



Bern, 26. Juli 2013

Beurteilung der Lebensmittelsicherheit und Angaben zum analytischen Nachweis geringer Anteile von Material aus gentechnisch verändertem Mais 59122 (DAS-59122-7) in Lebensmitteln

Bericht

Zusammenfassung

Mais 59122 ist eine gentechnisch veränderte, schädlingsresistente und herbizidtolerante Linie von Mais (*Zea mays* L.). Mais 59122 ist in der Schweiz zur Verwendung in Lebensmitteln nicht bewilligt, in verschiedenen Ländern hingegen zur Verwendung in Lebensmitteln sowie zum Anbau zugelassen. Mais 59122 wurde von den zuständigen Behörden verschiedener Länder als sicher für die Verwendung in Lebensmitteln beurteilt, namentlich von der Europäischen Lebensmittelsicherheitsbehörde (European Food Safety Authority, EFSA).

Es ist nicht auszuschliessen, dass Lebensmittel, die Spuren von Mais 59122 enthalten, in der Schweiz in Verkehr gelangen. Mais 59122 wurde deshalb bezüglich einer möglichen Gefährdung der Gesundheit des Menschen durch geringe Anteile in Lebensmitteln durch das Bundesamt für Gesundheit gemäss den Kriterien des Codex Alimentarius bewertet. Gemäss dieser Bewertung kann eine Gesundheitsgefährdung durch geringe Anteile von Mais 59122 in Lebensmitteln nach dem Stand der Wissenschaft ausgeschlossen werden. Eine Methode zum analytischen Nachweis von Spuren von Mais 59122 in Lebensmitteln und das dazu nötige Referenzmaterial stehen für die Anwendung in der Schweiz zur Verfügung.

Aus Sicht des Gesundheits- und Täuschungsschutzes bestehen keine Einwände gegen die Gewährung einer Toleranz für Spuren von Mais 59122 in Lebensmitteln nach Artikel 23 der Lebensmittel- und Gebrauchsgegenständeverordnung (LGV, SR 817.02).

Ausgangslage

Mais (*Zea mays* L.) der Linie Mais 59122 (Erkennungsmarker: DAS-59122-7) der Firmen Pioneer HiBred International, Inc. und Mycogen Seeds (Dow AgroSciences LLC) wurde gentechnisch verändert, um eine Resistenz gegenüber einer Gruppe von Schadinsekten der Gattung *Diabrotica* zu erreichen. Mais 59122 ist zudem gegen den Herbizidwirkstoff Glufosinat (in verschiedenen Produkten, z.B. Basta[®] oder Liberty[®], enthalten) tolerant. Saatgut von Mais 59122 wird unter dem Handelsnamen Herculex[®] RW vermarktet.

Für Mais 59122 wurde ein Gesuch der Firma Pioneer Hi-Bred um Bewilligung zur Verwendung in Lebensmitteln in der Schweiz eingereicht. Das Gesuch ist zur Zeit in Bearbeitung.

Mais 59122 ist in Australien, China, der Europäischen Union, Japan, Kanada, Kolumbien, Korea, Mexiko, Neuseeland, den Philippinen, Taiwan und den Vereinigten Staaten zur Verwendung in Lebensmitteln zugelassen (Ref. 3). Zum Anbau ist Mais 59122 namentlich in Kanada und den Vereinigten Staaten zugelassen. Es ist deshalb nicht auszuschliessen, dass in die Schweiz

eingeführter Mais oder eingeführte Produkte, die Mais enthalten oder daraus gewonnen wurden, trotz Anstrengungen zur Warenflusstrennung Spuren von Mais 59122 enthalten.

Rechtliche Grundlage

Das Lebensmittelrecht sieht vor, dass Spuren nicht bewilligter, gentechnisch veränderter Pflanzen in Lebensmitteln toleriert werden können, wenn bestimmte Bedingungen erfüllt sind. Namentlich ist der Schutz der Gesundheit des Menschen zu gewährleisten.

Die Voraussetzungen für die Toleranz solcher Spuren sind in Artikel 23 der Lebensmittel- und Gebrauchsgegenständeverordnung (LGV, SR 817.02) festgelegt. Die Einzelheiten sind in der Verordnung des EDI über gentechnisch veränderte Lebensmittel (VGVL, SR 817.022.51), namentlich in Artikel 6a VGVL, geregelt.

Auftrag

Aufgrund der Möglichkeit des Vorhandenseins von Spuren von Mais 59122 in Lebensmitteln ist zu prüfen, ob die Voraussetzungen für eine Toleranz für solche Spuren gegeben sind. Das Bundesamt für Gesundheit BAG ist dabei federführende Behörde. Es bewertet die Lebensmittelsicherheit von Spuren von Mais 59122 und prüft, ob die Grundlagen für den analytischen Nachweis solcher Spuren öffentlich verfügbar sind.

