

> Retouradres Postbus 43006 3540 AA Utrecht

**Bureau Risicobeoordeling &
onderzoeksprogrammering**

Catharijnesingel 59
3511 GG Utrecht
Postbus 43006
3540 AA Utrecht
www.vwa.nl

T 088 223 33 33
F 088 223 33 34
risicobeoordeling@vwa.nl

Onze referentie
NVWA/BuRO/2013/

Datum
27 juni 2013

BIJLAGE

**Advies van de directeur bureau Risicobeoordeling
& onderzoeksprogrammering
Aan de directeur van PAV-EZ met een afschrift aan
de directeur VGP-VWS**

**Wetenschappelijke risicobeoordeling van de publicatie
van Carman en coauteurs over gezondheidsrisico's voor
mens en dier na vervoederen van genetisch gemodificeerde
maïs en soja aan opgroeiende varkens**

Aanleiding

Op 1 juni 2013 heeft het tijdschrift Journal of Organic Systems een artikel openbaar gemaakt van Carman en coauteurs over de schadelijke effecten van genetisch gemodificeerde maïs en soja. Gezien de aard van de gerapporteerde effecten in opgroeiende varkens die, voorafgaand aan de slacht, vijf maanden werden gevoerd met deze producten heeft het Bureau Risicobeoordeling en onderzoeksprogrammering (BuRO) van de Nederlandse Voedsel en Warenautoriteit (NVWA) een wetenschappelijke evaluatie van de studie voorgenomen. De Europese Commissie heeft de Australische studie ter informatie toegezonden aan het wetenschappelijk GGO-panel van het Europese Voedselveiligheidsagentschap EFSA (European Food Safety Authority).

In de publicatie¹ schrijven de auteurs dat een levenslange blootstelling aan een voedermix van genetisch gemodificeerde (GM) maïs en soja beduidend meer ernstige maagontstekingen veroorzaakt dan de even grote groep varkens die regulier, niet genetisch gemodificeerd, voer kregen. De genetische modificatie zorgt ervoor dat de maïsvarianten bestand zijn tegen zowel insectenvraat door expressie van Cry(Bt)-eiwitten uit *Bacillus thuringiensis* als voor behandeling met de herbicide

¹ Judy A. Carman, Howard R. Vlieger, Larry J. Ver Steeg, Verlyn E. Sneller, Garth W. Robinson, Catherine A. Clinch-Jones, Julie I. Haynes, John W. Edwards. A long-term toxicology study on pigs fed a combined genetically modified (GM) soy and GM maize dietmodified maize. Journal of Organic Systems 2013, 8(1): 38-54.

RoundUp en zijn toegelaten voor teelt in de Verenigde Staten (USDA, 2011). In de Europese Unie zijn de vier geteste maïsvarianten toegelaten als grondstoffen voor diervoeder en als levensmiddel. De genetische modificatie zorgt ervoor dat de soja bestand is tegen behandeling met de herbicide RoundUp (glyfosaat) en is toegelaten voor import in de Europese Unie (Verordening 258/97). De mogelijk belangrijke risico's voor de volks- en diergezondheid was voor het ministerie van EZ reden om op de korte termijn een oordeel te vormen over de wetenschappelijke kwaliteit van het Australische onderzoek. De nadruk van de wetenschappelijke beoordeling door NVWA-BuRO en frontoffice RIVM-RIKILT Voedselveiligheid ligt op de validiteit van de conclusies en de eventuele consequenties voor de gezondheid van mens en dier.

Ondernomen acties

Na het openbaar maken van het artikel van Carman en coauteurs heeft NVWA-BuRO op basis van de toen beschikbare informatie een voorlopige inschatting gemaakt van de wetenschappelijke kwaliteit van het artikel en de eventuele gevolgen voor de huidige veiligheidsbeoordeling van genetisch gemodificeerde voedsel- en voedergewassen.

Op 21 juni 2013 heeft de beleidsdirectie Plantaardige Agroketens en Voedselkwaliteit (PAV) bij het ministerie van EZ BuRO van de NVWA om een wetenschappelijke beoordeling van het artikel gevraagd. Hiertoe zijn een aantal vragen aan het frontoffice Voedselveiligheid van RIVM en RIKILT voorgelegd. Op 26 juni is van het frontoffice een definitief antwoord op de gestelde vragen ontvangen.

Op 21 juni 2012 heeft NVWA-BuRO het Europese Voedselveiligheidsagentschap (EFSA) in Parma geïnformeerd over de Nederlandse beoordeling van de wetenschappelijke kwaliteit van het artikel van Carman en coauteurs (2013).

De wetenschappelijke risicobeoordeling van RIVM en RIKILT en de bestudering van literatuur en internetreacties (blogs) van wetenschappers vormden de basis voor het definitieve advies van de directeur BuRO van de NVWA.

Conclusies

Naar aanleiding van de wetenschappelijke beoordeling van de studie van Carman en coauteurs (2013) concludeert NVWA-BuRO en het frontoffice RIVM-RIKILT Voedselveiligheid dat de opzet van de vijf maanden voederproef met opgroeiende varkens niet voldoet aan de gangbare wetenschappelijke standaarden voor het uitvoeren van proefdieronderzoek met hele gewassen of voedingsmiddelen (o.a. EFSA, 2011^{a,b,c}).

De Australische onderzoekers leggen verbanden tussen behandeling en effecten die niet wetenschappelijk onderbouwd zijn.

In het bijzonder geldt het volgende.

- De proefopzet laat geen uitspraken toe wat betreft het toewijzen van waargenomen verschillen tussen controle en behandelde groepen aan respectievelijk de insertie van het *epsps*-gen (herbicide-tolerantie) in soja en maïs, de Cry-eiwitten in de maïsvarianten (insectresistentie), de aanwezigheid van mogelijke 'unintended effects' in de geteste GM-gewassen of het aantal eigenschappen ('stacked traits') in de maïsvarianten;
- De oorzaak-effect relatie met betrekking tot de ontstekingsreacties in het maagepitheel van mannelijke en vrouwelijke varkens en de zwaardere baarmoeders van de vrouwtjes onvoldoende onderbouwd en kunnen niet zonder meer worden toegeschreven aan de voedermix van genetisch gemodificeerde maïs en soja. Een dergelijke conclusie vraagt om een goede statistische analyse, die ontbreekt.
- De waargenomen gezondheidseffecten kunnen ook veroorzaakt zijn door versturende effecten wat betreft de wijze van huisvesting, door lage gehalten aan oestrogeen-achtige stoffen in zowel de GM- als niet GM-voedermix of door een natuurlijke achtergrondvariatie bij opgroeiende varkens.
- De onderliggende data zijn niet gepubliceerd en de statistische methode voor de data-analyse is erop gericht verschillen te vinden in plaats van te onderzoeken of er verschillen tussen onderzoeksgroepen en controlegroep aangetoond kunnen worden.
- Dit onderzoek is qua opzet, uitvoering en rapportage ongeschikt om een uitspraak te kunnen doen over de noodzaak tot chronisch onderzoek met genetisch gemodificeerde gewassen.

