

Relatório das evidências científicas com as últimas descobertas sobre as medidas de segurança na Áustria para as linhagens de milho geneticamente modificado MON810 e T25.

Neue wissenschaftliche Erkenntnisse in Bezug auf die Österreichischen Importverbote für die gentechnisch veränderten Maissorten MON810 und T25

Mag. Marion Dolezel
Dr. Michael Eckerstorfer
Dr. Helmut Gaugitsch
Dr. Andreas Heissenberger
Dr. Armin Spök



**BUNDESMINISTERIUM FÜR
GESUNDHEIT UND FRAUEN**



Viena, Outubro de 2006



Relatório das evidências científicas com as últimas descobertas sobre as medidas de segurança na Áustria para as linhagens de milho geneticamente modificado MON810 e T25.

Neue wissenschaftliche Erkenntnisse in Bezug auf die Österreichischen Importverbote für die gentechnisch veränderten Maissorten MON810 und T25

Mag. Marion Dolezel
Dr. Michael Eckerstorfer
Dr. Helmut Gaugitsch
Dr. Andreas Heissenberger
Dr. Armin Spök



**BUNDESMINISTERIUM FÜR
GESUNDHEIT UND FRAUEN**



Viena, Outubro de 2006



Autores:

Dr. Armin Spök

IFF/IFZ – Centro de Pesquisa Inter-Universitário
para Tecnologia Trabalho e Cultura

Schloegelgasse 2, A-8010 Graz
Telefone: (00xx43) 316 812-6610
Fax: (00xx43) 316 8126-6111
<http://www.ifz.tugraz.at>



Mag. Marion Dolezel

Dr. Michael Eckerstorfer

Dr. Helmut Gaugitsch

Dr. Andreas Heissenberger

Umweltbundesamt GmbH

Spittelauer Laende 5, A-1090, Viena
Telefone: (00xx43) 313040
Fax: (00xx43) 31304-3700
<http://www.umweltbundesamt.at>



Tradução: Denise Bobadilha

Revisão: Greenpeace (Gladis Eboli, Ventura Barbeiro)

BUNDESMINISTERIUM FÜR
GESUNDHEIT UND FRAUEN



Patrocinado pelo Ministério Federal da Saúde e Mulher, Seção 4, BMGF-70420/0170-IV/9/2006

Índice

1. Sumário Executivo	2
2. Zusammenfassung (Sumário em Alemão).....	5
Umweltrisiken von MON810 Mais.....	5
Umweltrisiken von T25 Mais.....	6
Mögliche Gesundheitsrisiken und substanzielle Äquivalenz der Maislinien MON810 und T25	7
3. Análise dos argumentos das ACs austríacos e corporações da UE sobre o boicote na importação de OGMs emitidos na Áustria	9
3.1 Milho GM MON810	9
3.1.1 Introdução	9
3.1.2 Informação do dossiê original	9
3.1.3 Primeira opinião do Comitê Científico das Plantas (1998).....	11
3.1.4 Razões para a proibição do milho GM MON810 pela Áustria	11
3.1.5 Segunda opinião do Comitê Científico das Plantas (1999)	12
3.1.6 Opiniões do Painel da EFSA sobre OGMs (2004 e 2006)	13
3.1.7 Relatório do Painel da OMC - comentários de cientistas especializados sobre o Painel	14
3.1.8 Referências	15
3.2 Milho GM T25	17
3.2.1 Introdução	17
3.2.2 Informação do dossiê original	18
3.2.3 Opiniões do Comitê Científico das Plantas (1998, 2001a)	19
3.2.4 Razões para a proibição do milho GM T25	20
3.2.5 Opiniões do Comitê Científico das Plantas (2000, 2001b)	21
3.2.6 Opiniões do Painel da EFSA sobre OGMs (2004, 2006)	21
3.2.7 Relatório do Painel da OMC - comentários de cientistas especializados sobre o Painel	22
3.2.8 Referências	23
4 Últimas evidências científicas relevantes para um informe sobre as medidas de segurança na Áustria - Riscos ambientais.....	25
4.1 Milho GM MON810	25
4.1.1 Possíveis efeitos não intencionais em organismos não visados	25
4.1.2 Incertezas sobre o tratamento de resistência por uma estratégia de refúgio	26
4.1.3 Possibilidade de desenvolvimento de pragas secundárias	27
4.1.4 Falta de um plano de inspeção.....	27
4.1.5 Referências	27
4.2 Milho GM T25.....	29
4.2.1 Riscos para comunidades de ervas espontâneas.....	29
4.2.2 Falta de um plano de inspeção	31
4.2.3 Aspectos regionais em conexão com casos de coexistência	31
4.2.4 Referências	32
5 Últimas evidências científicas relevantes para um informe sobre as medidas de segurança na Áustria - Riscos de saúde e equivalência substancial	34
5.1 Introdução	34
5.2 Milho GM MON810.....	34
5.2.1 Avaliação de toxicidade	34
5.2.2 Teste de alergenicidade	37
5.2.3 Equivalência substancial	40
5.2.4 Dossiê não inclui relatórios detalhados.....	41
5.2.5 Conclusões.....	42
5.2.6 Referências	42
5.3 Milho GM T25.	47
5.3.1 Avaliação de toxicidade.....	47
5.3.2 Avaliação de alergenicidade	48
5.3.3 Equivalência substancial.....	48
5.3.4 Dossiê não inclui relatórios detalhados.....	50
5.3.5 Conclusões.....	50
5.3.6 Referências	50

1. Sumário Executivo

Esse informe examina as recentes evidências científicas sobre potenciais riscos ambientais e de saúde de duas linhagens de milho geneticamente modificado - MON810 e T25. Após autorização da União Europeia, a Áustria invocou medidas de salvaguarda nacional, de acordo com o Artigo 16 do Dir. 90/220/EEC, para esses OGMs. Essa análise primeiramente foca os assuntos relacionados às tais linhagens de milho GM, considerados preocupantes pela Áustria, e traz as opiniões dos Comitês Científicos da Comissão Europeia. Nesse sumário, os fatos ambientais sobre as linhagens de milho MON810 e T25 são enfocados separadamente; já o tópico de riscos de saúde pode ser considerado para ambas as linhas de milho GM em termos similares.

Riscos ambientais do milho MON810

Em relação aos riscos ambientais do milho MON810, as seguintes preocupações são especificamente abordadas:

- Possíveis efeitos não intencionais de modificação genética em organismos não visados;
- Incertezas sobre o tratamento de resistência por uma estratégia de refúgio;
- Possibilidade do desenvolvimento de pragas secundárias;
- Falta de um plano de monitoramento.

A respeito dos **efeitos não intencionais em organismos não visados** (Cap. 4.1.1), apenas um número muito limitado de organismos não visados foi testado em laboratório. Estudos científicos recentes mostram que uma variedade maior de insetos, incluindo o não visado *Lepidoptera*, pode ser afetada adversamente pelo milho MON810. Investigações adicionais dos efeitos em organismos não visados em níveis tróficos mais altos indicam que efeitos adversos do MON810 têm de ser considerados para uma série de espécies de artrópodos, que não foram incluídas em estudos de risco anteriores.

Um estudo geral dessas espécies em relação às condições de agricultura regional para produção comercial não foi feito. Baseado em pesquisas recentes, um grande número de espécies aparece em áreas de agricultura e muitas delas já são classificadas como ameaçadas. Essas espécies podem ser ainda mais ameaçadas pelo cultivo de MON810.

Dados existentes de experiência de campo fornecidas junto com o pedido são inapropriados para avaliar esses riscos de forma suficiente por causa de deficiências metodológicas, falta de dados e avaliação estatística de resultado insuficiente.

Sobre **tratamento de resistência** (Cap. 4.1.2), faltam informações específicas necessárias para avaliar o plano de tratamento proposto. Informações de referência sobre a biologia da praga e um plano de “Manejo de Resistência de Insetos” viável devem ser avaliados antes da comercialização do MON810 em áreas com características regionais específicas. Em particular, dados básicos de resistência na frequência dos alelos e susceptibilidades de base não foram reunidos a tempo na Áustria e, portanto, faltam para uma avaliação de medidas de tratamento. Devido às diferenças de clima e práticas de agricultura, experiências obtidas com o cultivo de milho Bt na Espanha não devem ser aplicadas no sistema de agricultura da Áustria. Essas diferenças indicam, assim, uma necessidade de adaptação nas estratégias de tratamento de resistência de insetos.

Outro assunto crítico é a **falta de um plano de monitoramento** para o cultivo de MON810 (Cap. 4.1.3 e 4.1.4). Em primeiro lugar, isso conflita com as obrigações atuais para tais produtos. O Anexo VII da Diretriz 2001/18/EC pode ser considerado como um padrão mínimo de acordo no assunto. Por outro lado, um plano de monitoramento como esse seria necessário para discutir o **caso das pragas secundárias**, uma questão considerada importante pelo Comitê Científico das Plantas na opinião sobre a medida de segurança para o milho MON810.

Riscos ambientais do milho T25

Em relação aos riscos ambientais do milho T25, preocupações específicas relatadas nesse estudo são:

- Riscos para comunidades de ervas espontâneas;
- Falta de um plano de monitoramento;
- Aspectos regionais em combinação com fatos de coexistência.

Em resumo, os dados de avaliação de risco disponíveis para o milho T25 geneticamente modificado para tolerância a herbicida (GMHT) não preenchem os requisitos para um estudo de como esses novos regimes de plantas GM/herbicida podem afetar comunidades de ervas espontâneas (veja Cap. 4.2.1). Como as mudanças nos manejos de ervas espontâneas são esperadas com a introdução do milho T25, um estudo adequado dos **efeitos em comunidades de ervas espontâneas** é necessário, baseado numa análise profunda de ervas espontâneas e interações entre o OGM e organismos visados pelo T25, como pedido tanto na Diretriz 90/220/EEC (Anexo II, IV. C.3 e C.4) como na Diretriz 2001/18/EC (Anexo IIIB, D.). O controle insuficiente de certas ervas espontâneas proporcionado pelo glufosinato de amônio e a mudança resultante em comunidades de ervas espontâneas precisa ser considerado adequadamente. O uso freqüente de um herbicida não seletivo como o glufosinato de amônio irá aumentar a pressão nas ervas espontâneas, assim resultando na dominância de algumas poucas espécies e finalmente na prevalência de ervas espontâneas de espécies resistentes. Registros recentes de experiência indicam que em tais situações as falhas em controle de ervas espontâneas acontecem com plantas GMHT. Isso sugere que um aumento ou mudança no uso e/ou número de aplicações do herbicida proposto tem de ser considerado para o milho T25. Além disso, o cultivo de milho T25 GMHT em combinação com o uso extensivo de herbicidas não seletivos pode contribuir ainda mais para o declínio de espécies de plantas ameaçadas ou biótopos.

Sobre a **falta de um plano de monitoramento pós-venda** (Cap. 4.2.2), o argumento geral previamente anotado para o MON810 também é aplicado aqui. Além disso, efeitos de longo prazo de plantas tolerantes a herbicida não podem ser avaliados de forma independente do uso do respectivo herbicida. Os efeitos do glufosinato de amônio em combinação com o milho T25 em comunidades de ervas espontâneas precisam ser estudados por um plano de monitoramento como esse.

Adicionalmente, existem questões abertas sobre **aspectos regionais em relação à coexistência** (Chapter 4.2.3). Faltam ainda provisões harmonizadas e legalmente impostas em medidas de coexistência (incluindo obrigações) de milho geneticamente modificado e milho convencional ou orgânico.

Potenciais riscos de saúde das linhagens de milho MON810 e T25

A pesquisa da avaliação de potenciais **riscos de saúde das linhagens de milho MON 810 e T25** (Cap. 5.2 e 5.3, respectivamente) aborda a avaliação de propriedade potencialmente alérgicas ou tóxicas, assim como apresenta uma análise comparativa de componentes (equivalência substancial). Ela considera a abordagem da avaliação de risco, os métodos escolhidos, a condução do experimento e a evidência apresentada. Em ambos os casos de milho GM, as conclusões de segurança dos avaliados não pôde ser totalmente verificada porque faltavam dados detalhados. Mais importante, um número de defeitos e fraquezas no controle conduzido pelos avaliados foi revelado. O fato é ainda mais evidente no milho GM MON810.

Há um número de defeitos similares em ambos os dossiês:

- Ao abordar somente a proteína introduzida, a avaliação de **possíveis propriedades tóxicas e alergênicas** não leva em conta potenciais riscos de saúde de toda a planta como consequência de efeitos não visados da modificação genética, como, por exemplo, através supra-regulação de alérgenos nas plantas. Além disso, a possibilidade de novos e inesperados tóxicos e alérgenos não é considerada. O estudo sobre alimentação de frangos incluído no dossiê do MON810 claramente é uma pesquisa de conversão de alimentos e não uma de toxicidade. A importância de se estudar melhor os efeitos não intencionais é reconhecida por consultores especialistas, incluindo a FAO/OMS e o Codex Alimentarius. Recentemente, a Comissão Européia ressaltou a importância de estudos de planta completa e alimento integral para avaliar tanto os potenciais riscos alergênicos como tóxicos em toda a planta;

Informe das medidas de segurança na Áustria

- **Proteínas de teste** derivadas de fontes de bactéria não são necessariamente representativas das proteínas de planta no campo. Um estudo australiano sobre ervilhas GMs revelou efeitos imunogênicos em ratos que são mais frequentemente associados com diferenças no processo pós-translacional da proteína estudada entre o organismo doador e o organismo receptor.
- A **avaliação de propriedades alergênicas** se baseia em comparações de homologia para alérgenos conhecidos, estudos de digestibilidade in-vitro, um histórico de uso seguro (relevante em ambas as linhas GM), pouca expressão genética (relevante para linha de milho MON810) e a falta de glicosilação (relevante para a linha de milho T25). Evidências científicas recentes mostraram, no entanto, que esses métodos não constituem indicadores confiáveis de propriedades alergênicas e podem levar a resultados tanto falso positivos como falso negativos;
- As avaliações de risco não consideraram a inalação como uma **possível rota de exposição**, apesar de inalação constituir uma importante rota de sensibilização;
- Além disso, possíveis **mudanças nas propriedades de sensibilização “de novo”** não foram consideradas, nem na introdução da proteína nem da planta toda;
- **Pontos finais de toxicidade** foram limitados a oral agudo (milho MON810) em estudos de doses repetidas por 14 dias em roedores (T25), o que não fornece indicadores de efeitos de longo prazo;
- Declarações de **equivalência substancial** são baseadas numa amostragem limitada de componentes analisados. Os parâmetros escolhidos não obedecem à recomendação nem da Organização para a Cooperação Econômica e o Desenvolvimento (OECD) nem às propostas em consenso das próprias indústrias. No caso do milho T25, a análise da composição de material vegetal de campos de teste europeus foi essencialmente limitada a quatro componentes da planta. Diferenças estatísticas significativas detectadas entre as linhas de milho GM e suas contrapartes convencionais não foram propriamente consideradas.

Em resumo, os dados de avaliação de risco fornecidos não podem – à luz de recentes evidências científicas – assegurar segurança suficiente. Além disso, as avaliações de riscos fornecidas provavelmente não estão de acordo com os requerimentos do Anexo II da Diretriz 2001/18/EC, que atualmente é o padrão para assegurar medidas de segurança.

2 Zusammenfassung (Summary in German)

Die vorliegende Studie untersucht die wissenschaftliche Risikoabschätzung der möglichen Umweltauswirkungen und Gesundheitsrisiken von zwei gentechnisch veränderten Maislinien, MON810 und T25. Es werden dabei insbesondere neuere wissenschaftliche Erkenntnisse berücksichtigt.

Die beiden gentechnisch veränderten Maislinien haben das EU-Zulassungsverfahren auf Grundlage der Richtlinie 90/220/EWG durchlaufen. Als Ergebnis des Verfahrens wurde ihre Verwendung in der EU genehmigt. Einige Mitgliedsstaaten, darunter auch Österreich, verhängten anschließend Importverbote für diese GV-Maissorten auf der Grundlage von Artikel 16 der EU-Richtlinie 90/220/EWG.

Die vorliegende Studie untersucht die wissenschaftliche Risikoabschätzung der beiden Maislinien und konzentriert sich dabei auf jene Aspekte, die bereits in den bisherigen Stellungnahmen Österreichs aufgegriffen wurden. Bei beiden Maislinien wurden Mängel und Schwächen in der Risikoabschätzung festgestellt, weshalb Umwelt- und Gesundheitsrisiken nicht mit hinreichender Sicherheit ausgeschlossen werden können. Die Umweltrisiken stellen sich bei beiden Maislinien unterschiedlich dar und werden im Folgenden für die beiden GV-Maissorten separat analysiert. Die Gesundheitsrisiken von MON810 und T25 werden in einem gemeinsamen Abschnitt behandelt, da sowohl die jeweiligen Grundlagen für die Beurteilung, als auch Mängel und Schwächen der Risikoabschätzung ähnlich sind.

Umweltrisiken von MON810 Mais

Folgende Problembereiche in Bezug auf Umweltauswirkungen der GV-Maissorte MON810 wurden identifiziert und untersucht:

- Mögliche unerwartete Auswirkungen der GV-Sorte auf Nichtzielorganismen
- Wissenschaftliche Unsicherheiten hinsichtlich des Resistenz-Managements in Bezug auf die vorgeschlagene Strategie (Hochdosis-Refugium-Strategie)
- Die Möglichkeit des verstärkten Aufkommens von sekundären Schädlingen
- Das Fehlen eines Monitoring-Planes

Hinsichtlich möglicher unerwarteter Auswirkungen von MON810 auf Nichtzielorganismen (dargestellt im Kapitel 4.1.1) kann festgestellt werden, dass nur eine sehr beschränkte Anzahl von Nicht-Zielorganismen in Laboruntersuchungen hinsichtlich möglicher Auswirkungen von Bt-Toxinen untersucht worden ist. Neuere Untersuchungen zeigen, dass ein breiteres Spektrum von Insektenarten, darunter auch Nichtziel-Schmetterlingsarten, von Bt-Toxinen beeinträchtigt werden können. Neue Untersuchungen über die Auswirkungen von Bt-Toxinen auf Nicht-Zielorganismen höherer trophischer Ebenen haben auch gezeigt, dass negative Effekte von MON810 für ein ganzes Spektrum von Arthropodenarten möglich sind, welche nicht bei der Risikoabschätzung berücksichtigt worden sind.

Eine Bewertung der Risiken für diese Arten unter den Bedingungen der regionalen landwirtschaftlichen Gegebenheiten für eine kommerzielle Produktion wurde ebenfalls nicht durchgeführt. Basierend auf neueren Untersuchungen kann festgestellt werden, dass ein erheblicher Anteil der möglicherweise negativ betroffenen Arten in den landwirtschaftlich genutzten Gebieten vorkommt und einige dieser Arten bereits aufgrund anderer Umstände in ihrem Bestand gefährdet sind. Diese Arten könnten durch einen Anbau von MON810 zusätzlich gefährdet werden.

Die Ergebnisse von Feldversuchen, welche im Zuge der Anmeldung vorgelegt wurden, sind zur Einschätzung der erwähnten Risiken aus einer ganzen Reihe von Gründen nicht geeignet: Sie sind methodisch ungeeignet solche Risiken geeignet zu erfassen; die erhobenen Daten sind nicht geeignet, die gezogenen Schlussfolgerungen zu begründen, und die statistische Auswertung der Resultate ist insgesamt mangelhaft.

Informe das medidas de segurança na Áustria

In Bezug auf das Management der Resistenzentwicklung bei Schadinsekten (dargestellt im Kapitel 4.1.2) kann festgestellt werden, dass der vorgeschlagene Management-Plan aufgrund fehlender Informationen nicht abschließend beurteilt werden kann. Konkret fehlen wesentliche, grundlegende Daten zur Schädlingsbiologie und -ökologie, speziell Daten zur Ausgangslage bei den Frequenzen von Resistenzallelen und den Empfindlichkeitsschwellenwerten der einzelnen Nicht-Ziel Arten. Außerdem sollte ein an die speziellen örtlichen Gegebenheiten angepasster und umsetzbarer Resistenzmanagement-Plan vorgelegt werden, bevor eine Kommerzialisierung von MON810 ins Auge gefasst werden kann. Aufgrund der bestehenden Unterschiede bei den klimatischen Verhältnissen und bei der landwirtschaftlichen Praxis lassen sich die in Spanien beim Anbau von MON810 gewonnenen Erkenntnisse nicht in der vorgeschlagenen Weise auf Österreich übertragen. Im Gegensatz dazu deuten die Unterschiede auf einen Bedarf in Richtung Anpassung der Management-Strategie zur Abwehr möglicher Resistenzbildung hin.

Ein weiterer wesentlicher Kritikpunkt ist das Fehlen eines geeigneten Monitoringplans (dargestellt im Kapitel 4.1.3 und 4.1.4). Einerseits ist ein solcher Plan nach den derzeit geltenden Vorschriften für Produkte wie MON810 obligatorisch vorzulegen. In dieser Hinsicht kann Annex VII der EU Richtlinie 2001/18/EC als allseits akzeptierter Standard gesehen werden. Andererseits ist ein derartiger Monitoringplan nötig, um die offenen Fragen bezüglich des möglicherweise vermehrten Auftretens sekundärer Schädlinge beantworten zu können. Diese Fragen wurden auch in der Stellungnahme des Comitê Científico das Plantasals relevant bezeichnet.

Umweltrisiken von T25 Mais

Folgende Problembereiche in Bezug auf Umweltauswirkungen der GV-Maissorte T25 wurden identifiziert und untersucht:

- Risiken in Bezug auf die betroffene Unkrautflora
 - Das Fehlen eines Monitoring-Planes
 - Nichtberücksichtigung regionaler Aspekte mit Bezug zur Koexistenzproblematik
- Betreffend die Risiken in Bezug auf die betroffene Unkrautflora kann zusammenfassend festgestellt werden, dass die für den Zulassungsantrag des GV-Mais T25 vorgelegten Daten zur Risikoabschätzung nicht die Voraussetzungen erfüllen, um in einer geeigneten Weise die Effekte einer Verwendung dieser GV-Maissorte auf Unkrautpflanzen abschätzen zu können (dargestellt im Kapitel 4.2.1).

Da durch die Verwendung dieser GV-Maissorte und insbesondere durch die damit verbundenen Änderungen in der Art der Unkrautbekämpfung aber mit solchen Effekten gerechnet werden muss, sollte eine eingehende Untersuchung derartiger Effekte im Sinne einer umfassenden Risikoabschätzung vorliegen. Eine solche Abschätzung im Einklang mit EU-Richtlinie 90/220/EEC Annex II, C.3 und C.4 sowie 2001/18/EC, Annex IIIB, D, sollte auf einer umfassenden Analyse der regionalen Unkrautflora und den Interaktionen zwischen dieser Flora und der GV-Maislinie T25 basieren. Derartige Untersuchungen liegen aber nicht vor. In diesem Zusammenhang sollte auch der Effekt einer ungenügenden Kontrollwirkung von Glufosinat-Ammonium auf die Unkrautflora und die dadurch hervorgerufenen Verschiebungen in der Zusammensetzung der Unkrautflora untersucht werden. Die häufige Verwendung eines nicht-selektiven Herbizids wie Glufosinat-Ammonium kann zur Dominanz einiger widerstandsfähiger Unkrautspezies führen und dadurch schlussendlich zur Vermehrung von resistenten Unkräutern führen. Erfahrungen mit herbizidresistenten GV-Pflanzen zeigen die Möglichkeit einer solchen Entwicklung. In einzelnen Fällen zeigt sich, dass es dadurch zu Kontrollverlusten in Bezug auf das betroffene Herbizid kommen kann. Das legt nahe, dass auch im Fall von Mais T25 mittelfristig mit einer Zunahme in der Zahl der Unkrautbehandlungen und/oder mit der Anwendung anderer Herbizide gerechnet werden muss.

Dazu kommt, dass die Verwendung der herbizidresistenten Maissorte T25 in Kombination mit der extensiven Verwendung des korrespondierenden Herbizids dazu beitragen kann, dass bereits gefährdete Pflanzen und Biotoptypen weiter unter Druck geraten.

