



## **Schlussbericht der Runden Tische zur GVO-Risikoevaluation**

### **Zusammenfassung**

Es wurde eine Reihe von Rundtisch-Gesprächen zwischen den für die Risikobewertung von GVO zuständigen Bundesämtern und den Akteuren der Zivilgesellschaft durchgeführt. Die Organisation dieser Runden Tische erfolgte im Nachgang zu den Protesten der Vereinigungen StopOGM und SAG gegen die Zulassung des Mais TC1507 als Tierfutter durch das Bundesamt für Landwirtschaft. Am 2. Juli 2015 fand eine erste Gesprächsrunde statt, gefolgt von einer zweiten am 2. Mai 2016. Die Parteien kamen überein, einen Bericht zu erstellen, der die Diskussionen zusammenfasst und nach Möglichkeit erweitert. Der vorliegende Bericht fasst die Gespräche der beiden Runden Tische zusammen und behandelt folgende Aspekte: Vergleichende Analysen, toxikologische Analysen und Allergenitätsanalysen. Der aktuelle Verfahrensstatus und der Kenntnisstand zu diesen Themen werden hier kurz wiedergegeben. Es wurde eine Bestandsaufnahme der bestehenden Einschränkungen und Probleme erstellt und es wurden Empfehlungen erlassen, mit dem primären Ziel, den Willen aller Parteien zu bekräftigen, sich bei sämtlichen Risikoanalyseprozessen um wissenschaftliche Exzellenz zu bemühen. Der Bericht wurde zu konsultativen Zwecken verfasst, und es gilt stets zu berücksichtigen, dass der Risikobewertungsprozess ein Werkzeug zur Entscheidungsfindung und kein Entscheidungsinstrument ist.

Das BLW hat eine erste Fassung dieses Berichts koordiniert und schlägt folgendes Protokoll vor: In Anlehnung an das Vorgehen in den verschiedenen ausserparlamentarischen Kommissionen fügen StopOGM/SAG ihre Kommentare an geeigneter Stelle und optisch sichtbar abgehoben in den Text des BLW ein. Auf diese Weise sind die unterschiedlichen Standpunkte klar zu erkennen und die Lektüre wird vereinfacht. Gegebenenfalls kann ein gemeinsamer Schluss verfasst werden.

## **Handlungsbedarf**

Im Wesentlichen wird aus dem Dialog über die Verbesserung der Standards und der Risikoeinschätzung von GVOs zwischen der Schweizerischen Allianz Gentechfrei SAG/ StopOGM und dem Bundesamt für Landwirtschaft folgender Handlungsbedarf festgestellt:

### **Die Transparenz der Testergebnisse durch einfacheren Datenzugang fördern**

Daten, die nicht direkt auf die agronomischen Eigenschaften der GVO zurückzuführen sind, sollten der Öffentlichkeit zugänglich gemacht werden. Vor allem Testergebnisse von Tierversuchen zur Toxizität fallen nur sehr selten unter ein allfälliges Betriebsgeheimnis und sollten deshalb der Öffentlichkeit zugänglich gemacht werden.

### **Erarbeitung von wissenschaftskonformen Qualitätsstandards für die Berichtserstattung**

Generell sollten die Begutachter bestrebt sein, die neusten Techniken (z. B. Omics) in den Prozess der Beurteilung von Risiken des Produkts der Biotechnologie einzubinden. Dabei sollen neue Standards festgelegt und öffentliche Datenbanken eingerichtet werden, um eine robuste Analyse der Zusammensetzung der getesteten Pflanzen zu ermöglichen, ohne dabei unnötig viele Daten zu erzeugen.

### **Daten der Testergebnisse objektiv und kritisch beurteilen**

Bei den Gesprächen an den Runden Tischen und der Redaktion dieses Berichtes wurden einige Schwächen und Probleme im Zusammenhang mit der Risikobeurteilung der GVO offenbart. Deshalb sollte die zuständige Behörde bei den verfügbaren Daten auf allfällige Unklarheiten und Schwächen der Testergebnisse hinweisen, damit Entscheidungen effizienter gefällt werden können.

## Inhalt

<b>1</b>	<b>Ausgangslage</b> .....	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>Rechtlicher Rahmen</b> .....	<b>4</b>
2.1	Gentechnikgesetz.....	4
2.2	Zulassung der Einfuhr von GVO in die Schweiz als Futtermittel .....	5
2.3	Transparenz und Datenzugang .....	5
<b>3</b>	<b>Analyse der Risikobewertungsprotokolle</b> .....	<b>6</b>
3.1	Charakterisierung des Events.....	6
3.1.1	Molekulare Charakterisierung .....	6
3.1.2	Agronomische Merkmale .....	8
3.2	Vergleichende Analyse und Konzept der substanziellen Äquivalenz .....	9
3.2.1	Versuchsaufbau 1: Grenzen der metabolischen Analyse.....	10
3.2.2	Versuchsaufbau 2: Wahl der Kontrolle.....	10
3.2.3	Versuchsaufbau 3: statistische Analyse.....	11
3.2.4	Interpretationen der Ergebnisse und Auswirkungen auf die Risikobewertung .....	12
3.2.5	Empfehlungen zur Verbesserung/Ersetzung der vergleichenden Analyse .....	13
3.3	Toxikologische Analysen .....	18
3.3.1	Tests zur subchronischen Toxizität.....	18
3.3.2	Zur Bedeutung der Tierversuche für die Risikobewertung .....	29
3.4	Allergenitätstests .....	29
3.4.1	Bioinformatische Analyse .....	30
3.4.2	In-vitro-Verdauungstests .....	31
3.4.3	In-vivo-Tests.....	31
<b>4</b>	<b>Sicherheit der GVO mit Insektenresistenz(Bt) als Futtermittel</b> .....	<b>32</b>
4.1	Wirkungsweise und Diversität von Bt-Toxinen.....	32
4.2	Nachweismethoden.....	38
4.3	Toxizität von Bt-Toxinen für Säugetiere .....	38
4.3.1	Akute, chronische und subchronische Toxizität .....	39
4.4	Allergenität der Bt-Toxine .....	41
<b>5</b>	<b>Empfehlungen und Schlussfolgerungen</b> .....	<b>42</b>
5.1	Unabhängigkeit, Transparenz und Datenzugang.....	42
5.2	Technologische und statistische Grenzen .....	44
5.3	Ausblick zur Risikobewertung.....	44
<b>6</b>	<b>Literaturhinweise</b> .....	<b>46</b>
<b>7</b>	<b>Gesetzliche Grundlagen</b> .....	<b>56</b>

## **1 Ausgangslage**

Auf Ersuchen der Vereinigungen StopOGM und SAG wurde eine Reihe von Rundtisch-Gesprächen bezüglich der Protokolle zur Risikobewertung von gentechnisch veränderten Pflanzen (GVP) durchgeführt. Die Organisation der Runden Tische erfolgte im Nachgang zu den Protesten der Vereinigungen StopOGM und SAG gegen die Zulassung des Mais TC1507 als Tierfutter durch die zuständigen Bundesämter. Am 2. Juli 2015 fand eine erste Gesprächsrunde statt. Die Parteien kamen überein, einen Bericht zu erstellen, der die Diskussionen zusammenfasst und nach Möglichkeit erweitert. Dieser Austausch mündete in eine Diskussion zwischen den betroffenen Bundesämtern, einer Anzahl von im Auftrag der Vereinigungen tätigen Sachverständigen sowie Vertreterinnen und Vertretern dieser Vereinigungen. Der vorliegende Bericht ist ein Arbeitsdokument auf der Basis dieser Diskussionen, das den Austausch zwischen den Beteiligten zu konsultativen Zwecken zusammenfasst. Im Zentrum steht die Risikobewertung, nicht das Risikomanagement und die Risikokommunikation.

## **2 Rechtlicher Rahmen**

### **2.1 Gentechnikgesetz**

Gentechnisch veränderte Organismen (GVO) sind in der Schweiz durch mehrere Rechtsakte in vier verschiedenen Bereichen geregelt. GVO im medizinischen Bereich sind durch das Heilmittelgesetz (HMG, SR 812.21) und das Bundesgesetz über genetische Untersuchungen am Menschen (GUMG, SR 810.12) gesetzlich geregelt. In der Forschung regeln zwei Verordnungen die Durchführung von Experimenten in geschlossenen Systemen (ESV, SR 814.912) und im Freiland (FrSV, SR 814.911). Was den Einsatz in der Landwirtschaft betrifft, so regeln zwei Verordnungen die Einfuhr von Lebensmitteln, die unbeabsichtigt Spuren von GVO enthalten (VGVL, SR 817.022.51 und Bedarfsgegenständeverordnung, SR 817.022.21) und eine Verordnung die Einfuhr von Futtermitteln, die GVO enthalten (FMV, SR 916.307). Der Einsatz und die Freisetzung von genetisch veränderten Organismen in der Schweiz schliesslich werden durch das Gentechnikgesetz (GTG, SR 814.91) und die Freisetzungsverordnung (FrSV, SR 814.911) geregelt. Sie sollen den Menschen, die Tiere und die Umwelt schützen (Art 1 GTG), in Übereinstimmung mit Artikel 74 der BV. In der Schweiz sind der Anbau und die Freisetzung von gentechnisch veränderten Pflanzen durch ein Moratorium verboten, das Ende 2021 ausläuft.

## **2.2 Zulassung der Einfuhr von GVO in die Schweiz als Futtermittel**

Nach der Futtermittelverordnung (FMV) ist eine bestimmte Anzahl GVO zurzeit als Tierfutter in unterschiedlicher Form und mit verschiedenen Auflagen zugelassen. Vor dem Inverkehrbringen muss für jedes Event eine Risikobewertung durch die Gesundheitsbehörden sowohl in den USA als auch in der EU oder in der Schweiz durchgeführt werden. Allerdings beschränkt man sich bei der Risikobewertung in der Schweiz in der Regel darauf, die Analysen der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) zu übernehmen, da die Bundesstellen bei weitem nicht über die gleichen Mittel verfügen wie die Europäischen Gesundheitsbehörden. Die analysierten Gesuchsunterlagen sind jedoch die gleichen.

In der Schweiz dürfen vier GVO importiert und in beliebiger Form als Tierfutter verwendet werden: die glyphosattolerante Sojalinie 40-3-2 und die Maislinien Bt11, MON810 und TC1507. Alle gentechnisch veränderten Organismen, die in der EU in Verkehr gebracht werden dürfen, sind nach Artikel 62 der FMV in verarbeiteter Form zugelassen (63 Soja-, Zuckerrüben-, Mais- und Rapssorten, November 2015). Unbeabsichtigte Verunreinigungen mit nicht zugelassenen GVO können zugelassen werden, wenn der Anteil der Verunreinigungen höchstens 0,5 Prozent beträgt und die Organismen in den USA oder Kanada in Verkehr gebracht werden dürfen (Art. 68 FMV, SR 916.307).

Bei den Lebensmitteln (zum menschlichen Verzehr) werden nach den Bestimmungen der Verordnung über gentechnisch veränderte Lebensmittel (VGVL, SR 817.022.51) vier nicht zugelassene GVO-Maissorten bis zu einem Wert von 0,5 Massenprozent in der Nahrung toleriert: Mais NK603, GA21, 1507 und 59122.

## **2.3 Transparenz und Datenzugang**

Eines der Probleme, das die Vereinigungen und anderen Akteure der Zivilgesellschaft am ersten Runden Tisch (Juli 2015) ansprachen, betrifft den Zugang zu den Rohdaten der Gesuchsunterlagen. Der Aktenzugang und die Information der Öffentlichkeit sind in Artikel 18 des GTG sowie Artikel 54 und 55 der FrSV geregelt. Generell werden Gesuche um Bewilligungen für Freisetzungsversuche mit GVO während 30 Tagen öffentlich aufgelegt (Art. 12a GTG).

Thematisiert wurde am Runden Tisch insbesondere die Veröffentlichung der Daten zu den toxikologischen Tests der GVO an Tieren. Es wurde geltend gemacht, dass die Einschränkung des Datenzugangs kaum mit dem Fabrikationsgeheimnis zu rechtfertigen sei, da die Daten weder die agronomischen noch die biologischen Eigenschaften des untersuchten Events betreffen, sondern vielmehr die biologischen Daten der bei diesen Versuchen verwendeten Tiere.

Es bleibt also nach wie vor zu klären, welche Daten schutzwürdig im Sinne von Artikel 55 der FrSV sind und wie die Modalitäten der Weitergabe dieser Daten zu regeln sind. Tatsächlich dürfte sich eine gründliche Expertise schwierig gestalten, wenn das Einsichtsrecht auf die Räumlichkeiten der Bundesbehörden und 30 Tage begrenzt ist und nur für anerkannte Akteure der Zivilgesellschaft gilt. Ein präzises rechtliches Gutachten zu diesem Punkt ist notwendig, um zu klären, welche Möglichkeiten es auf diesem Gebiet in der Schweiz gibt. Festzuhalten ist, dass verschiedene öffentlich finanzierte Forschungsprojekte, die solche Tierversuche durchführen (GRACE, G-Twyst, OGM90+), Mechanismen für den freien Zugang zu den neusten Versuchsdaten eingerichtet haben. Der Datenzugang und die Verfahrenstransparenz bei Versuchen mit GVO sind zentrale Voraussetzungen für eine sachliche und konstruktive Debatte auf der Basis von Fakten.

### **3 Analyse der Risikobewertungsprotokolle**

Im Anschluss an die Runden Tische gingen viele Kommentare und Ausführungen zu verschiedenen Phasen der Risikobewertung ein. Wir versuchen hier, das Wesentliche zusammenzufassen. Es soll aufgezeigt werden, welchen Beitrag wissenschaftliche Expertise im Rahmen der Debatten zwischen den verschiedenen am Gesetzgebungs- und Vollzugsprozess beteiligten Instanzen leisten kann und welches deren Grenzen sind. Das BLW positioniert sich in diesem Kontext als Wissenslieferant und Kompetenzzentrum des Bundes.

In diesem Kapitel erörtern und kommentieren wir Punkt für Punkt alle Komponenten der Risikoanalyse von GVO, basierend auf den Normen der EFSA: Charakterisierung des Events, vergleichende Analyse, toxikologische Analysen und Allergenitätstests.

#### **3.1 Charakterisierung des Events**

##### **3.1.1 Molekulare Charakterisierung**

Die molekulare Charakterisierung der transgenen Events erlaubt eine detaillierte Beschreibung der betreffenden Linie bzw. des betreffenden Events. Im (nach wie vor mehrheitlichen) Fall eines einzelnen Transformationsevents beschreibt dieser Abschnitt: die für die Transformation verwendete Konstruktion (Plasmid), das verwendete Transformationsverfahren, die Lokalisierung des Inserts und die Anzahl der in das Genom der Wirtspflanze eingebauten Transgene sowie die Expression des transgenen Proteins/der transgenen Proteine. Im Folgenden werden die einzelnen Komponenten und ihr Inhalt kurz diskutiert.

### *Beschreibung des Vektors und des Transformationsverfahrens*

In der Literatur finden sich Beschreibungen diverser Transformationsverfahren. Diese sind je nach Pflanzenart mehr oder weniger effizient. Die Pflanzen können mit Hilfe eines bakteriellen Plasmids, eines viralen Vektors oder einer Partikelkanone (biolistisches Verfahren) genetisch verändert werden. Bestimmte Methoden wie das biolistische Verfahren gelten als sehr effektiv, können aber gewisse willkürliche DNA-Rekombinationen um den Insertionsort zur Folge haben, wie dies beim Mais NK603 der Fall ist (EFSA, 2003).

Die Transformation mit *Agrobacterium* kann durch die «Floral dip»-Methode, Transformation von Protoplasten, Hypokotylen oder durch Infiltration erfolgen. Alle diese Methoden führen zu einer oder mehreren zufälligen Insertionen des Transgens in das Genom. Es ist unmöglich, im Voraus zu bestimmen, in welchem Abschnitt des Genoms die Insertion stattfinden wird. Die Identifikation des Insertionsorts ist daher unerlässlich. Das Problem des Insertionsorts dürfte sich jedoch dank der allgemeinen Verbreitung des Einsatzes von spezifischen Nukleasen (Typ CRISPR oder TALEN), die ein Stück Erbgut an einer spezifischen Stelle im Genom einführen können, bald erledigen.

### *Insertionsort und Stabilität*

Die Zahl der eingeführten Kopien des Transgens und deren Stabilität werden durch Southern-Blot-Analyse und anschliessend durch Kontrolle der mendelschen Vererbung der integrierten Eigenschaft in den Nachkommen der transformierten Pflanze (Rückkreuzung) ermittelt. Der zufällige Einbau von Vektor-Fragmenten wird ebenfalls geprüft. Der genaue Ort der Insertion ins Erbgut (Genom) kann durch RACE-PCR bestimmt werden. Durch Sequenzierung der vorgelagerten (5') und nachgelagerten (3') Erbinformation kann festgestellt werden, ob und wie die eingefügte Erbinformation (Transgen) mit den vorhandenen kodierenden Sequenzen interferiert hat. Die Kenntnisse des Insertionsorts erlaubt es nur teilweise, die Wirkung des Transgens auf transkriptioneller Ebene oder auf die Regulation des Genoms zu bestimmen. Zahlreiche Beispielen belegen, dass der Einbau von Erbinformation in nicht-kodierende regulatorische Sequenzen (Typ Promotoren) oder inkodierende regulatorische Erbinformation (RNA) die Regulation bestimmter Gene verändern.

### *Bestimmung des Expressionsniveaus des Transgens*

Ein eingebrachtes Transgen ist nur dann von Nutzen, wenn es exprimiert, d. h. in RNA umgeschrieben und anschliessend in Protein übersetzt wird. Die Expression des Transgens kann

auf RNA-Ebene mittels quantitativer RT-PCR (qRT-PCR), Hochdurchsatz-Transkriptomanalysen (RNA-Seq), auf Ebene der exprimierten Proteine mittels ELISA, Western Blot oder proteomischer Methoden bestimmt werden. Die Genexpressionsanalyse wird in den verschiedenen Organen der Pflanze durchgeführt und das exprimierte Protein kann quantifiziert werden. Bei Pflanzen, die aktive Proteine produzieren (Insektizid im Fall des Bt-Cry oder ein Enzym wie das ESPS im Fall der Glyphosat-Toleranz), lässt die Menge Proteine pro Gramm pflanzlichen Materials Rückschlüsse auf ihre Wirksamkeit (und Toxizität) zu. Das Fehlen von Standardprotokollen zur Quantitätsbestimmung, vor allem zum Nachweis der Cry-Toxine mit immunologischen Methoden, wird in der Literatur thematisiert (Székács et al., 2012, siehe Abschnitt Cry-Toxine).

Fazit: Die molekulare Charakterisierung des transgenen Konstrukts ist nach wie vor eine unerlässliche Etappe der Risikoanalyse, auch weil sie sich seit der Einführung der GVO nur wenig weiterentwickelt hat. Mit der starken Zunahme von Linien mit kombinierten Inserts (Stacks) (Parisi et al. 2016) und der Kreuzung von GVO-Linien in einer Vielzahl von Hybriden ist die molekulare Charakterisierung der einzelnen Linien schwieriger geworden. Zusätzliche Daten wären erforderlich, um zu klären, ob die Charakterisierung der ursprünglichen Linie den Erfordernissen der Risikobewertung zu genügen vermag. Aufgrund der jüngsten Fortschritte in der Genomik besteht die Hoffnung, dass die Re-Sequenzierung des Genoms der einzelnen Linien zu einem relativ moderaten Preis ermöglicht wird («Genotyping by Sequencing»). Letztendlich wird die genetische Gesamtanalyse die Daten zur Lokalisierung und Anzahl der Inserts (Southern Blot und Sanger-Sequenzierung) ersetzen. Ein weiterer Vorteil dieser Methode wird sein, dass sie einen nahezu umfassenden Überblick über das genetische Material der transformierten Linie bietet und etwaige sekundäre Modifikationen (Off-Target) aufdeckt.