Advies NVWA-BuRO

- **Aan de directeur PAV-EZ en de directeur VGP-VWS**

Gelet op de slechte wetenschappelijke kwaliteit van het artikel, zoals beoordeeld wordt door BuRO en het frontoffice RIVM-RIKILT Voedselveiligheid adviseer ik om de huidige methodiek van de voedsel- en voederveiligheidsbeoordeling van GM-gewassen (guidance EFSA^{a,b,c}, 2011) en de herbicide glyfosaat (EFSA^{a,b}, 2009) niet te wijzigen. En vanuit wetenschappelijk oogpunt zijn geen andere acties nodig of wenselijk.

Voor de verdere uitleg en onderbouwing van mijn wetenschappelijke beoordeling van de studie verwijst ik naar deel 2 (bijlage 1) van mijn advies met de bijlage 2

Wat er verder nog gaat gebeuren

EFSA heeft aangekondigd voorlopig geen formele stappen te zullen ondernemen wat betreft het naar buiten te brengen van een EFSA-oordeel.

Mocht er aanleiding voor zijn, dan komt BuRO met een vervolgadvis over de wetenschappelijke risicobeoordeling van de studie van Carman en coauteurs.

Hoogachtend,

Dr. Antoon Opperhuizen
Directeur bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering

Bijlage 1

Onderbouwing van de beoordeling van de publicatie van Carman en coauteurs over gezondheidsrisico's voor mens en dier na vervoederen van genetisch gemodificeerde maïs en soja aan opgroeiende varkens

Achtergrond

Op 1 juni 2013 publiceerde het tijdschrift Journal of Organic Systems de resultaten van het Australische onderzoeksteam onder leiding van Judy Carman. Dit artikel, vijf maanden GM-voederproef met varkens, is op verzoek van het ministerie van EZ met spoed bestudeerd op consequenties voor de voedselveiligheid van genetisch gemodificeerde gewassen. In de publicatie (Carman et al. 2013) met als titel 'Long-term toxicology study on pigs fed a combined genetically modified (GM) soy and GM maize diet' stellen Australische onderzoekers dat de dagelijkse blootstelling aan een voedermix van genetisch gemodificeerde (GM) maïs en soja na vijf maanden in opgroeiende varkens, voorafgaand aan de slacht, ernstige maagontstekingen veroorzaakt in beide geslachten en bij de vrouwtjes was de baarmoeder gemiddeld 25 procent zwaarder.

De publicatie heeft wereldwijd media-aandacht gekregen en enige ophef veroorzaakt met betrekking tot het onderzoek voor de bepaling van de veiligheid van genetisch gemodificeerde gewassen voor mens en dier. Vooral het toepassen van de zogenoemde 90-dagen studie met het hele GM-gewas wordt in het artikel bekritiseerd (zie ook Séralini et al. 2012). Voor het ministerie van EZ, beleidsdirectie PAV, was het artikel daarom aanleiding voor een verzoek aan BuRO om de wetenschappelijke kwaliteit van deze Australische studie te beoordelen.

Vragen die gesteld zijn

Wat is het wetenschappelijk oordeel van BuRO en het frontoffice RIVM-RIKILT Voedselveiligheid over het onderzoek van Carman en coauteurs (2013)?

Daarbij zijn antwoorden op volgende subvragen van belang:

1. Voldoet de opzet van de proef aan wetenschappelijke standaarden?
2. Is de proefopzet voldoende discriminatief om uitspraken te kunnen over mogelijke nadelige effecten ten gevolge van: a) de insertie van het *epsps* gen; b) de Cry-eiwitten; c) unintended effects en d) de mate van 'stacking'?
3. Zijn de conclusies voldoende onderbouwd. Met andere woorden zijn de verklaringen die onderzoekers geven ten aanzien van de

oorzaakeffect relaties, zoals enerzijds hormoonontregeling door de herbicide resistente GM-soja als gevolg van de insertie en/of anderzijds ontstekingsreacties in het maagepitheel ten gevolge van Cry-eiwitten in het dieet?

4. Zijn de vier maïsvarianten toegelaten in de EU voor diervoeder en als levensmiddel?
5. Hoe groot is de kans dat als deze GM gewassen alleen aan dieren worden gevoerd dit ook nog effecten zal hebben op de mens als deze dieren worden geconsumeerd?
6. Geeft de studie aanleiding om de EFSA-risicobeoordelingsrichtsnoeren te herzien?
7. Geeft de studie aanleiding tot twijfel over de veiligheid voor mens en dier deze varianten?
8. Is de bewering van de onderzoekers dat voor praktijkgebruik van GM-gewassen eerst lang termijn voedingsonderzoek bij dieren nodig is voldoende onderbouwd?
9. Welke mogelijke vervolgacties zouden zinvol zijn en wie zou dat kunnen/moeten doen?

Aanpak

NVWA-BuRO heeft aan het frontoffice RIVM-RIKILT Voedselveiligheid gevraagd de wetenschappelijke kwaliteit van het artikel van Carman et al. (2013) te beoordelen en conclusies van de Australische onderzoekers nader te verifiëren. Hierbij gaat het ondermeer om proefopzet, uitvoering, interpretatie van resultaten, kwaliteit van de gebruikte proefdieren en statistiek. Ook is gevraagd een inschatting te maken van mogelijke consequenties voor de huidige methodiek van beoordeling van genetisch gemodificeerde gewassen om de gezondheidsrisico's voor mens en dier te kunnen schatten, waaronder de toepassing van de zogenoemde 90-dagen voederstudie (bijlage 2).

