

TOXIKOLOGIE UND ALLERGOLOGIE VON GVO-PRODUKTEN

**Empfehlungen zur Standardisierung der
Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten
Pflanzen auf Basis der Richtlinie 90/220/EWG (2001/18/EG)**

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

MONOGRAPHIEN
Band 109
M-109

Wien, 2002

Projektleitung

Helmut Gaugitsch, Umweltbundesamt Wien

Projektkoordination

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

Autoren

Armin Spök, IFZ Graz

Heinz Hofer, ARC research Seibersdorf GmbH

Rudolf Valenta, Universität Wien, AKH

Karin Kienzl-Plochberger, Wien

Petra Lehner, Wien

Helmut Gaugitsch, Umweltbundesamt Wien

Satz/Layout

Elisabeth Lössl, Umweltbundesamt Wien

Tina Stadler, IFZ Graz

Titelphoto

Maispflanze und Maisprodukt (B. Gröger)

Danksagung

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

Impressum

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

Druck: Riegelnik, A-1080 Wien

© Umweltbundesamt GmbH, Wien, 2002
Alle Rechte vorbehalten (all rights reserved)
ISBN 3-85457-465-7

INHALT

	Seite
INHALT	3
ZUSAMMENFASSUNG	7
EXECUTIVE SUMMARY	13
1 EINLEITUNG	19
1.1 Motivation und Problemstellung.....	19
1.2 Projektrahmen und Vorgehensweise	20
2 RELEVANTE GESETZLICHE REGELUNGEN	24
2.1 Gentechnikspezifische Regelungen	24
2.1.1 Die Richtlinie 90/220/EWG	25
2.1.2 Die Richtlinie 2001/18/EG	31
2.1.3 Entwurf für eine Verordnung zu genetisch veränderten Lebens- und Futtermitteln ..	35
2.1.4 Entwurf für eine Saatgutregelung.....	36
2.1.5 Zusammenwirken von horizontalen und sektoralen Regelungen	36
2.1.6 Zusammenfassung und Diskussion	39
2.2 Nicht gentechnik-spezifische Regelungen	42
2.2.1 Futtermittel.....	42
2.2.2 Saatgut, Pflanzgut, Sorten	46
2.2.3 Zusammenspiel von gentechnikspezifischen und nicht-gentechnikspezifischen Regelungen	50
2.2.4 Zusammenfassung	51
3 UNTERSUCHUNGEN DER ANTRAGSUNTERLAGEN	53
3.1 Auswahl der Antragsunterlagen	53
3.2 Vorgangsweise bei der Untersuchung der Antragsunterlagen	54
4 VERGLEICH UND BEWERTUNG DER PRODUKTANTRÄGE	57
4.1 Einleitung	57
4.2 Toxikologische Aspekte	57
4.2.1 Struktur und spezifische Informationen.....	57
4.2.2 Durchgeführte experimentelle Untersuchungen	59
4.2.3 Toxische Wirkungen gegliedert nach dem Expositionsraster	61
4.2.4 Argumentationsführung zur toxikologischen Akzeptanz	62
4.2.5 Sicherheitsbewertung durch die Behörde.....	65

4.2.6	Stellungnahme zu den Anträgen	65
4.2.7	Beurteilung nach den Maßstäben der neuen Richtlinie 2001/18/EG	65
4.3	Allergologische Aspekte	66
4.3.1	Vorgangsweise der Antragsteller	66
4.3.2	Kernpunkte der Argumentationsführung im Hinblick auf allergene Eigenschaften	67
4.4	Substanzielle Äquivalenz	68
4.4.1	Ausführlichkeit von ernährungsspezifischen Daten	69
4.4.2	Kompositionsvergleiche – Substanzielle Äquivalenz	70
4.4.3	Ernährungswissenschaftliche Überlegungen	72
4.4.4	Sonstiges	72
4.5	Zusammenfassung	73
5	EMPFEHLUNGEN ZUR STANDARDISIERUNG DER TOXIKOLOGISCHEN UND ALLERGOLOGISCHEN SICHERHEITSBEWERTUNG	75
5.1	Allgemeines	75
5.2	Vorüberlegungen zur Standardisierung der Bewertung	75
5.2.1	Umfang der erforderlichen toxikologischen Prüfungen von GVP	75
5.2.2	Expositionsabhängiger Prüfumfang	78
5.2.3	Problematik experimenteller Toxizitätsstudien mit GVP	79
5.2.4	Toxizitätsprüfung an Proteinen	81
5.2.5	Qualitätssicherung	82
5.2.6	Vorschläge von Seiten der Scientific Committees	82
5.3	Allgemeine Empfehlungen zur Sicherheitsbewertung	83
5.3.1	Gestaltung der Anträge	83
5.3.2	Inhalt der Anträge	84
5.3.3	Qualitätssicherungssystem	85
5.3.4	Bewertungen der Behörde	85
5.4	Empfehlungen zur toxikologischen Sicherheitsbewertung	85
5.4.1	Umfang der toxikologischen Untersuchungen	85
5.4.2	Untersuchungsmethoden	86
5.4.3	Inhalt der Anträge	87
5.4.4	Gestaltung der Anträge	88
5.4.5	Darstellung von offenen Fragen	88
5.5	Empfehlungen zur allergologischen Sicherheitsbewertung	89
5.5.1	Allgemeine Betrachtungen	89
5.5.2	Vorschlag zur Evaluation	89
5.5.3	Offene Fragen	90
5.6	Substanzielle Äquivalenz	90
5.6.1	Anbauversuche	90
5.6.2	Inhaltsstoffanalysen	91
5.7	Zusammenfassung	92