### 3.1.2 *Agronomische Merkmale*

Die agronomischen Eigenschaften genetisch veränderter Linien werden durch Feldversuche im Rahmen vergleichender Analysen bewertet (siehe Abschnitt 3.2). Traditionell gemessene Parameter sind: Körner, Ertrag, Keimung (Frühreife), Population zum Zeitpunkt der Ernte, Morphologie, Standfestigkeit, Anfälligkeit für biotischen und abiotischen Stress. Auffallend ist, dass die mit dem Transgen erworbenen, neuen phänotypischen Eigenschaften (mehrheitlich Herbizidresistenz und/oder Insektizidproduktion) in den Risikobeurteilungen wenig diskutiert werden. Zur Variation der Transgenexpression je nach Anbaubedingungen existieren zahlreiche Berichte (Beispiele: Zhou et al. 2011; Trtikova et al. 2015, EFSA, 2012).



Die Variation der Genexpression als Reaktion auf Umweltveränderungen ist eines der Schlüsselprinzipien der modernen Evolutionsbiologie. Es gilt daher, systematisch untere und obere Schwellenwerte der Produktion des transgenen Proteins für jedes Event zu bestimmen, um über relevante Informationen für den Anbau und die Änderung der landwirtschaftlichen Praktiken (aber auch für die toxikologische Analyse) zu verfügen. Wichtig ist hier der Hinweis, dass die Verwendung von «historischen» Daten – obwohl von der EFSA toleriert – ein robustes Versuchsdesign und einen statistisch fundierten Analyserahmen nicht ersetzen kann. Fazit: Bei der Risikoanalyse ist ein besonderes Augenmerk auf den Einfluss der Anbaubedingungen zu legen, was die Produktion von Daten aus verschiedenen unabhängigen Quellen von Feldversuchen legitimieren würde.

### **3.2 Vergleichende Analyse und Konzept der substanziellen Äquivalenz**

Die vergleichende Analyse bzw. die Untersuchung auf substanzielle Äquivalenz wird durchgeführt, um nachzuweisen, dass die Metaboliten der GVO bei gleichen Anbaubedingungen – mit Ausnahme der auf gentechnischem Wege eingeführten Eigenschaft(en) – in allen Aspekten vergleichbar sind. Ziel ist es, mögliche Stoffwechselveränderungen zu identifizieren, die die Pflanze oder ihre Derivate für den Verzehr ungeeignet machen (OECD, 1993). Dieser Art von Studien liegt die Prämisse zugrunde, dass die gentechnisch modifizierten Wirtsspezies schon seit geraumer Zeit problemlos verwendet werden («History of Safe Use», kein präzise definierter Begriff) und als unbedenklich einzustufen sind (EFSA, 2011). Die Methode basiert auf den Anforderungen der Richtlinie 1829/2003, die in der Schweiz in der Freisetzungsverordnung Eingang gefunden haben.

Die Verwendung des Konzepts der substanziellen Äquivalenz als Basis für die Sicherheitsbeurteilung von GVO stösst schon länger auf breite Kritik (Millstone et al. 1999; Kuiper et al. 2003; EKAH, 2003). Im Folgenden wird versucht, den Ursachen dieser Kritik nachzugehen und die objektiven Grenzen der Schlussfolgerungen zu verstehen, die aus diesen vergleichenden Analysen im Rahmen der Risikobewertung gezogen werden können.

Die Grenzen dieser Analyse betreffen im Wesentlichen: 1) die statistische Schwäche der eingereichten Gesuchsunterlagen, 2) die Schwäche bestimmter Gesuchsdossiers im Bereich des eigentlichen Testdesigns und 3) die Überinterpretation der Schlussfolgerungen aus diesen Tests. Das Problem besteht darin, zweifelsfrei zwischen der natürlichen Variabilität und den Effekten einer gentechnischen Veränderung unterscheiden zu können. In diesem Abschnitt werden diese Probleme aufgelistet und die vorgeschlagenen Massnahmen der verschiedenen zu diesem Thema befragten Expertengruppen erörtert (EFSA, 2011, EKAH, 2003).

Zu betonen ist hier, dass viele Gesuchsunterlagen aus der Zeit stammen, bevor die EFSA Bestrebungen zur Standardisierung der Daten und Analyseverfahren unternommen hat (EFSA, 2011).

### 3.2.1 Versuchsaufbau 1: Grenzen der metabolischen Analyse

Häufig werden weniger als hundert Metaboliten analysiert (Target analysis), obschon Daten aus aktuellen Metabolomanalysen darauf hindeuten, dass sich mehrere tausend Verbindungen in den Pflanzen ansammeln. Die Anzahl und Bandbreite der analysierten Metaboliten variieren je nach Dossier aufgrund fehlendem einheitlichen Standard. Mehrheitlich handelt es sich um Verbindungen, die unmittelbar in Zusammenhang mit den ernährungsphysiologischen Eigenschaften stehen, namentlich Vitamine, Aminosäuren, Fettsäuren, nahrungsmittelfremde Inhaltsstoffe sowie bioaktive Verbindungen (Lektin, Phytat, Raffinose, Stachyose, Trypsininhibitor und Isoflavone). Auffallend ist ferner, dass keine neuen Metaboliten gesucht werden, obschon viele der verwendeten Transgene Enzyme sind, deren chemische Eigenschaften nicht spezifisch sind (Linster et al., 2013). So werden zum Beispiel Acetylasen (*bar*, *pat*), Oxidoreduktasen (Glyphosat-Oxidoreduktase, *gox*) oder Synthasen (5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphatsynthase, *eps*) eingebaut. Die Spezifität der verwendeten Enzyme, d. h. ihre Fähigkeit, auch andere als die beschriebenen Substrate zu modifizieren (Sekundäraktivitäten), ist ein vernachlässigtes Forschungsfeld im Bereich der Risikobeurteilung von Biotech-Produkten. Die mangelnde Vollständigkeit der vergleichenden Analyse gilt es bei deren Interpretation zu berücksichtigen.

### 3.2.2 Versuchsaufbau 2: Wahl der Kontrolle

Die vergleichende Analyse basiert auf Material, das während der Feldversuche gesammelt wird.

Drei Schlüsselfaktoren beim Aufbau von Feldversuchen sind: die Anzahl **Wiederholungen**, die Zahl der **Versuchsstandorte** und die Anzahl der zu Kontrollzwecken verwendeten handelsüblichen **Sorten**. Die statistische Aussagekraft der Analyse muss im Voraus bestimmt werden (1) und richtet sich nach dem Umfang der zu erwartenden Veränderungen (Perry et al. 2003).

Im Zusammenhang mit der Bewertung von Pflanzenschutzmitteln wurden methodische Kriterien für Feldversuche veröffentlicht und validiert (beschrieben durch die Pflanzenschutzorganisation Europas und der Mittelmeerländer, EPPO), die auch bei GVO zur Anwendung kommen. Die Anzahl der Wiederholungen kann durch die Berechnung des Freiheitsgrades

bestimmt werden (EFSA, 2011). Die EFSA empfiehlt pro Test die Verwendung von acht Versuchsstandorten, mit mindestens drei handelsüblichen Sorten an jedem Versuchsstandort, und ein Monitoring über mehrere Vegetationsperioden hinweg (EFSA, 2011). Bei spezifischen GVO mit Inserts, die spezifische Eigenschaften verleihen (z. B. Herbizidtoleranz), ist zudem der Anbau mit und ohne Behandlung zu testen, wobei auf eine geeignete Versuchsanordnung (Randomisierung) zu achten ist. Ziel des Versuchs ist es, bereits die kleinste anormale Änderung in der Zusammensetzung erkennen zu können, die mit den durch das Transgen neu erworbenen Eigenschaften zusammenhängt. Die Schwierigkeit besteht darin, zwischen natürlicher Variabilität und induzierten Variationen unterscheiden zu können. Umso wichtiger ist deshalb ein robuster Versuchsaufbau. Der Vergleich mit «historischen» Daten aus der Literatur ohne detaillierte Erläuterung ist wenig aussagekräftig und gilt generell als untauglich. (2)

*(1) Anmerkung StopOGM: Es fehlen Leistungstest in den Bewilligungsdossiers. Das macht die Interpretation der Daten schwierig. Anhand eines Leistungstest kann das Sampling bestimmt werden, das für die Feststellung der angestrebten Wirkung erforderlich ist. Ein negativer Test kann nicht interpretiert werden, ohne dass man weiss, ob dieser Test in der Lage ist, den gesuchten Effekt nachzuweisen oder nicht. Solche Tests ohne Signifikanzberechnung sind nicht aussagekräftig und rufen lediglich ein falsches Gefühl der Sicherheit hervor. Bis heute wurden bei keinem einzigen Zulassungsgesuch für die Freisetzung von GVO Signifikanzberechnungen vorgelegt.*

*(2) StopOGM: Einige Zulassungen verweisen auf diese historischen Daten und nutzen sie, um zu argumentieren, ein Unterschied sei biologisch nicht signifikant.*

### 3.2.3 Versuchsaufbau 3: statistische Analyse

Es ist möglich, die Vertrauensintervalle und die Äquivalenzgrenzen (*proof of equivalence*) *a priori*, also vor der Durchführung der Feldversuche, zu schätzen. Die EFSA empfiehlt jedoch, auf frühere Daten zurückzugreifen, um genaue Grenzwerte etablieren zu können. Sobald diese Grenzwerte vorliegen, sind die Differenz- und Äquivalenztests durchzuführen (um die statistische Trennschärfe zu optimieren).

Der Versuchsaufbau muss die Realisierung von Äquivalenz- und Differenztests vorsehen, die eingebauten genetischen Modifikation testen, um damit relevante Informationen für weitere toxikologischen Tests bereitzustellen. Da Äquivalenztests mehr Replikate benötigen als Differenztests um statistisch repräsentativ zu sein, und deshalb seltener durchgeführt werden, beschränkt man sich dort, wo diese fehlen, auf die mögliche Toxizität des GVO. Gemäss EFSA gilt: **«the absence of significant results is not a proof for equivalence of the GMO and**

**the comparator»** (EFSA, 2011; Das Fehlen von signifikanten Ergebnissen ist kein Beweis der Äquivalenz des GVO und des Vergleichenden.)

Besondere Aufmerksamkeit gilt der Wahl des statistischen Analysemodells. Bei einer geringen Anzahl von Replikaten ist zum Beispiel die Verwendung von Tests wie des ANOVA-Tests ungeeignet. Generell sollten mehr Details zum Design des statistischen Instrumentariums (z. B. multivariante Analysen) geliefert und der Zugriff auf Daten und Versuchsaufbau für eine unabhängige Überprüfung ermöglicht werden. Die Frage des Zugangs zu den Feldversuchsdaten kann für das Unternehmen zu einem Problem werden, wenn dadurch Daten zu agronomischen Parametern (Ertrag, Pathogenempfindlichkeit usw.) offengelegt werden. In diesen Fällen wären eine Begründung und Analyse im Einzelfall erforderlich, um zu bestimmen, in welchem Ausmass die Daten publiziert werden können.

*(2.2) StopOGM. Es ist unmöglich, die substantielle Äquivalenz als gegeben anzusehen, ohne Äquivalenztests durchgeführt zu haben. Doch diese Tests fehlen in den Dossiers der Gesuchsteller. Dies bedeutet, dass die substantielle Äquivalenzklärung nicht mit Daten abgestützt ist. Dies sollte in den Bewilligungsberichten klargestellt werden.*

#### 3.2.4 Interpretationen der Ergebnisse und Auswirkungen auf die Risikobewertung

Die Grenzen der Streuung für GVO-Linien im Vergleich zu den Wildlinien sind relativ willkürlich festgelegt (z. B. Bestimmung der «biological relevance», EFSA 2011). Die EFSA hat einen Streuungswert von  $\pm 20$  Prozent als akzeptable Schwankungen festgelegt, ohne dass dies unseres Wissens durch experimentelle Daten begründet wäre. In der Literatur wird wiederholt eine substantielle Äquivalenz postuliert, obschon eine Reihe signifikanter Unterschiede bei den Ergebnissen festgestellt wurde (Oberdoerfer et al. 2005, zum Beispiel). Mögliche Fehler aufgrund von Mehrfachvergleichen müssen berücksichtigt und durch eine Berechnung der «False Discovery Rate» (FDR) korrigiert werden. Die Leitlinien der EFSA enthalten detaillierte Anforderungen an die Testergebnisse und deren Interpretation (EFSA, 2011).

Die Entwicklung von Nachweisverfahren der nächsten Generation zur Erfassung aller Metaboliten (non-targeted metabolomics) dürfte zusammen mit dem Aufbau von robusten und frei zugänglichen Datenbanken zu einer qualitativen Verbesserung dieser Tests führen (Kuiper et al., 2003, Heineman et al., 2011). Es dürfte einfacher werden, das Ausmass der physiologischen Auswirkungen genetischer Veränderungen im Einzelfall nachzuweisen. Als Beispiel sei erwähnt, dass die glyphosatolerante Linie (Molekül, das ursprünglich als Chelatbildner patentiert wurde) auf die Zufuhr von Mangan angewiesen sind, um den maximalen Ertrag erbringen zu können (Gordon, 2007). Dieses Manko, das auf die Insertion eines Transgens und/oder

die Eigenschaften des Herbizids zurückzuführen ist, dürfte Auswirkungen auf den Primärmetabolismus der Pflanze haben, die in Vergleichsanalysen kaum thematisiert werden (was auch damit zusammenhängen dürfte, dass es nur sehr wenige Dossiers mit Daten zu mit Herbizid behandelten Pflanzen gibt). Solange nicht bessere technologische und statistische Standards umgesetzt sind, ist bei der Interpretation der Ergebnisse der vergleichenden Analyse Vorsicht geboten. In einigen Berichten wird sogar vorgeschlagen, diese Analyse ganz aus der Risikobewertung auszuklammern (Hoekenga et al. 2013).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die vergleichende Analyse nur eine partielle und qualitative Bewertung der möglichen Veränderungen im Metabolismus der transgenen Pflanze ermöglicht. Diese Daten liefern lediglich Anhaltspunkte und sind nicht vollständig. Sie tragen nur in begrenztem Masse zu einer optimalen Risikobewertung (d. h. der Bewertung der Exposition und der Schädlichkeit) der GVO-Linie bei. Die Analyse würde an Aussagekraft gewinnen, wenn sie sich auf die intrinsischen Eigenschaften des GVO konzentrieren würde (Anbau mit Herbizidanwendung bei der Untersuchung einer herbizidtoleranten Pflanze, und im Allgemeinen ein Anbau der Pflanzen gemäss landwirtschaftlicher Praxis, wie sie Landwirte verwenden würden).

In der Praxis müssen die zuständigen Stellen darauf achten, dass diese Daten der vergleichenden Analyse nicht überinterpretiert werden. Zu betonen ist hier, dass die Daten aus der vergleichenden Analyse nicht Teil der Daten sind, die für die Beurteilung der GVO-Risikobewertungsdossiers in der Schweiz verwendet werden. (3)

*(3) StopOGM: Es wäre angebracht, auszuführen, was die Überinterpretation beinhaltet (= Feststellung der substanziellen Äquivalenz auf der Basis von Differenztests, Verwendung der Schlussfolgerungen von statistischen Tests ohne ausreichende statistische Signifikanz usw.). Auf welcher Grundlage stellen die Behörden die substanzielle Äquivalenz fest? Letztere wird in mehreren Zulassungsunterlagen erwähnt.*

### 3.2.5 *Empfehlungen zur Verbesserung/Ersetzung der vergleichenden Analyse*

In diesem Abschnitt werden die Möglichkeiten erörtert, die vergleichende Analyse mit Hilfe neuer Hochdurchsatztechniken – Genomik, Transkriptomik, Proteomik und Metabolomik – substanziell zu verbessern (Tabelle 1). Es wird kurz aufgezeigt, inwieweit diese Methoden für die GVO-Risikoanalyse nützlich sein können, insbesondere angesichts der Entwicklung neuer Pflanzenzüchtungstechniken und der damit verbundenen neuen Herausforderungen.

**Tabelle 1. Hochdurchsatzmethoden, die für eine vergleichende Analyse der neuen Generation nützlich sein können.** Reife: Technische Reife gemessen an der Vollständigkeit der potenziell nachweisbaren Inhaltsstoffe und der Robustheit der Analyse. Anwendung auf die Risikobewertung: Stand der Anwendung dieser Methoden im Rahmen der Risikobewertung (Risk assessment).

Methoden	Untersuchungsgegenstand	Technische Reife	Anwendung im Rahmen des RA
Genomik	Genomorganisation	+++	++ (*)
Transkriptomik	Messung der Genexpression	++	+
Proteomik	Messung des Proteingehalts	+	+
Metabolomik	Quantifizierung der durch den Stoffwechsel erzeugten Moleküle	++	+++

(\*) Die Untersuchung auf Genomstufe ist bis heute eine unerlässliche Etappe für die Rückverfolgbarkeit von GVO, sie kann aber nur indirekt für die Risikobewertung herangezogen werden.

#### *(Re)-Sequenzierung des Genoms (Genomik)*

Die steigende Zahl von Genomsequenzierungsprojekten und damit verbundenen Kostenreduktion ermöglichen die Resequenzierung des Genoms jedes einzelnen Events. Die Genome der wichtigsten Nutzpflanzen, die in der Landwirtschaft als GVO eingesetzt werden (Mais, Soja, Reis und Baumwolle, Tabak, Kartoffel, Zuckerrübe, Tomate, Apfelbaum), sind in den letzten Jahren publiziert worden. Die Sequenzierung liefert diverse Informationen: das Vorhandensein einer Transgenkassette, der Ort ihrer Insertion in das Genom und etwaige Informationen über Veränderungen des Genoms während der Regeneration der Pflanze (somaklonale Variationen). Ist die isogene Linie verfügbar, ist es darüber hinaus möglich (aber technisch schwieriger), Polymorphismen nachzuweisen, die das Ergebnis neuer Pflanzenzüchtungstechniken, insbesondere ODM und CRISPR, sein könnten.

### *Genexpressionsprofile (Transkriptomik)*

Die Analyse der Genexpression zu einem bestimmten Zeitpunkt in einem bestimmten Gewebe hat mit dem Aufkommen von Hochdurchsatz-Sequenzierungstechniken (RNA-Seq) mittels einer Vielzahl von Technologien (Illumina, 454-Pyrosequenzierung, PacBio, Oxford Nanopores) eine exponentielle Entwicklung erfahren. Diese Techniken ermöglichen es, die Gesamtheit aller exprimierten Gene unabhängig von deren Ursprungsorganismus zu quantifizieren. Wir beschränken uns hier darauf, die Vor- und Nachteile transkriptomischer Daten zu erörtern, ohne auf die verwendeten Techniken oder die Vielzahl der existierenden Protokolle einzugehen. Verschiedene Studien nutzen die Transkriptomik in Kombination mit anderen Methoden zur Charakterisierung transgener Events. Zum Beispiel wurde das Transkriptom (die Gesamtheit der exprimierten RNA) des Bt-Mais MON810 unter verschiedenen Anbaubedingungen mit verschiedenen Wildsorten verglichen (Coll et al. 2010), dito bei transgenem Reis (Montero et al. 2011), und bei Gerste (Kogel et al. 2010). Anhand dieser Studien wurden «Gen-Listen» erstellt und die absolute Anzahl Gene verglichen, deren Expression infolge des beschriebenen Experiments statistisch signifikant verändert wurde. Die absolute Anzahl Gene, deren Expression modifiziert wurde, ist nicht zwingend proportional zur potenziellen Tragweite oder Toxizität, die durch eine dieser Veränderungen induziert wird. Eine Studie über den Reis (Batista et al. 2008) zeigt, dass die durch eine Transgenese erzeugten Veränderungen in einer nach Bestrahlung produzierten Linie stärker sind als nach einer klassischen Transgenese.

