



BUNDESMINISTERIUM FÜR  
GESUNDHEIT UND FRAUEN



## **TOXIKOLOGIE UND ALLERGOLOGIE VON GVO-PRODUKTEN – TEIL 2A**

**Untersuchung zur Praxis und Empfehlungen zur  
Standardisierung der Sicherheitsbewertung von  
gentechnisch veränderten Lebensmitteln**

Armin SPÖK  
Heinz HOFER  
Rudolf VALENTA  
Karin KIENZL-PLOCHBERGER  
Petra LEHNER  
Susanne STIRN  
Helmut GAUGITSCH

MONOGRAPHIEN  
Band 164A  
M-164A

Wien, 2003

## **Projektleitung**

Helmut Gaugitsch, Umweltbundesamt Wien

## **Projektkoordination**

Armin Spök, Interuniversitäres Forschungszentrum für Technik, Arbeit und Kultur (IFZ) Graz

## **AutorInnen**

Armin Spök, IFZ Graz (Projektkoordination, Kapitel 0,1,10, Abschnitte 3.5, 4.6)

Heinz Hofer, ARC research Seibersdorf GmbH (Abschnitte 3.1, 4.2, 11.1)

Rudolf Valenta, Universität Wien, AKH (Abschnitte 3.2, 4.3, 11.2)

Karin Kienzl-Plochberger, Wien (Abschnitte 3.4, 4.5, 11.4)

Petra Lehner, Wien (Abschnitte 3.3, 4.4, 11.3)

Susanne Stirn, FSP BIOGUM, Universität Hamburg

(Kommentierung der Teilberichte und des Gesamtberichts)

Helmut Gaugitsch, Umweltbundesamt Wien (Projektleitung)

## **Satz/Layout**

Manuela Kaitna, Umweltbundesamt Wien

Tina Stadler, IFZ Graz

## **Graphik- und Tabellenbearbeitung**

Manuela Kaitna, Umweltbundesamt Wien

## **Titelbild/Symbolfoto**

Manuela Kaitna (*Fotos: Bernhard Gröger*), Umweltbundesamt Wien

## **Danksagung**

Das Umweltbundesamt dankt dem Bundesministerium für Wirtschaft und Arbeit sowie dem Bundesministerium für Gesundheit und Frauen für die Finanzierung der vorliegenden Studie sowie die freundliche Genehmigung zur Veröffentlichung der Arbeit als Monographie des Umweltbundesamtes.

## **Hinweise**

*Der erste Teil dieser Arbeit wurde im Jahr 2002 als Monographie M-109 des Umweltbundesamtes unter dem Titel „Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten – Empfehlungen zur Standardisierung der Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Pflanzen auf Basis der Richtlinie 90/220/EWG (2201/18/EG)“ veröffentlicht.*

*Zum vorliegenden Band gibt es einen Band M-164B mit dem Titel „Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten – Teil 2B – Untersuchung von Regelungen zur Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Lebensmitteln in der EU und den USA“.*

*Die Bände M-109 sowie M-164A und B bilden thematisch und inhaltlich eine Einheit, können selbstverständlich aber auch jeder für sich selbst gelesen werden.*

Weitere Informationen zu Publikationen des Umweltbundesamtes finden Sie unter: <http://www.ubavie.gv.at>

## **Impressum**

Medieninhaber und Herausgeber: Umweltbundesamt GmbH (Federal Environment Agency Ltd)  
Spittelauer Lände 5, A-1090 Wien (Vienna), Austria

Druck: Manz Crossmedia GmbH & Co KG, A-1051 Wien

© Umweltbundesamt GmbH, Wien, 2003  
Alle Rechte vorbehalten (all rights reserved)  
ISBN 3-85457-692-7

## INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
<b>KURZFASSUNG</b> .....	11
Ergebnisse der Untersuchung der Antragsunterlagen.....	11
Empfehlungen.....	14
<b>EXECUTIVE SUMMARY</b> .....	18
Results of analysis of the Novel Food dossiers .....	18
Recommendations .....	21
<b>1 EINLEITUNG</b> .....	25
<b>1.1 Motivation und Problemstellung</b> .....	25
<b>1.2 Projektrahmen und Vorgehensweise</b> .....	27
<b>1.3 Aufbau der Studie</b> .....	29
<b>2 UNTERSUCHUNG DER ANTRAGS- UND ANMELDEDOSSIERS</b> .....	30
<b>2.1 Übersicht über die bearbeiteten Anträge bzw. Anmeldungen</b> .....	30
<b>2.2 Vorgangsweise bei der Untersuchung der Antrags- und Anmeldeunterlagen</b> ...	32
<b>3 ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNG DER ANTRAGS- UND ANMELDEDOSSIERS</b> .....	35
<b>3.1 Toxikologische Aspekte</b> .....	35
3.1.1 Allgemeine Anmerkungen zu Anträgen und Anmeldungen .....	35
3.1.2 Vergleich der Produkthanträge .....	36
3.1.2.1 Aufbau der Anträge .....	36
3.1.2.2 Übersichtlichkeit und Strukturierung der Anträge.....	36
3.1.2.3 Vorlage der Untersuchungsberichte und der Literatur .....	37
3.1.2.4 Beschreibung der Exposition des Konsumenten .....	37
3.1.2.5 Beschreibung der toxikologischen Untersuchungen .....	38
3.1.2.6 Gute Laborpraxis.....	38
3.1.2.7 Argumentation des Antragstellers zur toxikologischen Sicherheitsbewertung.....	39
3.1.2.8 Anwendung des Prinzips der Substanziellen Äquivalenz.....	39
3.1.2.9 Pleiotrope oder andere sekundäre Wirkungen der Genübertragung.....	39
3.1.3 Vergleich der Produkthanmeldungen.....	39
3.1.3.1 Aufbau der Anmeldungen .....	39
3.1.3.2 Übersichtlichkeit und Strukturierung der Anmeldungen .....	40
3.1.3.3 Vorlage der Untersuchungsberichte und der Literatur .....	40
3.1.3.4 Beschreibung der Exposition des Konsumenten .....	40
3.1.3.5 Beschreibung der toxikologischen Untersuchungen .....	41
3.1.3.6 Gute Laborpraxis.....	41
3.1.3.7 Argumentation des Antragstellers zur toxikologischen Sicherheitsbewertung.....	42
3.1.3.8 Anwendung des Prinzips der Substanziellen Äquivalenz.....	42
3.1.3.9 Pleiotrope oder andere sekundäre Wirkungen der Genübertragung.....	42
3.1.4 Vergleich Anträge und Anmeldungen .....	42
3.1.5 Vergleich Antrag und Anmeldung für Mais Bt11 .....	43
3.1.6 Vergleich der Anträge/Anmeldungen für Mais-Linien.....	43
3.1.7 Stellungnahme aus der Sicht aktueller Verordnungsentwürfe und Empfehlungen ...	44

<b>3.2</b>	<b>Allergologische Aspekte</b> .....	46
3.2.1	Vergleich der Sicherheitsbewertung .....	46
3.2.2	Kritik der Sicherheitsbewertungen.....	48
<b>3.3</b>	<b>Substanzielle Äquivalenz</b> .....	50
3.3.1	Charakterisierung der Anmeldungen .....	50
3.3.2	Sicherheitsbewertung durch den Antragsteller .....	51
3.3.2.1	Nachreichungen .....	52
3.3.3	Kompositionsvergleiche .....	52
3.3.4	Rapsöl .....	54
3.3.4.1	Charakterisierung der Inhaltsstoffe von Rapsamen .....	54
3.3.4.2	Verwendung von Raps in der menschlichen Ernährung .....	55
3.3.4.3	Ernährungsphysiologische Charakterisierung von Rapsöl.....	56
3.3.4.4	Durchgeführte Kompositionsvergleiche .....	57
3.3.4.5	Bewertung Kompositionsvergleiche .....	63
3.3.5	Maisprodukte .....	68
3.3.5.1	Charakterisierung der Inhaltsstoffe von Maiskörnern .....	68
3.3.5.2	Vitamine und Mineralstoffe.....	70
3.3.5.3	Antinutritive Inhaltsstoffe .....	70
3.3.5.4	Verwendung von Mais in der menschlichen Ernährung.....	70
3.3.5.5	Durchgeführte Kompositionsvergleiche .....	72
3.3.5.6	Bewertung Kompositionsvergleiche .....	76
<b>3.4</b>	<b>Ergänzende Untersuchungen</b> .....	81
3.4.1	Untersuchungen der Antragsunterlagen nach Artikel 4 bezüglich Anbau und Kompositionsanalysen.....	81
3.4.1.1	Agronomische Daten.....	81
3.4.1.2	Messmethoden.....	82
3.4.1.3	Darstellung der Daten .....	82
3.4.1.4	Literatur .....	82
3.4.1.5	Statistik.....	82
3.4.1.6	Umgang mit Unterschieden.....	82
3.4.1.7	Vergleiche der Kompositionsanalysen bei den Maisanträgen.....	83
3.4.1.8	Inhaltsstoffe – Soja.....	83
3.4.1.9	Vergleich der Antragsunterlagen gemäß Artikel 4 und Artikel 5 der Novel Food Verordnung.....	83
3.4.2	Fütterungsstudien in Anträgen und Anmeldungen .....	88
3.4.2.1	Anträge nach Artikel 4 .....	88
3.4.2.2	Anmeldungen nach Artikel 5 .....	89
3.4.2.3	Vergleich der Anträge nach Artikel 4 und Anmeldungen nach Artikel 5.....	89
<b>3.5</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	92
<b>4</b>	<b>EMPFEHLUNGEN ZUR STANDARDISIERUNG DER SICHERHEITSBEWERTUNG</b> .....	95
<b>4.1</b>	<b>Allgemeine Bemerkungen</b> .....	95
<b>4.2</b>	<b>Empfehlungen zur toxikologischen Sicherheitsbewertung</b> .....	95
4.2.1	Allgemeine Vorschläge .....	95
4.2.1.1	Anträge und Anmeldungen sollen gleich behandelt werden .....	95
4.2.1.2	Alle vorhandenen Berichte sollen mit dem Antrag vorgelegt werden.....	96
4.2.1.3	Stand-alone Dossiers sollen vorgelegt werden .....	96
4.2.1.4	Strukturierung der Anträge nach Empfehlung 97/618/EG bewährt sich und soll ausgebaut werden.....	96
4.2.1.5	Verringerung von annahmenbasierenden und unsaubereren Argumentationen .....	97
4.2.1.6	Einhaltung der Guten Laborpraxis .....	98