Daarnaast is door NVWA-BuRO de beschikbare wetenschappelijke literatuur (nogmaals) verkend over mogelijke schadelijke effecten voor mens en dier van de blootstelling aan GM-gewassen. De internetreacties van wetenschappers op het artikel van Carman en coauteurs is ook nader bestudeerd.

Op basis van de wetenschappelijke beoordeling door het frontoffice RIVM-RIKILT Voedselveiligheid en eigen onderzoek is het advies van NVWA-BuRO afgerond.

Resultaten

• Studiedesign

De studie van Carman en medeauteurs (2013) is gecompliceerd van opzet en volgt niet éénvoudig de OECD of EFSA richtlijnen voor

proefdieronderzoek. In het algemeen is de studie onvolledig gepubliceerd. Er ontbreken in het artikel een veelvoud aan essentiële gegevens nodig voor een beoordeling van de resultaten en de op basis ervan getrokken conclusies. De Australische onderzoekers verzuimen details over samenstelling te geven of aan te tonen dat beide formuleringen equivalent zijn. Vastgesteld wordt dat essentiële details die nodig zijn voor een goede wetenschappelijke beoordeling van de inhoud en het onderzoek in het artikel van Carman et al. ontbreken

Essentiële details, zoals bijvoorbeeld gegevens over analyseresultaten van de GM-maïs, GM-soja en de controle maïs en soja, de voedermix, de voeder- en waterconsumptie, en over de groei en lichaamsgewichten van de varkens, en de dier huishouding gedurende de studie. Een statistische analyse van bijvoorbeeld consumptie, groei, mortaliteit, en multipliciteit is niet uitgevoerd.

• **Pathologische bevindingen**

De waarneming dat een testgroep meer maagontstekingen heeft dan een andere groep is niet onderbouwd, omdat de Australische onderzoekers een visuele score van de kleur van de maagbekleding uitvoeren en de mate van roodheid gebruiken als bewijs van een aanwezige ontstekingsreactie. Dit is wetenschappelijk niet verdedigbaar. Histologisch onderzoek met weefselcoupes voor het aantonen bijvoorbeeld van infiltratie van witte bloedcellen ontbreekt. Daarnaast stelt Friendship (Daynard, 2013) dat er geen causaal verband is tussen een maagontsteking en de kleur van de maagwand in dode, leeggebloede varkens.

De publicatie van Carman et al. is gebrekkig wat betreft het presenteren van essentiële gegevens. Zo valt het niet te controleren of een aantal niet GM-gerelateerde factoren van invloed zouden kunnen zijn geweest op de toename in het gewicht van de baarmoeders. Een tekortkoming in de proefopzet van Carman et al. is dat de voederbehandeling werd toegepast op hokniveau, terwijl de statistische analyse werd gedaan op het niveau van individuele dieren. Het is mogelijk dat een zwaarder baarmoedergewicht bij een van de 42 varkens per hok het gevolg is geweest van bereiken van de puberteit, of is veroorzaakt door lage gehalten aan oestrogeen-achtige stoffen in de voeding. De uitgevoerde analyse van mycotoxinen, die oestrogeen-achtige toxinen kunnen produceren, is volstrekt ontoereikend om dit mogelijk verstoring effect op de uterus uit te sluiten. Ook is het onduidelijk of de dieren in een hok contact hadden met die in de andere hokken. Sociale verhoudingen of interactie tussen varkens onderling kan invloed hebben op oestrische cyclus, zoals het bevorderen van oestrus.

- **Statistische analyse**

Er is geen significant verschil in het aantal maagontstekingen tussen de diverse testgroepen en de controle groep (bijlage 2; Daynard, 2013; Merberg, 2013). Niet onvermeld mag blijven dat het onderzoek van Carman et al. resulteert in slechts een significant effect wat betreft het baarmoedergewicht (bijlage 2). Er moet hier echter rekening mee worden gehouden dat in het testen van een reeks parameters een significante uitkomst gebaseerd is op toeval. Daarom zou dit effect op de baarmoeder in een nieuwe studie moeten worden bevestigd. Het is dan aan te bevelen om meer subgroepen (hokken) per behandelingsgroep in te zetten, om mogelijke artefacten in de resultaten als gevolg van verschillen tussen de hokken te voorkomen (Merberg, 2013).

Conclusies: antwoorden op vragen

Wat is het wetenschappelijk oordeel van BuRO en het frontoffice RIVM-RIKILT Voedselveiligheid over het onderzoek van Carmen en coauteurs (2013)?

Ernstige tekortkomingen in de proefopzet en de methodologie van het artikel van Carman et al. leidt er toe dat het onderzoek niet voldoet aan aanvaardbare wetenschappelijke normen. Daarom is er geen noodzaak om te twijfelen aan de bestaande veiligheidsbeoordelingen van de genetisch gemodificeerde maïsvarianten DK 42-88 RR YG PL ('stacked' genvariant van NK603, MON863 en MON810), Pannar 5E-900RR (NK603), Pannar 4E-705RR/Bt ('stacked' genvariant van NK603 en MON810), Producers 5152RR (NK603) en RR-soja.

De conclusies van de auteurs zijn niet wetenschappelijk verantwoord als gevolg van onvolkomenheden in ontwerp, rapportage en analyse van de studieresultaten. Bijgevolg is het niet mogelijk om valide conclusies trekken over het voorkomen van ernstige maagontstekingen of hypertrofie van de uterus in de met genetisch gemodificeerde maïs en soja gevoederde varkens.

Voldoet de opzet van de proef aan wetenschappelijke standaarden?

De opzet van de proef voldoet niet aan gepubliceerde wetenschappelijke normen voor het uitvoeren van proefdieronderzoek met hele gewassen of levensmiddelen.

Is de proefopzet voldoende discriminatief om uitspraken te kunnen over mogelijke nadelige effecten ten gevolge van: a) de insertie van het epsps gen; b) de Cry-eiwitten; c) unintended effects en d) de mate van 'stacking'?

De proefopzet en kwaliteit van de resultaten laat niet toe valide uitspraken te doen met betrekking tot oorzaak-en-gevolg relaties.