Es scheint also, dass trotz des zunehmenden Einsatzes von transkriptomischen Analysemethoden und der Fortschritte in der Genomik, präzise auf die Transkriptomvariation zugeschnittene Protokolle fehlen, die einen sachdienlichen Beitrag zur Risikobewertung leisten könnten. Dies gilt sowohl für die Analyse transgener Events als auch für die toxikologischen Analysen (siehe Empfehlungen des Programms GRACE). Gestützt auf Daten aus Transkriptomanalysen zu folgern, dass die Einführung eines Gens weniger Wirkung erzeugt als grössere genetische Translokationen im Zusammenhang mit der Mutagenese oder der traditionellen Züchtung, scheint ein relativ triviales Ergebnis zu sein. Analog dazu kann man sich auch fragen, ob eine fundierte Risikoanalyse nicht auch auf die herkömmlich gezüchteten Sorten und die daraus hergestellten Produkte fokussieren müsste. So gibt es zum Beispiel rund 3200 durch herkömmliche Mutationszüchtung erzeugte Pflanzenlinien, die nicht auf ihre Sicherheit oder auf ihren Einfluss auf die Umwelt getestet werden (FAO, Mutant Variety Database). Zum jetzigen Zeitpunkt und in Anbetracht der technologischen Einschränkungen (fragmentarische Sequenzierung, Designschwächen und unpräziser statistischer Rahmen) wird die Transkriptomik an dieser Stelle lediglich als ein Screening-Element in einer ganzen Reihe von Hochdurchsatztests betrachtet.

### *Proteinexpressionsprofile (Proteomik)*

Die Summe der vorhandenen Proteine lässt sich durch verschiedene Methoden, die unter dem Begriff «Proteomik» zusammengefasst werden, bestimmen: 2D-Gelelektrophorese, MALDI-TOF-MS, LC-ESI-IT etc. Die Proteomik ist trotz der relativen Gleichförmigkeit der nachgewiesenen Verbindungen (Aminosäureketten) vermutlich die am wenigsten empfindliche der hier beschriebenen Techniken. Mindestens acht GV-Pflanzenarten sind proteomisch analysiert worden (Erbsen, Mais, Reis, Kartoffel, Tabak, Tomate und Weizen). Zu Soja, Baumwolle und Raps gibt es hingegen noch keine öffentlich zugängliche Daten (vgl. dazu die aktuelle Studie (Gong und Wang 2013)). Mit den aktuell verfügbaren Techniken wird ein Grossteil des Proteoms (Gesamtheit der Proteine) nicht oder nur wenig erfasst. In der Literatur finden sich jedoch Hinweise auf die mögliche Präsenz von unbekanntem Peptiden, die entweder mit dem Vorhandensein eines Transgens oder dessen (biologischen) Insertionsprozess in Zusammenhang stehen, wie dies beim Mais MON810 der Fall ist (Zolla et al. 2008). In dieser Studie, aber auch in anderen Arbeiten (Corpillo et al. 2004), wurde keine Spur einer Transgenexpression nachgewiesen (CRY1Ab oder NPTII). Dieses Ergebnis legt nahe, dass diese Techniken nur Ergebnisse liefern, die deutlich unter der Nachweisgrenze (LOD) liegen, die für Schlussfolgerungen zur Risikobewertung als ausreichend sicher betrachtet werden kann. Zu beachten ist ferner, dass die meisten posttranslationalen Modifikationen (Phosphorylierung, Glykosylierung usw.) in den meisten Proteomanalysen nicht berücksichtigt werden, obschon gezeigt wurde, dass die ektopische Expression eines Proteins zu einer Veränderung dieser Modifikationen führen kann (Prescott et al. 2005; Lee et al. 2013), die eine Veränderung der Immunogenität zur Folge haben kann (siehe Abschnitt Allergenität). Gleich wie im Fall der Transkriptomik trägt das Argument, dass die durch das Transgen/die Transgene induzierten Unterschiede weniger bedeutend sind als jene, die durch die Umwelt oder die Unterschiede zwischen den Zuchtsorten hervorgerufen werden, nichts zur Stärkung der Risikoanalyse bei.

Fazit: Die Nutzung bzw. Extrapolation von Erkenntnissen aus der Proteomik ist bis auf Weiteres keine bevorzugte Option zur Verbesserung der vergleichenden Analysen.

### *Metabolomikprofile (unspezifische Metabolitenanalyse)*

Die jüngsten Fortschritte in den Bereichen Ultra-Hochdruckflüssigkeitschromatographie (UPLC-MS/MS) und Kernspinresonanz (NMR) erlauben es, hunderte von Metaboliten unterschiedlicher Grösse und mit unterschiedlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften zu identifizieren (für eine Übersicht siehe Simó et al. 2014). Ziel ist, über die OECD-Empfehlung bezogen auf die spezifische Liste an Toxinen, Spurenelementen und Makronährstoffen hin-



auszugehen, um möglichst viele identifizierbare Moleküle nachzuweisen. Wie bei den anderen Analysen zeigen zahlreiche Vergleichsstudien zwischen GV- und Wildlinien den relativ schwachen Einfluss der Transgene auf die Zellaktivitäten (z. B. Baker et al. 2006; Kim et al. 2009; Chang et al. 2012). Das hängt wie bei den anderen Nachweisebenen damit zusammen, dass die eingeführten Gene relativ spezifische Aktivitäten haben, die sehr wenig in die laufenden Zellaktivitäten eingreifen (Hoekenga et al. 2013).

Eine umfassende und sorgfältig durchgeführte Analyse des Metaboloms der Pflanze bzw. ihrer Produkte erlaubt es, das mögliche Vorhandensein von Pestizidrückständen infolge unterschiedlicher landwirtschaftlicher Praktiken aufzuzeigen. So wurden zum Beispiel bei der Analyse von glyphosatresistentem Soja Spuren dieses Herbizids und seiner Kataboliten (AMPA) im Vergleich zu Soja aus konventionellem Anbau (mit nur einer Herbizidfrühbehandlung) nachgewiesen (Bøhn et al. 2014). Es ist denkbar, dass eine ähnliche Analyse systematisch auf andere Pestizidrückstände angewendet werden könnte. Eine kürzlich durchgeführte Untersuchung der Maissorte NK603, die Proteom- und Metabolismusanalysen kombiniert, hat eine Reihe von Unterschieden, insbesondere auf der Ebene des Lysin- und Glutathion-Stoffwechsels, aufgezeigt (Mesnage et al., 2016). Die Autoren diskutieren die Auswirkungen ihrer Erkenntnisse auf das Konzept der substanziellen Äquivalenz.

Die unspezifische Metabolitenanalyse ist – sofern richtig standardisiert – die effektivste der drei hier beschriebenen Technologien, obschon noch grosse Anstrengungen in Bezug auf die Vollständigkeit und den Datenzugang notwendig sind (Doerr, 2017). Sie entspricht den Anforderungen der Risikoanalyse, indem sie die Verbindungen für jede Pflanzenart und jedes Event nahezu vollständig beschreibt und quantifiziert. Ausserdem ist diese Analyse relativ preiswert und würde es erlauben, den Schwerpunkt der Risikoanalyse auf das Produkt zu legen, was sicherer ist, weil Genom-Modifikationen immer schwer nachzuweisen sind.

#### *Zusammenfassung: Beitrag der «omik»-Technologien zur Risikoanalyse*

Im vorherigen Abschnitt wurden die modernsten Hochdurchsatzmethoden zur Analyse von biologischem Material sowie deren Einsatzmöglichkeiten im Rahmen der Identifikation von Risiken beschrieben, die von Produkten der Transgenese ausgehen. Obschon die Nutzung dieser Techniken für Forschung und Entwicklung in der Literatur eingehend beschrieben wird (Analyse der Auswirkungen von Kreuzungen, der Introgression oder der Anbaubedingungen), ist ihr Einsatz in der Risikoanalyse nach wie vor limitiert (Simó et al. 2014). Die Tatsache, dass die neueste GVO-Generation nicht mehr nur Gene betrifft, deren Expression den Anbau verändert, sondern solche, die mit dem Nährwert verbunden sind (relative Veränderung der Zusammensetzung), wird die vergleichende Analyse noch komplexer machen (Ricroch et al.

2011). Die Metabolomik ist nach wie vor die einzige Methode, die eine nahezu vollständige Beschreibung der GVO mit einem Minimum an Artefakten ermöglicht. Eine Kombination mehrerer dieser Methoden wird im Rahmen der Bestimmung der Authentizität von Lebensmitteln (Foodomics) postuliert (García-Cañas et al. 2012). Die Kombination dieser Techniken steht zwar noch am Anfang, dürfte aber zweifellos einen Beitrag zur Charakterisierung und Interpretation der beobachteten Phänotypen leisten (Srivastava et al. 2013). Die Demokratisierung der hier beschriebenen Hochdurchsatztechniken würde die Kosten der erörterten Analysen auf einen Bruchteil der Kosten allfälliger toxikologischer Tests an Tieren reduzieren (ganz abgesehen von den ethischen Fragen im Zusammenhang mit Tierversuchen). Es bleibt jedoch eine grosse Herausforderung, Standards bezüglich Qualität und Reproduzierbarkeit zu bestimmen, die ausreichen, um die Glaubwürdigkeit des Verfahrens zu gewährleisten und die im letzten Jahrzehnt eingeleiteten Bemühungen der EFSA fortzusetzen (EFSA, 2011 AHTEG final report of CDB, 2010). Ein Standardisierungsaufwand, wie er beispielsweise in der Pharmaindustrie üblich ist, könnte hierfür als Modell dienen.

Eine möglichst umfassende Analyse der Zusammensetzung würde 1) dieser Etappe im Hinblick auf die Ermittlung etwaiger unerwarteter Risiken Relevanz verleihen, und 2) den möglichen Einsatz von Tierversuchen beschränken, alles unter Wahrung international anerkannter und transparenter Standards, ohne dass Abstriche bei der Sicherheit von Mensch und Umwelt gemacht werden müssen.

### **3.3 Toxikologische Analysen**

#### **3.3.1 Tests zur subchronischen Toxizität**

##### *Geschichtlicher Kontext der Tierversuche bei GVO*

Toxikologische Tests an Tieren (häufig Ratten oder Mäuse) stellen die nächste Etappe der Risikobewertung dar. Sie zielt darauf ab, ein GVO auf mögliche Toxizität zu prüfen. Die verabreichten Dosierungen müssen mit einer ausgewogenen Ernährung in Einklang stehen (zum Beispiel bis zu maximal 33 Prozent Mais für eine Ratte), und es wird ein Vergleich zwischen Gruppen durchgeführt, die mit dem GVO bzw. dem herkömmlichen Pendant gefüttert wurden. Dabei werden zahlreiche Parameter gemessen (Metabolismus, Organentwicklung, Immunität, endokrine Funktionen). In den 2000er-Jahren führten viele Gesuchsteller solche Tests durch, obschon sie rechtlich nicht zwingend dazu verpflichtet waren, hauptsächlich bei Mais (Brake et al. 2004; Hammond et al. 2004; MacKenzie et al. 2007; Malley et al. 2007), Kartoffeln (Fares and El-Sayed 1998; Ewen & Putzai, 1999, Momma et al. 2000; El Sanhoty et al. 2004; Juśkiewicz et al. 2005; Rhee et al. 2005), Soja (Vecchio et al.; Brake and Evenson 2004; Malatesta et al. 2005, Tudisco et al., 2015), Reis (Momma et al. 2000; Poulsen et al. 2007a;

Schröder et al. 2007; Poulsen et al. 2007b) und Tomaten (Noteborn et al. 1995; Chen et al. 2003; Rein et al. 2006).

Zunächst konzentrierte sich die Diskussion auf die Dauer dieser Tests. Bei 90-tägigen Fütterungsversuchen stellte die Industrie Störungen im Stoffwechsel von Tieren fest, die mit GVO-Mais gefüttert worden waren, welcher Pestizide produziert (Hammond et al., 2006) oder toleriert (Hammond et al. 2004). Diese Störungen schätzte sie als nicht relevant ein. Neue statistische Berechnungen und neue Interpretationen widerlegten dies (Séralini et al. 2007; Séralini et al. 2009). Diese Debatte dauert noch immer an.

In zwei Fällen lösten GVO-Fütterungsstudien ein grosses Medienecho aus: Im Fall der Lektin exprimierenden Kartoffel von Prof. Pusztai (Ewen and Pusztai 1999) und im jüngsten Fall der längsten jemals für einen GVO durchgeführten Toxizitätsstudie (2 Jahre), einschliesslich detaillierter Bluttests: jener des gegenüber dem Herbizid Glyphosat toleranten Mais NK603 (Séralini et al. 2012; republiziert in Séralini et al. 2014) (4). Die europäischen Gesundheitsbehörden (5) haben 90-tägige Toxizitätstests an Ratten im Rahmen des Risikobewertungsverfahrens für obligatorisch erklärt (Europa Lex 503/2013::11). Diese Massnahme gilt nicht für bereits zugelassene und in Verkehr gebrachte GVO. Leider besteht jedoch eine gewisse Unsicherheit hinsichtlich der anzuwendenden Protokolle (insbesondere der Zeitdauer, die zur Prüfung auf chronische Toxizität oder Mehrgenerationen-Toxizität erforderlich ist) sowie der Signifikanz der Schlussfolgerungen aus diesen Tests. Die Analyse stützt sich auf die Empfehlungen der EFSA aus dem Jahr 2008 (EFSA, 2008). Bis Ende 2015 hätten neue, präzisere Regeln umgesetzt werden müssen. Es ist zu hoffen, dass diese Regeln den Empfehlungen der laufenden europäischen Programme folgen werden (siehe Kasten GRACE).

*(4) StopOGM: Alle Kritikpunkte wurden von den Autoren widerlegt und der Druck der Lobbies erklärt (Séralini et al. 2012; Séralini et al. 2014).*

*(5) StopOGM: Die EFSA hat ihre Leitlinien nicht wegen des Medienskandals überarbeitet, sondern weil Seralini et al. eine Reihe von wissenschaftlichen Daten vorgelegt haben. Die Rolle der EFSA, die nicht auf die Medien reagiert (oder reagieren sollte), ist nicht zu verwechseln mit jener der politischen Instanzen in Brüssel, die sehr wohl darauf reagieren.*

Das Programm GRACE (GMO Risk Assessment and Communication of Evidence): Das Programm zur Risikobewertung von Mais MON810 wurde von der EU im Zeitraum 2012–2015 mit sechs Millionen Euro unterstützt. MON810 ist zurzeit die einzige Gentechnik-Pflanze, die in der EU angebaut werden darf. Es wurden mehrere Tierversuche durchgeführt, darunter eine einjährige Fütterungsstudie, bei denen trotz signifikanter Veränderungen bestimmter physiologischer Parameter keine Toxizität dieses gentechnisch veränderten Mais nachgewiesen werden konnte. Die Hauptempfehlung von GRACE lautet, Tierversuche nicht mehr ohne vorherige Arbeitshypothese durchzuführen und die Beschreibung der Pflanzenlinien durch «omik»-Daten zu ergänzen. Es wurde grosses Gewicht gelegt auf den Austausch mit den Stakeholdern (mehrere Treffen während der gesamten Laufzeit des Projekts) und den Zugang zu den Daten, die zwecks allfälliger Gegengutachten öffentlich verfügbar gemacht wurden (was die Qualität der Daten nicht präjudiziert). Diese Bemühungen um mehr Transparenz, ein Novum in der GVO-Debatte, sind zu begrüßen und werden hoffentlich dazu beitragen, die Debatte voranzutreiben. Die ersten veröffentlichten Ergebnisse zu den 90-tägigen Tests stiessen auf viel Kritik, hauptsächlich seitens der deutschen NGO TestBiotech. In Frage gestellt wurden insbesondere die Bewertung der vorliegenden Daten (Zeljenková et al. 2014) sowie die Unabhängigkeit gewisser Projektverantwortlicher gegenüber der Industrie, deren Produkte getestet wurden. Mehrere andere öffentliche Projekte, die ebenfalls Schlussfolgerungen zu diesem Thema liefern dürften, sind noch im Gang: G-Twyst und OGM90+ (6). Das Programm G-Twyst führte ein ähnliches Forschungsprogramm bei Mais NK603 durch und machte sich dabei die Erfahrungen von GRACE zunutze. Insgesamt wurde bei einem breiten Versuchsspektrum, das sich über zwei Jahre erstreckte und über 1200 Tiere umfasste, keine signifikante Wirkung eindeutig festgestellt. Die Ergebnisse werden derzeit publiziert.

(6) StopOGM: *Die Ergebnisse der Untersuchung eines einzigen GVO werden im Programm GRACE überinterpretiert, indem sie auf alle GVO ausgeweitet werden.*

### *Bestehende Leitlinien*

Die Toxikologietests an Nagetieren basieren auf den GLP-Empfehlungen (Gute Laborpraxis) der OECD Nr. 408 und 452 zur Prüfung von Chemikalien (OECD, 1995, 2009), die von der EFSA übernommen wurden (EFSA, 2008). Sie werden regelmässig aktualisiert. Die Bedeutung dieser Tests wird anhand der bekannten Toxizität des Stoffs (no/low observed effect level, NOEL/LOEL) und der Akkumulationsrate in den Nahrungsmitteln überprüft. Viele spezifische Punkte des Protokolls werden seit Jahren diskutiert:

- Tiermodell und verwendete Tierart: Ratten/Mäuse, Wistar-Han oder Sprague-Dawley
- Anzahl Replikate pro Anforderung
- Verabreichte GVO-Dosis (1, 2 oder 3)
- Testdauer (1, 3, 12 oder 24 Monate)
- Umfang der histopathologischen, immunologischen und hormonellen Analyse
- Quantifizierung der Rückstände von Herbiziden/Adjuvanzen/anderen Toxinen

### *Fragen des Testdesigns und statistische Probleme*

Wir konzentrieren uns an dieser Stelle auf die Erörterung der Gründe, weshalb eine klare wissenschaftliche Stellungnahme zum Beitrag der 90-tägigen Tests an die GVO-Risikobewertung extrem schwierig ist. Ausgeklammert bleibt dabei die Frage der vielen vorhandenen Interessenkonflikte, die sowohl die Auswahl der Expertinnen und Experten, welche die Studien durchführen, als auch die Fachzeitschriften betreffen, in denen die Ergebnisse veröffentlicht werden. Zur Illustration werden zwei Beispiele herausgegriffen: der Fall des Mais NK603 und jener des Mais TC1507.