4.2.2	Vorschläge zur Toxikologie .....	99
4.2.2.1	Umfang der toxikologischen Untersuchungen .....	99
4.2.2.2	Erarbeitung und Standardisierung der Methoden .....	101
4.2.2.3	Klarstellung, welche toxischen Wirkungen bei Proteinen auftreten können .....	102
4.2.2.4	Klarstellung zu Homologieüberlegungen.....	103
4.2.2.5	Überdenken der Prüfungen mit in E. coli hergestellten Proteinen .....	103
4.2.3	Vorschläge zur Exposition .....	104
4.2.3.1	Ermittlung der Exposition des Menschen.....	104
4.2.3.2	Klarstellung zu <i>in-vivo</i> Verdaubarkeitsstudien mit den neuen Proteinen .....	104
4.2.4	Vorschläge zur Risikobewertung .....	105
4.2.4.1	Risikobewertung aufgrund von sauber getrennten Daten zu Toxizität und Exposition .....	105
4.2.4.2	Klarstellung der Zulassung nach Pflanzenschutzmittelrecht.....	105
4.2.5	Vorschläge zur Substanziellen Äquivalenz .....	106
4.2.5.1	Eigenes Kapitel zur Darlegung der substanziellen Äquivalenz .....	106
4.2.6	Offene Fragen .....	106
4.2.6.1	Erarbeitung geeigneter toxikologischer Methoden für GVP .....	106
4.2.6.2	Welche toxischen Wirkungen können bei Proteinen auftreten? .....	107
4.2.6.3	Welchen Stellenwert haben Homologieüberlegungen? .....	108
4.2.6.4	Genügen <i>in-vitro</i> Verdaubarkeitsstudien mit den neuen Proteinen?.....	108
<b>4.3</b>	<b>Empfehlungen zur allergologischen Sicherheitsbewertung.....</b>	<b>108</b>
4.3.1	Vorgangsweise bei Antrags- und bei Anmeldeverfahren.....	108
4.3.2	Offene Fragen und Empfehlungen für weitere Forschungen .....	110
<b>4.4</b>	<b>Empfehlungen zur Substanziellen Äquivalenz .....</b>	<b>111</b>
4.4.1	Aufbau der Anmeldung .....	112
4.4.2	Bewertung der neuen Proteine .....	112
4.4.3	Exposition .....	113
4.4.3.1	Expressionslevels .....	113
4.4.3.2	Nahrungsaufnahme.....	113
4.4.3.3	Verarbeitung.....	113
4.4.3.4	Beobachtung nach Markteinführung .....	113
4.4.4	Zusammensetzung .....	114
4.4.4.1	Matrix für Vergleichstests.....	114
4.4.4.2	Probengenerierung.....	114
4.4.4.3	Analysevorbereitung.....	116
4.4.4.4	Analysendurchführung .....	116
4.4.4.5	Statistik.....	116
4.4.4.6	Umgang mit signifikanten Unterschieden .....	117
4.4.4.7	Parameterumfang .....	117
<b>4.5</b>	<b>Ergänzende Empfehlungen.....</b>	<b>119</b>
<b>4.6</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>121</b>
<b>5</b>	<b>LITERATUR.....</b>	<b>125</b>
<b>6</b>	<b>VERZEICHNIS DER GUTACHTEN UND KOMMENTARE .....</b>	<b>132</b>
6.1	Gutachten .....	132
6.2	Kommentare .....	132
<b>7</b>	<b>MITARBEITERINNEN UND MITARBEITER .....</b>	<b>133</b>
<b>8</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>134</b>

<b>A1</b>	<b>ANHANG 1</b> .....	136
<b>A1.1</b>	<b>Anmeldungen gemäß Artikel 5 der Verordnung (EG) Nr. 258/97 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 27. Januar 1997 über neuartige Lebensmittel und neuartige Lebensmittelzutaten</b> .....	136
<b>A1.2</b>	<b>Anträge/Genehmigungen gemäß Artikel 4 der Verordnung (EG) Nr. 258/97 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 27. Januar 1997 über neuartige Lebensmittel und neuartige Lebensmittelzutaten</b> .....	137
<b>A2</b>	<b>ANHANG 2</b> .....	140
<b>A2.1</b>	<b>Antragsunterlagen gemäß Artikel 4 der Novel Food Verordnung</b> .....	140
A2.1.1	Mais NK603, The Netherlands, 2001 .....	140
A2.1.2	Mais 1507, The Netherlands, 2001 .....	142
A2.1.3	Mais Bt11 (Zuckermais), The Netherlands, 1999 .....	142
A2.1.4	Mais GA21, The Netherlands, 1998 .....	145
A2.1.5	Soja 260-05, The Netherlands, 1998 .....	147
<b>A2.2</b>	<b>Anmeldeunterlagen gemäß Artikel 5 der Novel Food Verordnung</b> .....	149
A2.2.1	Mais T25, United Kingdom, 1998 .....	149
A2.2.2	Mais MON809, United Kingdom, 1998 .....	150
A2.2.3	Mais Bt11, United Kingdom, 1998 .....	150
A2.2.4	Mais MON810, United Kingdom, 1997 .....	152
A2.2.5	Raps MS1xRF1, MS1xRF2, United Kingdom, 1997 .....	152
A2.2.6	Raps, Topas 19/2, United Kingdom, 1997 .....	155
A2.2.7	Raps GT73, United Kingdom, 1997 .....	157
<b>A3</b>	<b>ANHANG 3</b> .....	159
<b>A3.1</b>	<b>Toxikologische Aspekte</b> .....	159
A3.1.1	Mais NK603 .....	159
A3.1.1.1	Beschreibung des Produktantrags .....	159
A3.1.1.2	Bewertung des toxikologischen Teils des Antrags .....	162
A3.1.2	Mais 1507 .....	165
A3.1.2.1	Beschreibung des Produktantrags .....	165
A3.1.2.2	Bewertung des toxikologischen Teils des Antrags .....	168
A3.1.3	Zuckermais Bt11 .....	170
A3.1.3.1	Beschreibung des Produktantrags .....	170
A3.1.3.2	Bewertung des toxikologischen Teils des Antrags .....	174
A3.1.4	Mais GA21 .....	176
A3.1.4.1	Beschreibung des Produktantrags .....	176
A3.1.4.2	Bewertung des toxikologischen Teils des Antrags .....	179
A3.1.5	Sojabohne 260-05 .....	181
A3.1.5.1	Beschreibung des Produktantrags .....	181
A3.1.5.2	Bewertung des toxikologischen Teils des Antrags .....	183
A3.1.6	Raps MS1xRF1 und MS1xRF2 .....	184
A3.1.6.1	Beschreibung der Produktanmeldung .....	184
A3.1.6.2	Bewertung des toxikologischen Teils der Anmeldung .....	186
A3.1.7	Raps Topas 19/2 .....	187
A3.1.7.1	Beschreibung der Produktanmeldung .....	187
A3.1.7.2	Bewertung des toxikologischen Teils der Anmeldung .....	189