Informe das medidas de segurança na Áustria

In Bezug auf den fehlenden Monitoringplan (dargestellt in Kapitel 4.2.2) trifft die oben angeführte Argumentation betreffend die GV-Maissorte MON810 auch auf T25 zu. Darüber hinaus kann festgestellt werden, dass die Langzeiteffekte der herbizidresistenten Pflanzensorte nicht unabhängig von den Auswirkungen des korrespondierenden Herbizids beurteilt werden können. Speziell die Effekte der Verwendung von GV-Mais T25 in Kombination mit Glufosinat-Ammonium auf die regionale Unkrautflora sollten in einem solchen Monitoringplan angesprochen werden und im Zuge der Umsetzung untersucht werden.

Zusätzlich besteht eine ganze Reihe von offenen Fragen zu regionalen Aspekten der Verwendung von GV-Mais T25 im Zusammenhang mit der Koexistenzproblematik (dargestellt in Kapitel 4.2.3). In diesem Sinn ist es von besonderer Bedeutung, dass bis dato eine harmonisierte, gesetzlich verpflichtende Regelung dieser Problematik (und damit zusammenhängender Haftungsfragen) EU-weit noch aussteht. Die angestrebte Koexistenz von GV-Maissorten und konventionellen Sorten bzw. Bio-Sorten steht und fällt mit solchen Regelungen.

Mögliche Gesundheitsrisiken und substantielle Äquivalenz der Maislinien MON810 und T25

Die Evaluierung von potentiellen Gesundheitsrisiken der Maislinien MON810 und T25 (dargestellt in den Kapiteln 5.2 sowie 5.3) konzentriert sich auf potentielle allergene und toxische Eigenschaften sowie auf die vergleichende Inhaltsstoffanalyse (substantielle Äquivalenz). Sie bezieht sich dabei auf die Zugänge in der Risikoabschätzung, die eingesetzten Methoden und berücksichtigten Daten und auf die im Einzelfall durchgeführten Untersuchungen. Bei beiden Maislinien sind aufgrund von unvollständigen oder fehlenden Daten die Schlussfolgerungen der Antragsteller im Bezug auf die Sicherheit der Maislinien nicht vollständig nachvollziehbar und Mängel und Schwächen in der Risikoabschätzung ersichtlich, speziell im Fall Mais MON810. Die Mängel und Schwächen sind in beiden Fällen ähnlich und lassen sich wie folgt beschreiben:

– Die Abschätzung möglicher toxischer oder allergener Risiken konzentriert sich ausschließlich auf die neu eingebrachten Proteine und blendet mögliche unbeabsichtigte Sekundäreffekte der genetischen Veränderung auf die gesamte Pflanze weitgehend aus, z.B. eine höhere Expression von endogenen Allergenen oder die Möglichkeit der Expression von neuen Allergenen oder Toxinen. Die Bedeutung von nicht-beabsichtigten Sekundäreffekten wurde mehrfach in internationalen Expertenkonsultationen unterstrichen, unter anderem auch seitens FAO/WHO und Codex Alimentarius. Kürzlich wies auch die Europäische Kommission auf die Bedeutung von toxikologischen Fütterungsstudien und Allergenitätsstudien mit der gesamten Pflanze für die Abschätzung von derartigen nicht-beabsichtigten Effekten hin.

– Aus Mikroorganismen hergestellte Testproteine sind nur bedingt repräsentativ für die Eigenschaften der analogen in GV-Pflanzen gebildeten Proteine. Eine unterschiedliche Prozessierung von Proteinen in Pflanzen und Mikroorganismen und damit auch die Möglichkeit von unterschiedlichen gesundheitsrelevanten Eigenschaften wurde kürzlich durch eine australische Studie mit genetisch veränderten Erbsen gezeigt. In dieser konnten immunogene Effekte des heterologen Proteins nachgewiesen werden, die mit hoher Wahrscheinlichkeit auf unterschiedliche posttranslationale Modifikationen in Ziel- und Wirtsorganismus zurückzuführen sind.

– Die Abschätzung möglicher allergener Risiken basiert im Wesentlichen auf Homologievergleichen der zusätzlichen Proteine mit bekannten Allergenen, in-vitro Verdauungsstudien und Erfahrungen mit der sicheren Anwendung der Proteine (in beiden GV-Maislinien), geringer Konzentration des Proteins in der Pflanze (GV-Mais MON810) und der Abwesenheit von Glykosylierung (GV-Mais T25). Neuere wissenschaftliche Erkenntnisse haben jedoch gezeigt, dass diese Methoden keine hinreichend verlässlichen Rückschlüsse über die allergenen Risiken ermöglichen

Informe das medidas de segurança na Áustria

und sowohl zu falsch-positiven als auch zu falsch-negativen Ergebnissen führen können.

- Inhalation wird nicht als relevanter Expositionsweg berücksichtigt, obwohl diese einen wichtigen Sensibilisierungspfad darstellt.
- Mögliche Änderungen der sensibilisierenden Eigenschaften von neu eingefügten Proteinen bzw. Pflanzen wurden nicht berücksichtigt.
- Die toxikologischen Endpunkte reduzieren sich auf akute Toxizität (Mais MON810) bzw. 14-Tage subakute orale Toxizität (Mais T25) bei Nagetieren. Derartige Untersuchungen ermöglichen keine bzw. nur ungenügende Rückschlüsse auf Langzeiteffekte.
- Die Feststellung von substantieller Äquivalenz (mit Ausnahme der zusätzlich eingeführten Eigenschaft) beruht im Wesentlichen auf vergleichenden Inhaltsstoffanalysen einer geringen Anzahl von Parametern, die weder dem OECD noch dem industrieeigenen Standard entspricht. Für Mais T25 wurden bei Feldversuchen in Europa überhaupt nur vier Inhaltsstoffe untersucht. Statistisch signifikante Unterschiede in den Vergleichsstudien wurden darüber nicht hinreichend sorgfältig analysiert.

Zusammengefasst kann gesagt werden, dass - im Lichte neuerer wissenschaftlicher Erkenntnisse - die Risikoabschätzungen in beiden Maislinien keine hinreichend verlässlichen Schlussfolgerungen bezüglich Sicherheit ermöglichen. Die Risikoabschätzungen entsprechen mit hoher Wahrscheinlichkeit auch nicht den Anforderungen des Annex II der Richtlinie 2001/18/EG.

3. Análise dos argumentos das Autoridades Competentes austríacas e organismos da UE sobre a proibição na importação de OGMs emitidos na Áustria

3.1 Milho GM MON810

3.1.1 Introdução

Um pedido de autorização do milho geneticamente modificado MON810, de acordo com a Diretriz 90/220/EEC (notificação C/F/95/12/02), foi enviado em 24 de maio de 1996 pela empresa Monsanto para a autoridade competente (AC) na França. O identificador único MON810 contém o Cry1A(b), gene que produz uma toxina bacteriana que, por sua vez, proporciona proteção a insetos lepidópteros como a Broca do Colmo do Milho, e o gene nptII, que confere resistência a antibióticos aminoglicosídeos, permitindo a seleção de bactérias que contém o plasmídeo. O milho MON810 foi criado para ser usado como qualquer outro milho, ou seja, na produção de milho dentro da União Européia, na importação e no processamento de grãos e produtos de milho e seu uso em alimentos, rações e produtos industriais. Depois de uma opinião positiva do Comitê Científico das Plantas, a autorização foi dada para colocar no mercado o milho geneticamente modificado (GM) MON810 (Decisão da Comissão de 22 de abril de 1998). Posteriormente, o estabelecimento no mercado desse milho foi proibido pela autoridade competente da Áustria em 1999. O Comitê Científico das Plantas, em 1999, e o Painel da EFSA sobre OGMs, em 2004 e 2006, emitiram opiniões sobre a proibição austríaca do milho MON810. No Painel da OMC, relatórios de cientistas especializados comentaram as evidências científicas em favor da proibição das importações feitas pela Áustria.

O capítulo que se segue irá descrever sumariamente as informações principais ou argumentos incluídos em tais documentos.

3.1.2 Informação do dossiê original

O dossiê original do milho geneticamente modificado MON810, fornecido pelo notificador (notificação C/F/95/12/02) contém uma **avaliação de risco ambiental** que engloba os seguintes pontos:

- Em relação ao parâmetro de avaliação de risco “capacidade de sobrevivência, multiplicação e disseminação do OGM no meio ambiente”, o notificador fez testes de campo em 18 lugares na Europa e 60 nos Estados Unidos, fornecendo, portanto, dados sobre a safra, características agronômicas, vigor, doença e suscetibilidade a insetos. Para todos os parâmetros não foram encontradas diferenças entre o milho GM e o milho convencional. Para o parâmetro “capacidade de sobrevivência”, a taxa de germinação e a dormência da semente foram investigadas e nenhuma diferença foi detectada. Para o parâmetro “vigor vegetativo”, observações visuais nos campos de teste não mostraram diferenças na qualidade agronômica, doença ou suscetibilidade a insetos e nenhuma diferença foi observada no vigor vegetativo ou sob qualquer fator de estresse como seca, aquecimento ou geada. Ao se avaliar “formas e/ou taxas de reprodução”, observações de campo não apresentaram mudanças na semente ou na maturidade da planta ou na safra. Com relação à “disseminação”, o notificador afirma que nenhuma mudança na disseminação das sementes era esperada, mas nenhum teste foi feito especificamente para estudar a produção ou dispersão do pólen. No entanto, o notificador assume que é improvável que a frequência de cruzamento do milho GM seja diferente do milho convencional;
- Sobre o parâmetro de avaliação de risco “interações dos OGMs com o meio-ambiente”, nenhuma diferença foi observada nos parâmetros de suscetibilidade para insetos e doenças, capacidade de sobrevivência (voluntários), capacidade de multiplicação de sementes (safra), análise de composição de sementes e segurança para aves e mamíferos;
- A respeito da avaliação de “impactos ambientais dos OGMs”, o notificador levou em consideração o risco de desenvolvimento de resistência da lagarta Broca do Colmo do Milho, o organismo visado pelo milho GM MON 810, e desenvolveu estratégias para destinar e controlar o risco de resistência. Para fornecer a segurança

Informe das medidas de segurança na Áustria

de organismos não visados, dados sobre campos de testes são fornecidos (Apêndice IV). No entanto, os campos de teste europeus ficavam apenas na França e foram designados para ser campos de eficácia e não campos de avaliação de segurança. Além disso, nenhuma indicação da época em que o inseticida foi lançado no milho convencional é dada, e nenhuma avaliação estatística foi feita. Nos campos de teste dos Estados Unidos, apenas outras linhas de GM, que não o MON810, foram usadas em dois dos três anos, e em dois anos, apenas o besouro *Orius sp.* foi avaliado como organismo não visado;

d. Estudos de toxicidade em laboratório usando a proteína Bt isolada foram fornecidos separadamente com apenas um limitado alcance de organismos não visados (abelhas, crisopídeos, himenópteros e joaninhas).

A respeito dos **riscos de saúde**, o dossiê original do milho GM MON810 fornecido pelo notificador (notificação C/F/95/12/02) inclui uma avaliação de possíveis propriedades tóxicas e alergênicas e de equivalência substancial do grão GM. As referências são frequentemente fornecidas em relatórios não publicados que não estão no dossiê⁽¹⁾:

a. Sobre a avaliação de toxicidade, o dossiê inclui um texto de toxicidade aguda em ratos e estudos de digestibilidade in-vitro da proteína CryIA(b). Todos os estudos foram feitos com a variedade de CryIA(b) resistente à tripsina produzida em *E.coli*. Evidências mostrando a equivalência da proteína de teste para a proteína presente no milho foram fornecidas (incluindo peso molecular, imunoreatividade e atividade inseticidal (LEE et al. 1995b). A variedade triptica do CryIA(b) é considerada “idêntica à porção da proteína CryIA(b) contida em formulações microbiais que têm sido usadas comercialmente com segurança por mais de 30 anos (LEE et al. 1995a*)”. Taxas de degradação de mais de 90% dentro de dois minutos (análise western) e de 74 a 90% (atividade inseticidal) foram observadas em simulações de fluido digestivo (REAM 1994*).⁽²⁾ Teste de toxicidade aguda foram feito por 8 ou 9 dias respectivamente, com três grupos de 10 ratos machos e fêmeas (NAYLOR 1992). As doses visadas administradas para as cobaias foram 0, 400, 1000 e 4000 mg/kg de peso corpóreo. Mudanças patológicas observadas foram consideradas para serem distribuídas aleatoriamente. Argumenta-se que essas mudanças foram frequentemente observadas com a linhagem dos ratos usados. Diferenças significativas foram apenas observadas no consumo total de comida (apenas uma cobaia do grupo de controle). Além disso, foram feitos estudos homólogos que não podiam identificar nenhuma “homologia biologicamente significativa” para toxinas conhecidas (ASTWOOD 1995a*).

b. É também argumentado que células intestinais de mamíferos não têm receptores para delta-endotoxinas de *B.thuringiensis* e, portanto, os humanos não estarão suscetíveis a essas proteína (HOFFMANN et al. 1988b*, NOTEBORN e KUIPER 1995*, SACCHI et al. 1986*). Além disso, o dossiê se refere a estudos sobre a segurança de proteínas Bt (IGNOFFO 1973*, SHADDUCK 1983*, SIEGEL e SHADDUCK 1998*), assim como a história do uso seguro de CryIA(b) (EPA 1988*).

c. Em respeito à avaliação de alergenicidade é argumentado que proteínas apenas raramente produzem respostas alérgicas (TAYLOR 1992*), que o organismo fonte, *B. thuringiensis*, não tem histórico de causar alergia (EPA 1995*), que a CryIA(b) não é estável em teste de digestibilidade in-vitro e que alérgenos de alimentos estão normalmente presentes em altas concentrações (TAYLOR 1992*, TAYLOR et al. 1987*, 1992*). Comparações homólogas não revelaram nenhuma homologia “biologicamente significativa” (DOOLITTLE 1990*) nem “imunologicamente significante” (ASTWOOD 1995b*) (critério mínimo usado: 8 aminoácidos contíguos idênticos).

1: Algumas referências nessa subseção (marcadas com asteriscos) foram tiradas do dossiê e não estão incluídas na seção de referências desse informe. Referências completas podem ser obtidas no dossiê original.

2: Em fluidos intestinais simulados, a proteína CryIA(b) não se degradou substancialmente após 19,5 horas. A variedade triptica das proteínas inseticidas do Bacillus mostraram ser relativamente resistentes à digestão por proteases serinas como a tripsina, uma protease chave em fluido intestinal (BIETLOT et al.1989*).

Informe das medidas de segurança na Áustria

A **equivalência substancial** foi reivindicada baseada em análises comparativas de grãos e outros materiais vegetais do MON810 incluindo híbridos baseados no MON810 e contrapartes convencionais. Médias e faixas foram identificadas dentro das faixas de comparação dos convencionais e da literatura. Os campos de teste foram feitos nos Estados Unidos (1994) e Europa (França e Itália, 1995). Nenhum dado sobre aspectos nutricionais e morfológicos foi incluído.

3.1.3 Primeira opinião do Comitê Científico das Plantas (1998)

Em sua opinião de 10 de fevereiro de 1998 sobre o milho GM MON810, o Comitê Científico das Plantas (CSP 1998) chegou às seguintes conclusões a respeito de **aspectos ambientais**:

- a. Sobre a **transferência de genes**, o Comitê concluiu que o risco de escape genético será limitado pela pobre dispersão e a falta de plantas sexualmente compatíveis tanto da mesma como de espécies diferentes. Além disso, a produção de pólen e a viabilidade foram consideradas inalteradas e, portanto, a dispersão e o cruzamento não devem ser diferentes de outras variedades de milho;
- b. Considerando a ocorrência de **voluntários**, o Comitê afirmou que o risco de plantas voluntárias de milho sobreviver é remoto, já que elas podem ser controladas por práticas agrônômicas e herbicidas não seletivos em áreas que não têm geadas no inverno;
- c. Sobre os tópicos de segurança para **organismos não visados**, nenhum risco de efeitos adversos foi identificado em herbívoros não visados, incluindo vertebrados. Riscos para organismos de solo e funcionamento de solo através da degradação de partes do vegetal GM ou riscos através da contaminação de fontes de água subterrânea foram considerados extremamente baixos;
- d. Sobre os **tópicos de resistência e tolerância**, o Comitê remeteu-se à estratégia de controle de resistência proposta pelo notificador.

Sobre os **efeitos na saúde**, o Comitê Científico das Plantas (CSP), em sua opinião datada de 10 de fevereiro de 1998 sobre o milho GM MON810, concluiu que “não há risco significativo para humanos ou animais domésticos com a ingestão do produto do gene” (CSP 1998).

- a. A respeito dos riscos de toxicidade, o Comitê baseou suas informações nas evidências dos estudos curtos e agudos de toxicidade e em estudos homólogos de toxinas conhecidas.
- b. Sobre o risco alergênico, o Comitê remete ao “largo uso de inseticidas naturais Btk” que “não produziu evidências de respostas alérgicas” em estudos homólogos para alérgenos conhecidos. Uma observação crucial foi feita sobre os estudos de digestibilidade da proteína Btk: “a metodologia in vitro, frequentemente aplicada, usada no estudo da sobrevivência da proteína Btk, pode ser melhorada. Em particular, o uso da proteína isolada em estudos de toxicologia não exemplifica de modo adequado a degradação da mesma proteína quando alimentada como uma componente integral da dieta”.

O Comitê concluiu que “nenhuma diferença nutricional significativa pode ser detectada entre materiais GM e não-GM” e que, a respeito do milho MON810, o CSP considera, portanto, que a **equivalência substancial** foi demonstrada exceto para os genes transferidos.

3.1.4 Razões para a proibição do milho GM MON810 pela Áustria

Depois que o consentimento foi dado para a notificação do milho GM MON810 em abril de 1998 (Decisão da Comissão 98/294/EG), a autoridade competente da Áustria decidiu proibir o estabelecimento no mercado da linhagem de milho GM MON810 em 10 de junho de 1999 como medida de segurança, de acordo com o Artigo 16 da Diretriz 90/220/EEC. A objeção da Áustria foi apoiada pelas seguintes razões:

- a. Possíveis efeitos não intencionais da toxina Bt em **insetos não visados**: efeitos adversos relatados em microartrópodes de solo, *Folsomia candida* (EPA 1995), em larvas de *Chrysoperla carnea* (HILBECK et al. 1998a), em parasitóides braconídeos cultivados em hospedeiros Bt tratados (HAFEZ et al. 1997) e em borboletas não visadas (LOSEY et al. 1999);

Informe das medidas de segurança na Áustria

- b. Incerteza sobre a **eficácia da estratégia de refúgio** para prevenir o desenvolvimento de resistência Bt na Broca do Colmo do Milho_(HUANG et al. 1999);
- c. Efeitos em outras plantas Bt., por exemplo o algodão Bt cry1Ab na Austrália, como o aumento de **pragas secundárias** e consequentemente o uso adicional de produtos para proteção vegetal sintéticos (FITT et al. 1994, HARDEE & BRYAN 1997, ROUSH 1997);
- d. Incerteza sobre a especificidade de plantas Bt (HILBECK et al. 1998b)

Na sua objeção de 1998, a Áustria focou-se em preocupações ambientais e não citou explicitamente preocupações com a saúde humana (BMGF 1998b).

No entanto, num comunicado subsequente para a Comissão datado de janeiro de 2004 (BMGF 2004a), a Áustria reiterou suas objeção ao milho GM MON810, assim como às linhas de milho GM Bt176 e T25. A carta também resumiu os principais pontos de preocupação. Ela levantou considerações adicionais sobre as propriedades alergênicas de proteínas Bt (relevantes para o MON810). Além disso, defeitos gerais em avaliações de alergenicidade e toxicidade sob a Diretriz 2001/18/EC e sob a Nova Regulamentação de Alimento enfatizaram o não cumprimento dos requerimentos do Anexo II da Diretriz 2001/18/EC.⁽³⁾

Em suas objeções, a Áustria também se valeu do princípio de precaução.

Em fevereiro de 2004, a AC da Áustria submeteu um sumário de evidências de apoio e a literatura original nela citada para a Comissão Europeia usar no Encontro de Discussão da OMC em 14 de janeiro de 2004. As objeções levantadas anteriormente (BMGF 1998a, 1998b) foram reiteradas (BMGF 2004b). Além disso, o BMGF criticou as avaliações de risco de alergenicidade e toxicidade ao longo do texto de SPÖK et al. 2002. Estudos de digestibilidade usando proteínas de teste microbiais não foram considerados apropriados porque a modificação pós-translacional poderia possivelmente afetar as propriedades ou funções da proteína (WÄTZIK et al. 2002).

3.1.5 Segunda opinião do Comitê Científico das Plantas (1999)

Na opinião do Comitê Científico das Plantas de 24 de setembro de 1999 sobre a proibição pela Áustria do milho MON810, o Comitê comentou os argumentos citados pela autoridade competente (AC) austríaca na sua proibição (CSP 1999):

- a. Sobre os possíveis efeitos não intencionais em **insetos não visados**, ele disse que os resultados de estudos em laboratório são difíceis de serem interpretados e extrapolam as condições do campo, e que tal interpretação precisa ser vista em comparação com a avaliação de risco de alternativa. Ele afirmou que um trabalho complementar precisa ser feito para investigar e verificar tais efeitos no campo;
- b. Considerando a **eficácia da estratégia de refúgio**, o Comitê enfatizou que falou a respeito do estabelecimento de refúgios não-Bt, mas destacou que, de acordo com a esperada lenta introdução na Europa, as plantações de Bt podiam ser cercadas por “refúgios naturais” por algum tempo;
- c. O Comitê afirmou que o monitoramento também é necessário para cobrir **pragas secundárias**;
- d. Em relação à **não especificidade de plantas Bt**, o Comitê admitiu que o milho GM tem o potencial para ser tóxico para certas espécies de lepidópteros e concluiu que esse assunto precisa ser tratado espécie por espécie. No entanto, o Comitê também afirmou que campos cultivados não são considerados tão importantes como áreas reprodutivas para espécies lepidópteros e que plantas alimentos são pouco prováveis de serem expostas a quantidades significativas de pólen.

Em acordo com o escopo do documento austríaco de 1998 sobre preocupações ambientais, a opinião do CSP de 24 de setembro de 1999 não considerou aspectos de saúde humana ou equivalência substancial (CSP 1999).

Referring to SPÖK et al.2002, 2003a, b.

3.1.6 Opiniões do Painel da EFSA sobre OGMs (2004 e 2006)

Em 2004, o painel da EFSA (Autoridade Europeia sobre Segurança Alimentar) sobre OGMs respondeu a um pedido da Comissão Europeia questionando se os documentos da Áustria conteriam “alguma informação nova ou adicional que afete a Avaliação de Risco Ambiental ou reavalie informações existentes com base em novo ou adicional conhecimento científico em graus detalhados para considerar que o OGM acima autorizado constitua um risco para saúde humana ou meio ambiente” e emitiu uma opinião sobre a medida de segurança austríaca, de acordo com o Artigo 23 da Diretriz 2001/18/EC (EFSA 2004).

Essa opinião também considerou as informações adicionais dadas pela Áustria em fevereiro de 2004 para apoiar a medida de segurança. A informação adicional continha a inclusão de quatro estudos científicos (MORIN et al. 2003, ZWAHLEN et al 2003a, ZWAHLEN et al. 2003b, SAXENA et al. 2002), assim como vários trechos de conferências.

O Painel da EFSA sobre OGMs chegou às seguintes conclusões:

- a. A primeira publicação (MORIN et al. 2003) não foi considerada relevante para o MON810 porque se relacionava à toxina Cry1Ac. As publicações de ZWAHLEN et al. (2003a, 2003b) foram descartadas por não terem investigado os efeitos em organismos não visados. O Painel afirmou que as outras publicações não mostraram que a persistência de toxinas Bt não ocorre (HOPKINS & GREGORICH 2004). O terceiro estudo, de SAXENA et al. (2002), não teria demonstrado qualquer evidência de efeitos adversos na toxina Bt em organismos de solo não visados devido à liberação dessas toxinas por raízes de milho Bt. Por fim, os trechos de conferências fornecidos pela Áustria não foram considerados válidos do ponto de vista científico;
- b. Além disso, o Painel afirmou que, em relação ao impacto da toxina Bt em **organismos não visados**, cenários prévios se provaram irrelevantes em laboratório e campos de teste. O Painel se referiu à literatura mostrando que a toxina Bt não tem efeito direto nas larvas de crisopídeos (ROMEIS et al. 2004) e afirmando que muitos artrópodes não são sensíveis ao Cry1Ab (DUTTON et al. 2003). O Painel afirmou, ainda, que os campos de teste na França não apresentaram efeitos em espécies não lepidópteras, citando BOURGUET et al. (2002), e que o impacto do pólen de milho Bt nas populações de borboletas monarca foi sugerido como desprezível (SEARS et al. 2001);
- c. Sobre o **desenvolvimento de resistência** de pragas visadas, o Painel usou dados da plantação de milho Bt na Espanha que havia mostrado nenhuma mudança de suscetibilidade depois de cinco anos de cultivo de milho Bt (FARINOS et al. 2004).