**Medienkontroverse zu GVO:** Während die erste Veröffentlichung der Ergebnisse zum Mais NK603 relativ unbemerkt blieb (25 Zitate zwischen 2006 und 2012, Hammond et al. 2004), löste die zweite ein grosses Medienecho aus (95 Zitate der ersten Version). Die Studie wurde zunächst heftig kritisiert, dann zurückgezogen und zwei Jahre später in revidierter Form in einer anderen Zeitschrift (Environmental Sciences Europe) neu veröffentlicht. Dieses Beispiel zeigt die Schwierigkeit, eine kontroverse Diskussion zu diesem Thema zu führen (Thematik: «Re-Science», Fagan et al. 2015). Die transparente Berichterstattung der Ergebnisse des regulatorischen Verfahrens, die zur Zulassung von GVO und der zugehörigen Pestizide wie dem Roundup (für den NK 603) geführt haben, würden durch eine Diskussion begünstigt, weil die widersprüchlichen Daten ohnehin online verfügbar sind. Anzuführen ist, dass die breite Auseinandersetzung weit über die wissenschaftliche Debatte und den Ideenaustausch, der wissenschaftliche Exzellenz anstrebt, hinausgeht (zusammengefasst in Loening 2015). Einen ausgezeichneten Rückblick auf die geführten Debatten zu GVO-Studien liefert Waltz (2009). Zwei berühmte Beispiele sind der Fall des Monarchfalters ( Losey et al. 1999) und jener der Verseuchung von mexikanischem Landmais (Quist und Chapela 2001). Im Fall des Monarchfalters hat die wissenschaftliche Gemeinschaft (abgesehen von der Kontroverse) reagiert und eine Reihe von qualitativ hochwertigen Daten bereitgestellt, welche die Schädlichkeit von Bt-Mais

für den Monarchfalter und die Bedeutung der Exposition für die Risikobewertung belegen und beschreiben (Wraight et al. 2000; Stanley-Horn et al. 2001; Zangerl et al. 2001). Es bleibt zu hoffen, dass die Kontroverse um den Mais NK603 auch zu verbesserten Standards für die Risikobewertung und zu mehr Transparenz führen wird.

*(7) StopOGM: Die Studie wurde nach dem Eintritt eines Mitarbeiters von Monsanto in die FTC-Redaktion zurückgezogen. Die Studie wurde aufgrund eines neuen, speziell für die Séralini-Studie festgelegten Kriteriums zurückgezogen: die mangelnde Schlüssigkeit der Daten. Gestützt auf dieses Kriterium könnte man die Mehrheit der veröffentlichten Studien zurückzuziehen, da keine wissenschaftliche Studie abschliessend ist und die Wissenschaft es ihrem Wesen nach ebenfalls nicht ist. Der ehemalige Mitarbeiter von Monsanto hat die Redaktion inzwischen verlassen. Alle anderen Studien, die in FTC veröffentlicht wurden und eine angebliche Unbedenklichkeit nachweisen, sind ebenfalls nicht schlüssig und hätten somit zurückgezogen werden müssen. Das war selbstverständlich nicht der Fall. Dass die Publikation im Anschluss an einen Wechsel im Verlagsteam zurückgezogen wurde, illustriert die Durchdringung des privatwirtschaftlichen Kapitals bis in den Kern des Systems der wissenschaftlichen Validierung (Peer Review) und damit die Gefährdung der Publikation von «störenden» Daten, die die kontradiktorische Debatte nähren könnte.*

*Es ist also nicht so, dass es die kontradiktorische Debatte nicht mehr geben würde. Vielmehr werden die Daten, die diese nähren, gelöscht und Wissenschaftlern, die solche Resultate produzieren, die Glaubwürdigkeit entzogen.*

### **Mais NK603**

Mais NK603 ist eine gentechnisch veränderte, glyphosattolerante Maislinie der Firma Monsanto (exprimiert das CP4-ESPS), die zum Import als Futtermittel in Europa und in der Schweiz (nur in verarbeiteter Form) zugelassen ist. Eine Reihe von 90-tägigen Tests wurde zunächst von der Gesuchstellerin durchgeführt (Hammond et al. 2004) und später mit einem präziseren Protokoll (mit und ohne Glyphosat) über 24 Monate hinweg teilweise wiederholt und im gleichen Journal veröffentlicht (Séralini et al. 2012; Séralini et al. 2014).

Die Schwachstellen der beiden Studien und die erforderlichen Verbesserungen im Bereich des Studiendesigns und der statistischen Analysen wurden an anderer Stelle ausführlich diskutiert (EFSA, 2012, Lavielle, 2013).

### *Auswahl der Ratten und Einfluss auf den beobachteten Phänotypen*

Beide NK603-Studien verwenden Sprague-Dawley-Ratten, wie von der OECD empfohlen. Es sind weitere Arbeiten notwendig, vor allem hinsichtlich der Kanzerogenität von Glyphosat (nicht Thema dieses Berichts, siehe EFSA und IARC, 2015). Dabei wird darauf zu achten sein, dass die Ziele der Studien klar definiert sind und die Schlussfolgerungen die Grenzen der Studie aufzeigen: Studie der akuten/subchronischen/chronischen Toxizität, der Kanzerogenität, auf einem Nahrungsmittel oder auf einem Herbizid, Synergieeffekte usw.

### *Anzahl der verwendeten Tiere*

Beide Studien verwenden die Daten von 10 Ratten pro Bedingung und Geschlecht, eine Zahl, die durch die Leitlinien Nr. 408 der OECD begründet ist (OECD, 1995). Die Anzahl der zu verwendenden Tiere ist jedoch untrennbar mit der Grösse des beobachtbaren Effekts verbunden. Beträgt zum Beispiel das Risiko, einen Tumor zu entwickeln, für einen bestimmten Zeitraum 10 Prozent, wären für die Messung einer Erhöhung des Risikos um 10 Prozent 135 Tiere erforderlich, für eine Erhöhung um 20 Prozent 41 Tiere und für eine Erhöhung um 30 Prozent 24 Tiere (HCB, 2012). In keiner der Studien wird der statistische Analyseplan vorgestellt und die Auswahl der präsentierten Ergebnisse wurde offenbar *ex post* getroffen (8).

*(8) StopOGM: Alles hängt von der Baseline ab, die falsch war.*

### *Dauer der Studie*

Der Hauptunterschied zwischen den Studien von Hammond und Seralini betrifft die Versuchsdauer: 3 vs. 24 Monate. Bei der Interpretation der Ergebnisse wird mit derselben Vorsicht zu verfahren sein wie bereits erwähnt (vorgängig definiertes Versuchsziel und objektive Auswahl der präsentierten Daten). Was die verfügbaren Daten betrifft, so dürfte es nach Abschluss der Projekte GRACE, G-Twyst und OGM90+ (9) einfacher sein, Schlussfolgerungen hinsichtlich der Toxizität der beiden getesteten GVO zu ziehen. *Im Minimum* darf man sich von diesen Projekten (neben der Bereitstellung von Rohdaten) neue Standards versprechen, die eine Verbesserung der jetzigen, wenig geeigneten und/oder schlecht angewendeten Leitlinien ermöglichen.

*(9) StopOGM: Mitnichten – fehlende Untersuchungsparameter, keine Pestizidmessung.*

### *Kontrolle auf etwaige Verunreinigungen von Nahrungsmitteln*

Eine neuere Studie (Mesnage et al., 2015) hat die Verunreinigung einiger Lots von regelmässig eingesetzten Futtermitteln mit GVO, aber auch mit verschiedenen Xenobiotika (Pestizide, Schwermetalle usw.) aufgezeigt. Da diese Futtermittel in vielen Studien als Negativkontrolle eingesetzt werden, erschweren diese Verunreinigungen die Interpretation der Ergebnisse stark. Alle Studien jüngerer Datums (Seralini 2012, GRACE und G-Twyst) haben sehr strenge Kontrollen der bei den Versuchen verwendeten Futtermittel eingeführt (Toxine, Schwermetalle, Pestizide, andere GVO usw.)

### **Mais TC1507**

Mais TC1507 ist eine von den Firmen Dow und Pioneer produzierte, gentechnisch veränderte Maislinie, die zwei Proteine exprimiert: das insektizide CryF-Toxin und ein Gen, das ein Enzym kodiert, welches eine Toleranz gegenüber dem Herbizid Glufosinat ermöglicht (Acetyltransferase, PAT). Im Jahr 2010 wurden mehr als 150 Hybride registriert, die aus TC1507 hervorgegangen sind. Mais TC1507 ist in Europa als Lebens- und Futtermittel und in der Schweiz als Futtermittel zugelassen.

### *Toxikologische Tests an Tieren*

Wie bei den meisten transgenen Events dieser Generation wurden 90-tägige Tests durchgeführt (MacKenzie et al. 2007; Baktavachalam et al. 2015). Dieser Test entspricht den OECD-Empfehlungen und verwendet 12 Tiere pro Anforderung und Mais, der nicht mit Glufosinat behandelt wurde (10). Signifikante Abweichungen speziell bei den eosinophilen Granulozyten wurden bei der mit dem GVO gefütterten weiblichen Population beobachtet, die Ergebnisse wurden jedoch nicht durch weiterführende Versuche ergänzt (MacKenzie et al. 2007, EFSA, 2004). Im Rahmen einer neuen statistischen Auswertung dieser Ergebnisse durch die Berner Fachhochschule wurde ein Äquivalenztest auf denselben Datensatz angewendet (Hauser, 2014). Die Ergebnisse dieser Analyse zeigen, dass 1) die Verwendung von Daten aus verschiedenen Analysen die «Baseline» unscharf macht: mehr als die Hälfte der Kontrollratten liegt ausserhalb des Konfidenzintervalls, 2) aufgrund der zu niedrigen Anzahl Tiere, gemessen an der geringen Grösse des potenziell beobachtbaren Effekts, kann nicht auf eine mögliche Toxizität des GVO geschlossen werden (zu schwache statistische Aussagekraft) (11). Es wurde errechnet, dass nicht weniger als 27 Tiere pro Anforderung notwendig gewesen wären, um mit 80-prozentiger Wahrscheinlichkeit eine Wirkung des GVO nachzuweisen. Daraus kann berechtigterweise geschlossen werden, dass die Daten aus den 90-tägigen Fütterungstests



an Ratten zur Prüfung auf subchronische Toxizität von Mais1507 nicht ausreichen, um dessen Unbedenklichkeit zu garantieren.

Weitere Fütterungsstudien (Toxizität und/oder Ernährung) mit TC1507 wurden an Hühnern (McNaughton et al. 2007; Scheideler et al. 2008), Milchkühen (Faust et al. 2007) und Schweinen (Stein et al. 2009) durchgeführt. Keine dieser Studien zeigte eine signifikante Wirkung auf die getesteten agronomischen Parameter (12). Da Leitlinien fehlen, ist es für Nutztiere schwierig, zu beurteilen, ob die Protokolle (Anzahl Tiere, Dauer der Tests, Konzentration der verwendeten GVO) aussagekräftiger sind als bei Ratten. Es kann daraus nur geschlossen werden, dass keine akute Toxizität von TC1507 vorliegt.

*(10) StopOGM: Das macht ihn ungültig im Vergleich zu einem kommerziellen Produkt, bei dessen Anbau wahrscheinlich Herbizid eingesetzt wurde.*

*(11) StopOGM: Hier sollte erklärt und präzisiert werden, dass das Fehlen einer Schlussfolgerung zur Toxizität nicht gleichzusetzen ist mit Unbedenklichkeit. Es ist lediglich so, dass der Test, der die Nullhypothese «keine Differenz» der GVO-Gruppe verwerfen soll (Differenztest), den Unterschied nicht nachweisen kann, falls er existiert. Selbst wenn kein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt wird (wenn die Nullhypothese nicht verworfen werden kann), darf daraus nicht geschlossen werden, dass die beiden Gruppen identisch sind, denn mit einer robusteren statistischen Methode hätte vielleicht ein Unterschied beobachtet werden können. Wie die EFSA sagt, «ist das Nicht-Vorhandensein von Beweisen kein Beweis für das Nicht-Vorhandensein» Das ist für die Unbedenklichkeits- oder Sicherheitserklärung, die in den Bewilligungsdossiers gelesen werden kann, von zentraler Bedeutung. Keine dieser Aussagen beruht auf Resultaten. Auf der Grundlage der vorgelegten Daten ist dies reine Spekulation. Das Regulierungsorgan sollte sich unserer Meinung nach hüten, ein Produkt als sicher zu erklären, für welches kein Ergebnis die Sicherheit belegt (im Rahmen der durchgeführten Versuche natürlich, nicht absolut gesprochen)*

*(12) StopOGM: Die Beurteilung des Gesundheitsrisikos beruht auf nicht agronomischen Kriterien, beispielsweise auf Blutproben.*

#### *Statistische Empfehlungen: Standardisierungsbedarf*

Die Tests auf subchronische Toxizität an Nagetieren gehören zu den umstrittensten und meist-kritisierten Bestandteilen der Risikoanalyse von GVO (Séralini et al. 2011). Dies zeigt sich daran, dass wiederholt umfassende Empfehlungen zu den statistischen Standards veröffentlicht worden sind (ANSES, 2011, EFSA 2008) mit dem Ziel, die Versuchsstandards zu verbesser-

sern und zu standardisieren. Es ist wichtig anzumerken, dass es sehr schwierig ist, eine geeignete Versuchsanordnung zu entwickeln, wenn das Ausmass der zu erwartenden Veränderung nicht *ex ante* bekannt ist. Einige Empfehlungen bleiben jedoch gültig:

- Vorausberechnung der Anzahl der Tiere pro Anforderung (Berechnung der statistischen Aussagekraft).
- Ganz generell ist ein statistischer Analyseplan vorzulegen. Tests, die Unterschiede aufzeigen (Mittelwertvergleich), sind im Allgemeinen weniger konservativ als Äquivalenztests. So kann ein Differenztest, der bei einer zu kleinen Stichprobe durchgeführt wird, niemals signifikant sein. Deshalb ist es wichtig, von Beginn weg über eine Zusammensetzung der Inhaltsstoffe (siehe vorheriger Abschnitt) und über eine solide experimentelle Grundlage zu verfügen, wenn die Ergebnisse als Grundlage für den Entscheid dienen sollen, ob es notwendig ist, Tiere zu opfern oder nicht. Ein anderer Ansatz wäre die systematische Anwendung von 90-tägigen Tests, wie von der EFSA empfohlen (13). Aber auch in diesem Fall bleiben Zweifel an der Qualität der Schlussfolgerungen bestehen, solange der Versuchsaufbau unzureichend ist.
- Die Ergebnisauswertung muss umfassend sein, transparent durchgeführt werden, und es dürfen bestimmte Daten nicht willkürlich ausgeklammert werden (ANSES, 2011, Lavielle, 2013). Ebenso gilt es, die Grundprinzipien toxikologischer Analysen einzuhalten, indem etwaige untypische Daten berücksichtigt, aber auch vorhandene Variationen/Trends einbezogen werden, welche nicht unbedingt signifikant sind.
- Neben der toxikologischen Analyse sind, falls nötig, anatomisch-pathologische Untersuchungen durchzuführen, um die Diagnose zu vervollständigen (14).

*(13) StopOGM: Es gilt anzumerken, dass GVO dazu bestimmt sind, langfristig konsumiert zu werden. 90-tägige Tests sind somit ungenügend, um die potenzielle chronische Toxizität von einem GVO zu beurteilen. Es ist somit davon abzusehen, GVO als langfristig sicher zu erklären, wenn dies nicht anhand eines Tests belegt werden kann.*

*(14) StopOGM: Diese anatomisch-pathologischen Untersuchungen sind äusserst wichtig. Dennoch werden die Objektträger von den für die Risikoevaluation zuständigen Experten (insbesondere EFSA) nicht abgelesen, sondern nur von den Wissenschaftlern, die beim Gesuchsteller für die Studie zuständig sind. Selbst in strittigen Fällen bestand die anatomisch-pathologische Untersuchung nur darin, die Meinung eines Spezialisten einzuholen, basierend auf der Berichterstattung des Gesuchstellers und nicht auf den Objektträgern!*

*Gleichzeitig müsste im Zuge der laufenden Expertise die Berichterstattung des Gesuchstellers geprüft werden, d. h. von einem Spezialisten für pathologische Anatomie und nicht von einem*

*Toxikologen analysiert werden. Doch der französische HCB (Haut Conseil des Biotechnologies) verfügt über keinen Spezialisten für pathologische Anatomie (prüfen ob das ANSES, die EFSA usw. einen haben).*

Nahezu alle der heute weltweit kommerziell genutzten und getesteten GVO exprimieren eine Variante des Bt-Toxins und/oder sind resistent gegen Glyphosat und/oder Glufosinat (Fernandez-Cornejo et al. 2014). Es erscheint daher naheliegend, dass bei deren Anbau unterschiedliche landwirtschaftliche Praktiken zum Einsatz kommen. Eine Sicherheitsbewertung ist deshalb unerlässlich. So wird zum Beispiel berichtet, dass der Aflatoxinspiegel in Bt-Mais generell niedriger ist (Meissle et al. 2011) (15). Diese Abweichungen werden bei der Diskussion über Risikoanalyse und Risikomanagement nur sehr wenig beachtet und sollten ernsthafter berücksichtigt werden. Tatsächlich dürfte sich der Pestizidrückstandsgehalt bei diesen GVO-Kulturen von jenem ihrer herkömmlichen Pendanten unterscheiden. Um Verwechslungen zwischen der mit der Transgenese verbundenen Toxizität und der Toxizität aufgrund veränderter Anbaumassnahmen zu vermeiden, wären genauere Experimente (einschliesslich geeigneter Kontrollen und Daten) erforderlich. So scheint zum Beispiel ein Vergleich der Gehalte an Pestizidrückständen oder anderen Toxinen (wie Pestizidadjuvanzen) (Mesnage et al. 2015; Defarge et al. 2016), wie im Programm GRACE erfolgt (16), ein wichtiger Punkt für die Diskussion der Ergebnisse zu sein. Die Schwierigkeit, die Auswirkungen einer komplexen Substanz (das Nahrungsmittel enthält möglicherweise neue Metaboliten, Pestizide und deren Adjuvanzen) auf nicht minder komplexe Systeme (Tiere) zu erfassen, muss berücksichtigt werden, sie könnte aber durch ein geeignetes Versuchsdesign rational abgehandelt werden. Angesichts der drängenden gesellschaftlichen Forderungen nach einer Beschränkung der Tierversuche (Interpellation Chevalley 14.3683) dürfte die Berechtigung eines systematischen Einsatzes solcher Modelle bei jedem Risikobewertungsdossier in Zweifel gezogen werden. Die Entwicklung alternativer Modelle auf der Basis von zellulären Systemen würde es beispielsweise ermöglichen, die systematische Verwendung von Tieren einzuschränken, ohne deswegen die Testleistung automatisch zu verringern (17).