Bewertungen durch ausländische Behörden

Mais 59122 wurde von verschiedenen ausländischen Behörden bezüglich der Lebensmittelsicherheit bewertet. Das Wissenschaftliche Gremium für genetisch veränderte Organismen der Europäischen Lebensmittelsicherheitsbehörde (European Food Safety Authority, EFSA) gelangte in seinem Gutachten vom 23. März 2007 zum Schluss, dass Mais 59122 genauso sicher wie herkömmlicher Mais sei und dass es unwahrscheinlich sei, dass das Inverkehrbringen von Mais 59122 zur Verwendung in Lebensmitteln und Futtermitteln auf die Gesundheit von Mensch und Tier und auf die Umwelt negative Auswirkungen habe (Ref. 6). Diese Bewertung wurde in einem weiteren Gutachten des gleichen Gremiums, welches sich vertieft mit der Frage der Umweltsicherheit vom Mais 59122 befasste, bestätigt (Ref. 7). Diese Bewertungen wurden aufgrund der Verordnung (EG) Nr. 1829/2003 vorgenommen. Die rechtliche Grundlage der Bewertung ist mit dem Schweizer Recht vergleichbar. Die Voraussetzung nach Artikel 6a Absatz 1 Buchstabe a VGVL ist demnach gegeben.

Bewertung geringfügiger Anteile von Material aus Mais der gentechnisch veränderten Linie 59122 (DAS-59122-7) in Lebensmitteln bezüglich der Lebensmittelsicherheit

Die Lebensmittelsicherheit geringfügiger Anteile von Material aus Mais 59122 in Lebensmitteln wurde durch das BAG bewertet. Für die Bewertung wurden die Kriterien des Anhangs zur Sicherheitsbewertung von Spuren von Lebensmitteln aus gentechnisch veränderten Pflanzen zur Richtlinie des Codex Alimentarius zur Lebensmittelsicherheitsbewertung von Lebensmitteln aus gentechnisch veränderten Pflanzen herangezogen (Ref. 4).

Beschreibung der gentechnisch veränderten Pflanze

Die Maislinie 59122 ist eine gentechnisch veränderte Linie von Mais (*Zea mays* L.). Die gentechnische Veränderung besteht im Wesentlichen in der Einführung und Expression eines Gens für zwei Kristallproteine, die delta-Endotoxine Cry34Ab1 und Cry35Ab1 aus *Bacillus thuringiensis* Stamm PS149B1, welche der Pflanze eine Resistenz gegen bestimmte Arten der Ordnung Coleoptera (Käfer), namentlich den Westlichen Maiswurzelbohrer (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte), verleihen. Mais 59122 ist zudem durch die Einführung und Expression eines Gens aus *Streptomyces viridochromogenes* für das Enzym Phosphinothricin-N-Acetyltransferase gegen den Herbizidwirkstoff Glufosinat tolerant.

Beschreibung der Empfängerpflanze

Die Empfängerpflanze ist Mais (*Zea mays L.*), eine Art der Familie Poaceae, Linie Hi-II (Ref. 6). Die Linie Hi-II ist eine Kreuzung der Inzuchtlinien A188 and B73 (Ref. 8).

Beschreibung der Spenderorganismen

Kartoffel (*Solanum tuberosum L.*) ist eine Art der Familie der Nachtschattengewächse (Solanaceae).

Mais (*Zea mays L.*) und Weizen (*Triticum aestivum L.*) sind Arten der Familie der Süßgräser (Poaceae).

Bacillus thuringiensis ist eine Art der Familie Bacillaceae.

Streptomyces viridochromogenes ist eine Art der Familie Streptomycetaceae, Stamm Actinobacteriae.

Agrobacterium sp. ist eine Gattung der Familie Rhizobiaceae.

Blumenkohlmosaikvirus (Cauliflower mosaic virus, CaMV) gehört zur Gattung Caulimovirus der Familie Caulimoviridae. CaMV ist ein Pararetrovirus und hat einen weiten Wirtsbereich in der Familie der Kreuzblütengewächse (Brassicaceae).

Beschreibung der gentechnischen Veränderung

Ziel der gentechnischen Veränderung war die Resistenz der Maispflanze gegen bestimmte Schadinsekten der Gattung *Diabrotica* sp. und die Toleranz gegen den Herbizidwirkstoff Glufosinat.

Embryogene Zellen von Mais wurden durch die Einführung einer DNA-Sequenz mittels Gentransfer durch *Agrobacterium tumefaciens* gentechnisch verändert.