Consequentemente, o Painel concluiu que a evidência apresentada pela Áustria continha nenhuma nova informação genérica ou científica local do impacto no ambiente do milho citado.

No relatório da evidência apresentada pela Áustria, a EFSA discutiu apenas evidências enviadas para sustentar as preocupações ambientais da Áustria. O Painel dispensou a evidência levada pela Áustria que analisa criticamente e avalia a autenticidade da avaliação de toxicidade, avaliação de alergenicidade e a prática de equivalência substancial num número da Diretriz 90/220/EEC e dossiês da Nova Alimentação (SPÖK et al. 2002, 2003a, 2003b).⁽⁴⁾ O Painel corretamente discorreu sobre o caráter de objetivos gerais dos documentos, mas parece ter mal avaliado os relatórios bastante detalhados e importantes sobre as avaliações de risco fornecidas nos dossiês do milho MON810 (assim como no milho T25)

A EFSA apontou uma reavaliação de quatro eventos Bt pela EPA em 2001 (MENDELSON et al. 2003), que, entre outras coisas, reassegurou a falta de qualquer preocupação com a saúde humana em relação a testes de toxicidade aguda, estudos de digestibilidade e comparações homólogas para toxinas conhecidas.

⁽⁴⁾ “Três documentos da Áustria [...] investigaram os requerimentos para avaliações de segurança relacionados à alergenicidade e toxicidade de plantas geneticamente modificadas e produtos delas derivados para consumo humano e/ou animal. Os resultados e recomendações de dois desses estudos têm a intenção de contribuir para a discussão nacional e internacional sobre as melhorias na avaliação de segurança de produtos GMs. [...] Os três estudos não fornecem qualquer novo dado científico para indicar efeitos adversos na saúde de animais e homens ou no meio ambiente por causa dos milhos Bt176, MON810 e T25.” (EFSA 2004)

Informe das medidas de segurança na Áustria

Em 2006 uma segunda opinião do Painel sobre OGMs da EFSA, relativo a várias plantações GMs sujeitas a medidas de segurança, foi publicado (EFSA 2006), seguindo um pedido do Conselho de Ministros do Meio Ambiente ⁽⁵⁾. Em sua opinião, a EFSA reavaliou todas proibições de importação que ainda havia em 2006. A EFSA explicitamente afirmou que não reavaliaria os dossiês dos pedidos originais mesmo se eles obedecessem aos mais recentes requerimentos de segurança descritos na Diretriz 2001/18/EC, no Regulamento 1829/2003 e no Documento de Direção da EFSA.

Particularmente, a EFSA considerou seu escopo para reavaliações se “há alguma razão científica para acreditar que o estabelecimento contínuo no mercado de OGMs sujeito a cláusulas de segurança pode causar algum efeito adverso na saúde humana ou no ambiente sob as condições de consentimento” (EFSA 2006).

Essa opinião contém os seguintes argumentos em relação às justificativas da invocação do Artigo 16 da Diretriz 90/220/EEC.

Em relação ao milho GM MON810, o Painel afirmou que avaliou os dados disponíveis de vários híbridos com MON810 e que nenhum impacto adverso no ambiente foi encontrado desses híbridos ou um milho que expressa Cry1Abcomparável. O Painel também citou vários estudos que indicam que efeitos adversos significativos ao ambiente resultantes do cultivo de milho Bt são improváveis.

Em referência às suas avaliações do milho MON810 em aplicações híbridas no contexto tanto da Diretriz 2001/18/EC como no Regulamento 1829/2003, a EFSA também reitera a segurança dos produtos de uma maneira bem geral.

“Nesse contexto [as aplicações híbridas], o Painel sobre OGMs reavaliou a caracterização molecular do evento MON810 junto com dados dos níveis de proteína Cry1Ab, análise composicional e avaliações de toxicidade e alergenicidade para os respectivos híbridos. Adiante, o Painel sobre OGMs avaliou dados disponíveis da literatura sobre os impactos ambientais doCry1Ab” (EFSA 2006).

Em relação às preocupações com a saúde humana, apenas o caso do gene blaTM-1 foi rapidamente discutido. Em sua opinião, a EFSA nem mencionou qualquer nova evidência trazida pelos Estados Membros seguindo sua opinião de 2004, nem apresentou nova literatura científica de domínio público. O Painel reafirmou suas conclusões previamente apresentadas na opinião de 2004 (EFSA 2006).

3.1.7 Relatório do Painel da OMC – comentários de cientistas especializados sobre o Painel

No relatório da OMC, um pequeno grupo de especialistas trouxe embasamento científico para questões deixadas pelo Painel em vários assuntos. Algumas questões tocavam as medidas de segurança da Áustria. As seguintes contestações miraram em questões relevantes, deram respostas através de uma abordagem bastante equilibrada e chegaram a conclusões acuradas baseadas em análises detalhadas por especialistas com conhecimento científico relevante em seus respectivos assuntos. A Comissão Européia afirmou que, considerando esses requerimentos, as contestações do Dr. Andow, um dos especialistas do Painel da OMC, proporcionaram especificamente uma valiosa evidência científica para ser levada em conta (EC 2005).

O Dr. Andow considerou profundamente as justificativas individuais dadas pela Áustria em sua proibição ao milho MON810. Em particular, ele forneceu informações sobre a disponibilidade de evidência científica suficiente disponível na Áustria em junho de 1999 e em agosto de 2003 para responsabilizar-se por uma avaliação mais objetiva dos riscos potenciais ao ambiente do milho MON810 (OMC 2006).

⁽⁵⁾ “[O conselho] chama a Comissão para reunir mais evidências científicas e para reavaliar se as medidas de segurança são justificadas e se a autorização desses OGMs sob a 90/220/EEC ainda obedece aos requerimentos de segurança da Diretriz 2001/18/EC” (EFSA 2006).

Informe das medidas de segurança na Áustria

- a. O Dr. Andow afirmou que em 2003 a Áustria poderia dizer com razão que não havia informação suficiente para saber quais **organismos não visados** poderiam estar sob risco e, portanto, uma avaliação de risco objetiva não era possível. Ele se referiu às descobertas de SZEKACS & DARVAS de 2003 (referência não indicada) que mostraram que duas borboletas comuns em áreas de agricultura poderiam estar sob risco. Ele enfatizou que nem todas as espécies não visadas sob risco com o MON810 foram identificadas na Europa. O Dr. Andow afirmou que os seguintes pontos não foram refletidos na opinião da CSP: em primeiro lugar, avaliações adicionais deveriam ser feitas em crisopídeos e borboletas monarca para determinar a relevância no campo, já que o alvo de um protocolo de avaliação de risco é expor organismos a concentrações maiores do que as esperadas no campo. Portanto, experiências positivas em estudos de laboratório deveriam passar por avaliações adicionais. Tanto crisopídeos como borboletas monarca foram adversamente afetadas pela toxina Cry1Ab em experiências de laboratório. Em segundo lugar, a especificidade da toxina Cry1Ab parece ser mais ampla do que previamente esperado;
- b. Em relação ao risco para **organismos de solo**, o Dr. Andow discutiu alguns aspectos específicos que foram deixados de lado pela CSP. Primeiro, as taxas reais e processos de degradação para grandes proteínas em solos são pobremente conhecidas. Segundo, a carga de toxina Bt em campos de milho pode ser substancial, o que torna possível a ocorrência de efeitos de grande escala. Terceiro, é sabido que a toxina Bt no solo pode causar efeitos adversos em minhocas;
- c. Em relação ao **controle e risco de resistência**, Dr. Andow afirmou que os seguintes pontos não foram refletidos na opinião do CSP. Primeiro, a taxa de penetração no mercado do milho Bt é mais rápida do que o previsto nos Estados Unidos, o que contradiz a previsão da CSP que a penetração no mercado seria lenta. Segundo, a resistência se desenvolve localmente e portanto os refúgios precisam estar disponíveis onde quer que o milho Bt seja usado localmente; refúgios precisam existir desde o início do cultivo de milho Bt. O controle de resistência é de responsabilidade de cada fazendeiro que usa o milho Bt e cada um deles deve ser convocado para implantar medidas que melhorem os refúgios.

3.1.8 Referências

BMGF (2004a). Carta do BMGF para a Comissão Europeia, 9 de fevereiro de 2004.

BMGF (2004b). Contribuição Austríaca para o Encontro da Discussão da OMC, 14 de janeiro de 2004, Bruxelas.

BMGF (1998a). Razões para a decisão da República da Áustria em proibir o estabelecimento no mercado de linhas milho GMs T25, notificado pela AgrEvo France (agora Aventis), seguindo a Diretriz 90/220/EEC, autorização dada pela Comissão Europeia em 22 de abril de 1998 e pela República da França em 3 de agosto de 1998.

BMGF (1998b). Razões para a decisão da República da Áustria em proibir o estabelecimento no mercado de linhas milho MON810, notificado pela Monsanto Europe AS ed by Monsanto Europe SA seguindo a Diretriz 90/220/EEC e com autorização dada pela República da França em 5 de agosto de 1998.

BOURGUET D., CHAUF AUX J., MICOUD A., DELOS M., NAIBO B., BOMBARDES F., MARQUE G., EYCHENNE N. & C. PAGLIARI (2002). *Ostrinia nubilalis parasitism and the field abundance of non-target insects in transgenic B.t. corn (Zea mays)*. Env. Biosafety Res. 1: 49-60.

DUTTON A., ROMEIS J. & F. BIGLER (2003). *Assessing the risks of insect resistant transgenic plants on entomophagous arthropods: Bt-maize expressing Cry1Ab as a case study*. BioControl 48: 611-636.

EC (2005). Comentários das Comunidades Europeias nos Conselhos Científicos e Técnicos ao Painel. Genebra, 28 de janeiro de 2005. Em: WTO "European Communities: Measures Affecting the Approval and Marketing of Biotech Products (DS291, DS292, DS293)". Relatório final do Painel, WT/DS291/FINAL, WT/DS292/FINAL,

WT/DS293/FINAL, 2006.EFSA (2004). Opinião do Painel Científico sobre Organismos Geneticamente Modificados a pedido da comissão relacionados à invocação pela Áustria do Artigo 23 da Diretriz 2001/18/EC (Question No EFSA-Q-2004-062). Opinião adotada em 8 de julho de 2004. The EFSA Journal 78: 1-13.

Informe das medidas de segurança na Áustria

- EFSA (2006). Opinião do Painel Científico sobre Organismos Geneticamente Modificados a pedido da comissão relacionados a plantações geneticamente modificadas (milho Bt176, milho MON810, milho T25, canola Topas 19/2 e canola Ms1xRf1) sujeitos a cláusulas de segurança invocadas de acordo com o Artigo 16 da Diretriz 90/220/EEC (Question No EFSA-Q-2005-294). Opinião adotada em 29 de março de 2006. The EFSA Journal 338: 1-15.
- EPA (1995). *Bacillus thuringiensis CryIA(b) delta-endotoxin and the genetic material necessary for its production (plasmid vector pCIB4431) in corn*. EPA Pragaicide Fact Sheet.
- FARINOS G. P., DE LA POZA M., HERNANDEZ-CRESPO P., ORTEGO F. & P. CASTANERA (2004). *Resistance monitoring of field populations of the corn borers Sesamia nonagrioides and Ostrinia nubilalis after 5 years of Bt maize cultivation in Spain*. Ent. Exp. Appl. 110: 23-30.
- FITT G. P. et al. (1994). *Biocontrol Science and Technology* 4: 535-548.
- HAFEZ M. et al. (1997). *Journal of Applied Entomology* 121: 535-538.
- HARDEE D. D. & W. W. BRYAN (1997). *Journal of Economic Entomology* 90: 663-668.
- HILBECK A. et al. (1998a). *Environmental Entomology* 27: 1-8.
- HILBECK A. et al. (1998b). *Environmental Entomology* 27: 1255-1263.
- HUANG F. et al. (1999). *Revista Science* 284: 965-967.
- LOSEY J. E. et al. (1999). *Revista Nature* 399: 214.
- MENDELSON M., KOUGH J., VAITUZUIS Z. & K. MATTHEWS (2003). *Are Bt crops safe? Nature Biotechnology*. 21: 1003-1009.
- ROMEIS, J., DUTTON A. & F. BIGLER (2004). *B.t. toxin (CryIAb) has no direct effect on larvae of the green lacewing Chrysoperla carnea*. J. Insect Physiol. 50: 175-183.
- ROUSH R. T. (1997). *Pragaicide Science* 51: 816-817.
- SCP (1998). Opinião do Comitê Científico das Plantas sobre as linhas de milho geneticamente modificadas para resistência a insetos protocoladas pela empresa Monsanto (Notificação C/F/95/12/02). Opinião enviada pelo Comitê Científico das Plantas em 10 de fevereiro de 1998. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scp/out02_en.html.
- SCP (1999). Opinião do Comitê Científico das Plantas na invocação pela Áustria do Artigo 16 (cláusula de segurança) do Conselho Diretivo 90/220/EEC a respeito do estabelecimento no mercado no milho geneticamente modificado da Monsanto (MON810) expressando o gene Bt CryIA(b), notificação C/F/95/12-02. Opinião expressa pelo Comitê Científico das Plantas em 24 de setembro de 1999. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scp/out49_en.html.
- SEARS M. K., HELLMICH R. L., STANLEY-HORN D. E., OBERHAUSER K. S., PLEASANTS J. M., MATTILA H. R. SIEGFRIED B. D. & G. P. DIVELY (2001). *Impact of Bt corn pollen on monarch butterfly populations. A risk assessment*. PNAS 98: 11937-11942.
- SPÖK A., HOFER H., LEHNER P., VALENTA R., STIRN S. & H. GAUGITSCH (2004). *Risk Assessment of GMO Products in the European Union. Toxicity assessment, allergenicity assessment and substantial equity practice and proposals for improvement and standardisation*. Vienna Umweltbundesamt 2004 Reports Vol 253. http://www.umweltbundesamt.at/publikationen/publikationssuche/publikationsdetail/?&pub_id=1531; also published as Vol 7-04 in the series of the Federal Ministry of Health and Women (BMGF). Vienna BMGF. http://www.bmgf.gv.at/cms/site/attachments/6/8/7/CH0255/CMS1090828056047/risk_assessment_of_gmo_products-bmgf-layout.pdf.

Informe das medidas de segurança na Áustria

SPÖK A., HOFER H., VALENTA, R., KIENZL-PLOCHBERGER K., LEHNER P. & H. GAUGITSCH (2003a). *Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten - Teil 2A. Untersuchungen zur Praxis und Empfehlungen zur Standardisierung der Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Lebensmitteln*. Monographien 164A, Wien Umweltbundesamt.

SPÖK A., KARNER S., STIRN, S. & H. GAUGITSCH (2003b). *Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten - Teil 2B. Untersuchungen von Regelungen zur Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Lebensmitteln in der EU und den USA*. Monographien 164B, Wien Umweltbundesamt.

SPÖK A., HOFER H., VALENTA R., KIENZL-PLOCHBERGER K., LEHNER P. & H. GAUGITSCH (2002). *Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten. Empfehlungen zur Standardisierung der Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Produkten auf Basis der Richtlinie 90/220/EWG/ (2001/18/EG)*. Monographien 109 Wien Umweltbundesamt.

WÄTZIG H., HILLE J., OHNESORGE J. & M. GRAF (2002). Dem Proteom auf der Spur. *Pharmazeutische Zeitung* 147 (8): 560-565.

WTO (2006): *European Communities: Measures Affecting the Approval and Marketing of Biotech Products* (DS291, DS292, DS293). Final Report of the Panel; Annex H (Replies by the scientific experts advising the Panel to the questions posed by the Panel); http://www.wto.org/english/news_e/news06_e/291r_e.htm

3.2 Milho GM T25

3.2.1 Introdução

Um pedido de autorização para o milho geneticamente modificado T25 de acordo com a Diretriz 90/220/EC (notificação C/F/95/12/07) foi enviado em 1996 pela AgrEvo France para a autoridade competente na França. O identificador único T25 é resultado de uma modificação genética com o gene PAT, derivado da bactéria *Saccharomyces viridochromogenes*, a replicação bacteriana origem ori-Puc e um fragmento truncado do gene bacteriano Amp^R. O gene PAT codifica a enzima fosfinotricina acetil transferase que catalisa a conversão de fosfinotricina (PPT), o ingrediente ativo do glufosinato-amônio, para uma forma inativa, conferindo, portanto, tolerância ao herbicida. O milho T25 foi protocolado para ser usado com fins de retrocruzamentos e produção de sementes de variedades e híbridos, cultivo, importação de grãos para alimentação e fins alimentícios, assim como uso industrial.

Após uma opinião favorável do Comitê Científico das Plantas em 1998, a autorização foi dada para entrada no mercado do milho geneticamente modificado (GM) T25. (Decisão da Comissão de 22 de abril de 1998). Subsequentemente, o estabelecimento no mercado desse milho foi proibido pela autoridade competente da Áustria em abril de 1998. Em 2001, o Comitê Científico das Plantas divulgou um segundo parecer positivo sobre o milho GM T25 substituindo o parecer original de 1998.

O Comitê Científico das Plantas, em 2000 e em 2001, e o Painel sobre OGMs da EFSA, em 2004 e 2006, emitiram opiniões sobre a medida de segurança da Áustria no milho T25. No relatório científico do Painel da OMC, cientistas especializados comentaram as razões científicas para a proibição das importações impostas pela Áustria. Os capítulos a seguir irão descrever rapidamente as principais informações ou argumentos incluídos nesses documentos.

3.2.2 Informação do dossiê original

O dossiê original do milho geneticamente modificado para tolerância a herbicidas (GHMT) T25 fornecido pelo notificador (notificação C/F/95/12/07) continha uma **avaliação de risco ambiental** que pode ser resumida nos seguintes pontos:

- a. Sobre “Sobrevivência, Multiplicação e Disseminação do OGM no Ambiente”, o notificador forneceu informações de características agrônomicas como morfologia da planta, contagem de germinação, voluntários, tempo de floração, taxa de germinação, altura da planta, altura da espiga, período de liberação de pólen e florescimento, danos causados por aplicações químicas, alojamento da raiz e do caule, tanto qualitativamente como quantitativamente. Todas as comparações desses parâmetros não mostraram diferenças entre plantas GM e plantas não GM. Além disso, o notificador avaliou características de doenças e pragas em campos de testes nos Estados Unidos de 1992 a 1994, mas não encontrou diferenças;
- b. Com relação ao parâmetro de avaliação de risco “Interações dos OGMs com o ambiente”, o notificador incluiu informações sobre campos de testes nos Estados Unidos desde 1992 e na Europa (França). O notificador afirmou que nenhuma alteração nos níveis de população de insetos benéficos, pássaros ou outras espécies foi encontrada, embora no Apêndice citado (Apêndice 13) nenhum dado do gênero é fornecido;
- c. Na avaliação de “Possibilidade do GMHP se tornar mais persistente ou mais invasivo”, o notificador conclui que a transformação com o gene PAT não alterou essas características do milho;
- d. Na avaliação do parâmetro “impacto nas práticas de agricultura”, o notificador afirmou que uma boa eficácia pode ser alcançada com uma ou duas aplicações na ordem de 150-450 g/ha de glufosinato-amônio. O notificador depois concluiu que o milho tolerante ao glufosinato irá fornecer uma valiosa nova ferramenta de controle de ervas espontâneas para produtores de milho, não exclusiva de outros herbicidas. No entanto, os dados fornecidos dão uma indicação de que aconteceram problemas de eficiência para algumas ervas espontâneas nos testes (Apêndice 12, páginas 588 e 630) e uma resposta profunda das ervas espontâneas ao novo método não foi avaliada. Com relação aos voluntários, o notificador afirmou que a prática de controle de ervas espontâneas na rotatividade do cultivo não será modificada com a introdução do milho GM.

Sobre os **efeitos na saúde**, o dossiê original do milho geneticamente modificado para tolerância a herbicidas (GHMT) T25 proposto pelo notificador (notificação C/F/95/12/07) incluiu uma avaliação de possíveis riscos tóxicos e propriedades alergênicas e a equivalência substancial da planta GM⁽⁶⁾:

- a. Com relação à avaliação de toxicidade, o dossiê incluiu um estudo de toxicidade oral de 14 dias de doses repetidas em rato (o relatório completo está no dossiê) e estudos in-vitro de digestibilidade usando a proteína PAT (RCC 1996*, rascunho de relatório incompleto, submetido como completo ao relatório durante o processo de pesquisa). O estudo foi conduzido de acordo com Orientação 407 da OECD (1995). Quatro grupos de cinco ratos machos e cinco fêmeas foram alimentados com 50.000 e 5.000 ppm, representando 1.000 ou 100 doses dobradas comparadas à exposição normal esperada. Diferenças detectadas (baixa do nível de glicose num grupo de machos, níveis de colesterol e fosfolípidos levemente mais altos em três grupos e níveis de triglicérides levemente mais altos num grupo de fêmeas) foram interpretadas como relacionadas à composição da dieta (em parte porque alguns efeitos também foram observados num grupo onde a proteína PAT não havia sido administrada). Um estudo de toxicidade também foi feito num metabólito de fosfinotricina, o Nacetyl-glufosinato (sumário incluído no dossiê)⁽⁷⁾.

⁶ Algumas das referências nessa subseção (marcadas com asteriscos) foram tiradas no dossiê e não incluídas na seção de referência desse informe. As referências completas podem ser obtidas no dossiê original.

⁷ Considerado fora do escopo desse informe.

Informe das medidas de segurança na Áustria

O teste de proteína foi feito usando o *E. Coli* (e para estudos de digestibilidade in-vitro também foram usadas proteínas cruas extraídas das folhas de milho T14[§]). As evidências mostrando a equivalência da proteína de teste para a proteína encontrada no milho foram fornecidas (incluindo peso molecular, imunoreatividade e atividade inseticida).

A proteína PAT mostrou-se instável tanto ao calor quanto ao ácido (SCHULZ 1993*, incluído no dossiê). A proteína foi sendo degradada nos estudos in-vitro usando sucos gástricos de suínos, frangos e gado (SCHNEIDER 1993*, SCHULZ 1993b*, sumários incluídos no dossiê). A degradação no pH 1,5 foi completa após uma hora (simulando fluidos de suíno, frango e enzima do estômago de bezerros) e fica mais longa em pHs mais altos (simulando a digestão no abdômen). A inativação da proteína PAT presente num extrato cru de proteína de canola foi rápida, 100% depois de 2,5 minutos de tratamento com enzima do estômago de bezerros e 90% após 30 minutos no sistema bovino. Esses resultados foram considerados relevantes para o T25, já que a mesma proteína está presente em ambas as plantas GM (SCHULZ 1994c*, incluído no dossiê). A degradação também foi demonstrada em fluidos gástricos simulados (SCHULZ 1994d*, relatório completo não incluído no dossiê) e foi observada aos 5 segundos (para proteína PAT pura) e 1 minuto (para extrato cru de proteína de folhas de T14). A inativação 100% foi observada após três minutos (apenas para o extrato cru de proteína; o puro de PAT não foi testado).

b. Com relação à avaliação de alergenicidade, as evidências apresentadas mostraram que não havia causas de glicosilação na sequência da proteína PAT. Comparações de sequência da proteína PAT para as bases de dados de sequências não revelaram nenhuma homologia significativa para toxinas ou alérgenos conhecidos (ECKES 1994*, incluído no dossiê). A inalação foi explicitamente não considerada como rota relevante de exposição porque a proteína PAT não aparece no pólen.

A **equivalência substancial** foi pedida com base nas análises comparativas de ensilagem e grãos de quatro linhas transgênicas e quatro controles isogênicos. A análise composicional foi baseada em campos de testes nos Estados Unidos (2 campos em 1994) e na Europa (5 campos na França, 1995) (relatórios completos no dossiê). Características agrônomicas, taxas de germinação, tempo de floração, características de doenças e pragas foram parcialmente considerados nos estudos comparativos.