*(15) StopOGM: Aber die Aflatoxingehalte haben mehr mit den Lagerbedingungen als mit den Anbaubedingungen zu tun.*

*(16) StopOGM: Siehe Anmerkungen in der Box zum Projekt GRACE.*

*(17) StopOGM: Aber es gibt nichts, was bei Tests zur Bestimmung der chronischen Toxizität das Lebewesen ersetzen könnte. Für die Ethik von Mensch und Tier könnte es abträglich sein,*

*keine präventiven Blutuntersuchungen an jenen ersten Tieren durchzuführen, welche diese GVO fressen werden, bevor unbedacht Milliarden von Tieren damit verfüttert werden.*

#### *Toxizität über mehrere Generationen*

Die EFSA anerkennt bereits in den Leitlinien zur Durchführung der 90-tägigen Fütterungstests, dass diese nicht darauf ausgelegt sind, geringe Auswirkungen (Subtoxizität), chronische Auswirkungen und insbesondere Auswirkungen auf die Reproduktion und Entwicklung nachzuweisen (EFSA, 2008). Diese Art von Reaktion, die durch die Gegenwart einer kurzfristig a priori schwach toxischen Verbindung (z. B. endokrine Disruptoren) herbeigeführt wird, ist besonders schwierig zu interpretieren, weil sie zu Reaktionen führen kann, die nicht unbedingt von der eingenommenen Dosis abhängig sind (Séralini et al. 2011). Eine Fachzeitschrift berichtet über zwölf Mehrgenerationenstudien mit Mäusen, Ratten, Ziegen, Schafen, Hühnern und sogar Wachteln, die mit Mais, Kartoffeln, Soja und Triticale gefüttert wurden (Snell et al. 2012). Dabei konnte eine ganze Reihe von Protokollen und Parametern (Gewicht, Immunsystem, Histopathologie...) zu verschiedenen Zeitpunkten gemessen werden (bis zu fünf getestete Generationen). In vier der zwölf Experimente wurden signifikante Unterschiede bei gewissen gemessenen Parametern festgestellt (Trabalza-Marinucci et al. 2008; Kiliç and Akay 2008; Krzyżowska et al. 2010; Tudisco et al. 2010).

Es lassen sich zwei Hauptempfehlungen ableiten: 1) Die Notwendigkeit präziser und harmonisierter Protokolle für jedes Versuchsmodell, die über das hinausgehen, was die OECD ursprünglich in den Leitlinien Nr. 408 (OECD, 1995) empfiehlt. 2) die Zusammenarbeit der Geschwister (meist Privatunternehmen) mit der Wissenschaft, um den Zugang zu den sachdienlichen Materialien, in der Regel Referenzlinien, zu ermöglichen. Ganz allgemein wäre mehr Transparenz und Zusammenarbeit der toxikologischen Bewertung von GVO förderlich, damit diese den modernsten Forschungsstandards entspricht. Was die Frage der mehr oder weniger langfristigen Wirkungen (Nieren- oder Leber-Toxizität, karzinogene Wirkung und endokrine Störungen) angeht, so wären weitere Versuchsanordnungen erforderlich, um diese möglichst umfassend zu beantworten. Gleichwohl ist die Extrapolation der Ergebnisse von Versuchen an Tiermodellen (insbesondere Nagetieren) eine Quelle stetiger Auseinandersetzungen, und dies seit über vier Jahrzehnten (Jasanoff, 1994).

### *Andere Tiermodelle*

Zur Prüfung der Toxizität von GVO wurde eine Reihe von Tierarten verwendet, insbesondere auch Nutztiere. Diese Studien sind wichtig, weil die überwiegende Mehrheit der weltweit produzierten GVO an Tiere verfüttert wird (in Europa werden diese ausschliesslich als Tierfutter eingesetzt). Die Studien betreffen Geflügel, Schweine und Wiederkäuer. Auch hier sind mehrere Studien umstritten, etwa diejenigen an Schweinen mit Glyphosat-tolerantem Soja (Carman et al., 2013) oder die Studie an Ziegen mit dem gleichen Soja als Futtermittel (deren Herausgeber vor Kurzem mehrere Publikationen zurückgezogen haben) (Tudisco et al. 2015). Eine öffentliche Datenbank, die einen Grossteil der durchsuchbaren Daten zu den Auswirkungen genetisch veränderter Pflanzen in Futtermitteln enthält, wurde im Rahmen des Projekts MARLON ([www.marlon-project.eu](http://www.marlon-project.eu)) aufgebaut. Diese Bemühungen um mehr Transparenz werden hoffentlich dazu beitragen, die Debatte voranzutreiben.

#### *3.3.2 Zur Bedeutung der Tierversuche für die Risikobewertung*

Die 90-tägigen Toxizitätsstudien weisen eine Reihe von technischen Einschränkungen auf, die bereits erwähnt wurden. Abgesehen von diesen Einschränkungen, die sich durch eine bessere Laborpraxis technisch überwinden liessen, gibt es weitere Probleme zu lösen. Zu beachten ist, dass die 90-tägigen Tests in der Schweiz nicht gesetzlich vorgeschrieben sind. Die Folgearbeiten zu öffentlichen Programmen wie GRACE haben gezeigt, dass ein umfassender Test für die in Europa zugelassenen gut 60 GVO und Stacks kaum realisierbar ist (5–6 Mio. € pro Programm mit je dreijähriger Laufzeit). Wird nicht in jedem Einzelfall eine systematische Überprüfung vorgenommen, besteht die Gefahr, toxikologische Daten aus Experimenten mit spezifischen Events auf andere Events extrapolieren zu wollen.

### **3.4 Allergenitätstests**

Die Allergenitätstests sind in drei Teile gegliedert: 1) Analyse der Allergenität des Ursprungsorganismus in der Vergangenheit, 2) bioinformatische Analyse der in das Genom eingebauten Sequenzen und der potenziell exprimierten Epitopen, 3) *In-vitro*-Verdauungstest des/der *in vitro* hergestellten Proteins/e und Serum-Screenings (skin pricks). *In-vivo*-Tests werden von der EFSA bei Verdacht auf Allergenität empfohlen (EFSA, 2008), nicht jedoch von der FAO (aus ethischen Gründen). Der grundlegende Unterschied zwischen Toxikologietests und Allergenitätstests ist die Unmöglichkeit, untere Schwellenwerte *ex ante* festzulegen. Nahrungsmittelallergien stellen ein erhebliches Problem für die öffentliche Gesundheit dar: 2–3 Prozent der Erwachsenen und 6–8 Prozent der Kinder weisen Allergien auf, und einige der Pflanzenarten,

die üblicherweise in gentechnisch veränderter Form verwendet werden (z. B. Soja), gelten bereits in ihrer Wildform als Nahrungsmittelallergene (Hoffmann-Sommergruber, 2012).

Es sind einige Beispiele von gentechnischen Veränderungen bekannt, die zur Erzeugung eines Allergens oder einer Veränderung der Immunreaktivität geführt haben: Beta-Amylase bei Erbsen, Starlink-Mais und PR-Proteine (pathogenesis related proteins). In den folgenden Abschnitten werden Beispiele beschrieben und geklärt, welche Schlussfolgerungen daraus im Rahmen der Allergenitätsrisikobewertung zu ziehen sind. Die allergenen Eigenschaften variieren je nach verwendeter Pflanzenart, dieser Beschreibungsschritt erscheint deshalb notwendig und zweckmässig.

#### 3.4.1 *Bioinformatische Analyse*

Die bioinformatische Analyse besteht darin, alle neuen genetischen Elemente, die in das Genom des GVO eingefügt wurden, *in silico* zu implementieren. Die so erhaltenen Aminosäuresequenzen (in der Regel acht Aminosäuren lang) werden mit verschiedenen Datenbanken, welche die Aminosäuresequenzen bekannter Allergene enthalten, verglichen. Allerdings erzeugt dieses Vorgehen eine hohe Rate an falsch-positiven-Ergebnisse (Stadler and Stadler 2003). Analog zur vergleichenden Analyse ist diese Analyse notwendig, aber nicht ausreichend, um ein neues potenzielles Allergen zu identifizieren. Hinzu kommt, dass diese Datenbanken ständig erweitert werden, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse im Laufe der Zeit erschwert. Auch erweist sich die Berücksichtigung der durch eine oder mehrere Aminosäuren ausgebildeten Sekundär- und Tertiärstrukturen *in silico* ohne weitere experimentelle Daten als sehr schwierig, was die Vorhersage limitiert (Willison et al. 2013; Bernard et al. 2015). Schliesslich ist es möglich, dass artspezifische posttranslationale Modifikationen die Immunreaktivität der exprimierten Proteine verändern, wie von Prescott et al. postuliert (Prescott et al. 2005, Lee et al. 2013) (18).

*(18) StopOGM: Es ist unmöglich, aufgrund einer Primärstruktur ein Epitop (ob allergen oder nicht) vorherzusagen. Ausserdem variieren die Ergebnisse nicht nur je nach verwendeten Datenbanken, sondern auch hinsichtlich der verwendeten Algorithmen, was es dem Gesuchsteller erlaubt, zu wählen, was ihm passt. Eine Standardisierung der Datenbanken und Algorithmen ist notwendig, darf aber nicht der Industrie (insbesondere dem ILSI) überlassen werden. Die bioinformatische Analyse ist daher von begrenztem (Warn-)Wert, wenn sie positiv ist, und ohne Informationswert, wenn sie negativ ist.*

### 3.4.2 *In-vitro-Verdauungstests*

Schliesslich soll die Stabilität der Proteine unter dem Einfluss der Magenflüssigkeit (Pepsin) Aufschluss geben über die Stabilität der Proteine während der Verdauung (19). Auch hier bestehen klare experimentelle Grenzen, darunter die unzureichende Reproduktion der *In-vivo*-Bedingungen (der verwendete pH-Wert unterscheidet sich vom pH-Wert des Magens). Dieser Test geht von der Prämisse aus, dass ein Allergen durch seine Stabilität während der Verdauung und/oder eine geringe Exposition gegenüber dem Protein während des Verdauungsprozesses gekennzeichnet ist. Im Fall des Starlink-Mais, der das Cry9C-Toxin produziert, zeichnet sich das Protein durch eine aussergewöhnlich hohe Stabilität aus und steht im Verdacht, bei mindestens 51 Personen allergische Reaktionen hervorgerufen zu haben, was zum Rückzug der Maislinie vom Markt führte (Bernstein et al. 2002, Kuiper et al., 2003).

*(19) StopOGM: Nicht nur ist der in-vitro verwendete pH-Wert viel niedriger als derjenige des Mageninhalts während der Verdauung, sondern der beim Astwood-Test verwendete Pepsinpiegel (der in den Zulassungsanträgen ausgewiesen wird) beträgt das 3000-fache des physiologischen Durchschnitts. Zudem fehlen die physiologisch vorhandenen Phospholipide im In-vitro-Test. Jean-Michel Wal, der auch Sachverständiger des GVO-Gremiums der EFSA ist, hat gezeigt, dass Cry1Ab unter realitätsnäheren physiologischen Bedingungen – aber immer noch in vitro und ohne Lebensmittelmatrix – nicht abgebaut wurde, was in völligem Widerspruch zu den von Monsanto präsentierten und von der EFSA validierten Ergebnissen steht (Guimaraes et al. 2010). Es gibt viele Fälle, in denen das untersuchte Protein testresistent und allergen ist, aber es gibt fast genauso viele Fälle, in denen das Gegenteil der Fall ist. Von einer Korrelation zwischen Ergebnissen und Pathologie kann nicht gesprochen werden. Es ist wichtig zu betonen, dass dieser Pepsin-Test von der Industrie entwickelt, veröffentlicht und in den Codex Alimentarius aufgenommen wurde, und zwar für ihre Zwecke.*

### 3.4.3 *In-vivo-Tests*

Die Empfehlungen der EFSA (EFSA, 2008) sehen vor, den Einsatz von Untersuchungen an Nagetieren in Fällen mutmasslicher Allergenität möglichst gering zu halten. Die Extrapolation der Ergebnisse aus Daten von Nagern auf den Menschen ist nach wie vor schlecht dokumentiert und stark umstritten (Leist and Hartung 2013). So ist zum Beispiel die Allergenität der Wilderbse (die in keinem Zusammenhang mit einem Transgen steht) nur schwer auf den Menschen übertragbar (Lee et al. 2013), auch wenn das Bohneneiweiss Alpha Amylase Inhibitor 1 als Allergen identifiziert wurde.

Gleich wie bei der vergleichenden und toxikologischen Analyse kann man sich darauf beschränken, die Grenzen der Techniken und die verwendeten Protokolle zu kritisieren. Verbote,

Kennzeichnungsbestimmungen u. Ä. sind politische Entscheidungen und nicht Teil der Risikobewertung. Es ist Aufgabe der Politik, gestützt auf diese Bewertung und weitere Faktoren, die Massnahmen zu ergreifen, die sie für angemessen hält. Beim Gluten zum Beispiel ist es die Kennzeichnungspflicht.

Aufgrund der Individualität und Komplexität der allergischen Immunreaktion kann nicht jedes Risiko einer allergischen Reaktion eliminiert werden, aber dieses Problem dürfte sich bei jedem neuartigen Lebensmittel stellen, ohne dass dies grundsätzlich mit dessen transgener Herkunft zusammenhängt. Anzumerken ist auch, dass einige GVO mit dem Ziel der Hypoallergenität entwickelt wurden, häufig durch Unterdrückung oder Verminderung der Expression eines Gens, das für das allergene Protein kodiert: Apfel, der weniger Mal d 1-Protein exprimiert (Gilissen et al. 2005), Soja, das weniger Gly m 30-Protein exprimiert, (Herman et al. 2003), Profilin-Antisense-Tomate (Lee et al., 2006) oder die Ara h 2-reduzierte RNAi-Erdnuss (Dodo et al. 2008). Es ist davon auszugehen, dass das Inverkehrbringen solcher Produkte und der Nachweis einer signifikanten Verringerung ihrer Allergenität sehr schwierig ist und spezifische Bewertungsprotokolle erfordert.

#### **4 Sicherheit der GVO mit Insektenresistenz(Bt) als Futtermittel**

Neben der Herbizid-Toleranz ist die Insekten-Resistenz (IR, Produktion insektizider Toxine des Typs Cry/Bt) das häufigste Merkmal der ersten Generation von GVO. Beide zusammen machen 99 Prozent der kommerziell genutzten GVO aus. Der einzige gentechnisch veränderte Mais, der in Europa angebaut werden darf, der Mais MON810, enthält das Gen, das für das Cry1Ab-Protein kodiert. Daher sind die Kenntnisse über die Wirkmechanismen dieser Insektizidklasse sowie die mögliche Toxizität und Allergenität dieser Proteine zentrale Kontrollpunkte bei der Risikoanalyse (20).

**Der vorliegende Bericht geht nicht auf die Auswirkungen des Einsatzes solcher Pflanzenlinien auf die Umwelt und die Agrarsysteme ein:** Wir konzentrieren uns hier auf die Sicherheit von Bt-exprimierenden Pflanzen als Futtermittel.

*(20) StopOGM: Die Sicherheit von IR-GVO für Tiere, die gefüttert werden müssen, ist in den Unterlagen nicht belegt.*

##### **4.1 Wirkungsweise und Diversität von Bt-Toxinen**

Die Cry-Proteine der  $\delta$ -Endotoxin-Familie werden vom gramnegativen Bakterium *Bacillus thuringiensis* (Bt) produziert. Bt-Proteine werden seit den 1930er-Jahren als Spray-Insektizid in der biologischen Landwirtschaft verwendet. Seit den 1990er-Jahren werden sie in einem Grossteil der kommerziell angebauten GVO eingesetzt. Zahlreiche kommerziell vertriebene,



genetisch veränderte Nutzpflanzen produzieren Cry-Toxine (Mais, Papaya, Raps, Soja, Baumwolle, Kartoffel, Kürbis, Aubergine, Tomate, siehe Tabelle 3). Die Cry-Proteine existieren in einer Vielzahl von Varianten, die nach ihrem Zustand (zytosolisch oder kristallin) klassifiziert und in Abhängigkeit von ihrem Wirkmechanismus in vier Untergruppen eingeteilt sind (Bravo et al. 2011).

**Nomenklatur der Cry-Toxine** Die Cry-Toxine sind in 70 Gruppen eingeteilt, die mehr als 700 Proteine umfassen. Die erste Zahl entspricht einer Ähnlichkeit zwischen den Aminosäuresequenzen der Cry-Proteine von mindestens 45% (Cry1, Cry2 ...). Der zweite Grossbuchstabe entspricht einer Ähnlichkeit zwischen 45 und 78% (Cr1A cry1B ...), der dritte Kleinbuchstabe schliesslich einer Ähnlichkeit zwischen 78 und 95% (Cry1Aa, CryaAb...). Für einen Überblick über die Nomenklatur siehe [www.btnomenclature.info](http://www.btnomenclature.info)

Die Vielfalt der Cry-Toxine erlaubt es, eine breite Auswahl von Toxinen mit unterschiedlichen Zielen zu treffen. Bekanntestes Beispiel eines solchen Gen-«Stackings» ist der SmartStax-Mais, der sechs verschiedene Toxine (Cry1A.105, Cry3Bb1, Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry2Ab2 und Cry1Fa2) sowie Herbizid-Toleranzgene exprimiert. Die Anhäufung mehrerer Toxine soll die Dauerhaftigkeit der Resistenz der transgenen Nutzpflanze verbessern (d. h. die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Resistenzen in den Zielinsektenpopulationen verringern). Der gleichzeitige Einsatz mehrerer Toxine wird in den Risikobewertungs-Dossiers bis anhin als «Summe der einzelnen Teile» gehandhabt. Eine neue zusätzliche Bewertung für GVO, die bereits bewertete Bt-Proteine stacken, ist nicht erforderlich. Unseres Wissens wurde noch keine Untersuchung über die möglichen Synergieeffekte der Kombination von multiplen Cry-Toxinen durchgeführt oder veröffentlicht. Die Bewertung der Gesamtmenge der von Smartstax-Sorten produzierten Toxine sollte ebenfalls eingehend untersucht werden.

Andererseits spiegelt die einheitliche Nomenklatur der Cry-Toxine kaum die sehr grosse Vielfalt dieser Proteine wieder: Im Falle des SmartStax-Mais zum Beispiel weisen die Toxine Cry1A.105 und Cry3B1 lediglich 12 bzw. 19 Prozent Homologien mit dem Toxin Cry2Ab2 auf (Protein-Alignment mit EMBOSS [www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss\\_needle](http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_needle) und Sequenzen-Download von NCBI. Cry-Toxine bestehen aus drei Domänen, die je nach Toxin unterschiedlich angeordnet sind und in ihrer Toxizität variieren können (Bravo 1997; Pardo-López et al. 2009).

Trotz ihres weit verbreiteten Einsatzes und der Beschreibung der Struktur einiger Cry-Toxine mittels Kristallographie ist der zytotoxische Wirkmechanismus dieser Toxine nach wie vor umstritten (siehe kürzlich Caccia et al., 2016, PNAS). Der Wirkungsmechanismus wurde wie folgt

beschrieben: Das inaktive Protoxin wird durch den alkalischen pH-Wert im Darm der Zielinsekten aufgelöst. Das dadurch aktivierte, 55-65 kDa grosse Toxin (Familie der  $\delta$ -Endotoxine) bindet über spezifische Rezeptoren an die Darmwand und verursacht dort Läsionen, die zum Tod des Insekts durch Sepsis führen (Pardo-López et al. 2013).

Es fehlt jedoch ein Standardmodell das den Wirkmechanismus der Cry-Toxine genauer erklärt, was das Verständnis der Spezifität der einzelnen Cry-Toxine für eine bestimmte Gruppe von Zielinsekten erschwert.

Zwei Standardmodelle werden postuliert: das sequenzielle Modell, das die Interaktion des Toxins mit Peptidasen, Cadherinen und Phosphatasen beinhaltet und zur Bildung von Poren führt, und das Signalmodell, bei dem der Zelltod nicht allein durch einen osmotischen Schock verursacht wird, sondern auch das Ergebnis einer koordinierten Zellreaktion ist, die zur Öffnung von Mg<sup>2+</sup>-Kanälen führt (de Almeida Melo et al., 2014).