A3.1.8	Raps GT73.....	190
A3.1.8.1	Beschreibung der Produktanmeldung.....	190
A3.1.8.2	Bewertung des toxikologischen Teils der Anmeldung.....	193
A3.1.9	Mais T25.....	194
A3.1.9.1	Beschreibung der Produktanmeldung.....	194
A3.1.9.2	Bewertung des toxikologischen Teils der Anmeldung.....	196
A3.1.10	Mais Bt11.....	197
A3.1.10.1	Beschreibung der Produktanmeldung.....	197
A3.1.10.2	Bewertung des toxikologischen Teils der Anmeldung.....	201
A3.1.11	Mais MON809.....	202
A3.1.11.1	Beschreibung der Produktanmeldung.....	202
A3.1.11.2	Bewertung des toxikologischen Teils der Anmeldung.....	204
A3.1.12	Mais MON810.....	205
A3.1.12.1	Beschreibung der Produktanmeldung.....	205
A3.1.12.2	Bewertung des toxikologischen Teils der Anmeldung.....	208
<b>A3.2</b>	<b>Allergologische Aspekte.....</b>	<b>209</b>
A3.2.1	Mais NK603.....	209
A3.2.1.1	Beschreibung des Produktantrags.....	209
A3.2.1.2	Bewertung des allergologischen Teils.....	210
A3.2.2	Mais Bt11.....	212
A3.2.2.1	Beschreibung des Produktantrags.....	212
A3.2.2.2	Bewertung des allergologischen Teils.....	213
A3.2.3	Soja 260-05.....	214
A3.2.3.1	Beschreibung des Produktantrags.....	214
A3.2.3.2	Bewertung des allergologischen Teils.....	215
A3.2.4	Mais 1507.....	216
A3.2.4.1	Beschreibung des Produktantrags.....	216
A3.2.4.2	Bewertung des allergologischen Teils.....	217
A3.2.5	Mais GA21.....	218
A3.2.5.1	Beschreibung des Produktantrags.....	218
A3.2.5.2	Bewertung des allergologischen Teils.....	219
A3.2.6	Raps MS1xRF1, MS1xRF2.....	220
A3.2.6.1	Beschreibung der Produktanmeldung.....	220
A3.2.6.2	Beschreibung der Produktanmeldung.....	220
A3.2.7	Mais T25.....	221
A3.2.7.1	Beschreibung der Produktanmeldung.....	221
A3.2.7.2	Bewertung des allergologischen Teils.....	222
A3.2.8	Raps Topas 19/2.....	223
A3.2.8.1	Beschreibung der Produktanmeldung.....	223
A3.2.8.2	Bewertung des allergologischen Teils.....	224
A3.2.9	Raps GT73.....	225
A3.2.9.1	Beschreibung der Produktanmeldung.....	225
A3.2.9.2	Bewertung des allergologischen Teils.....	226
A3.2.10	Mais MON810.....	227
A3.2.10.1	Beschreibung der Produktanmeldung.....	227
A3.2.10.2	Bewertung des allergologischen Teils.....	228
A3.2.11	Mais MON809.....	229
A3.2.11.1	Beschreibung der Produktanmeldung.....	229
A3.2.11.2	Bewertung des allergologischen Teils.....	229
A3.2.12	Mais Bt11.....	230
A3.2.12.1	Beschreibung der Produktanmeldung.....	230
A3.2.12.2	Bewertung des allergologischen Teils.....	231

<b>A3.3</b>	<b>Substanzielle Äquivalenz</b> .....	232
A3.3.1	Raps MS1RF1 und MS1RF2.....	232
A3.3.1.1	Beschreibung .....	232
A3.3.1.2	Bewertung .....	241
A3.3.2	Raps Topas 19/2.....	248
A3.3.2.1	Beschreibung .....	248
A3.3.2.2	Bewertung .....	257
A3.3.3	Raps GT73.....	264
A3.3.3.1	Beschreibung .....	264
A3.3.3.2	Bewertung .....	272
A3.3.4	Mais T25.....	278
A3.3.4.1	Beschreibung .....	278
3.3.4.2	Bewertung .....	285
A3.3.5	Mais Bt11.....	292
A3.3.5.1	Beschreibung .....	292
3.3.5.2	Bewertung .....	301
A3.3.6	Mais MON 809.....	307
A3.3.6.1	Beschreibung .....	307
3.3.6.2	Bewertung .....	315
A3.3.7	Mais MON 810.....	321
A3.3.7.1	Beschreibung .....	321
A3.3.7.2	Bewertung .....	330
<b>A3.4</b>	<b>Ergänzende Untersuchungen</b> .....	337
A3.4.1	Mais NK 603.....	337
A3.4.1.1	Agronomische Daten.....	337
A3.4.1.2	Inhaltsstoffe.....	337
A3.4.1.3	Argumentation.....	338
A3.4.1.4	Fütterungsversuche .....	338
A3.4.2	Mais Bt11.....	339
A3.4.2.1	Agronomische Daten.....	339
A3.4.2.2	Inhaltsstoffe.....	339
A3.4.2.3	Stellungnahmen und Nachforderungen .....	340
A3.4.2.4	Argumentation.....	341
A3.4.2.5	Fütterungsversuche .....	342
A3.4.3	Soja 260-05.....	345
A3.4.3.1	Erwartete Aufnahme, Verwendung .....	345
A3.4.3.2	Agronomische Daten.....	345
A3.4.3.3	Inhaltsstoffe.....	345
A3.4.3.4	Tierversuche .....	346
A3.4.3.5	Stellungnahmen .....	347
A3.4.4	Mais 1507 .....	348
A3.4.4.1	Agronomische Daten.....	348
A3.4.4.2	Inhaltsstoffe.....	348
A3.4.4.3	Tierversuche .....	349
A3.4.5	Mais GA21.....	349
A3.4.5.1	Agronomische Daten.....	349
A3.4.5.2	Inhaltsstoffe.....	350
A3.4.5.3	Argumentation.....	350
A3.4.5.4	Stellungnahmen und Nachforderungen .....	351
A3.4.5.5	Fütterungsversuche .....	352
A3.4.6	Raps MS1RF1 und MS1RF2.....	353
A3.4.6.1	Fütterungsversuche .....	354
A3.4.7	Mais T25.....	355
A3.4.7.1	Fütterungsversuch .....	355

---

A3.4.8	Raps Topas 19/2.....	356
A3.4.8.1	Fütterungsversuche .....	356
A3.4.9	Raps GT73.....	356
A3.4.9.1	Fütterungsversuche .....	357
A3.4.10	Mais MON 810.....	359
A3.4.10.1	Fütterungsversuche .....	359
A3.4.11	Mais MON 809.....	359
A3.4.11.1	Fütterungsversuche .....	359
A3.4.12	Mais Bt11.....	359
A3.4.12.1	Fütterungsversuche .....	359



## KURZFASSUNG

Die toxikologische und allergologische Sicherheitsbewertung von Lebensmittelprodukten, die aus GVO bestehen oder solche sind, wird derzeit noch (Stand Juli 2003) im Rahmen der Verordnung 258/97 über neuartige Lebensmittel und Lebensmittelzutaten (Novel Food Verordnung) durchgeführt. Im Rahmen dieser Sicherheitsbewertungen spielt auch das Konzept der substanziellen Äquivalenz eine bedeutsame Rolle. Im Unterschied zu anderen Materiegesetzen sind die Anforderungen an die Sicherheitsbewertung allerdings nicht konkret definiert, wodurch weite Spielräume für die Praxis der Sicherheitsbewertung entstehen. Die konkreten Anforderungen werden zumeist erst im Zuge der Antragstellung konkretisiert – ein für Antragsteller und Prüfbehörden ressourcenaufwendiger und zeitraubender Prozess, in dem jeder Antrag als Einzelfall behandelt wird, was wiederum eine konsistentere Vorgangsweise erschwert und Fragen bezüglich der unterschiedlichen Qualität der Sicherheitsbewertung aufwirft.

Ziel der vorliegenden Studie war es die bisherige Praxis der Sicherheitsbewertung bei Lebensmittelprodukten aus gentechnisch veränderten Pflanzen (GVP) auf jene sicherheitsrelevanten Spielräume zu untersuchen und Vorschläge für eine Konkretisierung und Standardisierung auszuarbeiten. Dazu wurde die toxikologische und allergologische Sicherheitsbewertung in fünf Anträgen nach Artikel 4 und sieben Anmeldungen nach Artikel 5 der Novel Food Verordnung untersucht. Weil sich die Sicherheitsbewertung in den Anmeldungen auf das Prinzip der substanziellen Äquivalenz stützt, wurde die Anwendung dieses Konzepts ebenfalls untersucht. Darauf aufbauend wurden dann Vorschläge zur Konkretisierung und Standardisierung der Sicherheitsbewertung in toxikologischer und allergologischer Hinsicht sowie zu Anbauversuchen, Inhaltsstoffanalysen und Fütterungsstudien im Zusammenhang mit der Anwendung des Prinzips der substanziellen Äquivalenz ausgearbeitet.

Aus 12 Anträgen bzw. 10 Anmeldungen, die sich derzeit (Stand: September 2002) im Zulassungsverfahren befinden bzw. bereits genehmigt wurden, wurden fünf Anträge (Mais NK 603, Bt11-Zuckermais, Mais 1507, Mais GA21 und Soja 260-05) und sieben Anmeldungen (Raps MS1RF1 und MS1RF2, Raps Topas 19/2, Raps GT73, Mais T25, Mais MON 809 und Mais MON 810) ausgewählt. Untersucht wurden die Volltextdossiers, die neben dem eigentlichen Antrag bzw. der Anmeldung auch den Prüfbericht bzw. Stellungnahmen von Behörden der Mitgliedsstaaten und des Scientific Committee on Food sowie Korrespondenzen und Nachreichungen enthalten.