3.2.3 Parecer do Comitê Científico das Plantas (1998, 2001a)

Em seu parecer de 10 de fevereiro de 1998, o Comitê Científico das Plantas avaliou os possíveis **riscos ambientais** citados na notificação do milho T25 (CSP 1998):

a. O Comitê concluiu que havia um limitado risco de escape do milho GMHT T25 graças à baixa dispersão, assim como a falta de parentes selvagens sexualmente compatíveis. Como não há PAT ativo detectável no pólen, a dispersão e a frequência de cruzamento foi considerada como não diferente de outros milhos.

Portanto, o risco de **transferência genética** foi considerado remoto;

b. Com relação ao risco de **voluntários GM**, o Comitê concluiu que qualquer voluntário sobrevivente poderia ser controlado por práticas agrônomicas e pelo uso de herbicidas alternativos não seletivos em áreas livres de geadas de inverno. Portanto, o risco de plantas de milho voluntárias sobreviver foi considerado remoto;

c. Sobre os riscos para **organismos não visados**, o Comitê concluiu que não havia diferenças qualitativas na susceptibilidade de milho GM T25 e não GM a insetos e doenças. No entanto, o Comitê admitiu que nenhum dado direto dos experimentos em campos de testes foi dado pelo notificador. Riscos para organismos de solo ou funções de solo por meio da degradação de material da planta ou risco de contaminação de fontes de água subterrânea foram considerados extremamente baixos, embora nenhum dado de como o Comitê chegou a essa conclusão tenha sido apresentado;

d. Os dados de **resistência e tolerância** forma considerados não problemáticos para o Comitê devido ao baixo risco de transferência de genética do milho GM para outras plantas.

[§] Outro transformante do mesmo evento de transformação do T25. No entanto, o T14 contém três cópias do pat gene em oposição ao T25, que contém uma cópia.

Informe das medidas de segurança na Áustria

A respeito dos **riscos de saúde**, o Comitê Científico das Plantas concluiu que “não há risco significativo para humanos ou animais domésticos com a ingestão do produto do gene” (CSP 1998).⁽⁹⁾:

- a. Sobre a avaliação de toxicidade, o Comitê baseou suas conclusões em testes de toxicidade aguda, no organismo não patogênico fonte *Streptomyces viridochromogenes* e em estudos com alimentadores de frango alimentados com milho T25 (nenhum efeito na performance de crescimento e composição do corpo);
- b. Sobre a avaliação de alergenicidade, o Comitê rascunhou comparações homólogas com alergias conhecidas. O Comitê, no entanto, mencionou criticamente que “a metodologia in vitro usada para estudar a sobrevivência do PAT pode ser melhorada. Similarmente, um das proteínas usadas nos estudos de toxicidade não se modelou adequadamente à degradação da mesma proteína quando alimentada como parte integral da dieta”.

O Comitê considerou o milho T25 como **substancialmente equivalente** com suas contrapartes não GM, exceto pelo traço introduzido. A composição nutricional e fatores anti-nutricionais naturais foram considerados dentro do espectro normal. Portanto, a introdução do gene PAT “não parece causar nenhum efeito pleiotrópico negativo nas características da planta relevantes para sua segurança para o consumo animal e humano.”

Com o parecer de 5 de setembro de 2001 (CSP 2001a), o Comitê Científico das Plantas substituiu sua opinião prévia de 10 de fevereiro de 1998.

Com relação à avaliação de risco ambiental, transferência genética, voluntários, organismos não visados e resistência/tolerância, permaneceu inalterado do parecer de fevereiro de 1998.

Com relação à avaliação de riscos para a saúde, o CSP reiterou largamente suas conclusões de fevereiro. Uma crítica adicional foi levantada ao uso da proteína isolada nos estudos de toxicidade, o que “não se modela adequadamente à degradação da mesma proteína quando alimentada como paraenteral da dieta.”⁽¹⁰⁾

3.2.4 Razões para a proibição do milho GM T25

Depois que a autorização foi dada ao milho GMHT T25 pela Comissão Europeia em Abril de 1998 (EC 1998), a Áustria proibiu a importação do milho T25 (28 de abril de 2000) de acordo com o Art. 16 da Diretriz 90/220/EEC. Aspectos de saúde, no entanto, não foram explicitamente mencionados nas razões fornecidas pelas autoridades austríacas (BMGF 1998a). Considerando apenas aspectos ambientais, os pontos principais apoiando o fim das importações foram os seguintes:

- a. **Condições realistas do uso do herbicida** e práticas agrícolas correspondentes não foram usadas durante o processo de avaliação do T25. A planta geneticamente modificada deveria ser avaliada separadamente, sem o uso de herbicida. Se o uso de herbicida for inadequado ou muito alto, então há risco de desenvolvimento de espécies daninhas resistentes;
- b. **Efeitos de longo prazo** do uso do herbicida não deveriam ser avaliados de forma independente da respectiva planta GMHT e os efeitos de longo prazo do glufosinato de amônio na combinação com o milho GMHT T25 não foram investigados totalmente. Não havia um **programa de monitoramento** previsto, nem na notificação, nem na permissão, especialmente no que se refere a possíveis efeitos de longo prazo. Se a notificação foi enviada de acordo com a nova e revisada Diretriz 2001/18/EC, isso teria permitido uma visão integrada do uso de herbicida com o milho GMHT, assim como possíveis efeitos de longo prazo.

⁹ O parecer também incluiu avaliações de resíduos de herbicidas como um fato para a saúde do homem e de animais, além da transferência genética de células humanas ou animais e microorganismos intestinais. Isso, no entanto, foi considerado fora do escopo para esse informe.

¹⁰ Veja nota 9.

Informe das medidas de segurança na Áustria

- c. Uma avaliação de **aspetos regionais** do uso de herbicidas deveria ser considerada. O uso de plantas tolerantes a herbicidas deveria considerar características regionais, especialmente em áreas onde o uso de herbicidas é realmente necessário. Sobre a “boa prática de agricultura”, o uso de herbicidas em dosagem muito alta ou de forma localmente inadequada poderia ser evitado para minimizar o risco de desenvolvimento de resistência em ervas espontâneas. Adicionalmente, as condições de aprovação não previram a proteção de **áreas ecologicamente sensíveis**. Para esse argumento, o estudo de HOPPICHLER (1999) foi citado. O uso em longo prazo de plantas tolerantes a herbicidas foi considerado ameaçador para áreas ecologicamente sensíveis e essas áreas deveriam ter sido estudadas nos procedimentos de risco de avaliação;
- d. Um ponto importante foi o risco de contaminação do milho convencional – o **fator coexistência**.

3.2.5 Parecer do Comitê Científico das Plantas (2000, 2001b)

Em seu parecer de 30 de novembro de 2000, o Comitê Científico das Plantas respondeu à invocação pela Áustria do Artigo 16 da Diretriz 90/220/EEC (CSP 2000). O Comitê afirmou que o documento austríaco não continha nenhuma nova informação científica de relevância em relação à avaliação de risco original. De acordo com o escopo de razões fornecidas pela Áustria, o Comitê não discutiu qualquer assunto relacionado aos riscos de saúde ou equivalência substancial.

- a. Em relação à possível **transferência genética** do traço tolerante a herbicida para espécies selvagens, o Comitê afirmou que a possibilidade de transferência genética seria remota. A transferência genética não foi considerada como uma questão de biodiversidade e a transferência da tolerância ao herbicida do milho para o ambiente foi considerada extremamente improvável. Além disso, foi dito que o gene onde está codificada a proteína PAT não expressa no pólen e, portanto, a dispersão do pólen e a frequência de cruzamento não devem ser diferentes e o traço de tolerância a herbicidas não deve se transferir para outras variedades de milho cultivado;
- b. Sobre os potenciais de **desenvolvimento de resistência** em outras espécies, o Comitê disse que qualquer planta de milho voluntária pode ser controlada por outras práticas agronômicas. **A possibilidade de desenvolvimento de resistência em espécies daninhas não foi considerada no parecer do CSP.**
- c. A respeito do estudo sobre áreas ecologicamente sensíveis citado pela Áustria (HOPPICHLER 1999), o Comitê afirmou que nenhuma nova informação científica relevante em relação à avaliação de risco de 1998 foi fornecida;
- d. Sobre a **coexistência**, o Comitê afirmou que a maior parte do pólen liberado é depositado próximo da planta e, se as distâncias de separação desenvolvidas para produção de sementes forem observadas, a transferência de pólen para variedades adjacentes seria minimizada.

Outros aspectos mencionados pela proibição da Áustria, como a falta de um programa de monitoramento, efeitos de longo prazo ou aspectos regionais não foram considerados no parecer.

Em 5 de setembro de 2001, o Comitê Científico das Plantas publicou um novo parecer na invocação da Áustria, substituindo sua opinião original de 30 de novembro de 2000 (SCP 2001b). No entanto, esse novo parecer não trouxe nenhum novo argumento, apenas reafirmou seus argumentos já publicados no parecer de 20 de novembro de 2000.

3.2.6 Parecer do painel sobre OGMs da EFSA (2004, 2006)

No dia 8 de julho de 2004, um parecer do painel da EFSA sobre OGMs a respeito das medidas de segurança da Áustria, invocando o Artigo 23 da Diretriz 2001/18/EC, foi publicado (EFSA 2004). A Comissão Europeia havia pedido à EFSA que investigasse até que ponto os documentos austríacos continham “qualquer informação nova ou adicional que afete a Avaliação de Risco Ambiental ou reavalie informações existentes baseadas em novo ou adicional conhecimento científico de forma tão detalhada que se considere que os OGMs acima autorizados ... constituam um risco para saúde humana ou ambiente”.

Informe das medidas de segurança na Áustria

O parecer não discutiu tópicos de saúde humana em relação ao milho T25. O Painel também descartou as evidências fornecidas pela Áustria que criticamente revisa e estima a validade das avaliações de toxicidade, alergenicidade e a prática da equivalência substancial num número da Diretriz 90/220/EEC e dossiê da Nova Alimentação, incluindo o milho T25 (SPÖK et al. 2002, 2003a, 2003b).⁽¹¹⁾ O painel corretamente atesta o caráter geral dos documentos mas parece não ter olhado atentamente aos relatórios críticos e bastante detalhados das informações sobre avaliação de risco fornecidas nos dossiês dos milhos MON810 e T25. (Para mais comentários, veja também o capítulo 3.1.6, p.13f).

Enquanto isso, a Áustria forneceu novas informações à Comissão para suportar sua medida de segurança (Fevereiro de 2000), nomeando quatro publicações científicas para aspectos ambientais (MORIN et al. 2003, ZWAHLEN et al. 2003a and 2003b and SAXENA et al. 2002), assim como vários trechos de conferências (por ex., BIRCH et al. 2003).

Em seu parecer a respeito do milho GMHT T25, o painel da EFSA sobre OGMs afirmou que o impacto ecológico de genes tolerantes a herbicidas dependeria do uso de herbicidas e não do evento transgênico, e que as plantas tolerantes a herbicidas podem também permitir práticas de cultivo que levam a um aumento de biodiversidade no campo. Outros aspectos ou riscos sobre as justificativas da Áustria na proibição do milho T25 não foram considerados no parecer.

Em seu segundo parecer sobre as medidas de segurança de Estados Membros em 29 de março de 2006 (EFSA 2006), o painel da EFSA sobre OGMs se refere somente ao gene marcador para resistência a antibióticos do milho GMHT T25, dizendo que o risco de transferência genética horizontal é muito baixo e, embora o uso desses genes devesse ser evitado em plantações GM, o milho GMHT T25 contém apenas um gene parcial que é, portanto, não funcional. Outros aspectos ou riscos especificados na proibição do milho T25 não foram considerados no parecer. De novo, o parecer não discutiu tópicos da saúde humana em relação ao milho T25.

3.2.7 Relatório do Painel da OMC – comentários de cientistas especialistas sobre o Painel

No Relatório do Painel da OMC, o Dr. Andow, um cientista do grupo de especialistas selecionados para apoiar o Painel da OMC, considerou as justificativas individuais fornecidas pela Áustria na sua proibição do milho T25 (Para uma discussão sobre os cientistas especialistas no Painel, veja o Capítulo 3.1.7, p.14)

a. Em relação ao argumento que não foram avaliadas **condições realistas do uso de herbicida**, o Dr. Andow considerou que a Áustria não forneceu evidências científicas da existência de riscos, como riscos em não visados e riscos de biodiversidade, e portanto esse argumento não poderia ser usado para justificar as medidas de segurança;

b. Sobre a **falta de um programa de inspeção**, o Dr. Andow considerou esse um tópico de manutenção de risco que deveria ser justificado com referência a um risco específico. Ele também disse que efeitos em longo prazo e secundários são difíceis de prever num risco de avaliação prévio e, portanto, isso não poderia justificar uma medida de segurança;

c. **Aspectos regionais** também foram considerados pelo Dr. Andow como um tópico de manutenção de risco e deveriam ser justificados com referência a um risco específico, o que não foi feito pela Áustria.

¹¹ “Três relatórios da Áustria [...] investigaram os requerimentos para avaliações de segurança de toxicidade e alergenicidade de plantas geneticamente modificadas e produtos derivados destinados para consumo humano e/ou animal. Os resultados e recomendações desses dois estudos foram pensados como contribuição para a discussão nacional e internacional sobre a melhora das avaliações de segurança de produtos GM [...] Os três relatórios não apresentam nenhum novo dado científico que indique efeitos adversos na saúde do homem e dos animais ou do ambiente provocados pelos milhos Bt176, MON810 e T25.” (EFSA 2004)

d. Considerando o **fator coexistência**, o Dr. Andow afirmou que nenhum dano causado pela transferência de pólen do milho GMHT foi especificado pela Áustria e, portanto, é difícil imaginar como essa razão poderia justificar uma medida de segurança.

3.2.8 Referências

BIRCH A. N. E. (2003). *Expecting the unexpected: potential ecological impacts of unintended changes to GM and conventional crops in plant metabolism*. In: Hilbeck A. & R. de Maagd (2003) *Biodiversity Implications of Genetically Modified Plants*, September 7-12, 2003, Monte Verita, Ascona, Switzerland.

BMGF (1998a). Razões para a decisão da República da Áustria em proibir o estabelecimento no mercado da linha de milho geneticamente modificada T25, notificada pela AgrEvo France (agora Aventis), de acordo com a Diretriz 90/220/EEC, autorização dada pela Comissão Europeia em 22 de abril de 1998 e pela República da França em 3 de agosto de 1998.

EC (1998). Decisão da Comissão 98/293/EC de 22 de abril de 1998 sobre o estabelecimento no mercado da linha de milho geneticamente modificada (*Zea mays* L T25) continuador à Diretriz do Conselho 90/220/EEC.

EFSA (2004). Parecer do Painel sobre Organismos Geneticamente Modificados a pedido da Comissão relacionado à invocação do Artigo 23 da Diretriz 2001/18/EC pela Áustria. Parecer adotado em 8 July 2004. *The EFSA Journal* 78: 1-13.

EFSA (2006). Parecer do Painel Científico sobre Organismos Geneticamente Modificados a pedido da comissão relacionados a plantações geneticamente modificadas (milho Bt176, milho MON810, milho T25, canola Topas 19/2 e canola Ms1xRf1) sujeitos a cláusulas de segurança invocadas de acordo com o Artigo 16 da Diretriz 90/220/EEC (Question No EFSA-Q-2005-294). Parecer adotado em 29 de março de 2006. *The EFSA Journal* 338: 1-15.

HOPPICHLER J. (1999). *ExpertInnenbefragung zur Bewertung und Evaluation "GVO-freier ökologisch sensibler Gebiete*. Studie im Auftrag des BKA, Wien, 1999.

MORIN S., BIGGS R. W., SISTERTON M. S., SHRIVER L., ELLERS-KIRK CH., HIGGINSON D., HOLLEY D., GAHAN L. J., HECKEL D. G., CARRIERE Y., DENNEHY T. J., BROWN J. K. & B. E. TABASHNIK (2003). *Three cadherin alleles associated with resistance to Bacillus thuringiensis in pink bollworm*. *PNAS* 100 (9): 5004-5009.

SAXENA D., FLORES S. & G. STOTZKY (2002). *Bt toxin is released in root exudates from 12 transgenic corn hybrids representing three transformation events*. *Soil Biol. & Biochem.* 34: 133-137.

SCP (1998). Parecer do Comitê Científico das Plantas sobre "Submissão para estabelecimento no Mercado do milho (*Zea mays*) tolerante a glufosinato T25" pela AgrEvo Company. SCP/GMO/006-Final. Submitted by the Scientific Committee on Plants, 10 February 1998.

SCP (2000). Parecer da invocação pela Áustria do Artigo 16 da Diretriz do Conselho 90/220/EEC sobre a linha de milho geneticamente modificada T25 notificada pela AgrEvo France (agora Aventis CropScience, Ref. C/F/95/12-07). SCP/GMO/289-Final. Parecer adotado pelo Comitê Científico das Plantas em 30 de novembro 2000.

SCP (2001a). Parecer do Comitê Científico das Plantas sobre "Submissão para estabelecimento no Mercado do milho (*Zea mays*) tolerante a glufosinato T25" pela AgrEvo Company (agora Aventis CropScience). SCP/GMO/299-Final. 5 September 2001. Parecer corrigido adotado pelo Comitê Científico das Plantas em 20 de julho de 2001, substituiu documento SCP/GMO/006-Final adotado em 10 de fevereiro de 1998.

Informe das medidas de segurança na Áustria

SCP (2001b). Parecer da invocação pela Áustria do Artigo 16 da Diretriz do Conselho 90/220/EEC sobre a linha de milho geneticamente modificada T25 notificada pela AgrEvo France (agora Aventis CropScience, Ref. C/F/95/12-07). SCP/GMO/300-Final, 5 September 2001. Parecer corrigido adotado pelo Comitê Científico das Plantas em 20 de julho de 2001, substitui documento SCP/GMO/289-Final adotado em 30 de novembro de 2000.

SPÖK A., HOFER H., VALENTA R., KIENZL-PLOCHBERGER K., LEHNER P. & H. GAUGITSCH (2002). *Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten. Empfehlungen zur Standardisierung der Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Produkten auf Basis der Richtlinie 90/220/EWG/ (2001/18/EG)*. Monographien 109 Wien Umweltbundesamt.

SPÖK A., HOFER H., VALENTA R., KIENZL-PLOCHBERGER K., LEHNER P. & H. GAUGITSCH (2003a). *Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten - Teil 2A. Untersuchungen zur Praxis und Empfehlungen zur Standardisierung der Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Lebensmitteln*. Monographien 164A, Wien Umweltbundesamt.

SPÖK A., KARNER S., STIRN, S. & H. GAUGITSCH (2003b). *Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten - Teil 2B. Untersuchungen von Regelungen zur Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Lebensmitteln in der EU und den USA*. Monographien 164B, Wien Umweltbundesamt.

SZEKACS A. (2003). Bt-toxin levels in DK-440-BTY (YIELDGARD) *Bt-corn and stubble*. In Darvas & Szekacs, December 2, 2003.

WTO (2006): *European Communities: Measures Affecting the Approval and Marketing of Biotech Products (DS291, DS292, DS293). Final Report of the WTO Panel; Annex I-4* (Replies by the scientific experts advising the Panel to the questions posed by the Panel); http://www.wto.org/english/news_e/news06_e/291r_e.htm

ZWAHLEN C., HILBECK A., HOWALD R. & W. NENTWIG (2003). *Effect of transgenic Bt corn litter on the earthworm Lumbricus terrestris*. Molecular Ecology 12: 1077-1086.

ZWAHLEN C., HILBECK A., GUGERLI P. & W. NENTWIG (2003). *Degradation of the CryIAb protein within transgenic Bacillus thuringiensis corn tissue in the field*. Mol. Ecol. 12: 765-775.

4. Últimas evidências científicas relevantes para um informe sobre as medidas de segurança na Áustria - Riscos ambientais

4.1 Milho GM MON810

Este capítulo mostra novas evidências científicas a respeito dos tópicos de preocupação da Áustria em relação à sua medida nacional de segurança nas linhagens de milho geneticamente modificadas MON810, notificada pela Monsanto France em 1996 de acordo com a Diretriz 90/220/EEC.

Para este relatório, foram levadas em consideração as razões originalmente fornecidas para apoiar a proibição, junto com os pareceres do Comitê Científico das Plantas e do Painel sobre OGMs do EFSA.

Os seguintes tópicos sobre preocupações ambientais são especificamente abordados nas próximas seções:

- Possíveis efeitos não intencionais em organismos não visados;
- Incertezas a respeito de um controle de resistência por uma estratégia de refúgio;
- Possibilidade do desenvolvimento de pragas secundárias;
- Falta de um plano de monitoramento.

4.1.1 Possíveis efeitos não intencionais em organismos não visados

a) Um forte argumento em favor da proibição do estabelecimento no mercado do milho MON810 foi a possível ocorrência de efeitos não intencionais em insetos não visados. É preciso enfatizar que as avaliações de risco originais sobre organismos não visados não foram satisfatórias e os dados fornecidos insuficientes para mostrar que o milho Bt MON810 não trazia nenhum efeito adverso em organismos não visados. O dossiê original do milho Bt MON810 contém resultados de testes de laboratório da toxina Cry1Ab feitos com um número bastante limitado de organismos não visados. Além disso, os dados de testes de campo fornecidos no dossiê original não podem ser considerados como uma obra científica perfeita, já que as informações básicas sobre os métodos usados e a avaliação estatística do resultado estão incompletas (exemplo: a avaliação de insetos benéficos, que não foi feita separadamente para cada grupo de artrópodes). Apenas poucos testes foram feitos sob condições europeias com o objetivo de testar a eficácia do traço inserido, ao invés de possíveis efeitos adversos em organismos não visados;

b) Especificamente, efeitos não visados na Lepidoptera não foram considerados na avaliação de risco original. Estudos científicos recentes têm continuamente apoiado indicações prévias de que certas Lepidopteras não visadas estão sob risco com o consumo de milho Bt MON810. Tempo de desenvolvimento prolongado e redução da sobrevivência da larva da borboleta monarca ocorreram quando expostos ao pólen do milho Bt MON810, tanto por um tempo pequeno como num longo prazo, em condições de campo, possivelmente resultando em redução de até 25% de larvas sobreviventes (DIVELY et al. 2004). Efeitos adversos em pupas e adultos da borboleta monarca também foram relatados nesse estudo, indicando, portanto, possíveis consequências nessa borboleta não visada do cultivo do milho Bt MON810. Possíveis efeitos adversos de Lepidoptera não visada através do consumo de anteras de Bt (ANDERSON et al. 2004, FELKE & LANGENBRUCH 2005) e, especialmente, efeitos combinados de pólen e anteras de milho Bt contendo a toxina Bt (ANDERSON et al. 2005) não foram até agora levados em consideração, embora mostrem um risco para borboletas não visadas com o cultivo de milho Bt MON810. Também outras Lepidopteras fora a borboleta monarca sofreram efeitos subletais ou letais quando expostas ao milho Bt (VOJTECH et al. 2005, DUTTON et al. 2005). Indicações prévias que várias borboletas comuns que existem em habitats agrícolas podiam estar sob risco com o cultivo do milho Bt MON810 foram apoiadas por dados recentes (SZEKACS & DARVAS 2006). Ainda se desconhece quais outras borboletas não visadas podem ser adversamente afetadas pelo consumo de pólen ou anteras de milho Bt;

Informe das medidas de segurança na Áustria

c) Uma avaliação de riscos para borboletas não visadas relacionadas com as condições de agricultura na Europa não foi feita na avaliação de riscos. É sabido que muitas espécies de borboletas estão presentes em áreas de agricultura (FELKE & LANGENBRUCH 2005). Das 215 espécies de borboleta presentes na Áustria, 152 vivem em áreas de agricultura e mais da metade dessas espécies já está classificada ou como próxima da ameaça, vulnerável, sob risco ou criticamente em risco (TRAXLER et al. 2005) e podem ficar sob risco ainda maior com o cultivo do milho Bt. Essas espécies deveriam ser sujeitas às avaliações de suscetibilidade separadas antes da plantação do respectivo milho Bt para haver condições de tomar medidas de controle, se necessárias. O diferencial de toxicidade de determinada toxina Bt dependente das espécies foi também reconhecido pela CSP no seu parecer de setembro de 1999 (CSP 1999);

d) Há evidências que o milho Bt libere a toxina Bt em exudatos de raízes (SAXENA et al. 2004), decomponha-se mais lentamente no solo que plantas não Bt (FLORES et al. 2005) e que a toxina Bt persista em compartimentos do ambiente, como solos, por meses, mantendo sua atividade inseticida. (SAXENA & STOTZKY 2002, STOTZKY 2004). Mais do que isso, a toxina Cry1Ab pode ser encontrada em diversos organismos, expondo, portanto, uma série de organismos não visados de níveis tróficos mais altos que vivem nos campos de agricultura. (HARWOOD et al. 2005, ZWAHLEN & ANDOW 2005). Portanto, os efeitos adversos dessa toxina podem ocorrer em vários artrópodes não visados. No entanto, apenas um número bastante limitado de artrópodes que vivem em campos de milho foi, até agora, incluído na avaliação de risco, embora seja desconhecido quais artrópodes expostos à toxina Cry1Ab foram realmente afetados de forma adversa. Dados recentes mostram que organismos não visados como parasitóides (VOJTECH et al. 2005, PRÜTZ & DETTNER 2004, PILCHER et al. 2005), hiperparasitóides (BRINK et al. 2004, PRÜTZ et al. 2004), coccinelídeos (SCHMIDT et al. 2004) e carabídeos (MEISSLE et al. 2005) sentiram efeitos adversos. Tais efeitos adversos da toxina Cry1Ab em outros organismos não visados, fora as espécies lepidópteras, podem ter acontecido ou devido à reduzida qualidade das presas ou possivelmente são um indicativo de que a toxina Cry1Ab não é tão específica como anteriormente se imaginava.