Zijn de conclusies voldoende onderbouwd. Met andere woorden zijn de verklaringen die onderzoekers geven ten aanzien van de oorzaak-effect relaties, zoals enerzijds hormoonontregeling door de herbicide resistente GM-soja als gevolg van de insertie en/of anderzijds ontstekingsreacties in het maagepitheel ten gevolge van Cry-eiwitten in het dieet?

De conclusies die getrokken worden in de studie van Carman et al. zijn onvoldoende onderbouwd. Dit betreft zowel de oorzaak-effect relaties als de gemelde noodzaak tot chronisch onderzoek van GM-plant variëteiten. De auteurs poneren wilde speculaties over het verschil in de baarmoedergewichten zoals indicatief voor kankerontwikkeling, en het toekennen van de mate van roodheid van het maagepitheel als een ontstekingsreactie ten gevolge van het GM-dieet.

Zijn de vier maïsvarianten toegelaten in de EU voor diervoeder en als levensmiddel?

De 4 maïsvarianten die gebruikt zijn in de studie van Carman et al. zijn toegelaten in de Europese Unie voor gebruik in diervoeders en in voedingsmiddelen.

In het artikel van Carman et al. wordt de GM event (variëteit gebaseerd op een specifieke genetische modificatie) niet genoemd. Echter het is de ervaring van BuRO en frontoffice RIVM-RIKILT dat RR soja altijd MON RR 40-3-2 soja is en wordt bij andere events wel aangegeven dat de soja resistent is tegen glyfosaat, maar niet dat het RoudUp-Ready soja is. Aannemelijk is dat de genetische gemodificeerde soja de GM-variëteit MON 40-3-2 is, die alom wordt geproduceerd. Daarbij vindt RIKILT zeer zelden MON89788 als spoor in andere partijen. Er is echter onzekerheid in deze. Beide GM-sojavarianten hebben een Europese toelating voor import.

Hoe groot is de kans dat als deze GM gewassen alleen aan dieren worden gevoerd dit ook nog effecten zal hebben op de mens als deze dieren worden geconsumeerd?

In de Europese veiligheidsbeoordeling voor mens, dier en milieu door het EFSA GGO-panel wordt expliciet het aspect van een indirecte menselijke blootstelling aan eetbare dierlijke producten van landbouwhuisdieren die voorafgaand zijn gevoerd met GM gewassen of afgeleide grondstoffen meegenomen. Zover dit bekend is of gepubliceerd is zijn er geen indicaties dat GM-variëteiten met een Europese markttoelating voor diervoedertoepassing een indirect – via consumptie - schadelijk effect hebben op de gezondheid van de mens.

Geeft de studie aanleiding om de EFSA-risicobeoordelingrichtsnoeren te herzien?

EFSA adviseert om een 90-dagen studie met het hele GM-gewas alleen dan uit te voeren indien daar door toxicologisch vooronderzoek aanleiding voor is (EFSA, 2011^{a,b,c}). Dit is niet het geval indien een genetisch gemodificeerd gewas 'substantieel equivalent' door bijvoorbeeld het GGO-panel van EFSA is bevonden aan de niet-GM isogene counterpart (EFSA, 2011). In het artikel uit Carman en medeonderzoekers kritiek op deze leidraad voor onderzoek naar de veiligheid van een genetisch gemodificeerd voedsel- en/of voedergewas (zie ook Séralini et al. 2012). Het is de visie van Carman et al. dat een blootstelling gedurende drie maanden onvoldoende is om effecten voor de volks- of diergezondheid te kunnen beoordelen. In tegenstelling tot de leidraad van het GGO panel (EFSA, 2011^{a,b,c}) zijn Carman en coauteurs van mening dat gezondheidseffecten van GM-gewassen onderzocht moeten worden met behulp van chronische studies; bijvoorbeeld overeenkomend met de levensduur van het proefdier. Echter de resultaten van de studie van Carman et al. geeft geen aanleiding om de EFSA leidraden (EFSA, 2011^{a,b,c}) te herzien.

Geeft de studie aanleiding tot twijfel over de veiligheid voor mens en dier deze varianten?

De kritiek van Carman en coauteurs is niet goed onderbouwd. De auteurs leggen verbanden tussen behandeling en effecten (oorzaak en gevolg) die op grond van de resultaten niet wetenschappelijk onderbouwd zijn. Daarnaast zijn de onderzoekers selectief in het citeren van publicaties waarin alleen mogelijke nadelige effecten van GGO's in proefdieren worden gerapporteerd zonder daarbij te vermelden dan meer dan 100 publicaties geen nadelige effecten rapporteerden.

Is de bewering van de onderzoekers dat voor praktijkgebruik van GM-gewassen eerst lang termijn voedingsonderzoek bij dieren nodig is voldoende onderbouwd?

Op basis van deze studie is er geen aanleiding om de huidige EFSA-richtlijn (EFSA^c) te wijzigen. De EFSA leidraad acht aanvullende toxicologische studies alleen noodzakelijk wanneer vanuit korter durende studies met proefdieren daar aanleiding toe zou zijn.

Welke mogelijke vervolgacties zouden zinvol zijn en wie zou dat kunnen/moeten doen?

Op basis van de gepubliceerde informatie door Carman en co-auteurs is er geen noodzaak om opnieuw veiligheidsonderzoek aan de geteste genetisch gemodificeerde maïs en soja varianten te doen of om deze bevindingen mee te nemen in de huidige veiligheidstoetsing van GM-gewassen of afgeleide levensmiddelen inclusief diervoeders.

Vooralsnog ziet de EFSA geen noodzaak om de studie ongevraagd nader te laten evalueren door haar wetenschappelijk GGO-panel.

Referenties

Bodnar, A. Lack of care when choosing grains invalidates pig feeding Study. 13 juni 2013. In: <http://www.biofortified.org/2013/06/pig-feeding-study-gmo/>

Carman, Judy A., Howard R. Vlieger, Larry J. Ver Steeg, Verlyn E. Sneller, Garth W. Robinson, Catherine A. Clinch-Jones, Julie I. Haynes, John W. Edwards. A long-term toxicology study on pigs fed a combined genetically modified (GM) soy and GM maize dietmodified maize. *Journal of Organic Systems* 2013, 8(1): 38-54

Commissie. 2004/643/EG: Beschikking van de Commissie van 19 juli 2004 betreffende het in de handel brengen van een maïsprodukt (Zea mays L., lijn NK603), genetisch gemodificeerd met het oog op tolerantie voor glyfosaat, overeenkomstig Richtlijn 2001/18/EG van het Europees Parlement en de Raad. PB L 295 van 18.9.2004, blz. 35-37.