Diese Studie ist ein Teilergebnis des Projekts „Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten“, das auch Untersuchungen zu den rechtlichen Regelungen und der Regelungspraxis in der EU und den USA sowie zu Richtlinien internationaler Organisationen, auf der Basis von Gesetzestexten und Empfehlungen sowie von wissenschaftlichen Publikationen und Sekundärliteratur mit einschließt (siehe M-164B „Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten – Teil 2B. Untersuchung von Regelungen zur Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Lebensmitteln in der EU und den USA“).

### Ergebnisse der Untersuchung der Antragsunterlagen

**Allgemein:** Die Anträge nach der Novel Food Verordnung sind entsprechend der Empfehlung 97/618/EG aufgebaut, gut strukturiert und damit wesentlich übersichtlicher als Anträge nach Richtlinie 90/220/EWG. Allerdings sind die Anträge und auch die Anmeldungen keine stand-alone-Dokumente, da Teile der Untersuchungsergebnisse nur als Literaturhinweise oder als Kurzfassungen aufscheinen und daher nur eingeschränkt nachvollzogen und beurteilt werden können. Teilweise wurden Untersuchungen erst nach Verlangen der Behörde vorgelegt, obwohl die Ergebnisse bereits zum Zeitpunkt der Antragstellung vorhanden waren. In einzelnen Dossiers, aber nicht generell, gehandhabt wurde die konsequente Zuordnung von Zitaten zu jeder relevanten Aussage.

Die Einhaltung des Qualitätssicherungssystems der Guten Laborpraxis für sicherheitsrelevante Untersuchungen war zwar nicht konsequent, aber in einem weit höheren Maß gegeben, als für Anträge nach der Richtlinie 90/220/EWG.

Es geht aus den Anträgen zu herbizidresistenten GVP nicht hervor, ob bereits eine Zulassung des Herbizids nach EU-Pflanzenschutzmittelrecht vorliegt.

**Toxikologie:** In den Novel Food-Anträgen und auch den -Anmeldungen sind nur wenige toxikologische Untersuchungen zu finden. Der Umfang der toxikologischen Untersuchungen unterscheidet sich nicht von dem in den Anträgen nach der Richtlinie 90/220/EWG. In den Anträgen, aber zumeist auch in den Anmeldungen wurde eine akute Toxizitätsprüfung mit jedem neu exprimierten Protein durchgeführt. Darüber hinaus gehende Untersuchungen zur Erfassung möglicher anderer toxikologisch bedeutender Wirkungen sind Ausnahmen. Die Proteine für die Toxizitätsstudien wurden generell in Mikroorganismen produziert und stammen nicht aus den Pflanzen, was aufgrund möglicher Unterschiede z. B. durch posttranslationale Modifikationen problematisch sein kann. In der Beurteilung der Toxizität der neu exprimierten Proteine wurden üblicherweise Überlegungen zur Homologie mit „nicht toxischen“ Proteinen angestellt. Ergebnisse von Futtermittlungsstudien, die allerdings keine toxikologischen Untersuchungen sind, wurden in jedem Antrag berichtet. Mögliche toxische Wirkungen durch Sekundäreffekte der Geninsertion wurden nicht oder nur unzulänglich berücksichtigt.

An Stelle von Untersuchungsergebnissen wurden teilweise auf Annahmen und nicht auf Fakten basierende Argumente als Beleg für die „Unbedenklichkeit“ der transgenen Pflanze oder ihrer Produkte vorgebracht.

Verarbeitungsprozesse der GVP wurden nur in manchen Fällen beschrieben, ebenso wie die Exposition des Konsumenten mit der GVP oder ihren Produkten. Sowohl in den Anträgen als auch den Anmeldungen wurden *in-vitro*, aber keine *in-vivo* Verdauungsstudien mit dem neu exprimierten Protein beschrieben.

Die Sicherheitsbewertung stützt sich bei allen fünf Anträgen wesentlich auf das Konzept der substanzialen Äquivalenz. Aus den Anträgen kann nicht der Eindruck gewonnen werden, dass die Darlegung der (partiellen) substanzialen Äquivalenz nur der Startpunkt für weitere Untersuchungen zu einer Risikobewertung war. Systematisch aufgebaute Risikobewertungen, die von der Bewertung des Gefahrenpotentials der transgenen Pflanze einerseits und der Exposition andererseits ausgehen, fehlen mit Ausnahme eines Falls.

**Allergologie:** Das Fehlen eines allergenen Potentials wird nahezu ausschließlich argumentativ oder indirekt durch Verdauungstests des neu eingebrachten Proteins und Sequenzhomologieuntersuchungen zwischen diesem und bekannten Allergenen unterstützt. Ein direktes Testen der potenziell allergenen Eigenschaften der GVP bzw. der GVP-Produkte erfolgte lediglich in einem Antrag. Sekundäre Effekte der genetischen Veränderung, etwa die verstärkte Ausprägung von anderen Allergenen in der GVP, werden überhaupt nicht erwogen. Diesbezüglich bestehen keine Unterschiede zwischen Anträgen nach Artikel 4 und Anmeldungen nach Artikel 5.

Die Hauptargumentationslinien sind folgende: das neu eingefügte Protein (i) hat keine Sequenzhomologien zu bekannten Allergenen, (ii) wird nur in geringen Mengen in der Pflanze exprimiert, (iii) wird leicht im Gastrointestinaltrakt verdaut, (iv) stammt aus einer Quelle, die nicht als Allergenauslöser bekannt ist, (v) sei nicht glykosiliert und deshalb mit geringer Wahrscheinlichkeit allergen, und (vi) hätte ein geringes allergenes Potential, weil es nicht „fremd“ sei. Jedes dieser Argumente bzw. jede der dahinter stehenden Annahmen muss aus der Sicht des aktuellen Standes der Wissenschaft aufgrund von z. T. neueren empirischen Daten, massiv in Zweifel gezogen werden.

(i) Ein Zusammenhang zwischen Sequenzhomologie und allergenem Potential ist nicht wirklich gegeben; (ii) als sehr aggressiv bekannte Allergene kommen nur in sehr geringen Men-

gen in der Allergenquelle vor; (iii) es gibt bekannte Allergene, die leicht verdaulich sind; (iv) nicht die Quelle, sondern die Art der Präsentation gegenüber dem Immunsystem entscheidet ob ein Protein allergen wirken kann; (v) viele potente Allergene sind nicht glykosiliert; (vi) der Zusammenhang zwischen „nicht fremd“ und geringerem allergenen Potential ist nicht gegeben.

**Substanzielle Äquivalenz:** Für alle Anmeldungen gilt, dass Umfang und Qualität der jeweils vorgelegten Daten sowie die Vollständigkeit der Anmeldungen nicht ausreichend scheinen, um das Vorliegen von substanziiell äquivalenten Produkten zu rechtfertigen. Die Kompositionsvergleiche wurden grundsätzlich in Ausgangsprodukten durchgeführt und daraus auf substanziielle Äquivalenz aller Folgeprodukte geschlossen. In keiner Anmeldung wurden alle zur verlässlichen Beurteilung der substanziiellen Äquivalenz bzw. eines gleichen Ernährungswerts notwendig scheinenden Parameter bestimmt und verglichen. Überwiegend stützen sich die Aussagen auf Vergleiche von Makrokomponenten, deren Zusammenstellung je nach Antragssteller variiert. Mikrokomponenten werden kaum oder nicht berücksichtigt, auf ernährungsrelevante Charakterisierungen oder Kennzahlen wird nicht eingegangen.

Die Dokumentation von Anbau und Analysen ist in keiner Anmeldung ausreichend, um die jeweiligen Versuche schlüssig nachvollziehen bzw. die Ergebnisse verifizieren zu können. Messpraxis, Methodenungenauigkeiten und Detektionslimit werden nur in Ausnahmefällen angegeben. Die Probengewinnung (Anbaujahre, Standorte, Regionen) ist sehr verschieden und teilweise als nicht hinreichend zu betrachten. Dies gilt speziell für die Maisanmeldungen, da überwiegend nur Proben eines Anbaujahres verglichen wurden und auch eine repräsentative geographische Verteilung nicht vorliegt. Die Anbaupraxis wird durchgängig nur lückenhaft, in manchen Anmeldungen gar nicht beschrieben.

In keiner Anmeldung ist erkennbar, dass die Kompositionsanalysen durchgängig statistisch ausgewertet wurden. Informationen zu Methode und Software werden nur selten gegeben, oft bleibt unklar, welche Vergleiche angestellt und/oder womit ausgewertet wurden. In nur einer Anmeldung sind aussagekräftige statistische Auswertungsblätter angeschlossen. Eine dem Stand von Wissenschaft und Technik entsprechende statistische Absicherung der Aussagen scheint somit generell nicht gegeben zu sein.