4.1.2 Incertezas sobre o tratamento de resistência por uma estratégia de refúgio

A incerteza sobre a eficácia da estratégia de refúgio proposta para prevenir o desenvolvimento de resistência na broca do colmo do milho foi outro forte argumento da proibição original da Áustria no estabelecimento do mercado do milho Bt MON810. O plano de gerenciamento da resistência aos insetos (IRM) fornecido pelo notificador era muito generalista e não dava nenhuma informação detalhada de como seria implantado. Embora o notificador recomende um acesso a um refúgio gerenciado e afirme que um programa de vigilância precise ser estabelecido, nenhuma informação exata dos detalhes da implantação desse programa foi dada. A respeito dos estudos de suscetibilidade, o notificador se referiu a estudos apenas nos Estados Unidos e Itália. No entanto, antes de introduzir o milho Bt, suscetibilidades de base e as frequências iniciais do alelo de resistência deveriam ser investigadas separadamente para cada população separada da broca do colmo do milho ou até mesmo subpopulações (veja CHAUFAUX et al. 2001), já que esses parâmetros influenciam a taxa na qual a resistência irá se desenvolver e podem variar entre populações diferentes da espécie desse inseto (HUANG et al. 1997). Os planos de IRM foram feitos em combinação com um monitoramento sistemático para detectar a resistência quando ela ocorre. Como as suscetibilidades de base e outros fatores ecológicos entre diferentes populações das respectivas pragas, assim como as práticas agrônômicas, podem variar localmente, os resultados das experiências feitas com o cultivo de milho Bt na Espanha não podem ser aplicados a outros países europeus, e especialmente no sistema agrícola austríaco. Portanto, uma adaptação da estratégia IRM deve ser contemplada. Em seu parecer, o CSP (1999) alegou que a introdução do milho Bt deve ser lenta e, portanto, as plantas seriam cercadas de “refúgios naturais” por algum tempo. No entanto, como a resistência se desenvolve localmente, os refúgios precisam ser plantados em qualquer lugar onde o milho Bt seja usado localmente e deve ser requerido desde o começo da introdução desse milho GM por cada fazendeiro. Além disso, já que muitas variedades de milho MON810 já estão

aprovadas na União Europeia para cultivo, pode ser esperar que a taxa adotada pelo milho Bt MON810 será alta na Europa. Altas taxas de adoção de milho Bt também aconteceram nos Estados Unidos (CARPENTER & GIANESSI 2001), embora a introdução lenta desse tipo de milho GM já houvesse sido prevista. Sendo assim, informações de base sobre a ecologia e a biologia das pragas e um plano IRM viável precisam estar prontos antes da comercialização do milho Bt.

4.1.3 Possibilidade de desenvolvimento de pragas secundárias

Os efeitos das plantações de Bt em outras pragas e o desenvolvimento de pragas secundárias – e consequentemente o uso adicional de produtos sintéticos para proteção de plantas como aconteceu com o cultivo de algodão Bt na Austrália – são também grandes fontes de preocupação que apoiaram a proibição original do milho Bt MON810 pela Áustria. Como a CSP (1999) afirmou em seu parecer na proibição austríaca, uma supervisão precisa cobrir também pragas secundárias. Investigações recentes do cultivo de algodão Bt na China mostraram um aumento extraordinário de outras espécies de pragas, como os percevejos (WU et al. 2002), e, consequentemente, um aumento nas aplicações de inseticidas. (WANG et al. 2006). No entanto, pragas secundárias não foram estudadas nem na avaliação de risco, nem no plano de monitoramento.

4.1.4 Falta de um plano de monitoramento

De acordo com a Diretriz Europeia 2001/18/EC, cada notificação de um OGM deve conter um plano para inspeção, de acordo com o Anexo VII, com o objetivo de confirmar as hipóteses da avaliação de risco e identificar as ocorrências de efeitos adversos do OGM, seu uso na saúde humana ou no ambiente, que não antecipadas na avaliação de risco. Mesmo assim, um plano como esse não foi providenciado pelo notificador. Especificamente, deveriam ser assuntos para um plano de monitoramento, como já sugerido pelo CSP (1999), a ausência de efeitos em organismos não visados, que foi afirmada pelo notificador na avaliação de risco, e também a possibilidade da ocorrência de pragas secundárias.

4.1.5 Referências

ANDERSON P. L., HELLMICH R. L., PRASIFKA J. R. & L. C. LEWIS (2005): *Effects on fitness and behaviour of monarch butterfly larvae exposed to a combination of Cry1Ab expressing corn anthers and pollen*. Env. Entomol. 34: 944-952.

ANDERSON P. L., HELLMICH R. L., SEARS M. K., SUMERFORD D. V. & L. C. LEWIS (2004): *Effects of Cry1Ab-expressing corn anthers on monarch butterfly larvae*. Env. Entomol. 33: 1109-1115.

BRINK A., PRÜTZ G. & K. DETTNER (2004). *Bioassays on the effects of insect-resistant Bacillus thuringiensis-maize on the pupal hyperparasitoid Tetrastichus howardi (Hymenoptera: Eulophidae)*. Mitt. Deutsch. Ges. Allgem. Angew. Entomol. 14: 411-414.

CARPENTER J. & L. GIANESSI (2001). *Why US farmers have adopted genetically modified crops and the impact on US agriculture*. AgBiotechNet 3, Feb 2001, ABN 063.

CHAUFAUX J., SEGUIN M., SWANSON J. J., BOURGUET D. & B. SIEGFRIED (2001). *Chronic exposure of the European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) to Cry1Ab Bacillus thuringiensis toxin*. J. Econ. Entomol. 94 (6): 1564-1570

DIVELY G. P., ROSE R., SEARS M. K., HELLMICH R. L., STANLEY-HORN D. E., CALVIN D. D., RUSSO J. M. & P. L. ANDERSON (2004). *Effects on Monarch butterfly larvae (Lepidoptera: Danaidae) after continuous exposure to Cry1Ab expressing corn during anthesis*. Env. Entomol. 33: 1116-1125.

Informe das medidas de segurança na Áustria

- DUTTON A., ROMEIS J. & F. BIGLER (2005). *Effects of Bt maize expressing CryIAb and Bt spray on Spodoptera littoralis*. Ent. Exp. Appl. 114: 161-169.
- FELKE M. & G.-A. LANGENBRUCH (2005). *Auswirkungen des Pollens von transgenem Bt-Mais auf ausgewählte Schmetterlingslarven*. BfN Skripten 157.
- FLORES S., SAXENA D. & G. STOTZKY (2005). *Transgenic Bt plants decompose less in soil than non-Bt plants*. Soil Biol. & Biochem. 37: 1073-1082.
- HARWOOD J. D., WALLIN W. G. & J. J. OBRYCKI (2005). *Uptake of Bt endotoxins by nontarget herbivores and higher order arthropod predators: molecular evidence from a transgenic corn agroecosystem*. Mol. Ecol. 14: 2815-2823
- HUANG F., HIGGINS R. A. & L. L. BUSCHMAN (1997). *Baseline susceptibility and changes in susceptibility to Bacillus thuringiensis ssp. kurstaki under selection pressure in European corn borer*. J. Econ. Entomol. 90: 1137-1143.
- MEISSLE M., VOJTECH E. & G. POPPY (2005). *Effects of Bt maize-fed prey on the generalist predator Poecilus cupreus L. (Coleoptera: Carabidae)*. Transgenic Res. 14: 123-132.
- PILCHER C. D., RICE M. E. & J. J. OBRYCKI (2005). *Impact of transgenic Bacillus thuringiensis corn and crop phenology on five nontarget arthropods*. Environ. Entomol. 34 (5): 1302-1316.
- PRÜTZ G., BRINK A. & K. DETTNER (2004). *Transgenic insect-resistant corn affects the fourth trophic level: effects of Bacillus thuringiensis-corn on the facultative hyperparasitoid Tetrastichus howardi*. Naturwissenschaften 91: 451-454.
- PRÜTZ G. & K. DETTNER (2004). *Effect of Bt corn leaf suspension on food consumption by Chilo partellus and life history parameters of its parasitoid Cotesia flavipes under laboratory conditions*. Entomol. Exp. Appl. 111: 179-187.
- SAXENA D. & G. STOTZKY (2002). *Bt toxin is not taken up from soil or hydroponic culture by corn, carrot, radish or turnip*. Plant & Soil 239: 165-172.
- SAXENA D., STEWART C. N., ALTOSAAR I., SHU Q. & G. STOTZKY (2004). *Larvicidal Cry proteins from Bacillus thuringiensis are released in root exudates of transgenic B. thuringiensis corn, potato, and rice but not of B. thuringiensis canola, cotton, and tobacco*. Plant Physiol. & Biochem. 42: 383-387.
- STOTZKY G. (2004). *Persistence and biological activity in soil of the insecticidal proteins from Bacillus thuringiensis, especially from transgenic plants*. Plant & Soil 266: 77-89.
- SCP (1999). Parecer do Comitê Científico das Plantas na Invocação pela Áustria do Artigo 16 (cláusula de segurança) do Conselho Diretriz 90/220/EEC sobre o estabelecimento no mercado no milho geneticamente modificado da Monsanto (MON810) com o gene Bt cry1A(b), notificação C/F/95/12-02. Parece expresso pelo Comitê Científico das Plantas em 24 de setembro de 1999. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scp/out49_en.html.
- SCHMIDT J. E. U., BRAUN C. U., L'ABATE C., WHITEHOUSE L. P. & A. HILBECK (2004). *Untersuchungen zu Effekten von Bacillus-thuringiensis-Toxinen aus transgenen insektenresistenten Pflanzen auf räuberische Marienkäfer (Coleoptera: Coccinellidae)*. Mitt. Deutsch. Ges. Allgem. Angew. Entomol. 14: 419-422.
- SZEKACS A. & B. DARVAS (2006). *Ecotoxicological conflicts of MON810 corn. Presented at the Workshop on Environmental Risk Assessment of GM plants: discussion for consensus. Organized by the IOBC Global Working Group "Transgenic Organisms in IPM and Biological Control", Rotondella, 5-9 June 2006*. <http://www.trisaia.enea.it/iobcworkshop.htm>.

Informe das medidas de segurança na Áustria

TRAXLER A., MINARZ E., HÖTTINGER H., PENNERSTORFER J., SCHMATZBERGER A., BANKO G., PLACER K., HADRBOLEC M. & H. GAUGITSCH (2005). *Biodiversitäts-Hotspots der Agrarlandschaft als Eckpfeiler für Risikoabschätzung und Monitoring von GVO. Bundesministerium für Gesundheit und Frauen*, Forschungsberichte der Sektion IV, Band 5/2005; Wien.

VOJTECH E., MEISSLE M. & G. M. POPPY (2005). *Effects of Bt maize on the herbivore Spodoptera littoralis (Lepidoptera: Noctuidae) and the parasitoid Cotesia marginiventris (Hymenoptera: Braconidae)*. Transgenic Res. 14: 133-144.

WANG S., JUST D. R. & P. PINSTRUP-ANDERSEN (2006). *Tarnishing silver bullets: Bt technology adoption, bounded rationality and the outbreak of secondary praga infestations in China*. Selected paper prepared for presentation at the American Agricultural Economics Association Annual Meeting Long Beach, CA, July 22-26, 2006.

WU K., LI W., FENG H. & Y. GUO (2002). *Seasonal abundance of the mirids, Lygus lucorum and Adelphocoris spp. (Hemiptera: Miridae) on Bt cotton in northern China*. Crop Prot. 21: 997-1002.

ZWAHLEN C. & D. ANDOW (2005). *Field evidence for the exposure of ground beetles to Cry1Ab from transgenic corn*. Environ. Biosafety Res. 4: 113-117.

4.2 Milho GM T25

Este capítulo reporta as evidências científicas recentes a respeito das fontes de preocupação da Áustria e sua medida nacional de segurança ao milho GM T25, notificado pela AgrEvo France em 1996, de acordo com a Diretriz 90/220/EEC (Notificação C/F/95/12-07).

Para esse informe, foram levadas em consideração as razões originalmente providenciadas para apoiar a proibição, além dos pareceres do Comitê Científico das Plantas e do Painel sobre OGM da EFSA.

Os seguintes tópicos referentes a preocupações ambientais são abordados especificamente nas seções seguintes:

- Riscos para comunidades de ervas espontâneas;
- Falta de um plano de monitoramento;
- Aspectos regionais combinados com fatores de coexistência.

4.2.1 Riscos para comunidades de ervas espontâneas

A introdução de novos métodos de manejo de ervas espontâneas para milho geneticamente modificado para tolerância a herbicidas (GMHT) pede uma avaliação de como esses novos regimes de herbicida poderiam afetar comunidades de ervas espontâneas. No entanto, a avaliação de risco apresentada no dossiê original do milho GMHT T25 não preenche esses requerimentos. De acordo com o procedimento de avaliações de risco presente na Diretriz 2001/18/EC, que regula o cultivo de OGMs na Europa, é necessária a avaliação de efeitos adversos causadas pela mudança no manejo, incluindo mudanças nas práticas agrícolas (Anexo II, C2.). O notificador afirma que o “...GTC (milho tolerante ao glufosinato) irá fornecer uma nova e valiosa ferramenta para o manejo de ervas espontâneas para produtores não exclusiva de outros herbicidas...” (Notificação C/F/95/12-07), mas não forneceu dados para mostrar o comportamento do milho GMHT T25 sob condições europeias no tocante a práticas agrícolas. Como ervas espontâneas são o alvo principal do milho GMHT/complexo herbicida, e uma mudança no manejo de ervas espontâneas é previsível, é preciso fazer uma avaliação adequada dos efeitos nessas comunidades. O notificador falhou em fornecer dados profundos em ervas espontâneas, os organismos visados, e interações entre o OGM e os organismos visados do GMHT T25, como solicitado tanto pela Diretriz 90/220/EEC (Anexo II, IV. C.3 and C.4) como pela Diretriz 2001/18/EC (Anexo IIIB, D.).

a) Controle insuficiente de ervas espontâneas / surgimento de ervas espontâneas resistentes

Há evidência de que o glufosinato de amônio, ingrediente ativo dos herbicidas não seletivos usados com o milho GMHT T25, proporcione controle insuficiente de certas ervas espontâneas, como algumas gramas e outras espécies (O`SULLIVAN & SIKKEMA 2005, OECD 2006). Consequentemente, espécies de ervas espontâneas naturalmente resistentes devem substituir aquelas espécies efetivamente controladas pelo herbicida não seletivo usado no campo tolerante a herbicidas, levando a uma mudança nas comunidades de ervas espontâneas ao longo do tempo.

Experiências de sistemas de plantio que usam continuamente o glifosato, um herbicida não seletivo diferente, em combinação com plantas GMHT como sistema exclusivo de manejo de ervas espontâneas, mostram que as mudanças em comunidades de ervas espontâneas realmente ocorrem. A ação seletiva de um apenas um regime de manejo em junções de ervas espontâneas pode levar a mudanças profundas em poucos anos e tais alterações foram notadas em plantações tolerantes a glifosato nos Estados Unidos (WICKS et al. 2001 and HILGENFELD et al. 2000 cited in OWEN & ZELAYA 2005). Uma pesquisa recente nos Estados Unidos mostrou que as mudanças nas comunidades de ervas espontâneas ocorrem em milho e soja resistentes a glifosato, plantações onde o cultivo de tolerantes a herbicidas é usado em larga escala (CULPEPPER 2006). Há evidências que a evolução da resistência ao herbicida em ervas espontâneas ocorra graças à forte pressão seletiva de um sistema de manejo que confia apenas num único herbicida não seletivo. Atualmente, várias espécies de ervas espontâneas estão globalmente ou regionalmente resistentes ao glifosato (www.weedscience.org) e fabricantes do milho GHMT já recomendam o uso adicional de herbicidas pré-emergenciais para controlar corretamente espécies resistentes (www.weedresistancemanagement.com).

Todavia, como a prática agrícola do uso de herbicidas não seletivos glifosato e glufosinato de amônio é comparável, é esperado que o uso do glufosinato de amônio tenha efeito similar em comunidades de ervas espontâneas.

Na Áustria, o uso de glufosinato de amônio como ingrediente ativo nos produtos de proteção a plantas é permitido em área não agrícola, assim como em áreas agrícolas como vinhedos e orquidários, e também em produção de batata, beterraba, legumes, cominho e milho. No entanto, o uso mais corrente é o pré-emergencial para o controle de ervas espontâneas. Se o padrão de uso for estendido para uma ou mais aplicações pós-emergenciais, então a probabilidade do desenvolvimento de populações de ervas espontâneas resistentes irá aumentar significativamente.

Como consequência, pode ser esperado que o uso frequente de um herbicida não seletivo como o glufosinato de amônio irá aumentar a pressão seletiva em ervas espontâneas, já que a supressão de todas as ervas espontâneas dificilmente é conseguida, dessa forma aumentando a dominância de algumas poucas espécies e finalmente a prevalência das espécies de ervas espontâneas resistentes;

b) Aumento no uso de herbicida

A evidência advinda da literatura indica que apenas uma aplicação pós-emergencial de glufosinato de amônio não é suficiente para proporcionar um controle satisfatório de ervas espontâneas. Portanto, são necessários para controlar certas espécies de erva daninha ou herbicidas residuais adicionais (O`SULLIVAN & SIKKEMA 2005, HAMILL et al. 2000, BRADLEY et al. 2000) ou aplicações sequenciais de glufosinato-amônio (KRAUSZ et al. 1999). Pesquisas independentes feitas por universidades norte-americanas mostraram que o controle de ervas espontâneas em milho GMHT com apenas uma aplicação de glufosinato-amônio foi inadequada e que era recomendado aplicar ou duas vezes ou aplicar um herbicida pré-emergencial convencional seguido de um pós-emergencial de glufosinato-amônio (GIANESSI et al. 2002).

Isso também foi demonstrado para outros sistemas de plantação GMHT, como o milho GM tolerante a glifosato, para o qual o uso de herbicidas adicionais e pré-emergenciais é recomendado para ter melhor controle das ervas espontâneas (NURSE et al. 2006). Também fabricantes de milho GMHT já recomendam o uso adicional de herbicidas pré-emergenciais para controlar espécies resistentes de forma adequada (www.weedresistancemanagement.com). É até mesmo esperado que mudanças futuras no uso de herbicidas serão feitas pela redução da eficácia de herbicidas não seletivos como o glifosato, graças às mudanças nas ervas espontâneas e em sua resistência (YOUNG et al. 2006). O uso de herbicidas adicionais também é esperado para justificar as safras de altas expectativas quando o glufosinato é aplicado em combinação com herbicidas residuais. (HAMILL et al. 2000), já que o controle insuficiente de ervas espontâneas reduz a safra.

Informe das medidas de segurança na Áustria

Como a experiência de que falhas no controle de ervas espontâneas são corrigidas ou pelo aumento do uso ou pelo número de aplicações de herbicidas não seletivos (YOUNG et al. 2006), um aumento no uso ou nas aplicações de herbicidas pode ser esperado com o milho GMHT T25;

c) Perda maior de espécies de ervas espontâneas ameaçadas

O uso de herbicidas é um grande causador na queda da diversidade de ervas espontâneas e coloca em risco espécies de ervas espontâneas na Áustria (TRAXLER et al. 2005a). A perda de espécies em habitats agrícolas na Áustria e a substituição de espécies raras e ameaçadas por neófitas resistentes estão bem documentadas. Atualmente 56% das espécies obrigatórias de ervas espontâneas (p.ex., aquelas que são dependentes de uma localidade específica) e 27% das espécies de ervas espontâneas facultativas (p.ex., as que não são exclusivamente dependentes de um lugar) são classificadas como quase extintas, altamente ameaçadas, ameaçadas, potencialmente ameaçadas ou regionalmente ameaçadas, de acordo com a lista vermelha de plantas na Áustria (NIKLFELD & SCHRATT-EHRENDORFER 1999).

TRAXLER et al. (2005a) classificou essas raras espécies de ervas espontâneas dentro do *hotspot* de biodiversidade, para mostrar as áreas nas quais a conservação da flora de ervas espontâneas é considerada totalmente necessária, já que essas regiões são importantes para a conservação de diversidade nacional de plantas agro-associadas. Além disso, aproximadamente três quartos dos biótopos tipo “campos, campos limítrofes, vinhedos e ruderais” estão classificados dentro de alguma categoria de risco (TRAXLER et al 2005b), o que enfatiza a necessidade de conservação desses tipos de biótopos que prevalecem em áreas agrícolas. O cultivo do milho GM T25 em combinação com o uso de herbicidas não seletivas deve, portanto, contribuir ainda mais para o declínio de espécies de ervas espontâneas ou tipos de biótopos ameaçados.

4.2.2 Falta de um plano de monitoramento

De acordo com a Diretriz 2001/18/EC, a notificação deve conter um plano de monitoramento obedecendo ao Anexo VII (Artigo 13, 2. e), o qual deve cobrir os efeitos de longo prazo do OGM no ambiente e na saúde humana. A implantação de um esquema de monitoramento pós-mercado para supervisionar as mudanças na prática de manejo, assim como o uso de herbicida causado pelo uso de milho T25 em combinação com herbicidas usando glufosinato de amônio, é uma tarefa obrigatória do notificador. Os procedimentos da nova diretriz permitem uma visão integrada dos efeitos de longo prazo causados pelo uso de herbicidas, a serem considerados dentro de um plano de monitoramento adequado. Como atualmente não há condições para o monitoramento do uso do herbicida na diretriz 91/414/EEC, considera-se essencial monitorar o uso do herbicida e seus efeitos em conjunção com o milho tolerante a herbicidas T25.

Efeitos de longo prazo do uso de herbicida não podem ser avaliados de forma independente da respectiva planta GMHT. Os efeitos do glufosinato de amônio em combinação com o milho GMHT T25 em comunidades de ervas espontâneas não foram abordados na avaliação de risco (veja ponto nº1). Sendo assim, a implantação de um plano de monitoramento é necessária para satisfazer os requerimentos da Diretriz 2001/18/EC e para levar em conta possíveis efeitos de longo prazo dessa planta GMHT. Mais: monitorar a ocorrência de ervas espontâneas que não são controladas pela aplicação de herbicida no milho GMHT T25 é importante para avaliar possíveis resistências de ervas espontâneas ao uso de glufonissato de amônio.

4.2.3 Aspectos regionais em relação ao tema de coexistência

No caso do estabelecimento no mercado do milho GMHT T25, seu cultivo levantou questões a respeito da coexistência na agricultura austríaca. Já que não existem provisões harmonizadas, legalmente amparadas, a respeito de medidas de coexistência (incluindo obrigações) de milho geneticamente modificado e milho convencional ou orgânico, o cultivo de milho T25 ameaçaria substancialmente a existência e o desenvolvimento do setor orgânico na agricultura da Áustria. A Áustria tem a maior porção de agricultura orgânica dentro da União Européia, com quase 10% de sua área agrícola cultivada com orgânicos (EC 2005).