6	LITERATUR	95
7	MITARBEITER UND MITARBEITERINNEN	102
8	VERZEICHNIS DER GUTACHTEN UND KOMMENTARE	103
8.1	Gutachten	103
8.2	Kommentare	103
9	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	104
10	ANHANG	105
10.1	Gesichtete Rechtsvorschriften in der EU und in Österreich im Bereich der Futtermittel	105
10.2	Gesichtete Rechtsvorschriften in der EU und in Österreich im Saatgut-, Pflanzgut- und Sortenbereich	106
10.3	Übersicht der Gentechnikprodukte nach Richtlinie 90/220/EWG	107
10.4	Verzeichnis der untersuchten Antragsunterlagen	110
10.4.1	Baumwolle Linie 531	110
10.4.2	Baumwolle Linie 1445	113
10.4.3	Futtermübe Linie A5/15	117
10.4.4	Mais Bt11 – Notification No. C/GB/96/M4/1	120
10.4.5	Mais Bt11 – Notification No. C/F/96/05-10	123
10.4.6	Mais Linie GA21 – Notification No. C/GB/97/M3/2	125
10.4.7	Mais Linie GA21 – Notification No. C/ES/98/01	126
10.4.8	Nelken Linie 66	127
10.4.9	Nelken Linien 959A, 988A, 1226A, 1351A, 1363A	128
10.4.10	Kartoffel Linie EH92-527-1	128
10.4.11	Raps – Linie HCN92	130
10.5	Untersuchungen der Antragsunterlagen	136
10.5.1	Erläuterung der tabellarischen Zusammenstellung	136
10.5.2	Ergebnisse der Untersuchungen der Antragsunterlagen	138
10.6	Tabellen	210
10.7	Abbildungen	214

ZUSAMMENFASSUNG

Das Erreichen bzw. Einhalten eines hohen Sicherheitsstandards für genetisch veränderte Organismen (GVO) bzw. davon abgeleitete Produkte bildet eine wichtige Grundlage für die Realisierung des innovatorischen und wirtschaftlichen Potentials dieser Technologie.

Die toxikologische und allergologische Sicherheitsbewertung wird derzeit im Rahmen der Richtlinie 90/220/EWG, ab Oktober 2002 Richtlinie 2001/18/EG, durchgeführt. Die vom Antragsteller für eine Genehmigung zu erbringenden toxikologischen und allergologischen Informationen sind jedoch nicht näher definiert, wodurch weite Interpretationsspielräume für die Praxis der Sicherheitsbewertung entstehen.

Im Rahmen des vorliegenden Projektes wurden die Erfordernisse des regulatorischen Kontextes an eine toxikologische und allergologische Sicherheitsbewertung von genetisch veränderten Pflanzen (GVP) und davon abgeleiteten Produkten näher untersucht. Daran anschließend wurde die toxikologische und allergologische Sicherheitsbewertung in elf Anträgen für das Inverkehrbringen von genetisch veränderten Pflanzen (GVP) bzw. deren Produkten nach der Richtlinie 90/220/EWG gesichtet, um die Praxis der Sicherheitsbewertung generell und die unterschiedliche Ausführung in den einzelnen Anträgen speziell zu untersuchen. Weil in den Anträgen oftmals auf die Feststellung von Substanzieller Äquivalenz Bezug genommen wurde, wurde die Handhabung dieses Konzepts ebenfalls ergänzend untersucht. Darauf aufbauend wurden dann Vorschläge zur Konkretisierung und Standardisierung der Sicherheitsbewertung in toxikologischer und allergologischer Hinsicht sowie zu Anbauversuchen und Inhaltsstoffanalysen im Zusammenhang mit dem Konzept der Substanziellen Äquivalenz ausgearbeitet.

Rechtliche Rahmenbedingungen

Der Schutz der Umwelt und der menschlichen und tierischen Gesundheit im Zusammenhang mit Produkten, die GVO enthalten oder aus solchen bestehen, wird in der EU im wesentlichen durch die horizontale Richtlinie 90/220/EWG bzw. 2001/18/EG geregelt. Diese Richtlinie bezieht sich auf das Inverkehrbringen von GVO-Produkten in Form von Import, Anbau, Saatguterzeugung, Futtermittelherstellung sowie Handhabung, Weiterverarbeitung und Lagerung. Die darin spezifizierten Regelungen sehen ein Genehmigungsverfahren vor, das vor dem Inverkehrbringen derartiger Produkte positiv abgeschlossen sein muss. Diesem Genehmigungsverfahren muss eine Umweltverträglichkeitsprüfung zugrunde liegen, in deren Rahmen die Unbedenklichkeit des Produktes untersucht werden soll. Toxikologische und allergologische Aspekte dieser Prüfungen sind in den Texten der Richtlinien zwar erwähnt aber nicht näher spezifiziert. Im Fall der Richtlinie 90/220/EWG betrifft dies mögliche toxische Effekte auf Mensch und Umwelt ausgehend von Empfänger- und ev. Elternpflanzen sowie solche Effekte, die durch die genetische Veränderung hervorgerufen worden sind. Erläuternde und präzisierende Texte existieren bisher nur zur Richtlinie 90/220/EWG. Darin wird weiter spezifiziert, dass bei allergenen Auswirkungen Wirbeltiere einschließlich des Menschen sowie bei toxischen Wirkungen alle Organismengruppen beachtet werden sollen. Anmelder müssen ferner Daten über die Toxizität und Allergenität der Spender-, Empfängerorganismen, der GVO selbst bzw. deren Stoffwechselprodukte zur Verfügung stellen. Insgesamt bleiben jedoch die Erfordernisse für die toxikologische Sicherheitsbewertung in den Gesetzestexten und weiteren verbindlichen Dokumenten weitestgehend unbestimmt.