Verarbeitungsprodukte werden nur in den Rapsanmeldungen und hier nur in geringem Umfang (Sample und Parameter) berücksichtigt. In keinem Fall wurde durch Untersuchungen gezeigt, dass in den Endprodukten kein(e) rDNA und/oder Protein vorkommt. Speziell für Maisprodukte (trockene Müllerei, Maisteigprodukte, Maisstärke) kann die effiziente Entfernung bzw. ein vollständiger Abbau nicht vorausgesetzt werden. In keiner Anmeldung ist die substanziielle Äquivalenz von Endprodukten ausreichend mit Versuchsdaten unterlegt.

Gestützt auf quantitativ und qualitativ mangelhafte Daten und trotz signifikanter oder auffällender Unterschiede wurde von allen Antragstellern auf substanziielle Äquivalenz von Ausgangs- und Endprodukten geschlossen und dies vom ACNFP bestätigt.

Das Konzept der substanziiellen Äquivalenz scheint generell nicht als Entscheidungsinstrument, sondern als Endpunkt der Sicherheitsbewertung eingesetzt zu werden. In allen Anmeldungen traten signifikante oder auffällende Unterschiede auf, die in keinem Fall zu einer Wiederholung der Tests unter Verbreiterung der Vergleichparameter führte. Letzteres wäre erforderlich, um das tatsächliche Vorliegen von substanziieller Äquivalenz bzw. den verlässlicheren Ausschluss von Sekundäreffekten zu dokumentieren. Diese Vorgehensweise ist nicht geeignet, um hinreichende Produktsicherheit zu gewährleisten; aus der Perspektive der Ernährungsphysiologie greift sie jedenfalls zu kurz.

**Ergänzende Untersuchungen:** Alle untersuchten Anträge nach Artikel 4 berufen sich auf partielle substanziielle Äquivalenz. Im Vergleich zu den Anmeldungen wurden bei den Anträgen mehr Parameter bei den Kompositionsanalysen untersucht (vor allem bei antinutritiven Substanzen, Mineralstoffen und Vitaminen). Ebenso wie bei den Anmeldungen wurde die

Dokumentation des Anbaus wenig bis kaum beachtet (Bewirtschaftungsmaßnahmen, Versuchsanlage, Probengewinnung, Probenlagerung). Die Anzahl der Standorte und Wiederholungen variiert. In keinem Fall wurde der gesamte Parameterumfang für zwei aufeinanderfolgende Jahre bestimmt.

In allen Anträgen wurden Makrokomponenten untersucht, darüber hinaus gehend wurden in den meisten Fällen Antinutritiva, Vitamine und Mineralstoffe analysiert. Bei den Vergleichen wurde ebenfalls häufig ältere Literaturstellen zitiert.

Die Datendarstellung erfolgt dann in sehr unterschiedlicher Weise und reicht von Originaldaten bis zur Darstellung von Diagrammen – ohne weitere Angaben. Statistische Unterschiede, die nur in einem oder zwei Parametern auftraten, wurden nicht als relevant betrachtet. Wie bei den Anmeldungen wurden in solchen Fällen die Analysen nicht wiederholt. Teilweise sind auch keine Angaben zur Statistik beinhaltet.

In allen Anträgen nach Artikel 4 wurde zumindest ein Tierversuch durchgeführt, während nur die Hälfte der Anmeldungen nach Artikel 5 Unterlagen zu Tierversuchen enthielt. Alle Tierversuche bezogen sich auf Futtermittelverwertung und Gewichtszunahme bei Forellen, Ratten, Wachteln, Broilerküken, Hühner, Kaninchen, Schweinen und Rindern. Die Ergebnisse der Versuche wurden in mehreren Fällen explizit in die Argumentation für substantielle Äquivalenz miteinbezogen. Die Beschreibung der Versuche war sehr unterschiedlich. Futterkomponenten, Zusätze und Verarbeitungsmethoden wurden in keinem Fall detaillierter dokumentiert. In den meisten Fällen wurden auch keine Originaldaten beigelegt. Bei den Anträgen erstreckte sich die Versuchsdauer bis zu 90 Tagen. Zumindest in einem Fall haben vorgefundene Unterschiede zu keinen weiteren Untersuchungen geführt.

## Empfehlungen

Auf Basis der Untersuchungen der Novel Food Dossiers, der zwischen diesen vorgefundenen Unterschiede, von Analogien zu anderen Materiegesetzen und unter Berücksichtigung der aktuellen wissenschaftlichen Literatur wurde eine Reihe von Vorschlägen formuliert, die zur Konkretisierung und Standardisierung der Sicherheitsbewertung beitragen sollen. Für ausführlichere Begründungen dieser Vorschläge sei hier nur auf den Text verwiesen.

**Allgemein:** Anträge sollen generell so ausgeführt sein, dass sie alle zitierten Untersuchungsberichte und Veröffentlichungen beinhalten (stand-alone). Alle zur Zeit der Antragstellung verfügbaren Untersuchungsberichte sollten vollständig vorgelegt werden, um eine Vorselektion des Antragstellers zu vermeiden. Möglichkeiten zur Eindämmung von lediglich auf Annahmen basierende und unsaubere Argumentationen werden aufgezeigt. Z. B. sollen alle relevanten Aussagen durch Hinweise auf beiliegende Untersuchungsberichte oder Veröffentlichungen belegt werden.

Generell sollten Toxizität, Allergenität, Exposition und die darauf aufbauende Risikobewertung klar von einander getrennt und in unterschiedlichen Kapiteln ausgeführt werden. Aufgrund der zentralen Rolle der substantiellen Äquivalenz ist diesem Aspekt ein eigener Abschnitt einzuräumen. Vorschläge für eine verbesserte Strukturierung und Formalisierung – aufbauend auf den Empfehlungen 97/618/EWG – werden gegeben, um die Bearbeitbarkeit der Anträge zu verbessern.

Bei herbizid- oder insektizidresistenten GVP sollte aus den Anträgen der Status des Zulassungsverfahrens des Pestizids nach EU Pflanzenschutzmittelrecht hervorgehen.

Die Vorlage von publizierten Untersuchungen ersetzt nicht die Gute Laborpraxis, die die Übereinstimmung von publizierten Daten und Rohdaten sicherstellt. Deshalb sollte die Gute Laborpraxis generell bei sicherheitsrelevanten Versuchen eingehalten werden – auch bei Feldversuchen.

**Toxikologie:** Die in den Dossiers zu findende Information über fehlende toxische Wirkungen der GVP ist nicht das Ergebnis von umfangreichen Untersuchungen. Vielmehr basiert diese Information oft nur darauf, dass fehlende Ergebnisse (auf Grund von fehlenden Untersuchungen) mit negativen Ergebnissen gleichgesetzt werden. Es ist nicht verwunderlich, dass bis jetzt keine toxischen Wirkungen der GVP gefunden wurden, da auch nicht systematisch danach gesucht wurde. Die Empfehlung zur Ausweitung der toxikologischen Untersuchungen mit der ganzen GVP soll diese Situation verbessern. Es sollen neben der akuten Toxizität und der Allergisierung auch andere Endpunkte, wie chronische Toxizität, Kanzerogenität und Reproduktionstoxizität erfasst werden. Damit könnten auch eventuelle sekundäre, schädliche Wirkungen der Genmodifikation entdeckt werden. Die Forderung nach umfangreicher Untersuchung der GVP steht im Einklang mit den Forderungen nach einer hohen Sicherheit der GVP, wie sie z. B. im Entwurf der neuen Novel Food Verordnung oder in der neuen Freisetzungsrichtlinie festgehalten ist. Dort steht z. B., „Wichtig [...] ist, dass keine etwaigen schädlichen Auswirkungen deshalb außer Acht gelassen werden, weil deren Auftreten als unwahrscheinlich angesehen wird“. Auch der Vergleich mit der Zulassungspraxis der verwandten pflanzlichen Arzneimittel legt eine ausführliche Untersuchung der GVP nahe.

Zur umfangreicheren Überprüfung der GVP müssen allerdings noch Methoden spezifisch für Lebensmittel standardisiert werden.

Es ist eine Klarstellung erforderlich, welche toxischen Wirkungen bei Proteinen prinzipiell auftreten können. Derzeit wird zumeist davon ausgegangen, dass lediglich akut toxische und allergene Wirkungen von Bedeutung sind, was wahrscheinlich auf Annahmen und nicht auf systematische Untersuchungen basiert.

Kriterien für die Interpretation von Homologieuntersuchungen bei Proteinen mit ähnlichen Aminosäuresequenzen sollen erarbeitet werden, da die „Homologie“ teilweise sehr großzügig für Aussagen über die Toxizität von Proteinen eingesetzt wurde. Einerseits wurde die geringe Toxizität eines neuen Proteins durch eine Identität von – nur – ca. 50 % der Aminosäuresequenz mit der eines gut bekannten Proteins „gezeigt“. Andererseits wurde betont, dass selbst eine mehr als 99 prozentige Übereinstimmung der Aminosäuresequenz zu quantitativ sehr unterschiedlichen Proteinaktivitäten führen kann.

Es soll auch die Berechtigung abgeklärt werden, ob Untersuchungsergebnisse an in *E. coli* hergestellten Proteinen für in Pflanzen exprimierte Proteine übertragen werden dürfen.