Informe das medidas de segurança na Áustria

Num relatório ao Conselho Europeu e ao Parlamento Europeu, a Comissão Europeia enfatizou a não-aceitabilidade do estabelecimento de regiões livres de OGM ou a limitação do cultivo de OGM ao se criar medidas de restrição a nível nacional e regional. Enfatizou também o delineamento de uma proposta estabelecendo níveis mínimos de contaminação para sementes (EC 2004). Como o membro da comissão Dimas ressaltou em seu discurso na conferência sobre coexistência em Viena, em 5 de abril de 2005 (Speech/06/224), os estados membros deveriam poder colocar em prática suas próprias medidas de coexistência. Ele também pediu que a Comissão esclarecesse as medidas que podem ou não podem ser legalmente aceitas.

Até agora, nenhum esclarecimento foi dado pela Comissão Europeia, nem níveis mínimos de contaminação para sementes foram estabelecidos. A vigorar essa situação obscura, o uso do milho GMHT pode levar a impactos negativos na agricultura da Áustria e trazer implicações sócio-econômicas inesperadas.

4.2.4 Referências

- BRADLEY P. R., JOHNSON W. G., HART S. E., BUESINGER M. L. & R. E. MASSEY (2000). *Economics of weed management in glufosinate-resistant corn (Zea mays L.)*. Weed Technol. 14: 495-501.
- CULPEPPER A. S. (2006). *Glyphosate-induced weed shifts*. Weed Technol. 20 (2): 277-281.
- DIMAS S. (2006). *Co-existence of genetically modified, conventional and organic crops: Freedom of choice, Conference on GMO co-existence Vienna, 05 April 2006*, SPEECH/06/224, <http://europa.eu/rapid/pressReleasesAction.do?reference=SPEECH/06/224&format=HTML&aged=1&language=EN&guiLanguage=en>
- EC (2004). Annex to the report from the Commission to the Council and the European Parliament on the experience of member states with GMOs placed on the market under Directive 2001/18/EC and incorporating a specific report on the operation of part B and C of the Directive SEC(2004)1063.
- EC (2005). Organic farming in the European Union. Facts and Figures. Report, G2 EW – JK D (2005), 3rd November 2005; http://ec.europa.eu/agriculture/qual/organic/facts_en.pdf
- GIANESSI L. P., SILVERS C. S., SANKULA S. & J. E. CARPENTER (2002). *Plant biotechnology: current and potential impact for improving praga management in US agriculture. An analysis of 40 case studies*, June 2002. Herbicide tolerant field corn. Washington, DC: National Center for Food and Agricultural Policy, pp 23
- HAMILL A. S., KNEZEVIC S. Z., CHANDLER K., SIKKEMA P. H., TARDIF F. J., SHRESTHA A. & C. J. SWANTON (2000). *Weed control in glufosinate-resistant corn (Zea mays)*. Weed Technol. 14: 578-585.
- HILGENFELD K. L., MARTIN A. R., MORTENSEN D. A. & S. C. MANSON (2000). *Weed species shifts in a glyphosate tolerant soybean crop*. Proc. North Cent. Weed Sci. Soc. Abstr. 55.
- NIKL FELD H. & L. SCHRATT-EHRENDORFER (1999). *Rote Listen gefährdeter Farn- und Blütenpflanzen (Pteridophyta und Spermatophyta) Österreichs*. 2. Fassung. In: Niklfeld H. (Hrsg.): Rote Listen gefährdeter Pflanzen Österreichs. Austria medien service. Graz.
- NURSE R. E., SWANTON C. J., TARDIF F. & P. H. SIKKEMA (in press). *Weed control and yield are improved when glyphosate is preceded by a residual herbicide in glyphosate tolerant maize (Zea mays)*. Crop Prot. Online 17 April 2006
- OECD (2006). *Herbicide biochemistry, herbicide metabolism and the residues in glufosinate-ammonium (Phosphinothricin)-tolerant transgenic plants*. In: Safety Assessment of Transgenic Organisms, OECD Consensus Documents Vol. 1, 370-377. Informe das medidas de segurança na Áustria

Informe das medidas de segurança na Áustria

O'SULLIVAN J. & P. H. SIKKEMA (2005). *Response of glufosinate-resistant Bt sweet corn (Zea mays) cultivars to glufosinate and residual herbicides*. Can. J. Plant Sci. 85: 285-289

OWEN M. D. K. & I. A. ZELAYA (2005). *Herbicide-resistant crops and weed resistance to herbicides*. Praga Manag. Sci 61: 301-311

TRAXLER A., MINARZ E., HÖTTINGER H., PENNERSTORFER J., SCHMATZBERGER A., BANKO G., PLACER K., HADRBOLEC M. & H. GAUGITSCH (2005a). *Biodiversitäts-Hotspots der Agrarlandschaft als Eckpfeiler für Risikoabschätzung und Monitoring von GVO*. Bundesministerium für Gesundheit und Frauen, Forschungsberichte der Sektion IV, Band 5/2005; Vienna

TRAXLER A., MINARZ E., ENGLISCH T., FINK B., ZECHMEISTER H. & F. ESSL (2005b). *Rote Liste der gefährdeten Biotoptypen Österreichs. Moore, Sümpfe und Quellfluren, Hochgebirgsrasen, Polsterfluren, Rasenfragmente und Schneeböden*. Umweltbundesamt Monographien, Band 174, pp 286, Vienna.

WICKS G. A., STAHLMANN P. W., TICHOTA J. M. & T. M. PRICE (2001). *Weed shifts in no-till glyphosate tolerant crops in semiarid areas of the Great Plains*. Proc. North Cent. Weed Sci. Soc. Abstr. 56.

YOUNG B. G. (2006). *Changes in herbicide use patterns and production practices resulting from glyphosate-resistant crops*. Weed Technol. 20 (2): 301-307

5 Últimas evidências científicas relevantes para um informe sobre as medidas de salvaguarda na Áustria – Riscos na Saúde e Equivalência Substancial

5.1 Introdução

Este capítulo relata as evidências científicas recentes relevantes em relação às medidas de segurança da Áustria para as linhagens de milho MON810 e T25.

Os focos desse informe estão na avaliação de toxicidade, avaliação de alergenicidade e a aplicação do conceito de equivalência substancial. Ele é baseado em informes anteriores de dossiês de avaliações de risco de plantas GM (SPÖK et al. 2002, 2003a, 2003b, 2004) e em trabalhos subsequentes (e.g. SPÖK et al. 2005).

Os principais assuntos discutidos neste capítulo são bastante similares para ambos os eventos GM. Ao contrário de tópicos ambientais, não importa tanto se a proteína introduzida está conferindo tolerância a insetos ou herbicidas, desde que a planta GM seja cultivada, trabalhada, processada e usada da mesma forma ou de maneira parecida.

O informe analisa três diferentes níveis de avaliação de risco. Primeiro, o nível geral de avaliação de riscos para saúde. Segundo, o nível dos métodos particulares aplicados para fornecer dados relevantes de segurança e o tipo de evidência não experimental (p.ex., histórico de uso seguro) incluído nos dossiês. Terceiro, o nível dos experimentos particulares aspirados e os dados fornecidos em cada dossiê.

Todos os três níveis são importantes para tirar conclusões de segurança. Imprevistos e limitações podem afetar diretamente a validade das conclusões de segurança, podem aumentar a incerteza científica ou diminuir a verificabilidade dessas conclusões. Consequentemente, a análise dos níveis primeiro e segundo proporciona conclusões mais gerais que podem também ser válidas para a avaliação de risco em outros dossiês. O informe dos testes particulares conduzidos e os resultados fornecidos em cada dossiê (terceiro nível) é dependente da disponibilidade de descrições detalhadas e relatórios completos. Tais detalhes faltam especialmente no dossiê do milho MON810, e mais detalhes são dados no dossiê do milho T25. Enquanto detalhes de análise composicional não estão incluídos em nenhum dos dossiês, tabelas de sumários, números e interpretações deles são fornecidos. Dadas as limitações de tempo e escopo e a disponibilidade de dados detalhados, a análise do terceiro nível é mais focada na análise composicional.

Por causa das semelhanças nas avaliações de riscos de ambos os eventos GM analisados, as seções nos milhos GMs MON810 e T25 seguem a mesma estrutura e são organizadas em quatro seções principais:

- Avaliação de toxicidade;
- Avaliação de alergenicidade;
- Aplicação do conceito de equivalência substancial;
- Verificabilidade geral das conclusões de segurança do dossiê.

-

As conclusões estão fornecidas no final de cada seção.

5.2 Milho GM MON810

5.2.1 Avaliação de toxicidade

A avaliação de toxicidade do dossiê original basicamente conta com um teste de toxicidade aguda e estudos de digestibilidade in-vitro usando uma proteína bacteriana CryIA(b). Além disso, o aplicante forneceu comparações homólogas com proteínas tóxicas conhecidas e argumentou com o histórico de segurança de toxinas Bt.

A avaliação como está documentada no dossiê não pode ser considerada suficiente pelas seguintes razões (junto com trechos de SPÖK et al. 2004).

Testes de toxicidade aguda em roedores com a proteína CryIA(B) não podem fornecer pistas de efeitos subcrônicos e crônicos. A conclusão que proteínas podem agir apenas via mecanismos agudos não é respaldada por uma base empírica sólida. Isso precisa ser reconhecido por documentos recentes de Guidance, que exige um teste subagudo de 28 dias de doses repetidas (EFSA 2004 and NL BIOSAFETY COUNCIL 2003).

De acordo com Sociedade de Toxicologia Britânica, estudos em indústria e agroquímica indicam que 70% dos componentes toxicológicos encontrados num teste de dois anos com roedores foram também vistos ou previstos num teste subcrônico de três meses (British Toxicological Society 1994 citado por KUIPER 2006). Em outras palavras, 30% dos efeitos não seriam nem vistos nem previstos em casos de estudos subcrônicos.

Teste de digestibilidade in-vitro

Muitos autores discutem a escolha de parâmetros incluindo o de proporção de enzima/proteína de teste, pureza da pepsina, pureza da proteína alvo, método de detecção, mas o pH pode influenciar consideravelmente o resultado (FU et al. 2002, BANNON et al. 2003, THOMAS et al. 2004). Isso é particularmente verdadeiro para proporção de enzima/proteína de teste, como mostrado por FU et al. (2002). Usando como o exemplo o grande alérgeno do ovo, a ovalbumina, eles mostraram que uma proporção muito alta de enzima/proteína de teste poderia levar a testes falso negativos. Além disso, parece não haver correlação entre resultados de ensaios com fluídos gástricos simulados e exames com fluído intestinal simulado. Eles apontaram grandes diferenças nas proporções de enzima/proteína da ordem de 1:250 a 5000:1 (peso). Em contraste, ASTWOOD et al. (1996) recomendou uma proporção de 13:1, uma recente consulta da FAO/OMS cerca de 6.5:1 (FAO/WHO 2001). Estudos na digestão proteolítica em alergenicidade e estudos nutricionais usaram comparativamente proporções baixas, de 0,1 a 0,001. Estudos conduzidos com o propósito de avaliação de risco usaram, no entanto, proporções maiores, de 25 a 5000 (mostrada em FU et al. 2002, 2003, BANNON et al. 2003). A aplicação de uma proporção muito alta de enzima/proteína de teste pode também ser criticamente aumentada no contexto de plantações GM e autorizações para alimentação, apontando a possibilidade de resultados falso negativos (GURIAN-SHERMAN 2003a, b). A interpretação de resultados experimentais difere entre autores: alguns consideram proteínas não estáveis quando se degradam dentro de 30 segundos, outros dentro de 30 minutos (avaliado em FU et al. 2002, BANNON et al. 2003). Um assunto relacionado que só recentemente ganhou atenção é a relevância biológica de resultados obtidos através de métodos in-vitro usados. Até mesmo se uma proteína se degrada no gastrointestinal, os fragmentos restantes devem ser considerados mais resistentes e – se excedem um peso molecular de 1500 a 3500 Da – podem se ligar a IgE (avaliado em THOMAS et al. 2004).

JENSEN-JAROLIM and UNTERSMAJR (2005) argumentaram que o fato de que situações in-vivo podem ser diferentes porque o elevado pH do estômago pode resultar numa diminuição de atividade proteolítica, como por ex., no início da infância, nos mais velhos ou gastrites atróficas crônicas. Há um número de doenças, incluindo gastrite ou úlcera, onde a neutralização ou a inibição do ácido é um importante objetivo terapêutico. A neutralização do ácido é precisa durante cuidados cirúrgicos e tratamentos com corticosteróides. Anti-ácidos, bloqueadores de receptor H2 e inibidores de bomba de próton são largamente consumidos sem receitas devido à liberação para venda nos mercados. Estudos recentes clínicos e animais confirmaram que essas drogas sustentam a indução de IgE e sensibilização para alérgenos de alimentos (UNTERSMAJR et al. 2003, 2005). De certa forma isso foi reconhecido durante o relatório da US EPA (MENDELSON et al. 2003).⁽¹²⁾ A controvérsia sobre a relevância de testes de digestibilidade in-vitro é também refletida em documentos que guiam avaliações de risco, dando conselhos diferentes sobre testes de digestibilidade (veja tabela 1). Observações importantes também foram feitas pela CSP avaliando o dossiê MON810 a respeito dos estudos de digestibilidade da proteína Btk (SCP 1998a).

12 “O teste de digestibilidade não intenciona [...] implicar que transtornos similares irão acontecer em todos os sistemas digestivos humanos” (MENDELSON et al. 2003). No entanto, essa qualificação não muda a posição da EPA de que testes de toxicidade aguda e testes de digestibilidade in-vitro forneceriam dados suficientes para concluir a falta de propriedades tóxicas das proteínas Bt.

Informe das medidas de segurança na Áustria

Tabela 1: Opiniões divergentes em documentos que orientam testes de digestibilidade in-vitro (SPÖK et al. 2004; incluindo resultados não publicados)

Fonte	Requerimentos de teste
CSP (1998B)	Desencorajado, sugestão de teste in-vivo
Dossiês da EU (importação, cultivo, alimentos, ração) 1995 a 2001 Atualização: 2005	Rotineiramente conduzidos (SGF, SIF etc) Muito similar (resultados preliminares)
SSC (2000)	Validade limitada (situação de melhor caso apenas)
OECD (2000)	“Pode não fornecer sempre claras evidências”
NL Biosafety Council (2003)	Encorajado, ex-vivo ou in-vivo numa base caso a caso
EFSA (2004)	Encorajado
Codex Alimentarius (2003)	Encorajado

Fonte da proteína de teste

Para fazer estudos de propriedades tanto tóxicas quanto alergênicas de novas proteínas em plantação GMs, as proteínas de teste são quase exclusivamente produzidas de micróbios, frequentemente usando trechos de *E. coli*, mas também *Bacillus* e *Pseudomonas spp.*

As empresas afirmam que a necessidade de purificar quantias em gramas de proteínas de testes de plantas GMs (geralmente a proteína alvo é medida em níveis µg ou até mesmo ng) aumentaria excessivamente o custo para os requerentes e essas proteínas podem ser facilmente medidas em níveis mais altos em micróbios.

Usar proteínas de teste de micróbios seria em princípio aceito se as proteínas produzidas na planta GM e o micróbio fossem idênticos ou pelo menos equivalentes em relação às propriedades investigadas no teste. Os críticos, no entanto, apontaram muitas diferenças que podem ocorrer na proteína nos casos em que o mesmo gene aparece em plantas e micróbios. (GURIAN-SHERMAN 2003b, FREESE and SCHUBERT 2004, SPÖK et al. 2004).

As diferenças podem acontecer no nível da sequência de DNA durante a transformação e na combinação do RNA, podendo resultar em uma sequência de aminoácido alterada. Processos translacionais, incluindo processamento proteolítico, glicosilação, acetilação, fosforilação, metilação e dobramento podem também diferir entre plantas e micróbios. Qualquer mudança estrutural entre a planta e a proteína de teste pode necessariamente ser ou não de relevância para a segurança, já que essas mudanças podem alterar propriedades imunológicas e/ou funcionais e assim influenciar propriedades relevantes para a toxicidade. Em particular, o padrão de glicosilação pode ser completamente ausente em bactérias, mas não em plantas. A glicosilação tem um papel importante para as propriedades imunogênicas.

Testes sobre a equivalência de proteína de teste e de planta estão sendo feitos (GURIAN-SHERMAN 2003b, FREESE and SCHUBERT 2004, SPÖK et al. 2004). As questões permanecem, no entanto, mesmo se os métodos rotineiramente aplicados/requeridos possam ser suficientes para detectar todas as diferenças relevantes possíveis.

Uma pesquisa recente de PRESCOTT et al. (2005) mostra que essas preocupações não são apenas considerações teóricas. Os autores descreveram os efeitos de saúde relevantes para a segurança em ratos alimentados com o inibidor-1 alpha-amilase de uma fava comum que aparece em ervilhas (*Pisum sativum L.*). Esses efeitos incluíam inflamação mediada por células CD4+ Th2 e elucidaram a imunoreatividade de antígenos heterogêneos consumidos ao mesmo tempo em estudos de alimentação de cobaias. Nenhum desses impactos de saúde foi observado com o inibidor-1 alpha-amilase de favas nativas e os efeitos foram, portanto, atribuídos às diferenças na glicosilação e/ou outras modificações na proteína pelo hospedeiro heterólogo. Esse caso representaria o primeiro incidente em planta GM que confirmaria empiricamente a relevância para segurança de diferenças entre organismos doadores e organismos hospedeiros no processamento de proteínas.

Informe das medidas de segurança na Áustria

Pode-se concluir a necessidade de revisar e redefinir os testes de equivalência e/ou considerar mais seriamente a possibilidade de obter proteínas de teste a partir de plantas.

Teste de toxicidade com planta inteira/alimento

Um teste de toxicidade com planta inteira/alimento não foi incluído no dossiê original do MON810 e não foi pedido pelo CSP (nem pelo Comitê Científico de Alimentos, no contexto de autorização de Novo Alimento). A avaliação de toxicidade fornecida no dossiê original não considerou os efeitos subagudos, subcrônicos ou crônicos da proteína introduzida. Nem mostrou os possíveis efeitos não visados na planta toda que podem levar a propriedades tóxicas alteradas. Dadas essas limitações⁽¹³⁾, estudos de planta inteira/alimento são considerados indispensáveis.

Confiança num histórico de uso seguro

No dossiê, os requerentes sempre argumentam em favor do “histórico de uso seguro”. No entanto, no caso de plantas para alimentação e na falta de dados epidemiológicos, apenas efeitos muito severos seriam detectados. Efeitos crônicos, como um aumento moderado de taxas de câncer, não seriam notados. Com produtos alimentícios não há apenas uma falta de evidência epidemiológica como também a ausências de dados da exposição.

Esse problema foi recentemente reconhecido ao longo de uma discussão de OMC sobre as medidas da Comunidade Européia nos produtos de biotecnologia:

[Dr. Nutti]⁽¹⁴⁾ afirma que a exposição para a dieta humana que não tem indicações de efeitos adversos não seria um critério a ser levado em conta. Sem falar da questão ética de fazer testes pré-mercado de toxicidade em humanos, essa informação não soa científica para nada além de risco toxicológico agudo, como explicado pela Comunidade Européia na seção de tópicos gerais e vigilância e segurança alimentar. A epidemiologia padrão diz que, na falta de dados exposição a respeito de condições crônicas, não há simplesmente como averiguar qualquer efeito – ou falta dele – na saúde humana (EC 2005, Par. 873).

5.2.2 Testes de alergenicidade

Testes de alergenicidade no caso dos dossiês do MON810 são limitados à proteína introduzida CryIA(b) e consistem de testes de digestibilidade in-vitro e comparações homólogas para alérgenos conhecidos. O histórico de uso seguro de proteínas Bt em geral e os baixos níveis de expressão também são mencionados para apoiar a declaração de segurança.

Como discutido em detalhes por SPÖK et al. (2005), esses métodos não providenciam qualquer evidência direta de propriedades alérgicas e nada de propriedades de sensibilização. Além disso, os métodos e evidências usados não podem ser considerados como indicadores confiáveis de propriedades alérgicas por uma série de razões explicadas a seguir.

Primeiro, o trabalho de HEISS et al. (1996), YAGAMI et al.(2000), KENNA and EVANS (2000), FU et al.(2002) e outros não confirmam a correlação entre propriedades alergênicas e estabilidade proteolítica postulada por ASTWOOD et al.(1996) e outros. YAGAMI et al.(2000) não acredita que alérgenos de alimentos sejam mais estáveis que proteínas com propriedades alérgicas confirmadas. KENNA and EVANS (2000) e FU et al.(2002) não encontraram nenhuma correlação. Além disso, tanto os resultados falso positivos como os falso negativos nos testes de segurança podem ser possíveis. As diferenças nos projetos de estudos in-vitro (discutidas acima) colocam dúvidas consideráveis sobre o significado dos dados desses experimentos.

Segundo, as tecnologias de comparação rotineiramente usadas, como FASTA e BLAST (PEARSON 2000, ALTSCHUL et al. 1990a, b), assim como os novos métodos desenvolvidos especificamente para prever o potencial alergênico de determinada proteína (HILEMAN et al. 2002, STADLER & STADLER 2003, SOERIA-ATMADJA et al. 2004, BJÖRKLUND et al. 2005), forneceriam resultados falso positivos e falsos negativos em muitos casos. Resultados das comparações podem diferir dependendo dos parâmetros usados (p.ex., substituição de matriz e penalidades de

¹³ Parcialmente discutido acima, para detalhes veja SPÖK et al. (2004).

¹⁴ Comentário: um dos especialistas ouvidos pelo Painel.

Informe das medidas de segurança na Áustria

intervalo) (BÖRKLUND et al. 2005). Mais importante que isso, é sabido que existem isoformas não alergênicas de alérgenos, diferindo por apenas poucos aminoácidos comparados com suas contrapartes alergênicas. Tais isoformas não alergênicas foram descritas por várias fontes de alérgenos (p.ex., bétula, pólen de castanha) (BREITENEDER et al. 1993, FERREIRA et al. 1996). A

isoforma Bet v 1a (ou cinco isoformas recombinadas Bet v 1 que se diferem em apenas poucos aminoácidos) apresentam uma alta atividade de ligação IgE, enquanto isoformas Bet v 1d e Bet v 1l apresentam uma atividade de ligação IgE bem baixa. Por causa de seus baixos potenciais alergênicos, tais isoformas foram até sugeridas como candidatas para imunoterapia específica para alérgenos (FERREIRA et al. 1996). Da mesma forma, foram descritas proteínas com significativas sequências homólogas para grandes alérgenos, mas sem qualquer atividade alergênica. Por exemplo, a proteína de mirta induzida por citocinina (T1) exibiu uma significativa sequência homóloga com proteínas relacionadas à patogênese e à família de alérgenos Bet v 1. As sequências de aminoácido de proteína de mirta (T1) e o maior alérgeno do pólen de castanha apresentaram 40,4% de identidade de sequência, mas, apesar da homologia na sequência, a proteína de mirta mostrou ter características imunologicamente distintas da família de alérgenos Bet v 1 e não apresentou propriedades alergênicas (LAFFER et al. 2003). Esses exemplos mostram que as comparações de sequência podem identificar erroneamente proteínas como alérgenas. Por outro lado, novos alérgenos são descobertos continuamente e, portanto, está claro que as bases de dados contendo sequências alérgenas estão incompletas no momento. Sendo assim, o potencial alergênico não pode ser excluído com certeza suficiente nos casos em que sequências homólogas foram encontradas. A validade da comparação de homologia dependeria da base de dados usada. A comparação de homologia citada no dossiê do MON810 é datada de 1990 e 1995, respectivamente. Dada a velocidade das pesquisas imunológicas, uma análise comparativa mais recente incluiria cinco vezes mais sequências de proteínas alergênicas (MARI 2005).