Die für die gentechnische Veränderung verwendete DNA-Sequenz ist der Abschnitt zwischen den T-DNA-Bordersequenzen des binären Vektorplasmids PHP17662. Diese T-DNA enthält drei Expressionskassetten, zwei mit den codierenden Sequenzen *cry34Ab1* und *cry35Ab1* für die delta-Endotoxine (Bt-Toxine) Cry34Ab1 und Cry35Ab1, die dritte mit der codierenden Sequenz *pat* für das Enzym Phosphinothricin-N-Acetyltransferase. Die T-DNA hat eine Länge von 7773 bp (FSANZ, 2005 Ref. 8) und enthält kein weiteres Erbmateriale des Vektorplasmids.

Die Expression der codierenden Sequenz *cry34Ab1* mit einer Länge von 369 bp bewirkt die Produktion des delta-Endotoxins Cry34Ab1. Steuerungssignale der Expression von *cry34Ab1* sind der Ubiquitin-Promotor mit einer nicht translatierten Sequenz aus Mais und der Terminator des Proteinase-Inhibitor II-Gens (*pinII*) aus der Kartoffel (Ref. 11).

Die Expression der codierenden Sequenz *cry35Ab1* mit einer Länge von 1152 bp bewirkt die Produktion des delta-Endotoxins Cry35Ab1. Steuerungssignale der Expression von *cry35Ab1* sind der Peroxidase-Promotor aus Weizen und der Terminator des Proteinase-Inhibitor II-Gens (*pinII*) aus der Kartoffel (Ref. 11).

Das Expressionsprodukt von *cry34Ab1* ist das Protein Cry34Ab1 mit einer Länge von 123 Aminosäuren. Das Produkt weist ein Molekulargewicht von etwa 14 kDa auf. Das Expressionsprodukt von *cry35Ab1* ist das Protein Cry35Ab1 mit einer Länge von 383 Aminosäuren. Das Produkt weist ein Molekulargewicht von etwa 44 kDa auf (Ref. 8). Die beiden Proteine wirken gemeinsam als binäres Toxin. Cry34Ab1 alleine zeigt in Larven des Maiswurzelbohrers toxische Wirkung, während Cry35Ab1 alleine nicht aktiv ist (Ref. 6). Die beiden Proteine binden an verschiedene Rezeptoren an der Oberfläche von Epithelzellen des Mitteldarms bestimmter Insektenarten der Ordnung Coleoptera (Käfer). Die Aktivität der Proteine führt zur Bildung von Membranporen (Ref. 16, 17, 19).

Die Expression der codierenden Sequenz *pat* mit einer Länge von 552 bp bewirkt die Produktion des Enzyms Phosphinothricin-N-Acetyltransferase (PAT). Steuerungssignale der Expression von *pat* sind der 35S-Promotor und der 35S-Terminator aus dem Blumenkohlmosaikvirus (Cauliflower Mosaic Virus, CaMV). (Ref. 6, 8).

Das Expressionsprodukt von *pat* ist das Protein PAT mit einer Länge von 183 Aminosäuren. Das reife Produkt ist ein Homodimer mit einem Molekulargewicht von ungefähr 43 kDa. PAT katalysiert

die Acetylierung des Herbizidwirkstoffes Glufosinat bzw. Phosphinothricin. Das Reaktionsprodukt ist N-Acetylglufosinat (Ref. 6, 8).

Charakterisierung der gentechnischen Veränderung

Durch den Gentransfer wurde eine Kopie der T-DNA des Plasmids PHP17662 in das Maisgenom eingefügt. Diese eingefügte T-DNA wurde sequenziert (Ref. 6).

Der Insert enthält die intakte Sequenz der T-DNA des Plasmids PHP17662 und damit je eine intakte Kopie der verwendeten Sequenzen *cry34Ab1*, *cry35Ab1* und *pat*. Es wurden zwei Punktmutationen im Peroxidase-Promoter sowie Deletionen von 22 bp (5'-Ende, T-DNA Right border) und 25 bp (Left Border) gezeigt (Ref. 6, 8).

Mit Ausnahme der T-DNA wurden keine Teile des Plasmids PHP17662 ins Maisgenom integriert. Namentlich wurde durch molekulare Analyse gezeigt, dass die in PHP17662 enthaltenen Antibiotikaresistenzgene nicht ins Genom von Mais 59122 übertragen worden sind (Ref. 6).

Neben dem Insert wurden auch die flankierenden Sequenzen im Genom des transgenen Maises, und zwar 2593 bp angrenzend ans 5'-Ende und 1986 bp angrenzend ans 3'-Ende der eingefügten T-DNA, sequenziert. Es wurde gezeigt, dass die an den Insert angrenzenden Sequenzen Teile des ursprünglichen Maisgenoms darstellen (Ref. 11). Diese Sequenzen zeigen signifikante Homologie zu nicht translatierten Teilen des Alkoholdehydrogenase-Gens sowie zu Expressed Sequence Tags von Mais (Ref. 6).