Daynard, T. Full statement by Professor Robert Friendship, University of Guelph on the study by Carmen et al. on feeding genetically modified corn and soybeans to pigs. June 14, 2013 In: <http://tdaynard.com/2013/06/14/full-statement-by-professor-robert-friendship-university-of-guelph-on-study-by-carman-et-al-on-feeding-of-genetically-modified-corn-and-soybeans-to-pigs/>

EFSA (2010). Scientific Opinion on application (EFSA-GMO-CZ-2008-62) for the placing on the market of insect resistant and herbicide tolerant genetically modified maize MON 89034 x 1507 x MON 88017 x 59122 and all sub-combinations of the individual events as present in its segregating progeny, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003 from Dow AgroSciences and Monsanto. EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO). European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. *EFSA Journal*, 8(9):1781.

EFSA. Scientific support for preparing an EU position in the 44th Session of the Codex Committee on Pesticide Residues (CCPR). *EFSA Journal* 2012; 10(7):2859. doi:10.2903/j.efsa.2012.2859.

EFSA. Modification of the existing MRL for glyphosate in lentils. *EFSA Journal* 2012; 10(1):2550. doi:10.2903/j.efsa.2012.2550

EFSA^a. Guidance for risk assessment of food and feed from genetically modified plants. *EFSA Journal* 2011; 9(5). doi:10.2903/j.efsa.2011.2150.

EFSA^b. Guidance on selection of comparators for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed. *EFSA Journal* 2011; 9(5): 2149. doi:10.2903/j.efsa.2011.2149.

EFSA^c. Guidance on the risk assessment of genetically modified microorganisms and their products for food and feed use. EFSA Journal 2011; 9(6): 2193. doi: 10.2903/j.efsa.2011.2193.

EFSA^a. Reasoned opinion of EFSA: Modification of the residue definition of glyphosate in genetically modified maize grain and soybeans, and in products of animal origin. EFSA Journal 2009; 7(9). doi:10.2903/j.efsa.2009.1310.

EFSA^b. Applications (references EFSA-GMO-NL-2005-22, EFSA-GMO-RX-NK603) for the placing on the market of the genetically modified glyphosate tolerant maize NK603 for cultivation, food and feed uses, import and processing and for renewal of the authorisation of maize NK603 as existing products, both under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms (Questions No EFSA-Q-2005-249, No EFSA-Q-2008-075). EFSA Journal (2009) 1137, 1-50.

Hoofnagle, M. 12 juni 2013. M. Pollan and M. Bittman. The Morano and Milloy of anti-GMO science. In: <http://scienceblogs.com/denialism/2013/06/12/pollan-and-bittman-the-morano-and-milloy-of-gmo-anti-science/>

Merberg, M. New Study Shows How Not to Use Statistics. 19 juni 2013. In: <http://www.inexactchange.org/blog/2013/06/19/gmo-pig-study/>

Séralini, G-E., Clair, E., Mesnage, R., Gress, S., Defarge, N., Malatesta, M., Hennequin, D., Spiroux de Vendômois, J. (2012) Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. Food and Chemical Toxicology. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.08.005>

Snell, C. et al. (2012) Assessment of the health impact of GM plant diets in long-term and multigenerational animal feeding trials: A literature review. Food and Chemical Toxicology, 50 (3-4): 1134-1148.

USDA (2011). US Department of Agriculture, July 2011: <http://www.ers.usda.gov/data/biotechcrops/>, accessed 4 April 2012.

Verordening (EG) Nr. 258/97 van het Europees Parlement en de Raad van 27 januari 1997 betreffende nieuwe voedingsmiddelen en nieuwe voedselingsrediënten. PB L 43 van 14.2.1997, blz.:1-6.

Verordening (EG) Nr. 1852/2001 van de Commissie van 20 september 2001 houdende nadere regels voor de openbaarmaking van bepaalde gegevens en de bescherming van ingevolge Verordening (EG) Nr. 258/97 van het Europees Parlement en de Raad verstrekte gegevens. PB L 253 van 21.9.2001, blz.:17-18.

Verordening (EG) Nr. 1107/2009 van het Europees Parlement en de Raad van 21 oktober 2009 betreffende het op de markt brengen van gewasbeschermingsmiddelen en tot intrekking van de Richtlijnen 79/117/EEG en 91/414/EEG van de Raad. PB L 309 van 24.11.2009, blz.: 1-50.

Verordening (EG) Nr. 1140/2009 van de Raad van 20 november 2009 tot wijziging van Verordening (EG) Nr. 1234/2007 houdende een gemeenschappelijke ordening van de landbouwmarkten en specifieke bepalingen voor een aantal landbouwproducten (integrale-GMO-verordening). PB L 312 van 27.11.2009, blz.:4-5.

Dr. Antoon Opperhuizen
Directeur bureau Risicobeoordeling & onderzoeksprogrammering

Bijlage 2

Rapport van het frontoffice RIVM-RIKILT Voedselveiligheid in zake het artikel van Carman et al. (2013) in Journal of Organic Systems

BEORDELING INZAKE ARTIKEL CARMAN et al. (2013) in JOURNAL OF ORGANIC SYSTEMS

Risicobeoordeling aangevraagd door: Hub Noteborn (NVWA, BuRO)

Risicobeoordeling opgesteld door: RIKILT en RIVM

Datum aanvraag: 21-06-2013

Datum risicobeoordeling: 27-06-2013 (*definitieve versie*)

Coördinator: Polly Boon

Opstellers risicobeoordeling: Esther Kok (RIKILT), Wout Slob (RIVM)

Toetsers risicobeoordeling: Ron Hoogenboom (RIKILT), Piet Wester (RIVM), □ Boet Glandorf (BGGO/RIVM),

Projectnummers: V/09013/01/AA en V/100181/01/AA

Onderwerp

In het algemeen overleg (AO) landbouwraad van 19 juni 2013 is het Australische onderzoek van Carman et al. (2013) naar voren gebracht, waarin GG-mais en GG-soja gevoerd aan varkens zou leiden tot ernstige maagaandoeningen bij de varkens. De staatssecretaris van Economische Zaken (EZ) heeft in dit overleg met de Tweede Kamer (TK) de toezegging gedaan om het onderzoek te bestuderen, te kijken of vervolgonderzoek nodig is en zo ja, de TK te informeren over wie onderzoek gaat doen.