Terceiro, os níveis de expressão de certos alérgenos podem variar de acordo com o crescimento da planta, estágios de desenvolvimento, expressão específica de tecido e estresse ambiental. Um exemplo da variabilidade de componentes alérgenos em diferentes estágios de desenvolvimento e tecidos é o alérgeno profilina. As profilinas representam proteínas de ligação de actina que foram descritas como alérgenos cross-reactive de planta (VALENTA et al. 1991). A profilina pode ser detectada em diferentes tecidos somáticos de planta, mas sua expressão e conteúdo são de 50 a 100 vezes maior em pólen maduro do que em sementes ou folhas. Durante os estágios iniciais do desenvolvimento do pólen, nenhuma profilina pode ser detectada pelo método Northern Blotting, enquanto em pólen maduro uma grande quantidade de profilina foi achada (MITTERMANN et al. 1995). Outro estudo investigou 16 variedades de maçãs a respeito do maior alérgeno da maçã, Mal d 1, em seus componentes (VIETHS et al. 1994). Os autores mostraram que certas partes da maçã contêm quantidades maiores de Mal d 1 que outras e concluíram que a potência de ligação IgE de diferentes partes da maçã são correlatas com a quantidade do alérgeno. Descobertas semelhantes foram feitas com a proteína de transferência de lipídio Pru p3, maior alérgeno do pêssego (CARNÉS et al. 2002). A concentração de proteína de transferência de lipídeo Pru p3 em extratos da pele do pêssego era aproximadamente sete vezes maior que nos extratos da polpa (CARNÉS et al. 2002). Assim, pode ser concluído que o nível de expressão de determinada proteína não pode sempre ser relacionado com sua potencial alergenicidade. Além disso, os níveis de expressão de alérgenos comprovados podem variar largamente em diferentes pedaços, tecidos e estágios de desenvolvimento, e podem ser influenciados por uma variedade de fatores. Isso também foi reconhecido por uma consultoria de especialistas em conjunto da FAO/OMS, que concluiu que não é possível ligar alergenicidade potencial com uma proteína determinada a partir do seu nível de expressão (FAO/WHO 2001).

Outro grande imprevisto do método é o foco na habilidade da proteína introduzida em exibir respostas alergênicas em indivíduos já sensibilizados. Esse método não considera as propriedades sensibilizadoras “de-novo”, p.ex. a habilidade de sensibilizar.

Igualmente importante, avaliações de alergenicidade de proteína introduzida deveriam ser complementadas por uma avaliação de planta completa, como descrito em SPÖK et al. 2005. Muitos alérgenos de plantas pertencem a uma família de proteínas relacionadas com patogênese, e a expressão delas pode ser suprarregulada por infecções, hormônios e outros estressores (HANNINEN et al. 1999; BREITENEDER et al. 1993; HOFFMANN-SOMMERGRUBER 2002; MIDORO-HORIUTI et al. 2001). Isso também foi reconhecido nos pedidos da Comissão Europeia na discussão da OMC:

“Mesmo que uma determinada proteína por si não represente um alérgeno, sua expressão em outro organismo hospedeiro pode indiretamente suprarregular a expressão de alérgenos potenciais. É portanto, recomendada a comparação da planta projetada/produto da planta com aquela da parente/planta

selvagem/produto da planta em pacientes já sensibilizados. A habilidade potencialmente aumentada do organismo transgênico versus o organismo parente/selvagem de induzir respostas IgE “de-novo” (p.ex, sensibilização alérgica) precise ser comparada com experimentos de imunização.” (EC 2005, Par. 716).

Nesse documento, a Comissão Europeia - argumentando junto com trechos de consultores da FAO/OMS sobre avaliação de alergenicidade (FAO/WHO 2001) – colocou ênfase também em testes de soro que foram considerados “altamente aceitáveis em situações obscuras nos dias de hoje” (EC 2005, Par. 398).

Pedidos durante o procedimento de autorização para “*filtragem adicional de proteínas transgênicas para ligação com soro de pacientes alérgicos, e para testar potenciais mudanças na alergenicidade intrínseca de milho causada por modificação genética, usando plantas inteiras para esses estudos*”, foram consideradas razoáveis e, “*de acordo com a decisão, três métodos recomendados pela Consultoria de Experts da FAO/WHO {FAO/WHO, 2001}, também mencionadas nos direcionamentos do Codex como métodos e ferramentas que podem ser consideradas conhecimento conforme a tecnologia avança.*” (EC 2005, Par. 470-474)⁽¹⁵⁾

Um estudo de planta inteira, que não foi feito com o milho GM MON810, deveria considerar outras rotas importantes de exposição que foram previamente descartadas pelo painel sobre OGM (inalação de pólen e poeira, p.ex., durante a manufatura e processamento das plantas). As plantações GM podem exibir atividades alergênicas também por outras vias, particularmente em casos de cultivos e processamento em larga escala. Por exemplo: o pólen representa uma fonte alérgica muito mais potente e frequente do que a comida derivada da planta e deveria, portanto, ser levado em conta que plantações GMs podem também liberar alérgenos através da produção do pólen e causar sensibilização respiratória. O processamento de milho pode levar à sensibilização respiratória em padeiros que são expostos à farinha. Nesse contexto, foi relatado que a poeira da soja causou vários casos de asma em Barcelona, Espanha, quando a soja era descarregada no porto da cidade (CODINA et al. 1999, ANTO et al. 1993). Muitos dos alérgenos da casca da soja foram identificados e caracterizados (ANTO et al. 1993). Outro exemplo de sensibilização respiratória foi descrito em empregados expostos à papaína (NOVEY et al. 1980). A reatividade cruzada de anticorpos IgE da papaína com alérgenos do látex foi verificada usando o soro de pessoas exposta a látex e papaína (BAUR et al. 1995). A hipersensibilidade à papaína foi encontrada em aproximadamente 1% de toda a população alérgica usando testes de picadas na pele e medidas de IgE e foi confirmada por desafios orais (MANSFIELD et al. 1985). Esses resultados sugerem que outros cenários de exposição e sensibilização devem ser considerados ao se avaliar GMPs e outros produtos, ao invés de focalizar apenas na rota gastrointestinal. Incertezas adicionais também foram levantadas a partir dos trabalhos de VAZQUEZ et al. (1999a, b; 2000), MORENO-FIERROS et al. (2003) e PRESCOTT et al. (2005). Vazquez, Moreno-Fierros e seus parceiros puderam mostrar a Cry1Ab agindo como uma adjuvante, p.ex., ela aumenta a resposta anticorpos mucosal e/ou sistêmica para uma proteína que é co-administrada com a proteína Cry. Depois de administração intraperitoneal ou intragástrica da Cry1Ab em ratos em dosagem relativamente alta, respostas IgG, IgM e mucosal IgA foram induzidas, mas nenhuma resposta IgE foi observada. A EFSA afirmou que, como o milho não é um alimento comumente alergênico, e apenas uma causa rara de alergia ocupacional, o efeito adjuvante das proteínas Cry, observados após altas dosagens intragástricas ou intranasais, não irá aumentar qualquer preocupação sobre alergenicidade. Prescott e seus colaboradores mostraram efeitos imunogênicos em ratos alimentado com inibidor-1 alpha-amilase de uma fava comum presente em ervilhas (já descrito acima). A relevância desses estudos para avaliações de alergenicidade ainda não foi totalmente compreendida e contestada na avaliação de risco do OGM.

¹⁵ Milho Roundup Ready Monsanto (NK603) C/ES/00/01 (EC cronologia 76), Questão 39bis: Dada a informação nesse Painel, incluindo a notificação e a carta adicional da Monsanto trazendo informações adicionais (previamente citadas em EC-76/At.11-12), as novas informações de estudos de alergenicidade e testes de PCR pedidos pela Áustria (EC-76/At.44) eram necessárias ou úteis para assegurar que as conclusões da avaliação de segurança eram válidas?

5.2.3 Equivalência substancial

A equivalência substancial é pedida para o MON810 essencialmente com base na análise composicional que, por sua vez, possui vários imprevistos:

Primeiro, apenas um número bastante limitado de parâmetros é medido. Apenas os principais componentes, aminoácidos e ácidos graxos estão incluídos na análise comparativa. Micronutrientes e outros ingredientes importantes não são considerados. Até os os principais componentes são interpretados de forma diferente, p.ex., não necessariamente incluindo fibras, FDA e FDN (no caso dos campos de testes de 1994). Esse conjunto de ingredientes investigado deve ser considerado muito estreito quando comparado ao documento de consenso da OECD e da EUROPABIO (veja tabela 2).

Segundo, diferenças são detectadas entre o MON810 e o controle (p.ex. para glutamina, leucina, prolina, FDA, FDN, C18:1 e C18:2 ácidos graxos, amido, proteína).⁽¹⁶⁾ Essas diferenças não são consideradas relevantes, já que estão na abrangência literária. Em um caso a literatura usada foi excedida (proteína, testes nos EUA), então a abrangência literária (1975) foi usada para “normalizar” o desvio. Nenhuma das diferenças foi considerada razão para repetir ou estender as análises comparativas.

Terceiro, parece que nenhuma linha de controle isogênica foi usada.

Se a análise composicional é usada como indicador de efeitos não visados, o número de substâncias medidas é muito pequeno. Se usada como avaliação nutricional, faltam certos principais componentes e micronutrientes.

Tabela 2: Componentes analisados no dossiê do MON810 comparados a componentes listados no Documento de Consenso da OECD e no Guia da EuropaBio.

Ingrediente da planta	OECD (2002)	EuropaBio (2001)	MON810
Proteína	+	+	+
Gordura	+	+	+
Carboidratos	+	+	+
Fibra	+	Opcional	+
FDA	+	Opcional	+
FDN	+	Opcional	+
Cinza	+	+	+
Aminoácidos (18)a	+	+	+
Ácidos graxos (5)b	+	+	+
Marcrominerais			
Ca	+	+	-
K	+	+	-
Mg	+	+	-
Na	+	+	-
P + + -	+	+	-
Microminerais			
Cu	+	-	-
Fe	+	-	-
Se	+	-	-

¹⁶ Não foi mencionado e pode também ser concluído das informações dadas, se uma análise estatística foi feita. Dada a falta de informações detalhadas no dossiê, não fica totalmente claro se as diferenças são estatisticamente significantes.

Informe das medidas de segurança na Áustria

Ingrediente da planta	OECD (2002)	EuropaBio (2001)	MON810
Zn	+	-	-
Vitaminas			
Equivalente do retinol	+	-	-
Vit B1	+	+	-
Vit B2	+	+	-
Vit B6	+	-	-
Vit E	+	+	-
Total de ácido fólico	+	+	-
Niacina	+	-	-
Outros			
Ácido fítico	+	+	-
Rafinose	+		-
Furfural	+		-
Ácido ferulico	+	-	-
Ácido p-Cumárico	+	-	-

Áreas em cinza indicam que o dado respectivo não foi apresentado no dossiê do milho MON810.

a) Ala, Arg, Asp, Cys, Iso, His, Glu, Gly, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Tyr, Try, Val; b) Palmitico, esteárico, oléico, linoléico e ácido linolénico; FDA...fibra detergente em ácido; FDN...fibra detergente neutra; +... considerado; -... não considerado.

5.2.4 Dossiê não inclui relatórios detalhados

Como uma desvantagem geral, os relatórios detalhados, nos quais as conclusões de segurança do MON810 acima mencionadas se basearam, não foram incluídos no dossiê, e, de acordo com o conhecimento do autor, não estavam disponíveis para os avaliadores de risco da Comissão Europeia e em nível nacional. A conclusão é que algumas críticas metodológicas (como a de estudos de digestibilidade in-vitro) realmente são válidas e, portanto, só podem ser julgadas após a avaliação de relatórios detalhados.

Uma avaliação mais acurada dos campos de teste e análises comparativas também só seria possível se relatórios completos fossem fornecidos. Com as informações fornecidas, as conclusões de segurança não podem ser totalmente verificadas por uma série de razões:

- A análise composicional é documentada em tabelas de sumário, faltam dados detalhados;
 - Às vezes não fica claro quais unidades de medida são usadas nas tabelas;
 - Dois métodos diferentes são usados para analisar material de planta. Eles não permitem comparações em cada caso;
 - Ainda não está claro como a análise estatística foi conduzida;
 - A tomada de amostras não está propriamente descrita (p.ex. quantas sementes/plantas foram reunidas para uma amostragem), o armazenamento das proteínas não está propriamente descrito;
- Não se afirma onde medidas únicas ou repetidas são conduzidas;
- Nenhuma ou pouca descrição do desenho do campo de teste, condições e prática de cultivo;
 - Falta abrangência de literatura para o material de plantas e carboidratos (sementes apenas);
 - A abrangência reportada é parcialmente baseada num estudo não publicado do requerente;
 - Valores médios faltam em alguns trechos.

5.2.5 Conclusões

A discussão nas seções precedentes revela um número de imprevistos e a falta de verificabilidade. A avaliação de toxicidade não considera efeitos além do tóxico agudo da proteína introduzida. A avaliação de potencial alergênico é baseada em métodos e evidências que não podem ser considerados confiáveis. O método usado é ainda menos apropriado para avaliar qualquer propriedade sensibilizadora “de-novo”. A inalação de poeira e pólen não é considerada como rota de exposição. A possibilidade de que propriedades tóxicas ou alergênicas possa aparecer não é considerada.

Campos de testes e análises composicionais não são totalmente verificáveis e não parecem ter sido propriamente conduzidos.

À luz dos guias mais recentes, a informação incluída no dossiê também não é suficiente para uma autorização comercial de acordo com a Diretriz 2001/18/EC ou a Regulamentação 1829/2003.

O fato de EFSA ter repetidamente reavaliado o caso do milho MON810, como dito em seu parecer de 2006 (EFSA 2006), parece fornecer nenhum efeito de reassegurar.

Os estudos de segurança citados no dossiê das aplicações híbridas são essencialmente os mesmos que os do dossiê original, na maior parte estudos não publicados feitos pela empresa durante a primeira metade dos anos 90.

Em suma, pelos dados fornecidos no dossiê do milho MON810 e à luz de recentes evidências da literatura científica, não é nem possível verificar todos os aspectos da avaliação de risco feita pelo requerente, nem concluir um patamar suficiente de segurança.

5.2.6 Referências

ALTSCHUL S.F., GISH W., MILLER W., MYERS E.W. & D.J. LIPMAN (1990a). *Basic local alignment search tool*. J. Mol. Biol. 215: 403–410.

ALTSCHUL S.F. & D.J. LIPMAN (1990b). *Protein database searches for multiple alignments*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 5509–5513.

ANTO J.M., SUNYER J., REED C.E., SABRIA J., MARTINEZ F., MORELL F., CODINA R., RODRIGUEZROISIN R., RODRIGO M.J., ROCA J. & M. SAEZ (1993). *Preventing asthma epidemics due to soybeans by dust control measures*. N. Engl. J. Med. 329: 1760–1763.

ASTWOOD J.D. & R.L. FUCHS (1996). *Allergenicity of foods derived from transgenic plants*. Monogr. Allergy. 32:105-120.

ASTWOOD J.D., LEACH J.N. & R.L. FUCHS (1996). *Stability of food allergens to digestion in vitro*. Nature Biotech. 14: 1269-1273.

BANNON G., FU T.-J., KIMBER I. & D.M. HINTON (2003). *Protein Digestibility and Relevance to Allergenicity*. Environmental Health Perspectives 111 (8): 1122-1124.

BAUR X., CHEN Z., ROZYNEK P., DUSER M. & M. RAULF-HEIMSOTH (1995). *Cross-reacting IgE antibodies recognizing latex allergens, including Hev b 1, as well as papain*. Allergy 1995 (50): 604–609.

BJÖRKLUND A.K., SOERIA-ATMADJA D., ZORZET A., HAMMERLING U. & G.M. GUSTAFSSON (2005). *Supervised identification of allergen-representative peptides for in silico detection of potentially allergenic proteins*. Bioinformatics 21 (1): 39-50.

BREITENEDER H., FERREIRA F., HOFFMANN-SOMMERGRUBER K., EBNER C., BREITENBACH M., RUMPOLD H., KRAFT D. & O. SCHEINER (1993). *Four recombinant isoforms of Cor a I, the major allergen of hazel pollen, show different IgE-binding properties*. Eur J Biochem 212: 355–362.

CARNÉS J., FERNÁNDEZ-CALDAS E., GALLEGO M.T., FERRER A. & J. CUESTA-HERRANZ (2002). *PRU p 3 (LTP) content in peach extracts*. *Allergy* 57: 1071– 1075.
Page 43 of 52

CODEX ALIMENTARIUS (2003). *Codex principles and guidelines on foods derived from biotechnology*. Codex Alimentarius Commission, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Food and Agriculture Organisation: Rome.

CODINA R., LOCKEY R.F., FERNÁNDEZ-CALDAS E. & R. RAMA (1999). *Identification of the soybean hull allergens responsible for the Barcelona asthma outbreaks*. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 119: 69–71.

EC (2005). *Comments by the European Communities on the Scientific and Technical Advice to the Panel*. Geneva, 28 January 2005. In: WTO “European Communities: Measures Affecting the Approval and Marketing of Biotech Products (DS291, DS292, DS293)”. Final Report of the Panel, WT/DS291/FINAL, WT/DS292/FINAL, WT/DS293/FINAL, 2006.

EFSA (2006). *Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to genetically modified crops (Bt176 maize, Milho MON810, T25 maize, Topas 19/2 oilseed rape and Ms1xRf1 oilseed rape) subject to safeguard clauses invoked according to Article 16 of Directive 90/220/EEC*. Opinion adopted on 29 March 2006. *The EFSA Journal* 338: 1-15.

EFSA (2004). *Guidance Document on Genetically Modified (GM) Plants and Derived Food and Feed*. www.efsa.eu.int.

EUROPABIO (2001). *Safety Assessment of GM Crops*. Document 1.1 Substantial Equivalence – Maize. Issue 1 April 2001.

FAO/WHO (2001). *Evaluation of allergenicity of genetically modified foods. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods derived from Biotechnology*. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome.

Ferreira F., Hirtenlehner K., Jilek A., Godnik- Cvar J., Breiteneder H., Grimm R., Hoffmann- Sommergruber K., Scheiner O., Kraft D., Breitenbach M., Rheinberger H.J. & C. Ebner (1996). *Dissection of immunoglobulin E and T lymphocyte reactivity of isoforms of the major birch pollen allergen Bet v 1: Potential use of hypoallergenic isoforms for immunotherapy*. *J. Exp. Med.* 183: 599–609.

Freese W. & D. Schubert (2004). *Safety Testing and Regulation of Genetically Engineered Food*. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews* 21:299-324.

Fu T-J., Abbott U.R. & C. Hatzos (2002). *Digestibility of food allergens and nonallergenic proteins in simulated gastric fluid and simulated intestinal fluid – a comparative study*. *J. Agric. Food Chem.* 50:7154-7160.

Fu T-J., Abbott U.R. & C. Hatzos (2003). *Rebuttal on Digestibility of Food Allergens and Nonallergenic Proteins in Simulated Gastric Fluid and Simulated Intestinal Fluids A Comparative Study*. *J. Agric. Food Chem.* 51: 5185-5187.

Gurian-Sherman D. (2003a). *Comments to EPA re: Dow Agro Request for a Tolerance for Corn Rootworm Transgenic Corn Containing Cry34Ab1/Cry35Ab1*. Attention: Docket ID Number OPP-2002-0350. April 7, 2003. available at <http://www.cspinet.org/biotech/dowagro.html>.

- GURIAN-SHERMAN D. (2003b). *Holes in the Biotech Safety Net: FDA Does Not Assure the Safety of Genetically Engineered Foods*. Washington, DC: Center for Science in the Public Interest (CSPI).
- HANNINEN A.R., MIKKOLA J.H., KALKINEN N., TURJANMAA K., YLATALO L. REUNALA T. & T. PALOSUO (1999). *Increased allergen production in turnip (Brassica rapa) by treatments activating defense mechanisms*. Journal of Allergy and Clinical Immunology 104: 194-201.
- HEISS S., FISCHER S., MÜLLER W.D., WEBER B., HIRSCHWEHR R., SPITZAUER S., KRAFT D. & R. VALENTA (1996). *Identification of a 60 kd cross-reactive allergen in pollen and plantderived food*. J. Allergy Clin. Immunol. 98:938-947.
- HILEMAN R.E., SILVANOVICH A., GOODMAN R.E., RICE E.A., HOLLESCHAK G., ASTWOOD J.D. & S.L. HEFLE (2002). *Bioinformatic methods for allergenicity assessment using a comprehensive allergen database*. Int. Arch. Allergy Immunol. 128: 280–291.
- HOFFMANN-SOMMERGRUBER K. (2002). *Pathogenesis-related (PR)-proteins identified as allergens*. Biochemical Society Transactions 30: 930-935.
- JENSEN-JAROLIM E. & E. UNTERSMAJR (2005). *Food safety: In-vitro digestion tests are nonpredictive for allergenic potential of food in stomach insufficiency*. Immunology Letters 102: 118-119.
- KENNA J.G. & R.M. EVANS (2000). *Digestibility of proteins in simulated gastric fluid*. The Toxicologist 54:141.
- KUIPER H. (2006). *Precaution in Risk Characterisation of GM Plants Regarding Food/Feed Safety and Environmental Impact*. Presentation at the Conference “The Role of Precaution in GMO Policy” 18 – 19 April, Vienna. http://www.umweltbundesamt.at/fileadmin/site/umweltthemen/gentechnik/GMOPrecaution_pdfs/GMO-Precaution_handouts_web_2teil_200406.pdf.
- LAFFER S., HAMDI S., LUPINEK C., SPERR W.R., VALENT P., VERDINO P., KELLER W., GROTE M., HOFFMANN-SOMMERGRUBER K., SCHEINER O., KRAFT D., RIDEAU M. & R. VALENTA (2003). *Molecular characterization of recombinant T1, a non-allergenic periwinkle (Catharanthus roseus) protein, with sequence similarity to the Bet v 1 plant allergen family*. Biochem. J. 373: 261–269.
- MANSFIELD L.E., TING S., HAVERLY R.W. & T.J. YOO (1985). *The incidence and clinical implications of hypersensitivity to papain in an allergic population, confirmed by blinded oral challenge*. Ann. Allergy. 55: 541–543.
- MARI A. (2005). *Importance of Databases in Experimental and Clinical Allergology*. Int. Arch. Allergy Immunol. 138(1): 88-96.
- MENDELSON M., KOUGH J., VAITUZUIS Z. & K. MATTHEWS (2003). *Are Bt crops safe?* Nature Biotechnology 21: 1003-1009.
- MIDORO-HORIUTTI T., BROOKS E.G. & R.M.GOLDBLUM (2001). *Pathogenesis-related proteins of plants as allergens*. Annals Allergy Asthma Immunology 87: 261-271.
- MITTERMANN I., SWOBODA I., PIERSON E., ELLER N., KRAFT D., VALENTA R. & E. HEBERLE-BORS (1995). *Molecular cloning and characterization of profilin from tobacco (Nicotiana tabacum) : Increased profilin expression during pollen maturation*. Plant. Mol. Biol. 27: 137–146.
- MORENO-FIERROS L. RUIZ-MEDINA E.J., ESQUIVEL R.L. LOPEZ-REVILLA R. & S. PINA-CRUZ (2003). *Intranasal CryIAc protoxin is an effective mucosal and systemic carrier and adjuvant of Streptococcus pneumoniae polysaccharides in mice*. Scand. J. Immunol., 57:45-55.

Informe das medidas de segurança na Áustria

NL Biosafety Council (2003). *Institute of Public Health and The Biosafety Council: Guidance Notes for the Safety Assessment of Genetically Modified Crops for Food and Feed Use*. 8 April 2003.

NOVEY H.S., KEENAN W.J., FAIRSHTER R.D., WELLS I.D., WILSON A.F. & B.D. CULVER (1980). *Pulmonary disease in workers exposed to papain: Clinico-physiological and immunological studies*. Clin. Allergy 10: 721–731.

OECD (2000). *Report of the Task Force for the Safety of Novel Food and Feed*. C(2000)86/ADD1, 17 May 2000.

OECD (2002). *Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Maize (Zea mays): Key Food and Feed Nutrients, Anti-Nutrients and Secondary Plant Metabolites*; Series of the Safety of Novel Foods and Feeds No. 6; ENV/JM/MONO(2002)25.

PEARSON W.R. (2000). *Flexible sequence similarity searching with the FASTA3 program package*. Methods Mol. Biol. 132: 185–219.