Das Verständnis des Wirkmechanismus ist für einen möglichst spezifischen und optimal auf die Zielinsekten abgestimmten Einsatz unabdingbar. Einer der wichtigsten Punkte bei der Risikoanalyse von Cry-Toxinen ist die mangelnde Differenzierung zwischen Protoxin- und Toxintests. Da beide Formen in der Umgebung vorkommen, sollten Toxizitäts- und Expositionstests idealerweise systematisch für das Protoxin und das Toxin durchgeführt werden (21)

*(21) StopOGM: GVP produzieren konstitutiv (während der gesamten Lebensdauer) eines oder mehrere aktivierte Toxine, die nicht mehr durch das Zielinsekt aktiviert (teilweise verdaut) werden müssen. Daraus folgt, dass 1) eine erhöhte Exposition der Agrarsysteme und Organismen gegenüber Bt-Proteinen besteht und die Exposition zeitlich, räumlich und in Abhängigkeit von dem betreffenden Organismus variiert. Dies könnte dazu führen, dass 1) andere Insekten als die Zielinsekten betroffen sein könnten, und 2) andere Organismen als Insekten (Vögel, Säugetiere) langfristig betroffen sein könnten (subchronische und chronische Toxizität). Bakterielle Protoxine werden durch UV rasch abgebaut (2–3 Tage). Dies ist bei den durch die GMP produzierten Bt-Toxinen nicht der Fall, da sie sich im Innern der Pflanze befinden. Folglich ist die Expositionsdauer der Organismen und der Agrarsysteme wesentlich länger konstant als beim Einsatz eines Bt-Präparats als Biozid.*

**Tabelle 3. Cry-Toxine, die von GVO-Linien hergestellt werden, Stand 2014 Nach Rubio-Infante et al., 2015 und <http://www.btnomenclature.info/>**

Cry-Protein	Firma	Produkt
<b>Eggplant (<i>Solanum melongena</i>)</b>		
Cry1Ac	Maharashtra Seed (MAHYCO)	Hybrid BARI Bt Begun-1, -2, -3 and -4 Company
<b>Potato (<i>Solanum tuberosum</i> L)</b>		
Cry3A	Centre Bioengineering, Russian Academy of Sciences	Lugovskoi plus, Elizaveta plus, Atlantic NewLeaf™ potato, Atlantic NewLeaf™ potato, Atlantic NewLeaf™ potato
Cry3A	Monsanto Company	New Leaf™ Russet Burbank potato, Hi-Lite NewLeaf™ Y potato, Shepody NewLeaf™ Y potato, Superior NewLeaf™ potato
<b>Rice (<i>Oryza sativa</i> L)</b>		
CryAc, Cry1Ab	Huazhong Agricultural University (China)	BT Shanyou 63
CryAc, Cry1Ab	Huazhong Agricultural University (China)	Huahui-1
<b>Soybean (<i>Glycine max</i> L)</b>		
Cry1Ac	Monsanto Company	Intacta™ Roundup Ready™ 2 Pro
<b>Tomato (<i>L. esculentum</i>)</b>		
Cry1Ac	Monsanto Company	---
<b>Maize (<i>Zea mays</i> L)</b>		
eCry3.1Ab	Syngenta	Agrisure® Duracade™

---

eCry3.1Ab,mCry3A, Cry1Ab, Cry1Fa2	Syngenta	Agrisure® Duracade™ 5122  Agrisure® Duracade™ 5222  Agrisure™ GT/CB/LL
Cry1Ab	Syngenta	Bt10, Agrisure™ CB/LL, Agrisure® Viptera™ 3110, NaturGard Knock- Out™, Maximizer™
Cry34Ab1,Cry35Ab1, mCry3A, Cry1Ab, Cry1Fa2	Syngenta	Agrisure® 3122
Cry1Ab (truncated)	Syngenta	Agrisure® Viptera™ 2100
mCry3A, Cry1Ab,	Syngenta	Agrisure® Viptera™ 3111, Agrisure® Viptera™ 4, Agrisure® Viptera™ 3100, Agrisure™ CB/LL/RW, Agrisure™ 3000GT, Agrisure™ RW, Agrisure™ GT/RW
Cry1Ab, Cry1Fa2	Syngenta	Agrisure™ Viptera 3220
Cry9C	Bayer CropScience	Starlink™ Maize*
Cry34Ab1 Cry35Ab1	Dow AgroSciences LLC and DuPont	Herculex™ RW
Cry34Ab1, Cry35Ab1,	DuPont (Pioneer Hi-Bred International Inc.)	Herculex™ RW Roundup Ready™ 2
Cry34Ab1,Cry1Ab, mCry3A	DuPont	Optimum™ Intrasect Xtreme
Cry1Fa2,Cry34Ab1, Cry35Ab1	Dow AgroSciences LLC and DuPont	Herculex XTRA™ RR
Cry1Fa2, mCry3A		Optimum™ TRIsect
Cry1Fa2	Dow AgroSciences LLC and DuPont	Herculex™ I RR

---

Cry1Ab	Monsanto Company	Roundup Ready™ YieldGard™ maize, YieldGard™, MaizeGard™, YieldGard™ VT Triple, YieldGard™ CB + RR, Liberty Link™ Yieldgard™ Maize
Cry1Ac	Monsanto Company	Bt Xtra™ Maize
Cry1Ab	Renessen LLC (Netherlands) and Monsanto Company	Mavera™ YieldGard™** Maize
Cry3Bb1	Monsanto Company	YieldGard™ RootwormRW, MaxGard™
Cry3Bb1, Cry1Ab	Monsanto Company	YieldGard™ Plus YieldGard™ Plus with RR
Cry3Bb1	Monsanto Company	YieldGard™ VT™ Rootworm™ RR2, YieldGard™ RW + RR
Cry2Ab2, Cry1A.105	Monsanto Company	YieldGard™ VT Pro™
Cry1A.105, Cry2Ab2, Cry3Bb1	Monsanto Company	Genuity® VT Triple Pro™
Cry1A.105, Cry2Ab2,	Monsanto Company	Genuity® VT Double Pro™
Cry1A.105, Cry3Bb1, Cry34Ab1, Cry35Ab1, Cry2Ab2, Cry1Fa2	Monsanto Company	Genuity® SmartStax™
Cry2Ab2, Cry1Fa2, cry1A.105,	Monsanto Company	Power Core™
Cry1Fa2,	Monsanto Company	Herculex™ I, Herculex™ CB

\* vom Markt genommen.

\*\* einziges GVO, das zum Anbau in der Europäischen Union zugelassen ist (2016).

## 4.2 **Nachweismethoden**

In den Dossiers zur Risikobewertung der gentechnisch veränderten Pflanzenlinien wird die Menge des Proteins gemessen am Gewicht des pflanzlichen Materials bestimmt, um die Expressionsrate des transgenen Proteins mit einer Expositionsrate der Organismen und der Umwelt in Beziehung setzen zu können. Die OECD-Leitlinien – obschon recht detailliert, was die Bewertung der Toxizität betrifft –, sind diesbezüglich nach wie vor sehr vage und unseres Wissens wurde bisher keine standardisierte Methode zur Quantifizierung von Cry-Proteinen veröffentlicht. Die Verwendung von Immunoassays des Typs ELISA scheint je nach Labor stark zu variieren (Szekacs et al., 2012). Heute gibt es sehr präzise und kostengünstige quantitative Methoden (Chromatographie in Verbindung mit Massenspektrometrie, UPLC-MS /MS), die systematisch eingesetzt werden sollten, wie dies in anderen Bereichen der Toxikologie (z. B. bei der Doping-Bekämpfung) der Fall ist (22).

Zudem sollten die Variabilität der Transgenexpression je nach Pflanzenlinien, aber auch je nach Anbaubedingungen und genetischem Hintergrund der transformierten Sorte berücksichtigt werden, damit die Regulierungsbehörde ein möglichst vollständiges Bild erhält (Trtikova et al., 2015).

*(22) StopOGM: In Ermangelung klarer und publizierter Protokolle ist festzuhalten, dass die in den Dossiers beschriebenen Konzentrationen allein der Information dienen, und dass es unmöglich ist, genau zu wissen, welchen Konzentrationen die Ökosysteme, aber auch Tiere und Menschen tatsächlich ausgesetzt sind. Fazit: Unter diesen Voraussetzungen ist eine Berechnung der Exposition unmöglich und eine Risikobewertung (Toxizität x Exposition) kann folglich nicht durchgeführt werden.*

*In den Zulassungsunterlagen werden diese Mängel nie erwähnt. Man müsste den Zustand des «Nicht-Wissens» ehrlich eingestehen und die Bürger und Konsumenten informieren.*

## 4.3 **Toxizität von Bt-Toxinen für Säugetiere**

Die wissenschaftlichen Veröffentlichungen zur Toxizität von Cry-Toxinen befassen sich mit verschiedenen Themen, die es zu unterscheiden gilt: Toxizität von Bakterien, Sporen, Protoxinen, Toxinen und Pflanzenresten, welche diese Toxine enthalten. Jedes dieser Elemente sollte entsprechend dem Verwendungszweck und der Expositionsrate geprüft werden. Für eine umfassende und aktuelle Übersicht siehe Rubio-Infante et al., 2015. Ungeachtet der potenziellen Toxizität gewisser Cry-Toxine besteht ein bedauerlicher Mangel an Daten über die Persistenz bzw. die Stabilität von Cry-Toxin-Rückständen in der Nahrungskette und/oder während des Lebensmittelverarbeitungsprozesses (23). Mit anderen Worten: Während die geringe

Toxizität bzw. Allergenität bestimmter Proteine der Cry-Familie wissenschaftlich abgehandelt werden, sind die Expositionsniveaus von Tieren und Menschen nur schlecht dokumentiert.

*(23) StopOGM: Bt-Proteine wurden im Blut von schwangeren Frauen in Kanada gefunden, was darauf hindeutet, dass das Bt-Protein die Plazentaschranke passieren kann (Aris & Leblanc, 2011). Eine langfristige Exposition könnte Erkrankungen nach sich ziehen. Daher ist es wichtig, dass die chronische Toxizität dieser Toxine bewertet wird.*

#### 4.3.1 Akute, chronische und subchronische Toxizität

Die niedrige relative Toxizität der Proteine für die Säugetiere ist allgemein akzeptiert und basiert auf drei Kriterien: Keine akute Toxizität bei Tieren, Verdaulichkeit der Toxine und fehlende Ansammlung im Fettgewebe (Rubio-Infante und Moreno-Fierros, 2015). Die Methode der US-Umweltschutzbehörde (Environmental Protection Agency, EPA) zur Bestimmung des Toxizitätsniveaus beruht auf einem stufenweisen Vorgehen. Der erste Schritt besteht darin, Daten zu folgenden Punkten zu sammeln: 1) «History of Safe Use», 2) bioinformatische Analysen (Abschnitt 3.4.2), 3) Wirkungsweise, 4) Verdaulichkeit (Abschnitt 3.4.3), 5) Stabilität, 6) Exposition. Jeder dieser Punkte wird kritisch beleuchtet und ihre Interpretation erweist sich zum Teil als problematisch (24). Aufgrund der Ergebnisse dieser ersten Analysestufe entscheiden die zuständigen Behörden, ob eine zweite Versuchsreihe eingeleitet werden soll: akute toxikologische Tests (z. B. 1–5 g Toxin pro kg während 14 Tagen) und chronische Toxikologie.

*(24) StopOGM: Die Tests werden mit bakteriellem, mittels Trypsin aktiviertem Protoxin durchgeführt. Das ist nicht das aktive Toxin, das von der transgenen Pflanze produziert wird. Bewertet wird also nicht das in Verkehr gebrachte Produkt. Unseres Wissens haben die Behörden noch nie einen Test zur chronischen Toxizität von Bt-Proteinen durchgeführt oder angeordnet.*

Die Tests auf akute Toxizität der Cry-Toxine für Säugetiere erlaubten es, eine letale Dosis zu bestimmen (Hernandez et al. 1998), allerdings bei Dosen, die weit höher sind als in der Umwelt erwartet. Mehrere Berichte weisen jedoch auf mögliche Wirkungen sowohl von Toxinen, die direkt als Insektizid eingesetzt werden, als auch von Produkten transgener Pflanzen hin (siehe Rubio-Infante & Moreno-Fierros, 2015 und Tabelle 4). Ein Faktor, der die Interpretation dieser Daten erschwert, ist der Einsatz kommerzieller Präparate, bei denen sich die Toxizitätspotenziale der Wirkstoffe (hier Cry-Toxin) und der Tenside addieren/vermischen.

*B. thuringiensis*-Bakterien gelten generell als unbedenklich und abgesehen von vereinzelten Berichten über Infektionen bei immunsupprimierten Patienten sind bei dieser Art allgemein keine Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit zu erwarten (Rubio-Infante & Moreno-Fierros 2015).

**Tabelle 4. Liste der verschiedenen Wirkungen des Bakteriums *Bacillus thuringiensis* bei Säugetieren. Auszug aus Rubio-Infante und Moreno-Fierros, 2015**

Product/ Bt species	Mode of exposure	Effects	Reference
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	Populations were exposed to Bt spray.	Hundreds of people complained of allergic reactions. Exposed farm workers also exhibited increased antibody levels.	(Green <i>et al.</i> , 1990)
Contaminated water/ Undetermined	Opportunistic infection	Infection in burns of immunosuppressed patients.	(Helgason <i>et al.</i> , 2000)
<i>B. thuringiensis</i> serovar <i>konkukian</i>	Opportunistic infection	Leg abscesses of French immunosuppressed soldiers wounded by a land mine blast	(Hernandez <i>et al.</i> , 1998)
XenTari®/ <i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i>	Orally	Kidney, liver, and lung lesions and reduced fertility were observed in rats.	(Lemos <i>et al.</i> , 2013)
<i>B. thuringiensis</i> <i>kurstaki</i> and <i>B. thuringiensis</i> <i>israelensis</i>	Seven human cell lines were exposed	Bti/Btk products generated nonspecific cytotoxicities involving loss of bioreduction, and rounding, blebbing and detachment of cells.	(Tayabali and Seligy, 2000)
Roundup Ready corn	Rats were fed for 13 week with 11% or 33% corn	Slight increases in weight were observed.	(Hammond <i>et al.</i> , 2004)
Bt corn	Rats fed with Bt corn	Changes in creatinine, total protein and globulin levels were reported.	(Kilic and Akay, 2008)
Bt corn MON 810, MON 863 (modified Cry1Ab in MON 810, modified Cry3Bb1 in MON 863)	Rats fed with corn	The toxic effects were primarily associated with the kidney and liver as well as in the heart, adrenal glands, spleen and haematopoietic system.	(de Vendomois <i>et al.</i> , 2009)
Cry1Ab (< 10 ng/ml)	Rumen cells of cows	The authors noted that Cry1Ab caused a four-fold increase in the conductance of potassium.	(Stumpff <i>et al.</i> , 2007)
Cry1Ab and Cry1Ac Bt toxins (10 ppb to 100 ppm)	Human embryonic kidney cell line 293 was exposed	Cry1Ab caused cell death from 100 ppm (0.1 mg/mL) compared to Cry1Ac, which has not effect on this cell line.	(Mesnage <i>et al.</i> , 2013b)
Cry1Ab toxin	Bovine hepatocytes were exposed.	The authors concluded that Cry1Ab has slight acute toxicity.	(Shimada <i>et al.</i> , 2006)

In Studien an Säugetieren zur akuten Toxizität von transgenen Pflanzen, die Cry-Toxine exprimieren, zeigten zumindest für die Proteine Cry1, Cry2 und Cry 3 keine Wirkungen bei den getesteten Tieren, (Sjoblad *et al.*, 1992), auch wenn die Frage der Verdaulichkeit der Proteine und der praktischen Relevanz der verwendeten Tests völlig offen bleibt (siehe Abschnitt 3.4.3; Guimaraes *et al.* 2010). Ebenfalls offen bleiben Fragen zur Expositionsbeurteilung (Menge des effektiv in den verzehrten Produkten vorhandenen Proteins). In Ausscheidungen der Rinderhaltungsbetrieben ist das Cry1Ab-Toxin relativ persistent vorzufinden (Halbwertszeit: 25 Wochen). Damit stellt sich auch die Frage der Umweltexposition gegenüber Cry-Toxinen und ihrer Auswirkungen ganz allgemein (Gruber *et al.* 2011). In der Literatur finden sich keine Daten zu Modifikationen (Glykosylierungen o. Ä.) der Cry-Toxine in der Pflanze (*in planta*).



#### 4.4 Allergenität der Bt-Toxine

(siehe Abschnitt 3)

Auch zur Allergenität der getesteten Cry/Bt-Proteine liegen widersprüchliche Daten vor. Beim Menschen wurde keine allergische Reaktion eindeutig nachgewiesen (siehe Übersicht im Rahmen des NFP59 von Hoffmann-Sommergruber, 2012). Keine Reaktion auf das Cry1Ab-Toxin oder die IgE-Produktion wurde im Serum von Patienten mit Mais-Allergie beobachtet (Batista et al. 2005). Eine Reihe von Berichten zeigt keine Wirkung des Cry1Ab-Toxins auf Mäuse (Reiner et al. 2014) oder Ratten (Kroghsbo et al. 2008), während andere eine gewisse Immundysfunktion zeigen, etwa bei Lachsen (Sagstad et al. 2007). Beim gegenwärtigen Kenntnisstand ist es relativ schwierig, Schlüsse bezüglich des allergenen Potenzials von Cry-Toxinen zu ziehen, da die Extrapolation von Daten aus vielen Modellen auf den Menschen und die Vielzahl der Cry-Varianten in den heutigen gentechnisch veränderten Pflanzenarten diese Aufgabe zunehmend erschweren. Zu beachten ist ferner, dass die Menge an synthetisiertem Cry-Toxin von dem betreffenden Event und dessen Anbaumodus abhängig ist (Trtikova et al., 2015).

Die Überwachung nach dem Inverkehrbringen eines Produkts (Post Market Monitoring) wäre ein weiteres Mittel zur Erkennung eines Problems. Grundsätzlich unterscheiden sich diese Bestimmungen nicht von denjenigen für jedes andere neue Nahrungsmittel, das in die Nahrungskette integriert wird: ein Einzelfallansatz ist erforderlich (25).

*(25) StopOGM: Eine Liste von Publikationen, die über Anzeichen einer mittelfristigen Toxizität von Bt-Proteinen berichten, ist im Stop OGM-Bericht verfügbar. Eine Zusammenfassung findet sich bei Rubio-Infante & Moreno-Fierros, 2015.*

Alles in allem sind im Zusammenhang mit der Problematik der Cry-Toxine zwei Punkte zu berücksichtigen, um die Risikoanalyse (ohne Umweltrisiken) zu verbessern:

- Eine Fall-zu-Fall-Analyse jeder Form (Protoxine, Toxine, vermarktete Produkte oder Bakterien) und Variante (hohe Diversität) dieser Toxine ist notwendig. Ihre kombinierte Wirkung untereinander und mit Herbizidrückständen sollte ebenfalls genauer untersucht werden. Die geringe oder fehlende akute Toxizität von für Säugtiere getesteten Kryotoxinen scheint etabliert zu sein, ihre möglichen allergenen Eigenschaften können jedoch problematisch sein.
- Die verfügbaren Daten über die Exposition von Tieren oder Menschen gegenüber diesen Toxinen sind immer noch spärlich und unzuverlässig.