Daarom is Bureau Risicobeoordeling (BuRO) door de directie Plantaardige Agroketens en Voedselkwaliteit (PAV) gevraagd om EZ op korte termijn te adviseren hoe de staatssecretaris dit onderzoek op waarde moet inschatten en welke mogelijke vervolggacties zinvol zijn en wie dat zou kunnen/ moeten doen. BuRO verzoekt het Front Office Voedselveiligheid om de studie te beoordelen.

Vraagstelling

Wat is het wetenschappelijk oordeel van RIVM-RIKILT over het onderzoek van Carman en medeauteurs (2013)?

De subvragen die BuRO beantwoord zou willen zien, zijn:

1. Voldoet de opzet van de proef aan wetenschappelijke standaarden?
2. Is de proefopzet voldoende discriminatief om uitspraken te kunnen over mogelijke nadelige effecten ten gevolge van
 - a. de insertie van het epsps gen;
 - b. de Cry-eiwitten;
 - c. unintended effects en
 - d. de mate van stacking?
3. Zijn de conclusies voldoende onderbouwd? Met andere woorden zijn de verklaringen die onderzoekers geven ten aanzien van de oorzaak-effect relaties, zoals enerzijds hormoonontregeling door de herbicide resistente GG-soja als gevolg van de insertie en/of anderzijds ontstekingsreacties in het maagepitheel ten gevolge van Cry-eiwitten in het dieet?
4. Zijn de 4 maïsvarianten toegelaten in de EU voor diervoeder en als levensmiddel?
5. Hoe groot is de kans dat als deze GM gewassen alleen aan dieren worden gevoerd, dit ook nog effecten zal hebben op de mens als deze dieren worden geconsumeerd?

6. Geeft de studie aanleiding om de EFSA-risicobeoordelingsrichtsnoeren te herzien?
7. Geeft de studie aanleiding tot twijfel over de veiligheid voor mens en dier van deze varianten?
8. Klopt de bewering van de onderzoekers dat voor praktijkgebruik van GM-gewassen eerst lange termijn voedingsonderzoek bij dieren nodig is?
9. Welke mogelijke vervolgacties zouden zinvol zijn en wie zou dat kunnen/moeten doen?
10. Is deze publicatie bij de EFSA bekend, en wat is de visie/opinie van de autoriteit?

Conclusie

1. De opzet van de proef voldoet niet aan gepubliceerde wetenschappelijke standaarden voor het uitvoeren van proefdieronderzoek met hele gewassen/voedingsmiddelen.
2. De proefopzet is onvoldoende discriminatief om uitspraken te kunnen doen over mogelijke nadelige effecten ten gevolge van
 - a) De insertie van het epsps-gen
 - b) De Cry-eiwitten
 - c) Unintended effects
 - d) De mate van stacking
3. De conclusies die getrokken worden in de studie van Carman et al. zijn onvoldoende onderbouwd. Dit betreft zowel de oorzaak-effect relaties (hogere uteri-gewichten en ontstekingsreacties in het maagepitheel ten gevolge van het GG-dieet), als de gemelde noodzaak tot chronisch onderzoek van GG-plantvariëteiten.
4. De 4 maïsvarianten die gebruikt zijn in de studie zijn toegelaten in de EU voor gebruik in diervoeders en in voedingsmiddelen.
5. Er is geen indicatie dat de GG-variëteiten, die in Europa zijn getoetst op veiligheid voor mens, dier en milieu en veilig zijn bevonden, een indirect, schadelijk effect zouden kunnen hebben bij de mens na consumptie van afgeleide dierlijke producten. Dit aspect wordt impliciet meegenomen in de Europese veiligheidsbeoordeling.
6. De studie geeft geen aanleiding om de EFSA-risicobeoordelingsrichtsnoeren te herzien.
7. De studie geeft geen aanleiding tot twijfel over de veiligheid voor mens en dier van deze GG-variëteiten.
8. Op basis van deze studie is er geen aanleiding om de huidige EFSA-richtlijn hieromtrent te herzien, die aanvullende studies alleen noodzakelijk acht wanneer daar vanuit korter durende studies aanleiding toe zou zijn. De studie van Carman et al. Geeft geen aanleiding tot herziening van de veiligheidsbeoordeling door EFSA, die aanvullende studies niet nodig achtte.
9. Op basis van de studie van Carman et al. zijn er vanuit wetenschappelijk perspectief geen nadere acties nodig of wenselijk.
10. Voor zover ons bekend is de studie bij EFSA bekend en besproken, maar heeft EFSA nog geen mandaat om de studie nader te evalueren. De EFSA heeft voornamelijk ook geen noodzaak gezien om de studie ongevraagd nader te evalueren.

Toelichting

Vraag 1

Voor proefdierstudies met *hele voedingsmiddelen* is er een EFSA-richtlijn beschikbaar voor 90-dagenstudies in knaagdieren, maar niet in landbouwhuisdieren (EFSA, 2011). Dit is de enige gepubliceerde standaard op dit

terrein. De opzet van de proef voldoet niet aan deze wetenschappelijke standaard. De principes die in deze EFSA-richtlijn worden beschreven zijn veelal niet toegepast in de studie door Carman et al.