Empfehlungen des Scientific Committee on Plants konkretisieren weitere Aspekte: auf welcher Ebene toxikologisch untersucht werden soll (Zielprotein, gesamte GVP oder entsprechende Teile), was bei der Probenaufbereitung zu beachten ist (unter Herbizideinwirkung bei herbizid-

resistenten GVP, Nachweis der Äquivalenz von Zielproteinen, die aus Prokaryoten hergestellt wurden) und was bei Expositionsüberlegungen zu beachten ist (Empfehlungen bezüglich Organismengruppen, Berücksichtigung der Expression in den verschiedenen Pflanzenteilen). Zudem wird bezüglich Futtermittel betont, dass beim Vorliegen von Inhaltsstoffveränderungen, die auf die genetische Veränderung der Pflanze zurückgeführt werden können, toxikologische Untersuchungen von Veränderungen wichtiger Nährstoffe und bekannter Toxine erforderlich sind.

Gegenüber der Richtlinie 90/220/EWG werden toxische und allergene Aspekte in der neuen Richtlinie 2001/18/EG bereits im Text der Richtlinie deutlicher hervorgehoben und insbesondere auf etwaige toxische und allergene Auswirkungen auf die Tiergesundheit Wert gelegt, falls die Verwendung als Futtermittel beabsichtigt ist. Eine wesentliche Änderung gegenüber der Richtlinie 90/220/EWG ist in diesem Zusammenhang, dass sofortige und spätere, direkte und indirekte (auch kumulative) Auswirkungen Beachtung finden sollen, wobei auch mögliche aber unwahrscheinliche Auswirkungen berücksichtigt werden sollen. Die Konsequenzen dieser Formulierungen für die Erfordernisse der toxikologischen und allergologischen Sicherheitsbewertung im Rahmen der Umweltverträglichkeitsprüfung können mangels Vorliegen interpretierender oder konkretisierender Dokumente nur vermutet werden, z. B. in Richtung Langzeittoxizitätstest statt Untersuchungen der akuten Toxizität. Toxische Wirkungen beziehen sich hierbei auf Mensch, Tier und Nicht-Ziel-Organismen. Eine Betrachtung von indirekten Auswirkungen, die möglich, aber eventuell unwahrscheinlich sind, erweitert den Interpretationsspielraum für mögliche toxische Effekte erheblich, z. B. könnten damit Effekte über die Nahrungskette, nach Gentransfer auf andere Organismen, bei genetischer Instabilität etc. mit eingeschlossen werden. In diesem Zusammenhang sind jedenfalls noch wesentliche Konkretisierungen erforderlich.

Futtermittel sollen – nach dem vorliegenden Vorschlag der Kommission für eine Verordnung zu genetisch veränderten Lebens- und Futtermitteln – künftig gemeinsam mit Lebensmitteln in einer eigenen Verordnung geregelt werden. Diese Verordnung liegt zwar bereits als Entwurf vor, berührt aber nicht toxikologische oder allergologische Aspekte. Für Saatgut soll erst ein Entwurf vorgelegt werden. Bis zum Inkrafttreten von derartigen sektoralen Regelungen gilt für GVO-Futtermittel und -Saatgut die horizontale Richtlinie 90/220/EWG bzw. Richtlinie 2001/18/EG.

Das Zusammenspiel von horizontalen und sektoralen Regelungen ist – sofern es überhaupt spezifiziert ist – eher auf einer formalen Ebene geregelt: Allfällige toxikologische Wirkungen auf Menschen, Tiere und Umwelt werden auf der Ebene Import, Anbau, Saatgut, Verarbeitung, Futtermittel im Rahmen der horizontalen Regelungen 90/220/EWG bzw. 2001/18/EG überprüft, wenn diese Produkte nicht auch auf eine Anwendung als Lebensmittel oder Lebensmittelzutat abzielen. In letzterem Fall obliegt es dem Antragsteller, ob die Prüfungen im Rahmen der Richtlinie 90/220/EWG oder der Novel Food Verordnung stattfinden. Toxikologische oder allergologische Prüfungen von Produkten, die nur als Lebensmittel oder Lebensmittelzutat zugelassen werden sollen, sind im Bezug auf die menschliche Gesundheit und das Inverkehrbringen als Lebensmittel ausschließlich nach der Novel Food Verordnung zu prüfen. Auf konkrete Untersuchungserfordernisse und Detailfragen, wie z. B. nach der Abgrenzung der Erfordernisse der humantoxikologischen Sicherheitsbewertung für GVP-Produkte zwischen der Richtlinie 90/220/EWG bzw. Richtlinie 2001/18/EG und der Novel Food Verordnung wird dabei nicht eingegangen.

Der Schutz der Umwelt und der menschlichen und tierischen Gesundheit im Bezug auf die oben genannten Produkte ist auch ein Regelungsziel in nicht-gentechnikspezifischen sektoralen EU-Regelungen, speziell in den Bereichen Futtermittel und Saatgut. Toxikologische und allergologische Anforderungen an Futtermittelprodukte aus GVP werden allerdings derzeit (bis zum Inkrafttreten der Verordnung für Futtermittel aus GVO) nahezu ausschließlich im Rahmen der Richtlinie 90/220/EWG bzw. 2001/18/EG gestellt. Bei Saatgut aus GVP werden im Rahmen der Sortenzulassung und mit Ausnahme einer eventuellen Berücksichtigung des Gehalts an bekannten Toxinen im Rahmen der Wertprüfung, keine weiteren Anforderungen an die toxikologische Sicherheit gestellt.