(25) *StopOGM: Im Zusammenhang mit dem Einfluss der Bt-Toxine auf die Agrosysteme bleiben wichtige Punkte zu klären (Hilbeck und Otto, 2015):*

- *Die subchronische und chronische Nichttoxizität der Bt-Toxine ist noch zu belegen.*
- *Die Toxizität kann auch durch verschiedene biotische und abiotische Faktoren beeinflusst werden. Dies spricht dafür, dass diese Pflanzen unter realen Bedingungen getestet werden müssen. Eine einfache Analyse und Untersuchung des gereinigten bakteriellen Protoxins genügt nicht.*
- *Wenige Toxine wurden bei mehr als einer oder zwei Ordnungen von Insekten (Käfer, Motten usw.) getestet. Etwa 40 Prozent der getesteten Proteine zeigen eine Kreuzreaktivität. Die Spezifität des Produkts ist nachzuweisen, um unerwünschte Auswirkungen auf die Umwelt möglichst gering zu halten.*
- *Die Forschung konzentriert sich auf pflanzenfressende Schädlinge; es mangelt an Daten über die Präsenz bzw. das Fehlen von Toxinrezeptoren im Darm von anderen Insekten.*
- *Das Konzept des «Quick Kills» (Einnahme, die zum Tod führt) basiert auf einem ökonomisch motivierten Effizienzkonzept. In einem Kontext der Umweltrisikobewertung ist dieses Konzept unzureichend und steht im Widerspruch zum Vorsorgeprinzip.*
- *Das Konzept des «Slow Kills» ist angemessener und umfasst die subletalen Auswirkungen (Gewicht, Entwicklungszeit, Verhaltensänderung usw.), die noch schwerwiegendere ökologische Auswirkungen auf die aquatischen und terrestrischen Ökosysteme haben können als der Quick Kill.*

## **5 Empfehlungen und Schlussfolgerungen**

### **5.1 Unabhängigkeit, Transparenz und Datenzugang**

Der Hauptkritikpunkt, der bezüglich der gesamten Literatur zur Risikoanalyse formuliert werden kann, liegt darin, dass diese Analysen in einem wenig präzisen und wechselnden rechtlichen Kontext durchgeführt wurden. Es obliegt den Gesuchstellern, die Daten zur Toxizität vorzulegen, da die Bürgerinnen und Bürger nicht dafür zur Kasse gebeten werden können, um abzuklären, ob das Erzeugnis einer Privatfirma in Verkehr gebracht werden darf oder nicht. Vor diesem Hintergrund stellt sich angesichts der Komplexität der beschriebenen Tests und Verfahren die Frage: 1) ob in den gesuchstellenden Unternehmen das gesamte erforderliche Know-how vorhanden ist, um diese Tests nach modernsten Standards durchzuführen; 2) ob

es im Interesse der Unternehmen liegt, aktiv zur Transparenz der Risikoanalyseverfahren beizutragen und den für einen solchen Prozess erforderlichen ethischen Standards zu entsprechen, da sie sich in einem Interessenkonflikt befinden (für weitere Beispiele vgl. EEA-Bericht, 2013); 3), ob die regulatorischen Schranken für die Zulassung von GVO nicht als ein indirekter (monopolistischer) Marktregulierungsfaktor wirken, indem kleinere Strukturen faktisch eliminiert werden (26 und 27).

*(26) StopOGM: Es wird ein Modell vorgeschlagen, bei dem die Analysen von öffentlichen Laboratorien durchgeführt und die Gesuchsteller die Kosten dafür tragen würden. Aber das alles ist nutzlos, wenn nicht damit begonnen wird, Transparenz bezüglich der einzelnen Analysen (Blut, Histologie...) zu fordern, die im Rahmen der bereits abgeschlossenen regulatorischen Tests durchgeführt wurden. Dazu kommt, dass nicht nur die Risikobewertung teuer ist. Der gesamte Prozess ist kostspielig und de facto gibt es kaum kleine Strukturen, die das Wagnis auf sich nehmen... Nach Angaben der Branche kostet eine GV-Sorte 130–150 Millionen Dollar, die Risikobewertung kostet ca. 10–15 Millionen Dollar (NAS-Report, 2016).*

*(27) StopOGM: Weitere offene Fragen: Sollten Daten zur Gesundheitsverträglichkeitsbewertung, die keine sensiblen Informationen über die Merkmale eines Produkts enthalten, den Schutz der Vertraulichkeit genießen? 5) Sollten Daten, welche die Gesundheit von Hunderten von Millionen Konsumentinnen und Konsumenten betreffen, vertraulich behandelt und der unabhängigen Forschung vorenthalten werden? 6) Sollte das Basismaterial (genetisch verändertes Saatgut), das als Ausgangsmaterial für unabhängige Studien dient, nicht zugänglich gemacht werden?*

Das Problem der Transparenz der Dossiers und der Datenzugriff sind Schlüsselfaktoren, um das Vertrauensproblem gegenüber der Biotechnologie oder genauer gesagt gegenüber GVO zu lösen. Klare und transparente Antworten auf die verschiedenen Fragestellungen in diesem Zusammenhang zu erhalten, bleibt ein Hauptziel der zuständigen Behörden. Der Fall des Bisphenol A (BPA) in Kunststoffen ist ein konkretes Beispiel dafür, wie die mangelnde Transparenz in den Risikobewertungsprozessen zu einer Verzögerung des Verbots dieser Substanz geführt hat, die heute einstimmig als hormonaktiver Stoff gilt (EEA report 2013, vom Saal and Hughes 2005). Das Modell einer gemeinschaftlich organisierten, von den Gesuchstellern finanzierten öffentlichen Forschung, die unter Einbeziehung aller relevanten Akteure während des gesamten Prozesses durchgeführt wird, könnte zu einer Verbesserung der Standards in diesem Forschungsfeld beitragen und eventuelle neue Gesundheitsskandale verhindern. Die von den GVO-Herstellern getroffenen Versicherungs- und Haftpflichtvorkehrungen deuten allerdings nicht auf eine Änderung in dieser Richtung hin (Goldberg, 2015).

Tierversuche weisen *a priori* keinen Zusammenhang mit den intrinsischen (und geschützten) Eigenschaften von gentechnisch veränderten Pflanzen auf. Es wäre deshalb denkbar, dass diese Daten veröffentlicht und damit unabhängige Kontrollen ermöglicht werden (28).

*(28) StopOGM: Die Frage der Finanzierung stellt sich trotzdem: Es ist sinnlos, die Analysen zu kopieren; die Unabhängigkeit der Tests muss von Anfang an gewährleistet sein, indem die Hersteller Mittel (in der gleichen Höhe wie bisher) zur Verfügung stellen und die Tests in unabhängigen Labors durchgeführt werden. Die Hersteller dürfen keine Verfügungsgewalt über die Ergebnisse (Manipulation oder Veröffentlichung) haben.*

## **5.2 Technologische und statistische Grenzen**

Unsere Studie der vergleichenden Analyse (bzw. der substanziellen Äquivalenz) hat erhebliche Mängel bei den heutigen wissenschaftlichen Standards aufgezeigt. Eine gründliche Überprüfung der Protokolle ist notwendig, eine Standardisierung zwecks Reproduzierbarkeit der Ergebnisse unerlässlich. Abgesehen von dieser Analyse, die durch Daten aus Hochdurchsatzexperimenten ergänzt werden könnte, sollten die Bemühungen vor allem auf die Interpretation der Ergebnisse fokussieren. Obschon die Analysen, so wie sie bisher durchgeführt wurden – und wenn sie richtig durchgeführt werden – bedeutende Veränderungen in den GVO nachweisen können, sind sie in keinem Fall als vollständig zu betrachten und die generierten Daten sind nicht unbedingt repräsentativ für die intrinsische Sicherheit des getesteten Events («as safe as»). Man stösst hier an eine der Grenzen zwischen Grundlagenforschung und regulatorischer Forschung: Es ausserordentlich schwierig ist, Risiken vorherzusagen, die man nicht kennt, und die Abstraktionsfähigkeit der Wissenschaft hat ihre eigenen Grenzen.

## **5.3 Ausblick zur Risikobewertung**

Zusammengefasst besteht eines der grössten Probleme für die Behörden (hier die schweizerischen Behörden) darin, zu klären, inwieweit eine bestimmte GVO-Linie sicher ist, während andere dies nicht sind. In den nahezu 30 Jahren, seit GVO hergestellt werden, hat es sich als sehr schwierig erwiesen, eine umfassende Risikobewertung gemäss den hier vorgestellten Standards durchzuführen. Hinzu kommt, dass mehrere hundert Events zugelassen wurden (von denen einige Dutzend im Jahr 2010 rund zehn Prozent der weltweiten landwirtschaftlichen Nutzfläche ausmachen). Es gilt daher, die vorhandenen Daten zu berücksichtigen und einen glaubwürdigen und transparenten regulatorischen Rahmen zu schaffen. Dazu müssen zunächst die Leitlinien für die Forschung in diesem Bereich verbessert und die Qualität der Standards angehoben werden. Das Problem der Obsoleszenz bzw. der objektiven Unzulänglichkeit einer bestimmten Anzahl von Studien muss gelöst werden, entweder durch neue Analysen oder durch den Rückzug der Studien.

Selbst wenn alle Risikostudien methodisch korrekt wären, bleibt es schwierig, definitive Schlüsse über die gesundheitliche Unbedenklichkeit von GVO bzw. über allfällige Folgen für die öffentliche Gesundheit zu ziehen. Auch hier geht es um Transparenz und die zuständigen Behörden müssen klar aufzeigen, an welchem Punkt die Wissenschaft an ihre Grenzen stösst, und die Schlussfolgerungen, die aufgrund dieser Studien zulässig sind, klar und präzise formulieren. Die Interpretation der Daten der Risikoanalyse erlaubt es im besten Fall, eine Bestandsaufnahme des aktuellen Wissensstandes und der Grenzen des Wissens vorzunehmen, was wiederum Evidenz für den politischen Entscheidungsfindungsprozess schafft. Der Risikobewertungsprozess ist ein Werkzeug zur Entscheidungsfindung und kein Entscheidungsinstrument.

*(29) StopOGM: Aus unserer Sicht müssten die Bewilligungen im Lichte der Schlussfolgerungen dieses Berichts revidiert werden. Bei den für den menschlichen Verzehr bewilligten GVO müssen die Bewilligungsunterlagen zumindest um einen klaren Hinweis bezüglich der Grenzen der Beurteilung ergänzt werden. Dies ist derzeit nicht der Fall. Die Versuchsdesigns und die Analysen sind nicht geeignet, die erforderlichen Daten zu liefern, um die in den Bewilligungsunterlagen erklärte Sicherheit zu ermitteln. Die bewilligten GVO werden von den Schweizer Behörden als sicher erachtet, wobei diese ihre Sicherheitserklärung auf der wissenschaftlichen Analyse abstützt. Doch diese lässt einen solchen Schluss nicht zu.*

*Die Bewilligungen für GVO, die für den menschlichen Verzehr bestimmt sind, sollten revidiert und diese GVO verboten werden, bis die Gesuchsteller Studien mit höherem wissenschaftlichen Standard vorlegen, die die mittel- und langfristige Sicherheit ihres Produkts belegen.*

## 6      **Literaturhinweise**

- Ad hoc technical group on risk assessment and risk management under the Cartagena protocol on biosafety. (2010) Final report. COP of the Convention of biological diversity.
- ANSES (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du travail) (2011). Recommandations pour la mise en œuvre de l'analyse statistique des données issues des études de toxicité sub-chroniques de 90 jours chez le rat dans le cadre des demandes d'autorisation de mise sur le marché d'OGM. Rapport d'expertise collective.
- Aris A, Leblanc S (2011). Maternal and fetal exposure to pesticides associated to genetically modified foods in Eastern Townships of Quebec, Canada. *Reproductive Toxicology*, 31(4):528-533 and subsequent comments to the editors
- Baker JM, Hawkins ND, Ward JL, et al (2006) A metabolomic study of substantial equivalence of field-grown genetically modified wheat. *Plant Biotechnol J* 4:381–392. doi: 10.1111/j.1467-7652.2006.00197.x
- Baktavachalam GB, Delaney B, Fisher TL, et al (2015) Transgenic maize event TC1507: Global status of food, feed, and environmental safety. *GM Crops Food* 6:80–102. doi: 10.1080/21645698.2015.1054093
- Batista R, Nunes B, Carmo M, et al (2005) Lack of detectable allergenicity of transgenic maize and soya samples. *J Allergy Clin Immunol* 116:403–10. doi: 10.1016/j.jaci.2005.04.014
- Batista R, Saibo N, Lourenço T, Oliveira MM (2008) Microarray analyses reveal that plant mutagenesis may induce more transcriptomic changes than transgene insertion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:3640–5. doi: 10.1073/pnas.0707881105
- Bernard H, Guillon B, Drumare M-F, et al (2015) Allergenicity of peanut component Ara h 2: Contribution of conformational versus linear hydroxyproline-containing epitopes. *J Allergy Clin Immunol* 135:1267–1274.e8. doi: 10.1016/j.jaci.2014.10.025
- Bernstein JA, Bernstein IL, Bucchini L, et al (2002) Clinical and Laboratory Investigation of Allergy to Genetically Modified Foods. *Environ Health Perspect* 111:1114–1121. doi: 10.1289/ehp.5811
- Bøhn T, Cuhra M, Traavik T, et al (2014) Compositional differences in soybeans on the market: Glyphosate accumulates in Roundup Ready GM soybeans. *Food Chem* 153:207–215. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.054
- Brake DG, Evenson DP (2004) A generational study of glyphosate-tolerant soybeans on mouse fetal, postnatal, pubertal and adult testicular development. *Food Chem Toxicol*

42:29–36.

- Brake DG, Thaler R, Evenson DP (2004) Evaluation of Bt (*Bacillus thuringiensis*) corn on mouse testicular development by dual parameter flow cytometry. *J Agric Food Chem* 52:2097–102. doi: 10.1021/jf0347362
- Bravo A (1997) Phylogenetic relationships of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin family proteins and their functional domains. *J Bacteriol* 179:2793–801.
- Bravo A, Likitvivatanavong S, Gill SS, Soberón M (2011) *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochem Mol Biol* 41:423–31. doi: 10.1016/j.ibmb.2011.02.006
- Carman JA, Vlieger HR, Ver Steeg L, et al. (2013). A long-term toxicology study on pigs fed with a combined GM soy and GM maize diet. *Journal of Organic Systems*. 8:1
- Chang Y, Zhao C, Zhu Z, et al (2012) Metabolic profiling based on LC/MS to evaluate unintended effects of transgenic rice with cry1Ac and sck genes. *Plant Mol Biol* 78:477–487. doi: 10.1007/s11103-012-9876-3
- Chen Z-L, Gu H, Li Y, et al (2003) Safety assessment for genetically modified sweet pepper and tomato. *Toxicology* 188:297–307. doi: 10.1016/S0300-483X(03)00111-2
- COGEM. Schouten et al., (2015) GM plants compared to the baseline: a whole genome sequencing approach.
- Coll A, Nadal A, Collado R, et al (2010) Natural variation explains most transcriptomic changes among maize plants of MON810 and comparable non-GM varieties subjected to two N-fertilization farming practices. *Plant Mol Biol* 73:349–362. doi: 10.1007/s11103-010-9624-5
- Corpillo D, Gardini G, Vaira AM, et al (2004) Proteomics as a tool to improve investigation of substantial equivalence in genetically modified organisms: the case of a virus-resistant tomato. *Proteomics* 4:193–200. doi: 10.1002/pmic.200300540
- Defarge N, Takács E, Lozano V, et al (2016) Co-Formulants in Glyphosate-Based Herbicides Disrupt Aromatase Activity in Human Cells below Toxic Levels. *Int J Environ Res Public Health* 13:264. doi: 10.3390/ijerph13030264
- Doerr A. (2017) Global metabolomics. *Nature Methods*. 14(1):37
- Dodo HW, Konan KN, Chen FC, et al (2008) Alleviating peanut allergy using genetic engineering: the silencing of the immunodominant allergen Ara h 2 leads to its significant reduction and a decrease in peanut allergenicity. *Plant Biotechnol J* 6:135–45. doi:

10.1111/j.1467-7652.2007.00292.x

EEA (European Environment Agency) report 2013/1. Late lessons from early warnings: science, precaution, innovation.

EFSA (2003). Opinion of the Scientific Panel... GM maize NK603, for which a request for placing on the market was submitted under the Novel food Regulation EC258/97 by Monsanto. 9:1-14

EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on GMO on a request from the Commission to the notification for the placing on the market of insect-tolerant GM maize TC1507 for import, feed and industrial processing and cultivation under Part C of Directive 2001/18/EC from Pioneer Hi-Bred/Mycogens seeds. 181:1-33

EFSA (2008). Safety and nutritional assessment of GM plants and derived food and feed: The role of animal feeding trials. *Food and Chemical Toxicology* 46 S2-S70

EFSA (2011). EFSA guidance on conducting repeated-dose 90-day oral toxicity study in rodents on whole food/feed. *EFSA J.* 2011. 9(12):2438

EFSA (2012). Overall opinion of the EFSA in accordance with Article 6 of EC1829/2003 on application ... produced from or containing ingredients produced from maize MON810, according to Article 31c of regulation EC1829/2003 from Monsanto. Report EFSA EN-370

EKAH (2003). Bedeutung der Substanziellen Äquivalenz für die Beurteilung von gentechnisch veränderten Lebens- und Futtermitteln.