PRESCOTT V.E., CAMPBELL P.M., MOORE A., MATTES J., ROTHENBERG M. E., FOSTER P.S., HIGGINS T.J.V. & S.P. HOGAN (2005). *Transgenic Expression of Bean-Amylase Inhibitor in Peas Results in Altered Structure and Immunogenicity*. Agric. Food Chem., 53 (23).

SCP (1998a). *Opinion of the SCP regarding "Submission for placing on the market of glufosinate tolerant corn (Zea mays) transformation event T25" by the AgrEvo Company*. SCP/GMO/006-Final. Submitted by the Scientific Committee on Plants, 10 February 1998.

SCP (1998b). *Scientific Committee on Plants: Guidance document to facilitate notifiers in the preparation of plant GMO dossiers for consideration by the Scientific Committee on Plants*. SCP/GMO/103-Final, 18 December 1998.

SCP (1999). *Opinion of the SCP on the Invocation by Austria of Article 16 (safeguard clause) of Council Directive 90/220/EEC with respect to the placing on the market of the Monsanto genetically modified maize (MON810) expressing the Bt cryIA(b) gene, notification C/F/95/12-02*. Opinion expressed by the Scientific Committee on Plants on 24 September 1999. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scp/out49_en.html.

SOERIA-ATMADJA D. ZORZET A. GUSTAFSSON M.G. & U. HAMMERLING (2004). *Statistical evaluation of local alignment features predicting allergenicity using supervised classification algorithms*. Int. Arch. Allergy Immunol. 133: 101–112.

SPÖK A., HOFER H., VALENTA R., KIENZL-PLOCHBERGER K., LEHNER P. & H. GAUGITSCH (2002). *Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten. Empfehlungen zur Standardisierung der Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Produkten auf Basis der Richtlinie 90/220/EWG/ (2001/18/EG)*. Monographien 109 Wien Umweltbundesamt.

SPÖK A., HOFER H., VALENTA R., KIENZL-PLOCHBERGER K., LEHNER P. & H. GAUGITSCH (2003a). *Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten - Teil 2A. Untersuchungen zur Praxis und Empfehlungen zur Standardisierung der Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Lebensmitteln*. Monographien 164A, Wien Umweltbundesamt.

SPÖK A., KARNER S., STIRN, S. & H. GAUGITSCH (2003b). *Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten - Teil 2B. Untersuchungen von Regelungen zur Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Lebensmitteln in der EU und den USA*. Monographien 164B, Wien Umweltbundesamt.

SPÖK A., HOFER H., LEHNER P., VALENTA R., STIRN S. & H. GAUGITSCH (2004). *Risk Assessment of GMO Products in the European Union. Toxicity assessment, allergenicity assessment and equivalência substancialin practice and proposals for improvement and standardisation*. Vienna Umweltbundesamt 2004 Reports Vol 253. http://www.umweltbundesamt.at/publikationen/publikationssuche/publikationsdetail/?&pub_id=1531; also published as Vol 7-04 in the series of the Federal Ministry of Health and Women (BMGF). Vienna BMGF. http://www.bmgf.gv.at/cms/site/attachments/6/8/7/CH0255/CMS1090828056047/risk_assessment_of_gmo_products-bmgf-layout.pdf.

Informe das medidas de segurança na Áustria

SPÖK A, GAUGITSCH H, LAFFER S., PAULI G., SAITO H., SAMPSON H., SIBANDA E., THOMAS W., VAN HAGE-HAMPSTEN M. & R. VALENTA (2005). *Suggestions for the assessment of the allergenic potential of genetically modified organisms. International Archives of Allergy and Immunology* 137: 167-180.

SSC (2000). *Scientific Steering Committee: Risk Assessment in a Rapidly Evolving Field: The Case of Genetically Modified Plants (GMP)*. Scientific Opinion of the Scientific Steering Committee. Expressed on 26/27 October 2000.

STADLER M.B. & B.M. STADLER (2003). *Allergenicity prediction by protein sequence. FASEB J.* 17:1141–1143.

THOMAS K., AALBERS M., BANNON G., BARTELS M., DEARMAN R. J., ESDAILE D. J., FU T. J., GLATT C. M., HADFIELD N., HATZOS C., HEFLE S. L., HEYLINGS J. R., GOODMAN R. E., HENRY B., HEROUET C., HOLSAPPLE M., LADICS G. S., LANDRY T. D., MACINTOSH S. C., RICE E. A., PRIVALLE L. S., STEINER H. Y., TESHIMA R., VAN REE R., WOOLHISER M. & J. ZAWODNY (2004). *A multilaboratory evaluation of a common in vitro pepsin digestion assay protocol used in assessing the safety of novel proteins. Reg. Toxicol. Pharmacol.* 39: 87-98.

UNTERSMAYR E., BAKOS N., SCHOLL I., KUNDI M., ROTH-WALTER F., SZALAI K., RIEMER A.B., ANKERSMIT H.J., SCHEINER H.J., BOLTZ-NITULESCU G. & E.JENSEN-JAROLIM (2005). *Anti-ulcer drugs promote IgE formation toward dietary antigens in adult patients. FASEB J* 19: 656-658.

UNTERSMAYR E., SCHOLL I., SWOBODA I., BEIL W.J., FORSTER-WALDL E., WALTER F., RIEMER A., KRAML G., KINACIYAN T., SPITZAUER S., BOLTZ-NITULESCU, G., SCHEINER O. & E. JENSEN-JAROLIM (2003). *Antacid medication inhibits digestion of dietary proteins and causes food allergy: a fish allergy model in BALB/c mice. J. Allergy Clin. Immunol.* 112: 616-23.

VALENTA R., DUCHÊNE M., PETTENBURGER K., SILLABER C., VALENT P., BETTELHEIM P., BREITENBACH M., RUMPOLD H., KRAFT D. & O. SCHEINER (1991). *Identification of profilin as a novel pollen allergen; IgE autoreactivity in sensitized individuals. Science* 253: 557–560.

VAZQUEZ R.I., MORENO-FIERROS L., NERI-BAZAN L., DE LA RIVA G.A. & R. LOPEZ-REVILLA (1999b). *Bacillus thuringiensis CryIAC protoxin is a potent systemic and mucosal adjuvant. Scand. J. Immunol.* 49: 578-584.

VAZQUEZ-PADRON R.I., MORENO-FIERROS L., NERI-BAZAN L., DE LA RIVA G.A. & R. LOPEZREVILLA (1999a). *Intragastric and intraperitoneal administration of CryIAC protoxin from Bacillus thuringiensis induce systemic and mucosal immune response in mice. Life Sciences,* 64: 1897-1912.

VAZQUEZ-PADRON R.I., MORENO-FIERROS L., NERI-BAZAN L., MARTINEZ-GIL A.F., DE LA RIVA G.A. & R. LOPEZ-REVILLA R. (2000). *Characterization of the mucosal and systemic immune response induced by CryIAC protein from Bacillus thuringiensis HD 73 in mice. Braz. J. Med. Biol. Res.* 33: 147-155.

VIETHS S., JANKIEWICZ A., SCHÖNING B. & H. AULEPP (1994). *Apple allergy: The IgE-binding potency of apple strains is related to the occurrence of the 18-kDa allergen. Allergy* 49: 262–271.

YAGAMI T., HAISHIMA Y., NAKAMURA A., OSUNA H. & Z. IKEZAWA (2000). *Digestibility of allergens extracted from natural rubber latex and vegetable foods. J. Allergy Clin. Immunol.* 106: 752-762.

5.3 Milho GM T25

Esta seção avalia as evidências científicas recentes relevantes para as medidas de segurança da Áustria no estabelecimento no mercado da linhagem de milho geneticamente modificada T25. Como descrito na introdução desse capítulo (p. 34), muitos tópicos de avaliação de riscos de saúde são similares em ambos os dossiês. Para evitar redundância, as seções a seguir incluem apenas tópicos específicos para o milho T25. Em caso de métodos já discutidos, a referência é dada na subseção.

5.3.1 Avaliação de toxicidade

A avaliação de toxicidade no dossiê original basicamente se baseava num estudo de toxicidade em ratos de 14 dias com doses repetidas, em testes de digestibilidade in-vitro (simulando as digestões de humanos, suínos, ruminantes e frangos) e testes de calor e instabilidade de ácidos usando uma proteína bacteriana PAT.

Além disso, o requerente argumentou usando o histórico de uso seguro da proteína PAT.

Essa avaliação não pode ser considerada suficiente pelas seguintes razões (junto com trechos de SPÖK et al. 2004).

Estudo de toxicidade de dose repetida da proteína PAT

O estudo de toxicidade de dose repetida de 14 dias incluído no dossiê final foi feito de acordo com as normas da OECD e incluído no dossiê como relatório completo.

Este tipo de estudo é bem mais adequado do que estudos de toxicidade aguda. No entanto, por razões discutidas na seção prévia do milho MON 810 (Cap. 3.2, p.27ff e em Spök et al. 2004, 2003, 2002), esses estudos não são considerados nem pontos finais adequados para padrões de teste de toxicidade de plantações GMs nem da proteína introduzida como tal.

Mesmo documentos de Guia recentes pedem um estudo de 28 dias de doses repetidas (EFSA 2004 and NL BIOSAFETY COUNCIL 2003).

Teste de Digestibilidade in-vitro

Sobre os estudos de digestibilidade in-vitro, veja a discussão do milho MON810, Cap. 5.2, p.34ff.

Fonte da proteína para teste

Sobre os estudos de digestibilidade in-vitro, veja a discussão do milho MON810, Cap. 5.2, p.34ff.

Confiança no histórico de uso seguro

Sobre os estudos de digestibilidade in-vitro, veja a discussão do milho MON810, Cap. 5.2, p.34ff.

Toxicidade na planta toda/alimento

O dossiê não inclui um estudo de toxicidade de planta inteira. De acordo com o conhecimento do autor, nenhum estudo do tipo com o milho T25 foi publicado na literatura científica.

O estudo de 42 dias com frango incluído no dossiê é claramente uma conversão de estudos de alimentos e não deve ser confundido com estudo de toxicidade. Apenas efeitos tóxicos muito severos apareceriam em tal estudo. Isso também foi apontado pela Comissão Européia (EC 2005, Par. 603).

A ocorrência de efeitos secundários em modificação genética é bem conhecida na literatura científica e nos documentos de guia de organismos nacionais e internacionais (e.g. FAO/WHO 2000, THE ROYAL SOCIETY OF CANADA 2001, CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION 2003, também comentado por HASLBERGER 2003, SAP 2005). No entanto, tais efeitos não apareceriam necessariamente em análise composicional comparativa (com uma probabilidade ainda menor se, nesse caso, apenas um pequeno número de componentes de plantas tivesse sido analisado) ou em critérios de comparação morfológica. Nesse aspecto, as limitações da análise composicional e a relevância de estudos de planta inteira/alimento também foram reconhecidas pela Comissão Européia:

“Embora se note as limitações de tais estudos, estudos de toxicologia crônica são necessários especialmente na filtragem de efeitos não intencionais de OGMs, porque não existem atualmente melhores métodos suficientemente desenvolvidos.” (EC 2005, Par. 902)

“A determinação dos nutrientes-toxicantes (equivalência substancial) não pode detectar todos os efeitos não intencionais (produtos) [...] Estudos de planta inteira podem e devem ser usados para complementar outros métodos de teste de segurança.” (EC 2005, Par. 907)

5.3.2 Avaliação de alergenicidade

Foi apresentada evidência mostrando a falta de motivos de glicosilação na sequência de proteína PAT, em comparações homólogas com alérgenos conhecidos e nos estudos de digestibilidade in-vitro acima mencionados. A avaliação foi estimada nos seguintes trechos de SPÖK et al. (2005).

A respeito da homologia e estudos de digestibilidade in-vitro, veja a discussão do dossiê do milho MON810, Cap. 5.2, p.34ff.

A glicosilação de proteínas pode ter um papel em imugenicidade, mas pode definitivamente não ser considerada um indicador confiável de propriedades alergênicas. Por exemplo, as profilinas representam alérgenos altamente “cross-reactive”, mas não são glicosiladas (VALENTA et al. 1991). Também há outro grupo de alérgenos “cross-reactive” que pertence a proteínas ligadas a cálcio e não são glicosiladas (NIEDERBERGER et al. 1999). Ambas as famílias, profilinas e proteínas ligadas a cálcio, representam alérgenos bem caracterizados, que foram testados por sua atividade alergênica de forma bem detalhada. Embora alguns estudos indiquem que componentes de carboidratos possam contribuir para atividade alérgica, existe agora uma evidência crescente de que carboidratos estejam envolvidos em reconhecimento de IgE, mas são pobres causadores de reações alérgicas (VAN DER VEEN et al. 1997, MARI et al. 1999, MARI 2002, VON REE 2002). Apenas poucos relatórios descrevem componentes de carboidratos que se ligam IgE de soro de pacientes alérgicos e induzem a liberação de histamina de células do sangue (BATANERO et al. 1999, BUBLIN et al. 2003).

A respeito de propriedades alérgicas do OGM e outras rotas de exposição, veja a discussão do dossiê do milho MON810, p.34ff.

5.3.3 Equivalência substancial

A equivalência substancial foi pedida para o T25 essencialmente com base na análise composicional, que tem vários imprevistos.

Primeiro, apenas um número muito limitado de parâmetros é medido. Somente os principais componentes, aminoácidos e ácidos graxos estão incluídos na análise comparativa dos Estados Unidos, apenas os principais componentes são analisados no caso dos campos de testes europeus (sem cinzas). Micronutrientes e outros ingredientes importantes não são considerados (veja tabela 3).

Segundo, diferenças estatisticamente significativas são detectadas em análise composicional dos campos dos EUA entre o T25 e a semente de controle para gordura, carboidratos, arginina, lisina, histidina e em ensilagem para gordura, proteína, FDA, FDN, fitato (e também vários parâmetros de silagem de amostras tratadas). Essas diferenças não são consideradas relevantes ou porque ainda estão dentro do campo da literatura ou porque não são consistentemente detectadas em todas as comparações. Poucas diferenças foram encontradas nos testes europeus. No entanto, essas comparações foram limitadas a quatro componentes (celulose, gordura, nitrogênio e amido). Se a análise composicional está sendo usada como um indicador de efeitos não visados, o número de substâncias medidas é muito pequeno. Se também é usada como avaliação nutricional, faltam alguns dos principais componentes, minerais e vitaminas. Carotenóides e luteína também seriam importantes.

Informe das medidas de segurança na Áustria

Tabela 3: Espectro de componentes analisados no dossiê do T25 comparado com componentes listados no Documento de Consenso OECD e no EuropaBio-Guideline.

Ingrediente da planta	OECD (2002)	EuropaBio (2001)	T25
Proteína	+	+	+
Gordura	+	+	+
Carboidratos	+	+	+
Fibras	+	Opcional	+
FDA	+	Opcional	+
FDN	+	Opcional	+
Cinza	+	+	+
Aminoácidos (18)a	+	+	+
Ácidos graxos (5)b	+	+	+
Macrominerais			
Ca	+	+	-
K	+	+	-
Mg	+	+	-
Na	+	+	-
P	+	+	-
Microminerais			
Cu	+	-	-
Fe	+	-	-
Se	+	-	-
Zn	+	-	-
Vitaminas			
Retinolequivalentes	+	-	-
Vit B1	+	+	-
Vit B2	+	+	-
Vit B6	+	-	-
Vit E	+	+	-
Ácido fólico	+	+	-
Niacina	+	-	-
Outros			
Ácido fítico	+	+	+
Rafinose	+		-
Furfural	+		-
Ácido ferulico	+	-	-
Ácido p-Cumárico	+	-	-

A tabela é baseada em dados dos campos de testes dos EUA. Análises dos campos da Europa foram limitadas aos principais componentes, mas não têm cinzas, FDN e FDA. Áreas em cinza indicam que o dado respectivo não foi apresentado no dossiê do milho T25.

a) Ala, Arg, Asp, Cys, Iso, His, Glu, Gly, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Tyr, Try, Val; b) Palmítico, esteárico, oléico, linoléico e ácido linolénico;

FDA...fibra detergente em ácido; FDN...fibra detergente neutra; +... considerado; -... não considerado.

5.3.4 Dossiê não inclui dados detalhados

No dossiê do milho T25, faltam descrições detalhadas dos estudos de digestibilidade in-vitro e também sobre os campos de testes para análises comparativas. O último não pode ser totalmente verificado pelas seguintes razões:

- A análise de composição é dada em diagramas de barras apenas, faltam os números precisos;
- Páginas de avaliações estatísticas não estão incluídas;
- Apenas no caso de silagem fica claro que plantas tratadas com herbicidas foram analisadas;
- O desenho dos campos de teste, condições de cultivo, práticas de medidas, amostragem e tratamento de amostragens não estão propriamente descritos;
- Falta abrangência de literatura para alguns componentes (aminoácidos, ácidos graxos e fitatos).

5.3.5 Conclusões

A discussão acima revela um número de imperfeições e falta de verificabilidade.

A avaliação de toxicidade não considera os efeitos além dos 14 dias da proteína introduzida. A avaliação do potencial alergênico é baseada em métodos e evidências que não podem ser considerados suficientemente confiáveis. O método usado é menos apropriado ainda para avaliar qualquer propriedade sensibilizadora “de-novo”. A inalação de poeira e pólen não é considerada como uma rota de exposição. A possibilidade de propriedades alergênicas ou tóxicas da planta toda não é considerada.

Os campos de teste e análise composicional não são totalmente verificáveis e não está claro se foram feitos corretamente.

À luz dos guias mais recentes, a informação incluída no dossiê também não é suficiente para uma autorização no mercado de acordo com a Diretriz 2001/18/EC ou a Regulamentação 1829/2003.

Em suma, pelos dados fornecidos no dossiê do milho T25 e à luz de recentes evidências da literatura científica, não é nem possível verificar todos os aspectos da avaliação de risco feita pelo requerente, nem concluir um patamar suficiente de segurança.

5.3.6 Referência

BATANERO E, CRESPO J.F., MONSALVE R.I., MARTIN- ESTEBAN M., VILLALBA M. & R. RODRIGUEZ R

(1999). *IgE binding and histamine-release capabilities of the main carbohydrate component isolated from the major allergen of olive tree pollen, Ole e 1*. J. Allergy Clin. Immunol. 103: 147– 153.

BUBLIN M., RADAUER C., WILSON I.B., KRAFT D., SCHEINER O., BREITENEDER H. & K. HOFFMANN-SOMMERGRUBER (2003). *Cross-reactive N-glycans of Api g 5, a high molecular weight glycoprotein allergen from celery, are required for immunoglobulin E binding and activation of effector cells from allergic patients*. FASEB. J. 17: 1697–1699.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (2003). *Fourth session of the Codex ad hoc Intergovernmental Task Force on Foods Derived from Biotechnology*. Yokohama, Japan, 11 - 14 March 2003. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/006/y9220e.pdf>

EC (2005). *Comments by the European Communities on the Scientific and Technical Advice to the Panel*. Geneva, 28 January 2005. In: WTO “European Communities: Measures Affecting the Approval and Marketing of Biotech Products (DS291, DS292, DS293)”. Final Report of the Panel, WT/DS291/FINAL, WT/DS292/FINAL, WT/DS293/FINAL, 2006; http://www.wto.org/english/news_e/news06_e/291r_e.htm

EFSA (2004), *Guidance Document on Genetically Modified (GM) Plants and Derived Food and Feed*. www.efsa.eu.int.

EUROPABIO (2001). *Safety Assessment of GM Crops*. Document 1.1 Substantial Equivalence – Maize. Issue 1 (April 2001).

FAO/WHO (2000). *Safety aspects of genetically modified foods of plant origin*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology. Geneva, 29 May – 2 June 2000.

HASLBERGER AG. (2003). *Codex guidelines for GM foods include the analysis of unintended effects*. *Nature Biotechnology* 21(7):739–741.

MARI A. (2002). *IgE to cross-reactive carbohydrate determinants: Analysis of the distribution and appraisal of the in vivo and in vitro reactivity*. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 129: 286– 295.

MARI A. IACOVACCI P., AFFERNI C., BARLETTA B., TINGHINO R., DI FELICE G. & C. PINI (1999). *Specific IgE to cross-reactive carbohydrate determinants strongly affect the in vitro diagnosis of allergic diseases*. *J. Allergy Clin. Immunol.* 103: 1005–1011.

NIEDERBERGER V., HAYEK B., VRTALA S., LAFFER S., TWARDOSZ A., VANGELISTA L., SPERR W.R., VALENT P., RUMPOLD H., KRAFT D., EHRENBERGER K., VALENTA R. & S. SPITZAUER S. (1999). *Calcium-dependent immunoglobulin E recognition of the apo- and calcium-bound form of a cross-reactive two EF-hand timothy grass pollen allergen*, *Phl p 7*. *FASEB. J.* 13: 843–856.

NL BIOSAFETY COUNCIL (2003). *Institute of Public Health and The Biosafety Council: Guidance Notes for the Safety Assessment of Genetically Modified Crops for Food and Feed Use*. 8 April 2003.

NL BIOSAFETY COUNCIL (2003). *Institute of Public Health and The Biosafety Council: Guidance Notes for the Safety Assessment of Genetically Modified Crops for Food and Feed Use*. 8 April 2003.

OECD (2002). *Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Maize (Zea mays): Key Food and Feed Nutrients, Anti-Nutrients and Secondary Plant Metabolites; Series of the Safety of Novel Foods and Feeds No. 6*; ENV/JM/MONO(2002)25.

ROYAL SOCIETY OF CANADA (2001). *Elements of Precautions: Recommendations for the Regulation of Food Biotechnology in Canada*. Ottawa.

SAP (2004). *Minutes of Federal Insecticide, Fungicide, and Rodenticide Act (FIFRA) Scientific Advisory Panel (SAP) Meeting, June 8-10, 2004, Arlington, Virginia*. SAP Report No. 2004-05.

SPÖK A, GAUGITSCH H, LAFFER S., PAULI G., SAITO H., SAMPSON H., SIBANDA E., THOMAS W., VAN HAGE-HAMPSTEN M. & R. VALENTA (2005). *Suggestions for the assessment of the allergenic potential of genetically modified organisms*. *International Archives of Allergy and Immunology* 137: 167-180.

SPÖK A., HOFER H., LEHNER P., VALENTA R., STIRN S. & H. GAUGITSCH (2004). *Risk Assessment of GMO Products in the European Union. Toxicity assessment, allergenicity assessment and equivalência substancialin practice and proposals for improvement and standardisation*. Vienna Umweltbundesamt 2004 Reports Vol 253. Vol 7-04 in the series of BMGF. http://www.bmgf.gv.at/cms/site/attachments/6/8/7/CH0255/CMS1090828056047/risk_assessment_of_gmo_products-bmgf-layout.pdf

SPÖK A., HOFER H., VALENTA, R., KIENZL-PLOCHBERGER K., LEHNER P. & H. GAUGITSCH (2003). *Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten - Teil 2A. Untersuchungen zur Praxis und Empfehlungen zur Standardisierung der Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Lebensmitteln*. Monographien 164A, Wien Umweltbundesamt.

SPÖK A., HOFER H., VALENTA R., KIENZL-PLOCHBERGER K., LEHNER P. & H. GAUGITSCH (2002). *Toxikologie und Allergologie von GVO-Produkten. Empfehlungen zur Standardisierung der Sicherheitsbewertung von gentechnisch veränderten Produkten auf Basis der Richtlinie 90/220/EWG/ (2001/18/EG)*. Monographien 109 Wien Umweltbundesamt.

VALENTA R, DUCHÊNE M, PETTENBURGER K, SILLABER C, VALENT P, BETTELHEIM P, BREITENBACH M, RUMPOLD H, KRAFT D, SCHEINER O (1991). *Identification of profilin as a novel pollen allergen; IgE autoreactivity in sensitized individuals*. Science 253: 557–560.

VAN DER VEEN M.J., VAN REE R., AALBERSE R.C., AKKERDAAS J., KOPPELMAN S.J., JANSEN H.M.& J.S VAN DER ZEE. (1997). *Poor biologic activity of cross-reactive IgE directed to carbohydrate determinants of glycoproteins*. J. Allergy Clin. Immunol. 1997 100: 327–334.

VAN REE R. (2002). *Carbohydrate epitopes and their relevance for the diagnosis and treatment of allergic diseases*. Int. Arch. Allergy Immunol. 129: 189–197.