Ergebnisse der Untersuchung der Antragsunterlagen

Aus 28 derzeit im Genehmigungsverfahren befindlichen bzw. bereits genehmigten Anträgen auf Inverkehrbringen von genetisch veränderten Pflanzen wurden elf Anträge ausgewählt: Anträge auf Anbau und zur Verwendung als Futtermittel (RR-Futterrübe A5/15, Kartoffel EH92-527-1, Bt-Baumwolle 531, RR-Baumwolle 1445), „Doppelanträge“ (1. Antrag auf Import, 2. Antrag auf Anbau: Mais Bt11, RR-Mais GA21), ein Antrag auf Anbau, als Lebensmittel und Futtermittel (Raps Topas 19/2), Anträge für Zierpflanzen (nur anbaurelevant: Nelke 66, Nelke 959A etc.). Neben den eigentlichen Anträgen wurden auch Korrespondenzen, Nachreichungen und Stellungnahmen von zuständigen Behörden, des Scientific Committee on Plants sowie die entsprechenden Entscheidungen der Europäischen Kommission berücksichtigt.

Toxikologie: Die Toxikologieteile der Anträge sind generell ziemlich kurz gefasst. Unterschiede im beabsichtigten Verwendungszweck der GVP wirken sich nicht wesentlich auf den Umfang aus. Ein größerer Teil der Untersuchungsergebnisse ist nur in Form von Literaturhinweisen oder Kurzfassungen enthalten und kann deshalb nicht nachvollzogen und beurteilt werden. Die Referenzierung innerhalb der Anträge ist mangelhaft. Zusammengehörige Aussagen sind teilweise über den jeweiligen Antrag verstreut.

Experimentelle toxikologische Untersuchungen sind nur sporadisch durchgeführt worden, am ehesten im Falle von Bt-Pflanzen zum Bt-Toxin, das bereits in einigen Ländern als Insektizid zugelassen wurde. Daten zur Toxizität der ganzen transgenen Pflanze oder ihrer Produkte sind experimentell in keinem Fall ermittelt worden. Die toxikologische Akzeptanz der transgenen Pflanze wird vor allem durch drei Argumente belegt: Geringe Toxizität des Genprodukts, substantielle Äquivalenz der transgenen Pflanze mit ihrer Elternpflanze und geringe Exposition. Auf mögliche toxikologierelevante Wirkungen der Geninsertion wird in keinem Fall eingegangen.

Die Untersuchungen sind zumeist nicht unter Einhaltung des Qualitätssicherungssystems der Guten Laborpraxis durchgeführt worden.

Es werden sehr häufig annahmenbasierte Argumente als Beleg für die Unbedenklichkeit der transgenen Pflanze angeführt, wobei die Annahmen ein weites Spektrum im Bezug auf die fachliche Nachvollziehbarkeit umfassen. Systematisch aufgebaute Risikobewertungen, die von der Bewertung des Gefahrenpotentials der transgenen Pflanze einerseits und der Exposition andererseits ausgehen, fehlen.

Allergologie: Die direkte Überprüfung der potentiell allergenen Eigenschaften der GVP bzw. der GVP-Produkte wurde in keinem der Anträge durch Experimente unterstützt. Das Fehlen eines allergenen Potentials wird ausschließlich argumentativ oder indirekt durch Verdauungstests und Sequenzhomologieuntersuchungen begründet. Bei der Sichtung der Unterlagen fielen zudem belegende Zitate auf, die sich bei näherer Betrachtung als inhaltlich falsch, oder als nicht mehr aktuell herausgestellt haben, oder den Verdacht auf selektives Zitieren aufkommen ließen. Die Hauptargumentationslinien sind folgende: das 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 glykosyliert 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 aufgrund von z. T. neueren empirischen Daten in Zweifel gezogen werden. Sekundäre Effekte der genetischen Veränderung, etwa die verstärkte Ausprägung von anderen Allergenen in der GVP, werden zudem überhaupt nicht erwogen. Eine Sicherheitsbewertung, die sich ausschließlich an der genannten Vorgangsweise orientiert, erscheint jedenfalls als unzulänglich.

Substanzielle Äquivalenz: In jedem Antrag, mit Ausnahme der Nelken, sind Inhaltsstoffanalysen und -vergleiche dokumentiert, ein Zusammenhang der Ausführlichkeit dieser Vergleiche mit den intendierten Verwendungszwecken lässt sich nicht feststellen. Im Wesentlichen beschränken sich die Kompositionsanalysen auf Makrokomponenten und bekannte pflanzen-spezifische Antinutritiva bzw. toxische Inhaltsstoffe.

In jedem Antrag wird die Feststellung der Substanziellen Äquivalenz als wesentliches Argument für die Sicherheit der jeweiligen Pflanze angeführt. Die jeweils gewählten Parameter sind aber in allen Fällen nicht umfassend genug, um die postulierte wesentliche Gleichwertigkeit tatsächlich valide zu untermauern und/oder mögliche Sekundäreffekte verlässlich aufzuspüren. Signifikante Unterschiede, die in jedem Antrag – zumindest bei Einzelvergleichen – auftreten, führen nicht zu einer Wiederholung der Versuche mit einer Verbreiterung der Parameter, um die Feststellung der Substanziellen Äquivalenz abzusichern, sondern werden nur argumentativ (z. B. unter Verweis auf natürliche Schwankungsbreiten, Rückkreuzungseffekte, Klimaverhältnisse) behandelt.

Detaillierte Anbau- und Versuchsbeschreibungen, Einzelauswertungsblätter, Angaben zur Probenlagerung und -aufbereitung und detaillierte Analysedaten fehlen großteils. Die Dokumentation ist daher oftmals für eine Verifizierung der festgestellten Substanziellen Äquivalenz nicht ausreichend. Bei den herbizidresistenten Pflanzen ist meist unklar, ob bei den Vergleichen die relevanten Herbizide appliziert wurden.