Ei Sanhoty R, El-Rahman AAA, Bögl KW (2004) Quality and safety evaluation of genetically modified potatoes spunta with Cry V gene: compositional analysis, determination of some toxins, antinutrients compounds and feeding study in rats. *Nahrung* 48:13–8. doi: 10.1002/food.200300310

Ewen SW, Pusztai A (1999) Effect of diets containing genetically modified potatoes expressing *Galanthus nivalis* lectin on rat small intestine. *Lancet* 354:1353–1354. doi: 10.1016/S0140-6736(98)05860-7

Fagan J, Traavik T, Bøhn T (2015) The Seralini affair: degeneration of Science to Re-Science? *Environ Sci Eur* 27:19. doi: 10.1186/s12302-015-0049-2

FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations). Mutant Variety Database. <http://mvd.iaea.org>



- Fares NH, El-Sayed AK (1998) Fine structural changes in the ileum of mice fed on delta-endotoxin-treated potatoes and transgenic potatoes. *Nat Toxins* 6:219–33.
- Faust M, Smith B, Rice D, et al (2007) Performance of lactating dairy cows fed silage and grain from a maize hybrid with the cry1F trait versus its nonbiotech counterpart. *J Dairy Sci* 90:5706–13. doi: 10.3168/jds.2007-0480
- Fernandez-Cornejo J, Wechsler S, Livingston M, Mitchell L (2014) Genetically engineered crops in the United States.
- García-Cañas V, Simó C, Herrero M, et al (2012) Present and future challenges in food analysis: foodomics. *Anal Chem* 84:10150–9. doi: 10.1021/ac301680q
- Gil-Humanes J, Piston F, Gimenez MJ et al (2012) The introgression of RNAi silencing of gamma-gliadins into commercial lines of bread wheat changes the mixing and technological properties of the dough. *Plos One* 7:e45937
- Gilissen LJWJ, Bolhaar STHP, Matos CI, et al (2005) Silencing the major apple allergen Mal d 1 by using the RNA interference approach. *J Allergy Clin Immunol* 115:364–9. doi: 10.1016/j.jaci.2004.10.014
- Goldberg P (2015) Cartagena protocol on Biosafety's supplementary agreement on liability and coexistence. GMCC-15 Conference presentation. Amsterdam
- Gong CY, Wang T (2013) Proteomic evaluation of genetically modified crops: current status and challenges. *Front Plant Sci*. doi: 10.3389/fpls.2013.00041
- Gordon B (2007) Manganese nutrition of glyphosate-resistant and conventional soybeans. *Better Crops*, 91 :4 12-13
- Gruber H, Paul V, Guertler P, et al (2011) Fate of Cry1Ab protein in agricultural systems under slurry management of cows fed genetically modified maize (*Zea mays* L.) MON810: a quantitative assessment. *J Agric Food Chem* 59:7135–44. doi: 10.1021/jf200854n
- Guimaraes V, Drumare M-F, Lereclus D, et al (2010) In vitro digestion of Cry1Ab proteins and analysis of the impact on their immunoreactivity. *J Agric Food Chem* 58:3222–31. doi: 10.1021/jf903189j
- Hammond B, Dudek R, Lemen J, Nemeth M (2004) Results of a 13 week safety assurance study with rats fed grain from glyphosate tolerant corn. *Food Chem Toxicol* 42:1003–1014. doi: 10.1016/j.fct.2004.02.013
- Hauser A. (2014) Statistische Analyse von Hersteller-daten zum transgenen Mais TC1507. Auftrag des BLW. Berner Fachhochschule

- HCB, Comité scientifique du Haut Conseil des Biotechnologies Analyse statistique de Seralini et al., 2012.
- Heinemann JA, Kurenbach B, Quist D (2011) Molecular profiling - a toll for addressing emerging gaps in the comparative risk assessment of GMOs. *Environment International* 37:1285-1293
- Herman EM, Helm RM, Jung R, Kinney AJ (2003) Genetic modification removes an immunodominant allergen from soybean. *Plant Physiol* 132:36–43. doi: 10.1104/pp.103.021865
- Hernandez E, Ramisse F, Ducoureau JP, et al (1998) *Bacillus thuringiensis* subsp. *konkukian* (serotype H34) superinfection: case report and experimental evidence of pathogenicity in immunosuppressed mice. *J Clin Microbiol* 36:2138–9.
- Hilbeck A, Otto M (2015) Specificity and Combinatorial Effects of *Bacillus Thuringiensis* Cry Toxins in the Context of GMO Environmental Risk Assessment. *Front. Environ. Sci.* 3:71
- Hoekenga OA, Srinivasan J, Barry G, Bartholomaeus A (2013) Compositional analysis of genetically modified (GM) crops: key issues and future needs. *J Agric Food Chem* 61:8248–53. doi: 10.1021/jf401141r
- Hoffmann-Sommergruber K, Dorsch-Häsler K (2012) Medical issues related to genetically modified plants of relevance to Switzerland. PNR 59 report
- IARC monography summary.(2015) Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *The Lancet Oncology.* 16:5 (490-491)
- Jasanoff (1994). *The Fifth Branch.* Harvard University Press
- Juśkiewicz J, Zduńczyk Z, Fornal J (2005) Nutritional properties of tubers of conventionally bred and transgenic lines of potato resistant to necrotic strain of Potato virus Y (PVYN). *Acta Biochim Pol* 52:725–9.
- Kiliç A, Akay MT (2008) A three generation study with genetically modified Bt corn in rats: Biochemical and histopathological investigation. *Food Chem Toxicol* 46:1164–70. doi: 10.1016/j.fct.2007.11.016
- Kim HS, Kim SW, Park YS, et al (2009) Metabolic profiles of genetically modified potatoes using a combination of metabolite fingerprinting and multivariate analysis. *Biotechnol Bioprocess Eng* 14:738–747. doi: 10.1007/s12257-009-0168-y
- Kogel K-H, Voll LM, Schäfer P, et al (2010) Transcriptome and metabolome profiling of field-grown transgenic barley lack induced differences but show cultivar-specific variances.

Proc Natl Acad Sci U S A 107:6198–203. doi: 10.1073/pnas.1001945107

- Kroghsbo S, Madsen C, Poulsen M, et al (2008) Immunotoxicological studies of genetically modified rice expressing PHA-E lectin or Bt toxin in Wistar rats. *Toxicology* 245:24–34. doi: 10.1016/j.tox.2007.12.005
- Krzyżowska M, Wincenciak M, Winnicka A, et al (2010) The effect of multigenerational diet containing genetically modified triticale on immune system in mice. *Pol J Vet Sci* 13:423–30.
- Kuiper HA, Kok EJ, Engel K-H (2003) Exploitation of molecular profiling techniques for GM food safety assessment. *Curr Opin Biotechnol* 14:238–243. doi: 10.1016/S0958-1669(03)00021-1
- Lavielle M (2013) Rôle et limites de la statistique dans l'évaluation des risques sanitaires liés aux OGM. *Statistiques et sociétés*. 1:1 11-16
- Lee R-Y, Reiner D, Dekan G, et al (2013) Genetically Modified  $\alpha$ -Amylase Inhibitor Peas Are Not Specifically Allergenic in Mice. *PLoS One* 8:e52972. doi: 10.1371/journal.pone.0052972
- Leist M, Hartung T (2013) Inflammatory findings on species extrapolations: humans are definitely no 70-kg mice. *Arch Toxicol* 87:563–7. doi: 10.1007/s00204-013-1038-0
- Linster CL, Van Schaftingen E, Hnason AD (2013) Metabolite damage and its repair or pre-emption. *Nature chemical biology* 9:72-80
- Loening UE (2015) A challenge to scientific integrity: a critique of the critics of the GMO rat study conducted by Gilles-Eric Séralini et al. (2012). *Environ Sci Eur* 27:13. doi: 10.1186/s12302-015-0048-3
- Losey JE, Rayor LS, Carter ME (1999) Transgenic pollen harms monarch larvae. *Nature* 399:214. doi: 10.1038/20338
- MacKenzie SA, Lamb I, Schmidt J, et al (2007) Thirteen week feeding study with transgenic maize grain containing event DAS-Ø15Ø7-1 in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 45:551–62. doi: 10.1016/j.fct.2006.09.016
- Malatesta M, Baldelli B, Battistelli S, et al (2005) Aging affects the distribution of the circadian CLOCK protein in rat hepatocytes. *Microsc Res Tech* 68:45–50. doi: 10.1002/jemt.20221
- Malley LA, Everds NE, Reynolds J, et al (2007) Subchronic feeding study of DAS-59122-7 maize grain in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 45:1277–92. doi: 10.1016/j.fct.2007.01.013

- McNaughton J, Roberts M, Smith B, et al (2007) Comparison of Broiler Performance When Fed Diets Containing Event DP-356O43 5 (Optimum GAT), Nontransgenic Near-Isoline Control, or Commercial Reference Soybean Meal, Hulls, and Oil. *Poult Sci* 86:2569–2581. doi: 10.3382/ps.2007-00140
- Meier MS, Trtikova M, Suter M, et al (2013) Simulating evolutionary responses of an introgressed insect resistance trait for ecological effect assessment of transgene flow: a model for supporting informed decision-making in environmental risk assessment. *Ecol Evol* 3:416–423. doi: 10.1002/ece3.463
- Meissle M, Romeis J, Bigler F (2011) Bt maize and integrated pest management - a European perspective. *Pest Manag. Sci.* 67:1049–1058.
- Mesnager R, Defarge N, Rocque L-M, et al (2015) Laboratory Rodent Diets Contain Toxic Levels of Environmental Contaminants: Implications for Regulatory Tests. *PLoS One* 10:e0128429. doi: 10.1371/journal.pone.0128429
- Mesnager R, Agapito-Tenfen S, Vilperte V, Renney G, Ward M, Seralini GE, Nodari RO, Antoniou MN (2016) An integrated multi-omics analysis of the NK603 reveals metabolism disturbances caused by the transformation process. *Sci Reports* 6:37855
- Millstone E, Brunner E, Mayer S (1999) Beyond “substantial equivalence”. *Nature* 401:525–6. doi: 10.1038/44006
- Momma K, Hashimoto W, Yoon HJ, et al (2000) Safety assessment of rice genetically modified with soybean glycinin by feeding studies on rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 64:1881–6.
- Montero M, Coll A, Nadal A, et al (2011) Only half the transcriptomic differences between resistant genetically modified and conventional rice are associated with the transgene. *Plant Biotechnol J* 9:693–702. doi: 10.1111/j.1467-7652.2010.00572.x
- National Academy of Sciences of the USA Report. (2016) *Genetically Engineered Crops: Experiences and Prospects*
- Noteborn HPJM, Bienenmann-Ploum ME, van den Berg JHJ, et al (1995) Safety Assessment of the *Bacillus thuringiensis* Insecticidal Crystal Protein CRYIA(b) Expressed in Transgenic Tomatoes. pp 134–147
- Oberdoerfer RB, Shillito RD, de Beuckeleer M, Mitten DH (2005) Rice (*Oryza sativa* L.) containing the bar gene is compositionally equivalent to the nontransgenic counterpart. *J Agric Food Chem* 53:1457–65. doi: 10.1021/jf0486500
- OCDE (1993). *Safety evaluation of foods derived by modern biotechnology: concepts and principles*. Paris: OCDE.

- OCDE (1995). OCDE guidelines n°408 for testing of chemicals. OECD Publishing. Paris, France. 1995
- OCDE (2009). OECD guidelines n°452 for testing of chemicals: chronic toxicity studies. Adopted 7 September 2009. OECD Publishing. Paris, France. 2009
- Pardo-López L, Muñoz-Garay C, Porta H, et al (2009) Strategies to improve the insecticidal activity of Cry toxins from *Bacillus thuringiensis*. *Peptides* 30:589–95. doi: 10.1016/j.peptides.2008.07.027
- Pardo-López L, Soberón M, Bravo A (2013) *Bacillus thuringiensis* insecticidal three-domain Cry toxins: mode of action, insect resistance and consequences for crop protection. *FEMS Microbiol Rev* 37:3–22. doi: 10.1111/j.1574-6976.2012.00341.x
- Parisi C, Tillie P, Rodríguez-Cerezo E (2016) The global pipeline of GM crops out to 2020. *Nat Biotechnol* 34:31–36. doi: 10.1038/nbt.3449
- Perry JN, Rothery P, Clark SJ, et al (2003) Design, analysis and statistical power of the Farm-Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *J Appl Ecol* 40:17–31. doi: 10.1046/j.1365-2664.2003.00786.x
- Poulsen M, Kroghsbo S, Schrøder M, et al (2007a) A 90-day safety study in Wistar rats fed genetically modified rice expressing snowdrop lectin *Galanthus nivalis* (GNA). *Food Chem Toxicol* 45:350–63. doi: 10.1016/j.fct.2006.09.002
- Poulsen M, Schrøder M, Wilcks A, et al (2007b) Safety testing of GM-rice expressing PHA-E lectin using a new animal test design. *Food Chem Toxicol* 45:364–77. doi: 10.1016/j.fct.2006.09.003
- Prescott VE, Campbell PM, Moore A, et al (2005) Transgenic Expression of Bean  $\alpha$ -Amylase Inhibitor in Peas Results in Altered Structure and Immunogenicity. *J Agric Food Chem* 53:9023–9030. doi: 10.1021/jf050594v
- Quist D, Chapela IH (2001) Transgenic DNA introgressed into traditional maize landraces in Oaxaca, Mexico. *Nature* 414:541–543. doi: 10.1038/35107068
- Rein D, Schijlen E, Kooistra T, et al (2006) Transgenic flavonoid tomato intake reduces C-reactive protein in human C-reactive protein transgenic mice more than wild-type tomato. *J Nutr* 136:2331–7.
- Reiner D, Lee R-Y, Dekan G, Epstein MM (2014) No Adjuvant Effect of *Bacillus thuringiensis*-Maize on Allergic Responses in Mice. *PLoS One* 9:e103979. doi: 10.1371/journal.pone.0103979

- Rhee GS, Cho DH, Won YH, et al (2005) Multigeneration reproductive and developmental toxicity study of bar gene inserted into genetically modified potato on rats. *J Toxicol Environ Health A* 68:2263–76. doi: 10.1080/15287390500182446
- Ricroch AE, Berge JB, Kuntz M (2011) Evaluation of Genetically Engineered Crops Using Transcriptomic, Proteomic, and Metabolomic Profiling Techniques. *PLANT Physiol* 155:1752–1761. doi: 10.1104/pp.111.173609
- Rubio-Infante N, Moreno-Fierros L (2015) An overview of the safety and biological effects of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins in mammals. *J. Appl. Toxicol.* 36(5):630-648
- Sagstad A, Sanden M, Haugland Ø, et al (2007) Evaluation of stress- and immune-response biomarkers in Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fed different levels of genetically modified maize (Bt maize), compared with its near-isogenic parental line and a commercial suprex maize. *J Fish Dis* 30:201–12. doi: 10.1111/j.1365-2761.2007.00808.x
- Scheideler SE, Rice D, Smith B, et al (2008) Evaluation of Nutritional Equivalency of Corn Grain from DAS-O1507-1 (Herculex\* I) in the Diets of Laying Hens. *J Appl Poult Res* 17:383–389. doi: 10.3382/japr.2007-00080
- Schrøder M, Poulsen M, Wilcks A, et al (2007) A 90-day safety study of genetically modified rice expressing Cry1Ab protein (*Bacillus thuringiensis* toxin) in Wistar rats. *Food Chem Toxicol* 45:339–49. doi: 10.1016/j.fct.2006.09.001
- Séralini G-E, Cellier D, de Vendomois JS (2007) New analysis of a rat feeding study with a genetically modified maize reveals signs of hepatorenal toxicity. *Arch Environ Contam Toxicol* 52:596–602. doi: 10.1007/s00244-006-0149-5
- Séralini G-E, Clair E, Mesnage R, et al (2012) Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Food Chem Toxicol* 50:4221–31. doi: 10.1016/j.fct.2012.08.005
- Séralini G-E, Clair E, Mesnage R, et al (2014) Republished study: long-term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Environ Sci Eur* 26:14. doi: 10.1186/s12302-014-0014-5
- Séralini G-E, de Vendômois JS, Cellier D, et al (2009) How subchronic and chronic health effects can be neglected for GMOs, pesticides or chemicals. *Int J Biol Sci* 5:438–43.
- Séralini G-E, Mesnage R, Clair E, et al (2011) Genetically modified crops safety assessments: present limits and possible improvements. *Environ Sci Eur* 23:10. doi: 10.1186/2190-4715-23-10

- Simó C, Ibáñez C, Valdés A, et al (2014) Metabolomics of Genetically Modified Crops. *Int J Mol Sci* 15:18941–18966. doi: 10.3390/ijms151018941
- Sjogblad RD, McClintock JT, Engler R. 1992. Toxicological considerations for protein components of biological pesticide products. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 15: 3–9
- Snell C, Bernheim A, Bergé J-B, et al (2012) Assessment of the health impact of GM plant diets in long-term and multigenerational animal feeding trials: A literature review. *Food Chem Toxicol* 50:1134–1148. doi: 10.1016/j.fct.2011.11.048
- Srivastava V, Obudulu O, Bygdell J, et al (2013) OnPLS integration of transcriptomic, proteomic and metabolomic data shows multi-level oxidative stress responses in the cambium of transgenic hipl- superoxide dismutase *Populus* plants. *BMC Genomics* 14:893. doi: 10.1186/1471-2164-14-893
- Stadler MB, Stadler BM (2003) Allergenicity prediction by protein sequence. *FASEB J* 17:1141–3. doi: 10.1096/fj.02-1052fje
- Stanley-Horn DE, Dively GP, Hellmich RL, et al (2001) Assessing the impact of Cry1Ab-expressing corn pollen on monarch butterfly larvae in field studies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:11931–6. doi: 10.1073/pnas.211277798
- Stein HH, Sauber TE, Rice DW, et al (2009) Growth Performance and Carcass Composition of Pigs Fed Corn Grain from DAS-Ø15Ø7-1 (Herculex I) Hybrids1. *Prof Anim Sci* 25:689–694. doi: 10.15232/S1080-7446(15)30776-2
- Trabalza-Marinucci M, Brandi G, Rondini C, et al (2008) A three-year longitudinal study on the effects of a diet containing genetically modified Bt176 maize on the health status and performance of sheep. *Livest Sci* 113:178–190. doi: 10.1016/j.livsci.2007.03.009
- Trtikova M, Wikmark OG, Zemp N, et al (2015) Transgene Expression and Bt Protein Content in Transgenic Bt Maize (MON810) under Optimal and Stressful Environmental Conditions. *PLoS One* 10:e0123011. doi: 10.1371/journal.pone.0123011
- Tudisco R, Calabrò S, Cutrignelli MI, et al (2015) Genetically modified soybean in a goat diet: Influence on kid performance. *Small Rumin Res* 126:67–74. doi: 10.1016/j.smallrumres.2015.01.023
- Tudisco R, Mastellone V, Cutrignelli MI, et al (2010) Fate of transgenic DNA and evaluation of metabolic effects in goats fed genetically modified soybean and in their offsprings. *Animal* 4:1662–71. doi: 10.1017/S1751731110000728
- Vecchio L, Cisterna B, Malatesta M, et al Ultrastructural analysis of testes from mice fed on genetically modified soybean. *Eur J Histochem* 48:448–54.

- vom Saal FS, Hughes C (2005) An Extensive New Literature Concerning Low-Dose Effects of Bisphenol A Shows the Need for a New Risk Assessment. *Environ Health Perspect* 113:926–933. doi: 10.1289/ehp.7713
- Waltz E (2009) GM crops: Battlefield. *Nature* 461:27–32. doi: 10.1038/461027a
- Willison LN, Zhang Q, Su M, et al (2013) Conformational epitope mapping of Pru du 6, a major allergen from almond nut. *Mol Immunol* 55:253–263. doi: 10.1016/j.molimm.2013.02.004
- Wraight CL, Zangerl AR, Carroll MJ, Berenbaum MR (2000) Absence of toxicity of *Bacillus thuringiensis* pollen to black swallowtails under field conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:7700–3. doi: 10.1073/pnas.130202097
- Zangerl AR, McKenna D, Wraight CL, et al (2001) Effects of exposure to event 176 *Bacillus thuringiensis* corn pollen on monarch and black swallowtail caterpillars under field conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:11908–12. doi: 10.1073/pnas.171315698
- Zeljenková D, Ambrušová K, Bartušová M, et al (2014) Ninety-day oral toxicity studies on two genetically modified maize MON810 varieties in Wistar Han RCC rats (EU 7th Framework Programme project GRACE). *Arch Toxicol* 88:2289–2314. doi: 10.1007/s00204-014-1374-8
- Zhou J, Harrigan GG, Berman KH, et al (2011) Stability in the Composition Equivalence of Grain from Insect-Protected Maize and Seed from Glyphosate-Tolerant Soybean to Conventional Counterparts over Multiple Seasons, Locations, and Breeding Germplasms. *J Agric Food Chem* 59:8822–8828. doi: 10.1021/jf2019038
- Zolla L, Rinalducci S, Antonioli P, Righetti PG (2008) Proteomics as a Complementary Tool for Identifying Unintended Side Effects Occurring in Transgenic Maize Seeds As a Result of Genetic Modifications. *J Proteome Res* 7:1850–1861. doi: 10.1021/pr0705082

## **7 Gesetzliche Grundlagen**

LwG 910.1. [www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/19983407/index.html](http://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/19983407/index.html)

GTG 814.91. [www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/19996136/index.html](http://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/19996136/index.html)

FrSV 814.911. [www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/20062651/index.html](http://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/20062651/index.html)

VGVL 817.022.51. [www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/20050176/index.html](http://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/20050176/index.html)

ESV 814.912. [www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/20100803/index.html](http://www.admin.ch/opc/de/classified-compilation/20100803/index.html)