Zur Durchführung einer Risikobewertung soll nicht nur die Toxizität der GVP oder ihrer Produkte ermittelt werden, sondern auch die Exposition des Menschen gegenüber der GVP, ihrer Produkte und der neuen Proteine abgeschätzt werden.

Die Aussagekraft von *in-vitro* Tests gegenüber *in-vivo* Verdauungsstudien ist zu klären, da das Scientific Committee on Plants eine Begründung dazu gab, warum *in-vivo* Untersuchungen zumindest bei Futtermitteln empfohlen werden. *In-vitro* Studien stellen aber derzeit die übliche Methode dar, um die Abbaubarkeit von Proteinen im Magen-Darmtrakt zu zeigen.

**Allergologie:** Die bisherige Vorgangsweise zur Sicherheitsbewertung des allergenen Potentials von GVP ist argumentativer Natur und schließt üblicherweise nur indirekte Untersuchungen, z. B. auf Sequenzhomologien mit bekannten Allergenen oder Verdauungsstudien mit ein. Diese Vorgangsweise ist unzureichend, um das allergene Potential eines neu eingebrachten Proteins mit hinreichender Verlässlichkeit auszuschließen, sie ist jedenfalls nicht geeignet, um mit hinreichender Sicherheit Aussagen über das allergene Potential der gesamten Pflanze zu machen. Deshalb wird vorgeschlagen, generell die gesamte GVP folgenden Untersuchungen zu unterziehen:

Erstens, eine vergleichende Testung der IgE-Reaktivität von GVP und Parentaltyp mit Seren von allergischen Patienten. Zweitens, eine vergleichende Immunisierung von Mäusen mit Extrakten der GVP und der Parentalpflanze. In letzterem Fall kann aus der IgE-Antwort das Sensibilisierungspotential auch von neuen Allergenen eingeschätzt werden

**Substanzielle Äquivalenz:** Bezüglich der Exposition wird vorgeschlagen die Expressionslevel grundsätzlich im für das jeweilige Lebensmittel verwendeten Teil des rohen Ausgangsprodukts zu bestimmen. Ferner sollten aktuelle Konsumdaten ermittelt sowie die weitere Entwicklung abgeschätzt werden. Die Verarbeitungswege sollten detailliert beschrieben und Verarbeitungsstudien zur Demonstration des Abbaus, der Entfernung oder Konzentrationsverringerung von neu eingefügter DNA bzw. der entsprechenden Proteine bzw. sowie deren Metaboliten und Abbauprodukte durchgeführt werden. Dabei sollten Hauptkomponenten, nutritive sowie toxische und antinutritive Inhaltsstoffe der wesentlichen Verarbeitungsendprodukte untersucht und mit konventionellen Varianten verglichen werden. Um allfällige negative Auswirkungen erkennen zu können, sollte auch eine Post-Marketing-Surveillance von Lebensmitteln aus GVP etabliert werden.

Die Kompositionsvergleiche mit der Ausgangs-GVP sollten umfassend sein und ergänzt werden durch im Umfang weniger aufwendige Vergleiche von ernährungsphysiologisch relevanten Parametern in den wesentlichen Zwischen- bzw. Endprodukten aus den Verarbeitungsstudien.

Das Parameterset sollte abhängig von der untersuchten Pflanze einheitlich sein und jedenfalls die Hauptkomponenten Protein, Fett, Kohlehydrate sowie Asche und Ballaststoffe enthalten. Zusätzlich sollten Stärke, lösliche Zucker, Vitamine (teilweise mit Charakterisierung, da unterschiedliche aktive Formen vorliegen können), pflanzentypische Mikrokomponenten, Antinutritiva und bekannte Toxine untersucht werden. Unabhängig von Pflanze und Anwendung sollten hingegen Aminosäuren und Fettsäuren bestimmt werden. Darüber hinaus werden auch noch weitere ernährungsphysiologisch wichtige Parameter vorgeschlagen.

Bei der Probengenerierung sollten mindestens sechs Standorte in typischen europäischen Anbauregionen und zumindest zwei Anbausaisonen berücksichtigt werden. Glashaussversuche sollten als Ergänzung und nicht als Ersatz für einen wiederholten Freilandanbau angewendet werden. Treten im Laufe einer Anbausaison z. B. untypische klimatische Verhältnisse auf, sollte eine weitere Anbausaison berücksichtigt werden. Die Probenziehungszeitpunkte sollten entsprechend den kommerziellen Gepflogenheiten für die intendierten Produkte gewählt werden, bei unterschiedlichen Reifevoraussetzungen für verschiedene Produkte sollten die Probenziehungen zum jeweiligen Zeitpunkt erfolgen. Die Bewirtschaftungspraxis sollte analog der herkömmlichen Situation erfolgen. Bei herbizidresistenten Pflanzen bedeutet dies jedenfalls die Anwendung des korrespondierenden Herbizids in der zu erwartenden Menge und Häufigkeit, bei insektenresistenten Pflanzen die Berücksichtigung eines entsprechenden Insektendrucks in der Auswahl der Standorte/Regionen. Isogene, nicht gentechnisch veränderte oder Elternpflanzen sollten unter identen Bedingungen gezogen werden. Für jeden Standort sollte die Dokumentation der Probengenerierung jedenfalls eine genaue Beschreibung von Anbaudesign, Versuchsflächengröße, Klima- und Bodenverhältnisse, Bewirtschaftungsmaßnahmen, Ausbringungs- und Probenziehungszeitpunkt beinhalten. Für eine ausreichende Protokollierung von eventuell begründeten Abweichungen von den Vorgaben ist ebenfalls Sorge zu tragen.

Lagerdauer und -bedingungen der Proben sowie die Aufbereitungsmaßnahmen und –methoden sollten dokumentiert werden. Grundsätzlich sollten nur validierte, allgemein anerkannten Methoden angewandt und eine detaillierte Beschreibung von Material und Methoden bezogen auf die jeweilige Analyse sowie Messungengenauigkeiten und Detektionslimits gegeben werden. Empfohlen wird außerdem eine Codierung der Proben, zumindest aber Doppelbestimmungen je Analyt und Probe.

Alle Rohdaten/Laborprotokolle, aussagekräftige Zusammenfassungen mit Angabe von Mittelwerten und Min-Max-Spannen sowie Einzelstandortaufstellungen sind beizulegen. Für Vergleiche ist immer dieselbe Datenbasis zu verwenden, bei jedem statistischen Vergleich sollen Methode, Software und Vertrauensgrad angegeben werden und die Auswertungsblätter sollten beigelegt werden. Bei Auftreten von signifikanten Unterschieden sollten die Versuche un-

ter Verbreiterung der Vergleichsparameter durchgeführt werden. Die Vergleiche sollten grundsätzlich zu aktuellen Spannen von modernen Hochleistungssorten geführt werden.

**Ergänzende Empfehlungen:** Eine präzisere Formulierung der Fragestellung und exaktere Planung von Tierversuchen würde die Reproduzierbarkeit und statistische Aussagekraft verbessern und könnte auch die Anzahl der Versuchstiere reduzieren. Genetische Qualität, biologischer Status und Gesundheitsstatus der Versuchstiere, Haltungssystem, Tierpflege, Versuchstechniken und Ernährung müssen dabei berücksichtigt werden.

Die Samples für die Tierversuche sollten mit denen für die Inhaltsstoffuntersuchungen identisch sein. Standorte, Anbauregionen, Erntejahr, Probenlagerung sollten dabei dokumentiert werden.

Die Futterkomponenten sollten in Vorversuchen auf die jeweilige Versuchstierspezies abgestimmt werden, die Futterrezepturen sollten auf den physiologischen Leistungsabschnitt der Versuchstiere Rücksicht nehmen.

Ein Vergleich einer Futtermischung mit GM-Zusatz ausschließlich mit einer konventionellen Standarddiät ist unzureichend. Eventuell erforderliche Verarbeitungsschritte sind für alle Diäten gleich zu halten. Verarbeitungsmethoden, die Zusammensetzung der Futtermischungen und Analysen sollten dokumentiert werden.

Bei signifikanten Unterschieden sollten die Versuche jedenfalls wiederholt werden.

Folgende Fragestellungen sollten künftig bearbeitet werden: Bei gezielt veränderten Inhaltsstoffen: Vergleiche von GVP mit isogenen Ausgangslinien hinsichtlich ihrer ernährungsphysiologischen Auswirkungen z. B. durch Verdauungsversuche; langfristige Fütterungsversuche mit den wichtigsten landwirtschaftlichen Nutztieren zur Ermittlung des Einflusses von GVP auf Tiergesundheit, Leistung und Qualität der Lebensmittel tierischer Herkunft im Vergleich zu den isogenen Ausgangslinien; Untersuchungen zum Abbau oder Verbleib von rDNA und deren Genprodukte im Tier.

Die Ergebnisse und Empfehlungen der Studie sind als Beitrag für die Weiterentwicklung der nationalen und internationalen Diskussion zur Verbesserung der Risikoabschätzung bzw. Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Pflanzen bzw. deren Produkten zu betrachten und sollen daher in die relevanten Arbeitsgruppen (EU, OECD, Codex etc.) eingebracht werden.