Aufgrund des durchwegs gewählten Vergleichs von Mittelwerten verschiedener Standorte ergibt sich eine nicht unbeachtliche Streubreite der jeweiligen Analysewerte, durch welche mögliche – z. B. durch den Einbau eines Gens entstandene – Zusammensetzungsverschiebungen oder Stoffwechseleränderungen nicht mehr erkannt werden (können).

Ernährungswissenschaftliche Überlegungen generell und speziell im Zusammenhang mit der Substanziellen Äquivalenz (z. B. Vitaminprofile, Ballaststoffcharakterisierung, Eiweißtypisierung etc.) spielen in keinem Antrag eine Rolle und werden in den Kompositionsvergleichen nur vereinzelt berücksichtigt.

In keinem Antrag wurde zudem die Zusammensetzung von Lebensmitteln berücksichtigt, die von Tieren stammen, die mit genetisch veränderten Futtermitteln gefüttert werden, obwohl eine Verwendung als Futtermittel in den meisten Anträgen vorgesehen ist.

Empfehlungen zur Standardisierung

Aufbauend auf den Untersuchungen der Antragsunterlagen werden eine Reihe von allgemeinen Standardisierungsvorschlägen vorgelegt, die sich an der Praxis der Zulassung von anderen Produkten orientieren, um die Anträge besser bearbeiten und um die Vollständigkeit und Akzeptanz der einzelnen Untersuchungen systematischer beurteilen zu können (z. B. formaler Aufbau, thematische Gliederung, Referenzierung, Darstellung von Untersuchungsergebnissen). Generell sollten Anträge als "stand-alone" Dossiers ausgeführt werden. Im Fall von Bt- oder herbizidresistenten Pflanzen sollten auch Zulassungen des Bt-Toxins bzw. des Herbizids als Pflanzenschutzmittel vorliegen. Alle sicherheitsrelevanten Untersuchungen sollten unter Einhaltung von Guter Laborpraxis (GLP) durchgeführt werden.

Toxikologie: Der Umfang der toxikologischen und ökotoxikologischen Prüfung der gentechnisch eingefügten Genprodukte sollte aus toxikologischer Sicht wesentlich erweitert werden, um nicht nur akute, sondern auch subchronische, mutagene, reproduktionstoxische und ökotoxische Wirkungen erfassen zu können. Darüber hinaus sollten die gesamte transgene Pflanze und ihre Produkte umfassend toxikologisch untersucht werden, um eventuell auftretende sekundäre Wirkungen der genetischen Veränderung miterfassen zu können. Allerdings fehlen dazu noch standardisierte toxikologische Untersuchungsmethoden. Diese sollten erarbeitet werden.

Es sollte ein toxikologischer Grunddatensatz für jede transgene Pflanze erarbeitet werden. Je nach der Anwendung der Pflanze und des Ausmaßes der Exposition sollten eventuell weiterführende Untersuchungen vorgenommen werden.

Allergologie: Die bisherige Vorgangsweise zur Sicherheitsbewertung des allergologischen Potentials von GVP ist argumentativer Natur und schließt bestenfalls indirekte Untersuchungen wie z. B. auf Sequenzhomologien mit bekannten Allergenen oder Verdauungsstudien mit ein. Diese Vorgangsweise ist als unzureichend zu betrachten und jedenfalls um weitere Methoden zu ergänzen. Dazu wird folgende Untersuchungsstrategie vorgeschlagen: Auf der Ebene des Genproduktes könnte die immunogene Wirkung durch vergleichende Immunisierung mit einem bekannten Pflanzenallergen und Bestimmung der Ig (Immunglobulin) E-Antikörperproduktion bestimmt und ferner das Protein auf IgE-Reaktivität mit einem Spektrum von Seren von Pflanzenallergikern agegetestet werden.

Eine Analyse des Proteins allein ist jedoch unzureichend, weil komplexe Veränderungen im Organismus nicht vorhergesagt werden können. Auf der Ebene der GVP muss mit der konventionell gezüchteten Elternpflanze verglichen werden: Vorgeschlagen wird eine vergleichende Bestimmung der immunogenen Wirkung von Pflanzenextrakten aus Elternpflanze und transgener Pflanze. Ferner sollen Untersuchungen von Gesamtpflanzenextrakten aus Elternpflanzen und transgener Pflanze mit einer definierten Palette von Seren von Pflanzenallergikern durchgeführt werden. Dieser Test untersucht, inwieweit bereits sensibilisierte Allergiker mit dem neuen Produkt reagieren. Um das allergene Potential der genetisch veränderten Pflanze mit der Elternpflanze zu vergleichen, können Mäuse mit Extrakten aus beiden Pflanzen immunisiert werden und die Höhe der mit jedem Extrakt induzierten IgE-Spiegel verglichen werden. Durch letzteren Test kann abgeschätzt werden, wie groß das Risiko ist, dass es zu einer neuen Sensibilisierung in einer noch nicht sensibilisierten Population kommt.

Substanzielle Äquivalenz: Für die Anbauversuche und Inhaltsstoffanalysen im Rahmen der Untersuchungen zur Feststellung der Substanziellen Äquivalenz werden folgende Empfehlungen gegeben:

Für einen Sortenvergleich ist es z. B. notwendig, alle den Versuch beeinflussenden Faktoren wie Düngung, Bodenbearbeitung, Pflanzenschutz, Bewässerung zu berücksichtigen und diese möglichst dem Realszenario einer späteren kommerziellen Verwendung anzupassen. Eine Dokumentation der jeweiligen Klimaverhältnisse ist ebenfalls zu empfehlen. Die Versuche sollten in mindestens drei verschiedenen Anbauregionen über zumindest zwei Vegetationsperioden durchgeführt werden. Anbau- und Erntezeitpunkte, Bewirtschaftungsmaßnahmen und die Darstellung von Versuchsflächen und Probenahme sollten dabei dokumentiert werden.

