular disease factors: Results of a double blinded randomized controlled trial in healthy volunteers. *Journal of Preventive Cardiology* 1, 4: 177-184.

OECD Guideline for testing of chemicals OECD/OCDE 407 (2008) Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents. <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264070684-en.pdf?expires=1523970741&id=id&accname=guest&checksum=9881D2B51AFC96A36E9657C372AC7AED>

Pragya S, Hembram AR, Singh VN (2012) Antifertility effects of aqueous leaf extract of *Ocimum sanctum* Linn. (tulsi) on seminal profile of mice. *The Bioscan* 7, 2: 275-276,

Prasad MV (2014) Antifatigue and neuroprotective properties of selected species of *Ocimum* L. University of Mysore, Mysore, India.

Prasadacharyulu S (2014) Leaves of *Ocimum sanctum* [LOS]: a potent antidiabetic herbal medicine. *International Journal of Innovative Research and Development* 3, 4: 277-281.

Rajalakshmi S, Sivanandam G, Veluchamy G (1986) Role of tulsi (*Ocimum sanctum* Linn.) in the management of manjal kamalai (viral hepatitis), *Journal of Research in Ayurveda and Siddha* 9, 3-4: 118-123.

Sampath S, Mahapatra SC, Padhi MM, Sharma R, Talwar A (2015) Holy basil (*Ocimum sanctum* Linn.) leaf extract enhances specific cognitive parameters in healthy adult volunteers: a placebo controlled study. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology* 59, 1: 69-77.

Sarvaiya S (1986) Studies on hypertension with special reference to hypotensive effect of *Ocimum sanctum* [Ph.D. thesis], Sardar Patel University, Anand, India.

Satapathy S, Das N, Bandyopadhyay D, Mahapatra SC, Sahu DS, Meda M (2017) Effect of tulsi (*Ocimum sanctum* Linn.) supplementation on metabolic parameters and liver enzymes in young overweight and obese subjects. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 32, 3: 357-363.

Saxena RC, Singh R, Kumar P, Negi MPS, Saxena VS, Geetharani P, Allan JJ, Venkateshwarlu K (2012) Efficacy of an extract of *Ocimum tenuiflorum* (OciBest) in the management of general stress: a double-blind, placebo-controlled study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. doi:10.1155/2012/894509.

Sharma G (1983) Anti-asthmatic efficacy of *Ocimum sanctum*. *Sachitra Ayurved* 35: 665-668.

Venkatesan P, Sengupta R (2015) Effect of supplementation of tulsi leaves or curry leaves or combination of both type 2 diabetes. *International Journal of Pure & Applied Bioscience* 3, 2: 331-337.