## EXECUTIVE SUMMARY

The assessment of toxic and allergenic risks is presently (status: July 2003) carried out in the context of EU Regulation 258/97 concerning novel foods and novel food ingredients (Novel Food Regulation). In the assessment procedure the concept of substantial equivalence plays an important role. In contrast to other regulatory contexts, however, requirements for risk assessment have not yet been put into concrete terms. Hence, the margins for the practice of risk assessment appear to be quite wide. It is only the authorization procedure, when specific requirements are put into concrete terms. This results in a time and labour intense process, dealing with every application partly as an rather isolated case. These particular circumstances are not likely to result in consistent procedures, consequently questions on a presumably different quality of risk assessment might be raised.

The objective of this study was twice fold, first to investigate the practice of risk assessment in food derived from genetically modified plants (GM food) in order to identify consistencies and inconsistencies in the assessment procedure which might be relevant to safety issues and second to make a proposal for further concretising and standardising risk assessment. In order to achieve this, five authorization dossiers according to Article 4 and seven notification dossiers according to Article 5 of the Novel Food Regulation were thoroughly analysed. As risk assessment in notifications is heavily based on the concept of substantial equivalence, the way how this concept was put into practice was analysed as well. Based on these results recommendations are concluded aiming at concretising and standardising toxicity and allergenicity assessment as well as the practice of field trials, compositional analysis and feeding studies carried out to support substantial equivalence.

From a total of twelve applications for authorization (Art. 4) and ten for notification (Art. 5) (status: September 2002) five Article 4 (maize NK 603, Bt11-sweet maize, maize 1507, maize GA21 und soybean 260-05) dossiers and seven Article 5 dossiers (rapeseed MS1RF1 und MS1RF2, rapeseed Topas 19/2, rapeseed GT73, maize T25, maize MON 809 und maize MON 810) were selected for analysis. The analysis was based on full-text dossiers including the application itself as well as the initial assessment, opinions of national competent authorities and the Scientific Committee on Food, correspondence, and supplements from the applicant.

This study is part of the project "Toxicology and Allergology of GMO Products", that also encompasses investigations on regulations and regulatory practice in the EU and the USA as well as guidelines issued by international organisations based on legal provisions, guidelines, scientific publications and secondary literature (issued as a separate volume M-164B "Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten – Teil 2B. Untersuchung von Regelungen zur Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Lebensmitteln in der EU und den USA").

### Results of analysis of the Novel Food dossiers

**General issues:** The applications for authorization according to the Novel Food Regulation are well designed, applying the Recommendation 97/618/EC. They are therefore much more concise than the applications according to Directive 90/220/EEC. The applications for authorization and the notifications are not stand-alone dossiers, as some results are only presented by citation or by short summaries. The dossiers can therefore only be evaluated in a restricted way. Some reports were only submitted after request by the authorities, although the reports were available at the time of application. A consequent allocation of the relevant statements to the references is only performed in some of the dossiers.

The quality assurance system “Good Laboratory Practice” (GLP) was applied in an appreciable number of the studies, and the frequency was higher than in the Directive 90/220/EEC dossiers investigated in a previous project.

It could not be concluded from the dossiers on herbicide tolerant GMP, if an authorization of the herbicide had been obtained before under the EU-Directive on plant protection products.

**Toxicology:** Only a few toxicological investigations were found in the applications for both authorization and the notifications. The extent of the investigations did not differ markedly from those in the Directive 90/220/EEC dossiers. An acute oral toxicity study was performed with each newly inserted protein for the applications for authorization and mostly also for the notifications. Studies to investigate further toxicological endpoints are an exception. The proteins for the toxicological investigations were generally produced in micro-organisms and not in the plant. This could raise doubts in the validity of the studies due to differences of the proteins by e. g. posttranslational modifications. Usually the homology of the new protein with known protein toxins was checked. Studies on feed conversion, which cannot be considered as toxicological investigations, were submitted for each application. Possible secondary effects of the gene insertion were disregarded in most cases.

Assumption based and not fact based reasoning was observed repeatedly in the sections on the safety assessment of the GMP.

The processing of the GMP into a food stuff or a food ingredient was only described in some cases. Also the exposure of the consumer with the GMP or the new protein was not reported for each application. The digestibility of the new protein was investigated in in vitro assays but not under in vivo conditions.

The concept of the Substantial Equivalence is the major factor of the risk assessment in the applications for authorization. Although it is claimed, that the demonstration of (partial) substantial equivalence should be used as a starting point for further risk assessment, this was, however, not the case in the dossiers. The risk assessments were not based on the toxicological hazard and on the exposure of the GMP – with the exception of one case.

**Allergology:** The absence of allergenic properties almost exclusively rests upon assumption based reasoning and indirect evidences from digestibility testing and comparative homology studies of the introduced protein to known allergens. Direct testing of potential allergenic properties of the GMP or GMP food respectively was carried out in the course of one application only. Secondary effects of genetic engineering techniques e.g. increased expression of other allergens in the GMP are not considered at all. Regarding to these findings no differences are observed between applications according to Article 4 and notifications according to Article 5.

The main way of reasoning against allergenic properties is as follows: the introduced protein (i) does not show any significant sequence homology to known allergens, (ii) is expressed in the GMP in small amounts only, (iii) will easily be digested in the gastrointestinal tract, (iv) originated from a source which is not known to be allergenic, (v) is not glycosylated, (vi) is not considered a novel protein in human nutrition. However, from the state of the art in allergy and taking into account most recent scientific evidences each of these arguments as well as their corresponding presumptions must be seriously questioned.

(i) There is no well established relationship between sequence homology and allergenic properties; (ii) several very aggressive allergens are present in the allergenic source in only small amounts; (iii) several allergens are known to be easily digestible; (iv) rather than the source of the allergen the way the allergen is presented to the immune system is important for causing allergic reactions; (v) many powerful allergens are not glycosylated; (vi) there is no well established relationship between being “not novel” to humans and negligible allergenic properties.

**Substantial equivalence:** In all notifications neither comprehensiveness and quality of data nor completeness of the dossiers is considered sufficient to justify substantial equivalence. Substantial equivalence is generally concluded on the basis of compositional analysis of plant material. This conclusions subsequently extended to all processed products. The set of compounds investigated is not deemed sufficient to properly assess equivalence of nutritional value in any of the notifications investigated. The claims are mainly based on comparisons of a varying range of macro nutrients – the particular range depends on the applicant. Micro nutrients are hardly considered and data relevant for characterising nutritional properties are not mentioned at all.

Field trails and composition analysis studies are not described in detail, and could therefore not be verified entirely. Practice of measurements, method errors, and limits of measurement are rarely specified. Sampling (year of cultivation, sites, geographic region) is highly varying and in some cases not considered adequate. Especially in the maize dossiers only samples from a single year were compared and the selection of cultivation sites did not allow for a representative geographical distribution. In general, the description of cultivation is considered incomplete, sometimes no description is given at all

Apparently, not all compositional analyses were subjected to statistical evaluation and statistical methods applied and software used are rarely specified. Only one dossier includes proper statistical examination sheets. Hence, it cannot be concluded that in each case the statistical evaluation is actually state of the art.

Processed products were only considered in the rape dossiers, though to a rather limited extent (samples and parameter). The final food products were not investigated for the presence of rDNA or the respective gene products in any of the dossiers. Especially in case of maize products cannot be assumed that either rDNA or the proteins will be completely removed or degraded after processing via dry milling, in products made of maize dough or in maize starch. Consequently, the claim of substantial equivalence for final products is not justified by experimental data in any of these dossiers.

Based upon these insufficient data and although significant and striking differences in the comparative studies substantial equivalence was claimed in all cases for plant material as well as for final food products – which was subsequently endorsed by the ACNFP.

The concept of substantial equivalence seems to be used rather as a terminal stage in risk assessment than a decision tool. Significant differences in the results of the comparative studies are striking in all cases, though, these differences were not considered sufficient evidence to repeat the analysis and to extent the set of parameters. However, this is regarded as necessary in order to properly justify the claim of substantial equivalence and to ensure that these differences are not caused by secondary effects.

In general the procedures applied in the dossiers do not deem to ensure a sufficient degree of product safety and to properly assess the nutritional properties.

**Supplementary investigations:** All applications according to Article 4 referred to partial substantial equivalence. In compositional analysis a broader set of parameters was determined compared to notification dossiers, especially with respect to anti-nutrients, minerals, and vitamins. Description of cultivation (crop management measures, experimental design of the field trials, sampling, storage of samples) was sparse – similar to the notification dossiers according to Article 5. The number of sites and replicates varies between the application dossiers. In none of the applications the whole set of parameters was determined for two successive seasons.

Macro nutrients were determined in each, micro nutrients, vitamins and minerals in most of the application dossiers. Comparative studies frequently referred to older literature.

Presentation of data ranges from raw data to graphical representation as diagrams – without any further data. Significant differences occurring in only one or two parameters are not considered as relevant by the applicants. Hence, analysis was not repeated – similar to the notification dossiers. Partially, no information was given on the statistical analysis applied.