Da es schwierig ist, natürliche Variationen von denen zu unterscheiden, die Folge gentechnischer Veränderung sind, sollten zum Vergleich isogene Linien herangezogen werden. Bei den Inhaltsstoffanalysen sollten Empfehlungen über ein – je nach Pflanzenart – angemessenes Spektrum von Schlüsselinhaltsstoffen und -schadstoffen und ihrer anerkannten Gehalte und Abweichungen erarbeitet werden. Neben der Analyse und Charakterisierung der Hauptnährstoffe sollten auch Mikrobestandteile beachtet werden.

Um die Vergleichsgrundlagen zu verbessern, sollten sämtliche verfügbaren Informationen über die ernährungsphysiologische Bedeutung einzelner Inhaltsstoffe sowie deren natürliche, durch unterschiedliche Standorte, Klimazonen, Anbautechniken und Sorten induzierten Schwankungen systematisch sowie arten- und sortenspezifisch in internationalen Datenbanken erfasst werden. Darüber hinaus sollten auch Verzehrdaten gesammelt werden, um die Exposition besser einschätzen zu können. Derartige Datenbanken könnten von FAO/WHO oder OECD eingerichtet und verwaltet werden. Anbieten würde sich aber auch eine Einrichtung durch die neue Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit.

Um den methodischen Grenzen der bisherigen Inhaltsstoffanalysen zu entgehen, sollten neue Analysemethoden, die nicht mehr die Konzentrationen einzelner, bekannter Inhaltsstoffe analysieren, sondern das gesamte Spektrum bestimmter Stoffgruppen eines Organismus (DNA-array, mRNA-fingerprinting, proteomics, chemical-fingerprinting) erfassen, weiterentwickelt und eingesetzt werden.

Letztlich sollte die Analysenvergabe für Vergleichsuntersuchungen und die Bewertung der Ergebnisse durch eine unabhängige Institution/ein unabhängiges Expertengremium erfolgen.

Um mögliche spezifische und insbesondere direkte und unerwartete Auswirkungen transgener Pflanzen auf die Umwelt unter den Bedingungen des landwirtschaftlichen Anbaus feststellen zu können, wird ein forschungsorientiertes Monitoring von zugelassenen GVP im Vergleich mit konventionell und biologisch angebauten Produkten empfohlen.

Die Ergebnisse und Empfehlungen der Studie können einen Beitrag für die Weiterentwicklung der nationalen und internationalen Diskussion zur Verbesserung der Risikoabschätzung bzw. Sicherheitsbewertung von genetisch veränderten Pflanzen bzw. deren Produkten leisten und sollen daher in die relevanten Arbeitsgruppen (EU, OECD, Codex, Cartagena Protokoll etc.) eingebracht werden.

EXECUTIVE SUMMARY

A high safety standard for genetically modified organisms (GMO) and products derived therefrom constitutes an important factor in order to materialize the innovational and economic potential of modern biotechnology.

Toxicological and allergological safety evaluation of GMO is presently being conducted under Directive 90/220/EEC or – from October 2002 on – under Directive 2001/18/EC. However, toxicological and allergological safety requirements are not determined in detail in these directives and related documents. Consequently, the margins for putting safety evaluation into practice are rather wide.

In the course of the project described here the requirements for toxicological and allergological safety evaluation for genetically modified plants (GMP) and products derived therefrom as they appear in the regulatory framework of the EU were investigated. Subsequently, the practice of toxicological and allergological safety evaluation as demonstrated in eleven application dossiers for placing on the market of GMP and products derived therefrom was thoroughly reviewed in order to investigate the practice of safety evaluation in general and the differences between different dossiers in particular. As in most dossiers the concept of substantial equivalence was referred to, the practice of substantial equivalence was also investigated. Based on the results of the review recommendations were derived in order to put into concrete terms and standardize toxicological and allergological safety evaluation and – to some extent – also the practice of substantial equivalence.

Regulatory Context

The protection of human and animal health and the environment against potential risks of GMO and products containing GMO is mainly regulated in Directive 90/220/EEC (Directive 2001/18/EC). These directives cover the placing on the market of GMO products, which mainly means import, cultivation, production of seeds or feed stuff, handling, further processing, and storage. Before placing on the market the GMO has to be authorised as prescribed by these directives. In order to get an approval for a GMO an environmental risk assessment has to be carried out. Toxicological and allergological requirements for safety evaluation are mentioned in the directives but are not specified in detail. Directive 90/220/EEC merely demands information on potentially toxic effects to human and the environment caused by the recipient or parental plants, as well as toxic effects specifically attributed to the GMP. Interpretative documents and documents specifying safety evaluation in greater detail only exist for Directive 90/220/EEC, so far. These documents further specified that allergic properties referring to Vertebrata including humans and toxic properties referring to all organisms have to be evaluated. Furthermore, notifiers have to provide data on toxicity and allergenicity of the resulting GMO as well as on metabolites. As a consequence, the requirements for toxicological and allergological safety evaluation in the context of EU regulation still remain to be detailed.

The Scientific Committee on Plant issued guidelines which specify some more details of toxicological safety evaluation: the “object” of safety evaluation (target protein, GMP or particular parts of the GMP), preparation of samples (herbicide resistant plants cultivated with herbicide applied, proof of equivalence if protein is purified from another source, e. g. prokaryotic micro-organisms), considering exposition (recommendation of organisms to be looked at, consideration of probably different expression levels in different parts of plant). In case of feed stuff, if deviations in the content of particular compounds attributable to the genetic modification are identified, further toxicological tests focussing on macro nutrients and known toxins is required.