Belangrijke afwijkingen zijn:

- De testdiëten zijn slechts beperkt geanalyseerd op biologische, chemische en microbiële contaminanten. De testdiëten zijn uitsluitend geanalyseerd op de aanwezigheid van de verwachte GGO-elementen in mais en soja (niet gekwantificeerd in het geval van mais in het GG-dieet) en op mycotoxinen.
- Zowel de GG-soja en GG-mais als de conventionele soja en mais voor de proefdierdiëten zijn afkomstig uit reguliere productiestromen en zijn dus niet onder vergelijkbare omstandigheden geproduceerd. Naast de te verwachten verschillen in eiwitsamenstelling als gevolg van de genetische modificaties zijn ook andere verschillen tussen GG-soja en GG-mais en de respectievelijke traditionele tegenhangers daarmee waarschijnlijk.
- Gegevens over de opslag van de proefdierdiëten gedurende de duur van de dierproef worden niet vermeld in de publicatie.
- Er is slechts één dosering toegepast, waarin meerdere GGO-variëteiten in sterk variërende concentraties voorkwamen (3.3% - 100%). Het is daarmee niet mogelijk om een dosis-effect relatie vast te stellen.
- De studie is niet onder Good Laboratory Practice (GLP) uitgevoerd.
- Er wordt geen gedetailleerde informatie gegeven ten aanzien van de omstandigheden waaronder de dieren gehouden zijn en de kwalificaties van het personeel, behalve dat het een commerciële Amerikaanse boerderij betreft.
- Er is geen vergelijking gemaakt van de bevindingen in de studie met historische controle-data.
- Een hypothese ontbreekt in de studie, evenals de indicatie of de studie 'confirmatory' of 'exploratory' is. De term 'observational' wordt gebruikt, maar niet in de context van een wetenschappelijke hypothese

NB De duur van de studie, 22,7 weken, komt niet overeen met internationaal geharmoniseerde protocollen voor gestandaardiseerde toxicologische testen. Om die reden is er geen vergelijking mogelijk met data uit eerdere studies. Er is geen informatie gegeven over de voor mycotoxinen gebruikte analysemethoden en welke toxines daarin wel/niet werden bepaald. Met name zearalenon zou een belangrijke rol kunnen spelen bij de verschillen in uterusgewicht en zou om die reden expliciet genoemd moeten worden. Ten slotte is de studie gepubliceerd in het tijdschrift 'Journal of Organic Systems', dat geen 'track record' heeft ten aanzien van toxicologische studies. Dit zou kunnen duiden op een beperkte 'peer review' in dit opzicht.

Vraag 2

Door de gekozen opzet, waarbij GG-plantmateriaal uit reguliere diervoederproductiestromen is gebruikt in een ratio van 90% DK 42-88 RR YG PL (een stacked gene variety van NK603, MON863 en MON810), 3,3% Pannar 5E-900RR (NK603), 3,3% Pannar 4E-705RR/Bt (stacked gene variety van NK603 en MON810) en 3,3% Producers 5152RR (NK603) ten opzichte van vergelijkbaar (maar niet onder identieke omstandigheden geproduceerd) GGO-vrij materiaal waarin sporen GG-mais (0,4%, niet geïdentificeerd) en GG-soja (1,6%, niet geïdentificeerd) gevonden worden, is het niet mogelijk om een uitspraak te doen over mogelijke nadelige effecten van elk van de aanwezige GG-elementen (epsps-gen, de Cry-eiwitten) of ten aanzien van effecten van stacking. Doordat de proefdierdiëten niet nader geanalyseerd zijn is het ook niet mogelijk om een uitspraak te doen ten aanzien van mogelijke 'unintended effects' in het algemeen: door de verschillende bronnen van variatie is het mogelijk en waarschijnlijk dat er statistisch relevante verschillen tussen de twee groepen

worden gevonden. Hierbij is het in deze opzet niet mogelijk om onderscheid te maken tussen random verschillen en mogelijk toxicologische relevante verschillen. Echter, gezien het feit dat de vier onderliggende GG-variëteiten in goed opgezette studies uitgebreid zijn getoetst zonder dat er indicaties zijn gevonden voor mogelijk toxicologisch relevante onbedoelde neveneffecten van de genetische modificatie, maakt het aannemelijk dat de gevonden verschillen in deze studie random verschillen tussen de groepen betreffen.

Vraag 3

De conclusie dat de uitkomsten van deze studie aanleiding moeten zijn voor langdurige proefdierstudies met GG plantvariëteiten is onvoldoende onderbouwd. Zie de antwoorden op vragen 1 en 2 voor de gesignaleerde zwaktes in de studie die het niet mogelijk maken om wetenschappelijk verantwoorde conclusies te trekken ten aanzien van mogelijke effecten van GG-diervoeder in het algemeen, dan wel met betrekking tot de gebruikte GG-variëteiten in deze studie. Daarnaast zijn ook de evaluatie en interpretatie van de verkregen data niet goed uitgevoerd.

Verder is het gevonden verschil in de gewichten van de uteri mogelijk te verklaren door de aanwezigheid in verschillende concentraties van mycotoxinen met estrogene werking in de diëten (slechts eenmalig bepaald in het dieet aan het begin van de studie en niet meer tijdens de studie zelf, zodat effecten van opslag niet meegenomen zijn in de analyse van de studie), en/of het feit dat de dieren op een leeftijd van 22,7 weken al in de puberteit kunnen zijn, waardoor verschillen in uterus-gewichten op kunnen treden. Belangrijk hierbij is dat het 'outbred' varkens betreft, die dus genetisch variëren en daarmee ook kunnen variëren ten aanzien van bijvoorbeeld de inzet van de puberteit. Ten slotte is de concentratie fyto-estrogenen in de verschillende soja-partijen ook niet bepaald.

Vershillen hierin zouden de gevonden verschillen ook (mede) kunnen verklaren. Hierbij kan nog opgemerkt worden dat de range in de uterus-gewichten groter is in de non-GG groep in vergelijking met de groep dieren die GG-materiaal gevoederd kreeg.

Het vermelde verschil in maagontstekingen is, ook gezien de verhoudingen in 'matige' ontstekingen (die meer voorkomen in de dieren die het conventionele dieet kregen), mogelijk een random effect. Maagontsteking, en met name de mate daarvan kan men niet diagnosticeren uitsluitend op basis van een kleurverschil, en zeker niet na 5 maanden. Het is slechts een indicatie om hier nader sampling te doen voor histopathologisch onderzoek. Dit is niet gebeurd. Bovendien past roodheid (hyperaemie) meer bij een acuut effect dan bij een chronische blootstelling. Daarnaast is te verwachten dat bij een chronische maagontsteking er problemen met de voedselopname/vertering optreden. Dit is niet waargenomen bij parameters als groei en voederconversie die meestal zeer gevoelig zijn op dit punt. Het gehanteerde classificatie-systeem is eveneens niet helder beschreven.