Application dossiers include at least one animal study, whereas only half of the notification dossiers include information on animal studies. The objectives of the animal studies carried out in trouts, rats, quails, broiler chicken, rabbits, pigs, and cattle were to investigate feed conversion and weight gain. The results of these feeding studies were sometimes explicitly used in justifying substantial equivalence. In most cases, raw data are not enclosed in the dossiers. Animal studies were carried out up to 90 days in case of applications. At least in one of the comparative animal studies significant differences detected did not trigger further investigations.

## Recommendations

Based upon the analysis of the Novel Food dossiers, especially on the unearthed differences in risk assessment practice between the dossiers, on analogies to other regulatory contexts, and considering most recent scientific evidences a set of recommendations are concluded. These recommendations should contribute to further concretisation and standardisation of risk assessment. Detailed reasoning and justification is given in the text.

**General recommendations:** Dossiers should generally be stand-alone, including all referenced reports and publications. All reports available at the time of applications should be included, to avoid preselection of studies by the applicant. Suggestions to reduce assumption based reasoning are presented. E. g. it should be imperative to supply each relevant statement with a reference.

Chapters on toxicity, allergenicity and exposure as well as the risk assessment should be kept clearly separated. An extra chapter should be reserved for substantial equivalence, given the key role of the risk assessment. Based on the Recommendation 97/618/EEC further recommendations on the structure and format are issued in order to facilitate the evaluation of the dossiers.

In case of herbicide and insecticide tolerant GMPs the status of the authorization procedures according to EU plant protection product Directive should be specified.

The fact that data are published even in peer reviewed journals does not replace GLP. GLP ensures that published data actually reflect the raw data. Therefore, testing with relevance to safety should be performed in compliance with GLP – including field trials.

**Toxicology:** The information by some of the applicants on lacking toxic effects of the GMP is not the result of extensive toxicity studies, but is mostly an opinion arising from lack of data due to missing studies. If no relevant studies are performed, then there is no chance of detecting a possible e. g. chronic toxicity of the GMP. It is therefore recommended to enlarge the scope of the toxicological investigations on the whole GMP, to cover also other endpoints apart from acute toxicity and sensitisation, e. g. to investigate chronic toxicity, carcinogenicity or reproductive toxicity. Possible secondary effects could be detected by this procedure. The recommendation for extended testing is also in agreement with the requirement for high safety of GMPs, laid down in the recent draft of the Novel Food Regulation and the new EU-Directive on the release of GMOs, where it is states i. a., that *“It is important not to discount any potential adverse effect on the basis that it is unlikely to occur”*. Also a comparison with the regulations of the comparable herbal medicines, make it advisable to require more toxicological investigations to demonstrate the acceptability of GMPs.

A prerequisite for the performance of a broader range of toxicological investigations with the GMP is the standardisation of toxicological methods for application to plants and food.

It should be clarified, which types of toxicity could occur after ingestion of proteins. The applicants present the acute toxicity as the only conceivable toxic effect ever noticed with any proteins, apart from sensitisation. Again, this is an opinion not endorsed by systematic investigations, but an opinion that possibly emerged from no reported toxicities as a consequence of missing studies. “Lacking” toxicity data might have been impermissibly converted to “negative” results.

Whereas one applicant used an identity of the amino acid sequence with a well known protein of only ca. 50 % as a “proof” for the low toxicity of the new protein another applicant stressed, that even with an identity of greater than 99 % quantitatively quite different activities of the proteins were obtained. This raises doubts on the validity of the concept of homology of proteins in the evaluation of their toxicity. It is therefore recommended to investigate and clarify the scientific justification of statements on the low toxicity, which are based on homology of proteins. As a consequence, it should also be investigated if proteins that are produced in micro-organisms for toxicity testing, and which are considered to be homologous to proteins expressed in GMPs, as it is common practice, are reliable surrogates.

It is recommended to evaluate the risk of the GMP or its products on the basis of both the toxic hazard and the estimated exposure of the consumer, as it is performed with products, that are otherwise regulated,.

The relevance of in vitro digestibility studies with the new protein should be clarified, as there is a recommendation of the Scientific Committee on Plants to perform in vivo studies for newly expressed proteins in feed. However, in vitro digestibility studies were recognised in the dossiers as common practice.

**Allergology:** So far, assessment of allergenic properties of GMPs is largely based on assumption based reasoning and indirect testing e. g. homology studies to known allergens and digestibility studies. This approach is considered insufficient to properly assess the allergenic properties of a introduced protein. Moreover, no predictions can be made on the allergenic properties of the whole GMP. Therefore, the whole GMP should generally be subjected to a two-step testing approach:

Firstly, a comparative studies of IgE reactivity of the GMP and the parental line should be carried out using sera of allergic patients. Secondly, comparative immunisation studies of the GMP and parental plant should be carried out in mice. In the latter case the IgE response might provide an indication for the sensitising properties even of new allergens.

**Substantial equivalence:** In order to provide data for the estimation of exposure the expression of the introduced genes should be measured in the particular part of the unprocessed plant that will be used in commercial manufacturing. Recent data on consumption should be compiled and further trends in consumption should be estimated. Processing should be described in detail and studies on plant and food processing should be carried out in order to ensure degradation, removal or decrease in concentration of rDNA and their corresponding proteins as well as metabolites. The most important final products of the manufacturing process should be analysed in comparison to conventional products for major compounds including nutrients, toxins and anti-nutrients. In order to detect any negative impacts a post-marketing surveillance should be established for GM food.

Compositional comparisons should be carried out extensively and should be complemented by less extensive comparisons on the most relevant intermediate and final products compounds of nutritional importance. The latter of which could be derived from the studies on plant and food processing.

Analysis should be carried out on a uniform set of plant-specific compounds and should include major compounds such as protein, fat, carbon hydrates, ash and roughage in any case. Furthermore, starch soluble sugars, vitamins (due to the fact that forms present could be of different activity characterisation should be included), plant-specific micro components, anti-nutrients, and known toxins should be analysed. Independent of the particular plant and the particular application amino acids and fatty acids should be analysed. Furthermore, additional parameters of nutritional significance are suggested.

Sampling should be carried out on at least six different cultivation sites located in typical geographical regions relevant for commercial cultivation and at least two seasons should be considered. Greenhouse trials should only be considered as supplements but not as a substitute for field trials. In the event of non-typical climate conditions, an additional season should be considered. Times of sampling should correspond to the usual time of harvesting of commercially cultivated crops. If different maturity stages are demanded for different products sampling should be carried out accordingly. Cultivation practice should correspond to the usual procedures of commercial cultivation. This will include the application of the herbicide in case of herbicide tolerant crops – in appropriate amounts and frequency. In case of insect resistant crops an appropriate infestation rate should be considered when selecting the particular sites/regions. Sampling should be described in detail for each site including design of the field trial, size of sample plot, climate and soil conditions, crop management, sowing time and time of sampling. Any deviations from the standard procedure should be justified and described in detail.

Conditions and length of storage of samples as well as sample preparation and methods used in sample preparation should be described. In general only validated and generally recognised methods should be applied and a detailed description of material and methods should be provided for each analysis. Measuring errors and limits of measurement should be specified. It is recommended to use coded samples, at least the analysis should be carried out in duplicate for each particular sample and investigated parameter as well.

Raw data/lab journals, sound summaries including mean and range as well as data for each single site should be provided. In the course of comparative studies the same reference values should be applied. In every single case of statistical evaluation the statistical method applied, the software used and the confidence interval should be specified. In case significant differences are detected the comparative analysis should be repeated and the set of parameter should be extended. Reference values for comparative studies should be based on modern high-yielding varieties.

**Supplementary recommendations (for animal studies):** In order to improve reproducibility and statistical validity the initial and guiding question of the animal studies should be formulated more precisely and the animal studies should be planned more carefully. This would also help to reduce the number of test animals needed. Genetic quality, biological status and health status of test animals as well as the approach of animal husbandry, animal care, methods applied, and animal nutrition should be considered as well.

Samples used in feeding studies should be identical to those used in compositional analysis. Sites, geographical regions, year of harvesting, and storage of samples should be described. Feed ingredients should be adjusted to the particular animal species and to the particular physiological performance status of the animals.

A mere comparison of a GM feed-stuff to a conventional diet is not considered sufficient. Any processing of feed-stuff has to be carried out in identical manner with all diets. Methods used in processing should be described as well as the composition of feed stuff and analysis carried out. If significant differences occur the tests should be repeated.

Questions to be answered in future submissions: in case of deliberately modified plant ingredients: comparative studies of the GMP to isogenic parental lines with respect to nutri-

tional impacts e. g. by carrying out animal digestibility studies. Long term comparative feeding studies should be carried out including the most important farm animals to provide an estimate of animal health impacts, impacts on animal performance, and quality of food derived from animals. Furthermore, the degradation or fate of rDNA and their derived gene products should be investigated.

The results and recommendations of this study are intended to contribute to national and international discussion on the improvement of risk assessment of GMP and products derived therefrom. Consequently, these results and recommendations should be introduced into the relevant working groups of e. g. the European Commission, OECD, Codex, Codex.