Directive 2001/18/EC puts more emphasis on toxicological and allergological requirements than Directive 90/220/EEC. In case of feed stuff potentially toxic and allergic effects on animals are especially considered. An important difference in comparison to Directive 90/220/EEC is that immediate and delayed, direct and indirect (including cumulative) effects have to be considered. Furthermore, potential adverse effects have to be considered even if such effects seem to be unlikely. This considerable extension in safety evaluation for toxicological and allergological testing might presumably result e. g. in long-term rather than acute toxicity testing. If probable but unlikely indirect effects have to be considered one might have to take into account also effects via food chain, following gene transfer to non-target organism, or caused by genetic instability. However, toxicological and allergological requirements for safety evaluation remains to be specified also in Directive 2001/18/EC.

According to a proposal issued by the European Commission food and feed stuff might be covered by the same piece of EC regulation in the near future. This proposal, however, does not touch upon toxicological or allergological requirements. Seeds from GMP will also be covered by a separate regulation, though a proposal still has to be issued. Until such sectoral regulation will come into force, feed stuff and seeds from GMO are regulated by Directive 90/220/EEC (Directive 2001/18/EC).

Some aspects of the interplay of horizontal and sectoral regulations are regulated in interpretative documents: in case of import, cultivation, seed, processing, and feed stuff potentially toxic effects to humans, animals and the environment have to be evaluated under Directive 90/220/EEC, if these products are not intended to be used in food as well. If this is the case it is up to the notifier whether the safety evaluation will be carried out under Directive 90/220/EEC or under the Novel Food Regulation. GMO products solely intended for use in or as food have to be evaluated solely under the Novel Food Regulation. However, particular toxicological safety requirements or the problem of distinction between the extent of safety requirements regarding to human health under Directive 90/220/EEC and those under the Novel Food Regulation are not touched upon.

Besides the GMO specific regulations mentioned above, also non-GMO specific regulations aiming at the protection of human and animal health and the environment are covering products from plants or GMP, especially in case of feed stuff and seeds. However, toxicological and allergological safety requirements for feed stuff are presently (until a separate regulation for feed stuff from GMO will come into force) almost exclusively regulated under Directive 90/220/EEC (Directive 2001/18/EC). In case of seeds from GMP no toxicological requirements are demanded in the context of seed testing with the possible exception that the level of known toxins in plants is considered.

Results of Analysis of the Directive 90/220/EEC-Dossiers

Out of 28 applications for placing on the market of GMP which are presently under review or are already approved, eleven applications were selected: applications for intended use for cultivation and as feed stuff (RR-fodder beet A5/15, potato EH92-527-1, Bt-cotton 531, RR-cotton 1445), "twin applications" (first application for import, second application for cultivation; maize Bt11, RR-maize GA 21), one application intended for cultivation as well as use as food and feed stuff (rape Topas 19/2), applications for use as ornamental plants (carnation 66, carnation 959A etc.). Besides the actual application dossiers also correspondence, additional information from the notifiers, opinions of the national competent authorities as well as the Scientific Committee on Plants, and – if available – decisions of the European Commission were considered.

Toxicology: In general toxicological information is rather a minor part of the dossiers. Differences in the intended use of the GMP do not affect the extent of the toxicological evaluations. Most toxicity tests are displayed as summaries or are just references to the literature and can

therefore not be verified and reviewed. Internal references are often used improperly. Statements which are closely related to each other are sometimes scattered over the dossier.

Apparently, toxicological tests were carried out rather sporadically, most likely in cases of Bt-plants, as Bt-toxins had already been approved before as an insecticide in some countries. Data on the toxicity of the whole GMP are not provided in any dossier. Toxicological acceptance is often justified by three arguments: low toxicity of the gene product, substantial equivalence of the GMP to their conventional counterparts, and low exposure. Potentially toxic effects resulting as a secondary effect from the gene insertion are not considered in any case.

Most of the toxicological testing were not carried out in compliance with quality assurance programs such as Good Laboratory Practise (GLP).

GMP are very often declared as being safe just by assumption based reasoning. Furthermore these assumptions are sometimes not easily or not at all verifiable. Risk assessment procedures which are carried out in a systematic way consisting of a hazard assessment of the GMP on one hand and of an analysis of exposure on the other hand, are lacking in the dossiers.

Allergology: No direct testing of potentially allergic properties of GMP and products derived therefrom was carried out. The absence of allergenic properties was justified solely in an either argumentative way and/or by giving rather indirect evidence (e.g., digestion studies, sequence homology comparisons). Some quotations of literature intended to confirm the safety of the GMP in the dossiers are cited wrongly or are outdated or are even suspected to be selectively quoted. The usual way of arguing is as follows: (i) no homology could be detected between the newly introduced protein and known allergens, (ii) the expression level of target protein in the GMP is rather low, (iii) the protein will rapidly be digested in the intestine, (iv) the newly introduced protein originates from a non-allergenic source, (v) the protein is not glycosylated and will therefore less likely exhibit allergic properties, (vi) the protein will less likely exhibit allergenic properties because it is not new.

Each of these arguments and their underlying assumptions have to be questioned in the light of recent scientific data. Furthermore, unintended secondary effects possibly caused by the gene insertion, such as the possible upregulated expression of other allergens through insertion and expression of the foreign gene in the GMP, are not considered at all. A safety evaluation which is based exclusively on the above described approaches is insufficient.

Substantial Equivalence: Analysis and comparisons of plant compounds are part of each dossier with the exception of carnation. However, no connection can be established between the nature and extent of these analysis and the intended use of the GMP or GMP products. Compositional analysis are largely restricted to macro-nutrients and known plant specific anti-nutrients as well as known toxins. A detailed characterisation of macrocompounds is however, rarely done.