Als de waargenomen effecten op de maag al relevant zouden zijn, dan speelt de vraag of de gevonden gehalten fumonisinen en de verschillen tussen de twee diëten een rol kunnen

hebben gespeeld. Varkens zijn relatief gevoelig voor deze toxines, hetgeen ook tot uiting komt in de relatief lage Guidance value van 5 ppm (2006/576/EC). In het GM voer

werd 3 ppm gemeten, in het non-GM-voer 1,2 ppm, waarbij onduidelijk is of de kwantificering correct is uitgevoerd. Er zijn in de literatuur meldingen te vinden van effecten van fumonisinen op de maag bij varkens, zij het met hogere doseringen, maar wel kortere tijdsduur (EFSA, 2005). Het lijkt op zijn minst onhandig om met dusdanig besmette voeders een dierproef uit te voeren.

Vraag 4

De 4 maïsvarianten zijn toegelaten in de EU voor diervoeder en als levensmiddel.

Vraag 5

Binnen Europa (als ook in de Verenigde Staten) worden GG-variëteiten in alle gevallen voor zowel toepassingen in diervoeders als in levensmiddelen beoordeeld. Er is geen reden om aan te nemen dat GG-variëteiten die veilig zijn bevonden voor gebruik in diervoeders indirecte negatieve effecten voor de mens zouden kunnen hebben door de consumptie van de afgeleide dierlijke producten. Dit wordt impliciet meegenomen in de evaluatie van gebruik van de GG-variëteit in diervoeder.

Vraag 6

De studie geeft geen aanleiding om de EFSA-risicobeoordelingsrichtsnoeren te herzien.

Vraag 7

Er is geen aanleiding om te twijfelen over de veiligheid van de gebruikte GG-varianten. De GG-variëteiten die in deze studie zijn gebruikt zijn uitgebreid op veiligheid getoetst binnen het Europese systeem van veiligheidsbeoordeling van GG-variëteiten voorafgaand aan marktintroductie. Het feit dat in deze Europese evaluatie geen enkele indicatie is gevonden van mogelijke onbedoelde negatieve (bij-)effecten van de genetische modificatie, geeft deze in veel opzichten gemankeerde studie geen aanleiding om te twijfelen over de veiligheid van de gebruikte GG-variëteiten.

Vraag 8

Op basis van deze studie is er geen aanleiding om de huidige EFSA-richtlijn hieromtrent te herzien, die aanvullende studies alleen noodzakelijk acht wanneer daar vanuit korter durende studies aanleiding toe zou zijn. De studie van Carman et al. geeft geen aanleiding tot herziening van de veiligheidsbeoordeling door EFSA van de individuele GG-variëteiten, die aanvullende studies niet nodig achtte.

Vraag 9

Op basis van de studie van Carman et al. zijn er vanuit wetenschappelijk perspectief geen nadere acties nodig of wenselijk.

Vraag 10

Voor zover ons bekend is de studie bij EFSA bekend en besproken, maar heeft EFSA nog geen mandaat om de studie nader te evalueren. De EFSA heeft voorsnog ook geen noodzaak gezien om de studie ongevraagd nader te evalueren.

Referenties:

Carman JA, Vlieger HR, Ver Steeg LJ, Sneller VE, Robinson GW, Clinch-Jones CA, Haynes JI and JW Edwards (2013). A long-term toxicology study on pigs fed a combined genetically modified (GM) soy and GM maize diet. *Journal of Organic Systems* 8 (1): 38-54. Open access full text: <http://www.organic-systems.org/journal/81/8106.pdf>
EFSA Scientific Committee; 2011. EFSA guidance on conducting repeated-dose 90-day ral toxicity study in rodents on whole food/feed. *EFSA Journal* 2011;9(12):2438 [21 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2011.2438. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal
EFSA (2005) Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to

fumonins as undesirable substances in animal feed. The EFSA Journal 235, 1 – 32.

Afkortingen:

GM = Genetically Modified
GGO = Genetische Gemodificeerd Organisme
GG = Genetisch Gemodificeerd

Bijlage Statistische analyse

Statistical analysis of stomach lesions

The stomach inflammation is tested for each severity category separately. Although this approach is not unusual, it is inappropriate, since the severity categories reflect degrees in the same biological parameter. The observations by Carman et al. illustrate why this is an inappropriate. While the frequency of severe lesions is higher in the treated group, the frequency of moderate lesions is higher in the control group (and practically significant). It should be noted that the borderline between moderate and severe is not clear-cut, and part of the observed severe lesions might be close to moderate and vice versa. As the authors state: "For a severe level of inflammation, almost the whole fundus had to be swollen and cherry-red in colour". The criterion "almost the whole fundus" clearly shows that the borderline between moderate and severe is not very strict, so that misclassification can easily occur.

There is a statistical approach ("latent variable model") that can test ordinal data treating the inflammation as a single parameter while taking the observed severities into account. In this way misclassifications in severity categories is taken into account as well (as "measurement error"). This test is not in the standard statistical textbooks, and will be briefly discussed.

Brief description of the latent variable model.

The inflammation may be regarded as a gradually increasing phenomenon. One may imagine that even within a given severity category animals differ in severity, and that each animal could in theory be associated with its individual severity level with some quantitative value. However, the individual severity cannot be quantified, and instead the inspector uses categories. So, each category in fact reflects a range of individual severities, separated by certain cut-off points in the minds of the inspectors. The statistical test assumes that the individual severities follow a normal distribution, with unknown cut-off points between severity categories. This normal distribution can be fitted to the observed frequencies of severity categories, where the cut-off points are unknown parameters to be estimated. Next, the likelihood-ratio test can be used to test the hypothesis that the mean of the distributions differ between treatments. This latent variable model may be applied to the observed frequencies of stomach lesions.

Fitting the model assuming that the distribution differs between treatments results in:

b- : -0.2124

th-1 : 1.283

th-2 : -1.2691

th-3 : -0.89284

log-likelihood: -183.84

where b is an estimate of the difference in means of the latent variable model, and th1, th2, th3 are the estimated cut-off points.

Fitting the model assuming the same distribution for both treatments results in:

th-1 : 1.3868

th-2 : -1.2741

th-3 : -0.88247

log-likelihood: -184.54

Assuming two distributions results in a higher log-likelihood ("better fit") than when assuming the same distribution (because there is one more parameter in the model), but the increase is non-significant (likelihood ratio test; $P = 0.24$).

Conclusion: There is no significant difference in stomach inflammation.