Substantial equivalence is referred to in each dossier in order to argue for the safety of the particular GMP. The parameters chosen in composition analysis are however, not comprehensive enough to justify substantial equivalence and/or to detect probable unintended secondary effects. In each dossier some significant differences between the GMP and conventional counterparts were either reported or could be found by reviewing the displayed data. However, these differences did not lead to a repetition of the analysis including an extension of parameters investigated. In contrast, these differences were argumentatively attributed to naturally occurring ranges, effects from back-crossing, climate conditions etc.

Detailed descriptions of cultivation conditions, single examination sheets and statistical data interpretation, information on storage and preparation of samples as well as detailed data on the results of compound analysis are lacking in most cases. Detailed explanations on summaries of compound analysis are often fragmentary or even missing. On the ground of information given and data shown, substantial equivalence often cannot be verified. In case of herbicide resistant GMP it is often not quite clear if the herbicide was applied during cultivation.

As a matter of comparing average values of different cultivation sites the variance of analysed compounds is sometimes quite high, and might be covering any unintended secondary effects e. g. resulting in changes in plant metabolism.

Nutritional considerations in general and especially with respect to substantial equivalence (e. g. vitamin profiles, characterisation of fibre, analyses of different types of proteins) apparently do not play a role in the dossiers and are just occasionally considered in comparative composition analysis.

Composition of food products derived from animals fed on GMP was not considered in any dossier.

Recommendations for Standardisation

On the basis of the results of the review of the GMP dossiers as described above, a number of more general recommendations are drawn aiming at a specification and standardisation of toxicological and allergological safety evaluation. These recommendations are partly inspired by authorisation practices of products other than GMO. In detail these recommendations aim at simplifying the evaluation of the dossiers, by checking in a more systematic way comprehensiveness and acceptability of tests displayed in the dossiers (e. g. formal and thematic structure of dossiers, use of references, display of results). In general all dossiers should be stand-alone. In case of Bt- or herbicide resistant GMP these dossiers should include the approval of the plant protection product. All safety testing should be performed according to GLP.

Toxicology: From a toxicological perspective the toxicological examination of the newly introduced gene products should be substantially extended in order to elucidate not just acute but also sub-chronic, mutagenic, reproductive, and eco-toxic effects. Furthermore, the toxicity of the whole plant should be comprehensively studied in order to detect any possible non-intended secondary effects. However, suitable and standardised toxicological methods for detecting and investigating such effects are still lacking. Therefore, such methods should be elaborated and further developed.

For each GMP a set of basic toxicity data should be elaborated. Additional testing may be required depending on the intended use of the plant and the particular exposure.

Allergology: The approach to allergological safety evaluation used so far is mainly of argumentative nature including at maximum indirect evidences from sequence homology and digestion studies. This approach is insufficient and should be complemented or perhaps better replaced by other methods: Sera from allergic patients should be used to study the gene product as well as the whole GMP and the corresponding parental line regarding IgE antibody reactivity. Immunization studies carried out with extracts prepared from the GMP and the parental line would allow to compare the allergenic activity (i. e. induction of allergic sensitization in a naive host) of both organisms.

The exclusive investigation of the gene product is insufficient because complex changes caused via secondary effects cannot be detected. This test allows to estimate the number of allergic patients who exhibit IgE reactivity to the GMP versus the parental line. Furthermore it will be possible to determine by IgE inhibition studies if the GMP contains more IgE reactive determinants than the parental line. In order to compare the allergenic potential of the GMP and the parental line, immunisation studies and further estimation of IgE level could be carried out in mice using extracts from the GMP and the parental line. On the basis of these results the risk for a de-novo sensitisation in a not yet sensitised individual can be estimated.

Substantial Equivalence: Recommendations for field trials and composition analysis carried out to investigate substantial equivalence are given as follows:

In order to thoroughly and comparatively investigate different cultivars, all factors that might affect this investigation have to be considered. The conditions used for field trials should be very close or even identical to conditions in normal agricultural practice of that particular crop. The field trials should be carried out on at least three different sites and during at least two growing seasons. Time of cultivation and harvesting, on-site cultivation conditions, experimental plots and sampling should be thoroughly described. Furthermore, climate conditions should be reported.

As it is rather difficult to distinguish between natural variation and variations probably induced by the inserted genes, only isogenic lines should be used as conventional counterparts. Harmonised lists of key components (nutrients and anti-nutrients) that need to be investigated by the applicants should be established for each particular crop. Likewise, content and ranges of these key components should be agreed for each particular crop and should in any case include not only macrocomponents but also microcomponents.

In order to improve the basis of comparative analysis, all relevant data on the nutritional aspects of each particular compound and the natural variability in content (e.g. depending on the nature of the site, climate, agricultural management and cultivars used) should be systematically collected in international databases. Furthermore, data on human consumption should be gathered in order to estimate more accurately the exposure of humans. Such database could be established and ran by FAO/WHO or OECD as well as by the newly established European Food Safety Authority.

In order to overcome the current methodological limits of composition analysis, new methods that are not focussing on particular compounds but on whole profiles of compounds (e.g. DNA-array, mRNA-fingerprinting, proteomics, chemical-fingerprinting) should be established, further developed and used in routine testing.

Finally, the comparative analysis of cultivars and the evaluation of results should be carried out by an independent institution or panel of experts.

In order to elucidate possible effects – especially indirect and unintended ones – of GMP on the environment under conditions of normal agricultural practice, a research-oriented monitoring programme is recommended that compares approved GMP, conventional counterparts and organic farming.

The results and recommendations of this study are intended to contribute to national and international discussion on the improvement of safety evaluation 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, Cartagena Protocol.