Die Bildung neuer offener Leseraster in den Regionen der Insertionsschnittstellen wurde untersucht. Neue offene Leseraster von signifikanter Länge (d.h. für über 100 Aminosäuren) wurden keine gefunden (Ref. 11). Über dem 5'-Ende des Inserts wurde ein Leseraster für 45 Aminosäuren gefunden; die aus der DNA-Sequenz abgeleitete Aminosäuresequenz weist aber keine signifikante Homologie zu bekannten Toxinen oder Allergenen auf (Ref. 6).

Proteinextrakte aus Blättern, Pollen, Wurzeln, Stengeln, Körnern sowie ganzen Pflanzen von Mais 59122, die in Europa, Chile sowie Nordamerika angebaut worden waren, wurden mittels ELISA auf die Anwesenheit der Proteine Cry34Ab1 und Cry35Ab1 untersucht. In allen Pflanzenteilen konnten die Proteine nachgewiesen werden.

Die Konzentration von Cry34Ab1 und Cry35Ab1 in Körnerproben unterschiedlicher Herkunft wurde ermittelt. Der Anteil von Cry34Ab1 in Proben aus Europa betrug $61.8 \pm 16.5 \mu\text{g/g}$ Trockengewicht, in Proben aus Chile $49.7 \pm 16.2 \mu\text{g/g}$ und in Proben aus Nordamerika $36.4 \pm 8.9 \mu\text{g/g}$.

Der Anteil von Cry35Ab1 in Proben aus Europa betrug $2.34 \pm 0.48 \mu\text{g/g}$ Trockengewicht, in Proben aus Chile $0.99 \pm 0.33 \mu\text{g/g}$ und in Proben aus Nordamerika $2.0 \pm 0.7 \mu\text{g/g}$ (Ref. 6).

PAT wurde in allen Probenarten nur in tiefen Anteilen nachgewiesen. In Proben aus Europa wurde PAT in allen Pflanzenteilen und in Anteilen von $0.0807 \pm 0.0800 \mu\text{g/g}$ Trockengewicht nachgewiesen (Ref. 6). Nach anderen Angaben wurde in Körnern PAT nicht gefunden (Ref. 11).

Das Transformationsereignis Mais 59122 wurde mit der Maislinie PH09B gekreuzt. Die resultierenden Pflanzen wurden mit der Linie 581 gekreuzt sowie zweimal rückgekreuzt. Die Mendelsche Segregation sowie die molekulare Analyse zeigten die genotypische und phänotypische Stabilität der transgenen Linie 59122 (Ref. 6).

Bewertung der möglichen Toxizität

Die Aminosäuresequenzen der Proteine Cry34Ab1 und Cry35Ab1 wurden mit Sequenzen aus Proteindatenbanken verglichen. Die Suche ergab 10 bzw. 22 Proteine, die Ähnlichkeiten mit Cry34Ab1 bzw. Cry35Ab1 aufweisen, meistens andere Cry-Proteine. Keine der identifizierten Sequenzen zeigt aber Ähnlichkeiten zu bekannten Toxinen, die für den Menschen relevant sind (Ref. 6).

Verschiedene toxikologische und ernährungsphysiologische Studien untersuchten die Wirkung einer Verfütterung der Proteine Cry34Ab1, Cry35Ab1 und PAT sowie von Mais 59122 an Tiere.

Untersuchungsgegenstände waren die Abklärung einer möglichen toxischen Wirkung der Proteine bzw. von Mais 59122 sowie die Eignung von Mais 59122 als Futtermittel.

Für die toxikologischen Studien bezüglich der Proteine Cry34Ab1 und Cry35Ab1 wurden bakterielle Proteine aus *Pseudomonas fluorescens* MR1253 bzw. MR1256, die als heterologe Expressionssysteme dienten, verwendet. Das Protein Cry34Ab1 aus *P. fluorescens* MR1253 ist bezüglich N-terminaler Sequenz, Grösse und Immunreaktivität sowie massenspektroskopischen Messwerten zu Cry34Ab1 aus Mais 59122 äquivalent. Cry35Ab1 aus *P. fluorescens* MR1256 unterscheidet sich vom Protein aus Mais 59122 in seiner Grösse. Das bakterielle Protein weist, verglichen mit Cry35Ab1 aus Mais 59122, eine C-terminale Deletion von vier Aminosäuren auf. Weder die bakteriellen noch die pflanzlichen Proteine Cry34Ab1 und Cry35Ab1 scheinen post-translationalen Modifikationen aufzuweisen (Ref. 6).

Der Abbau von Cry34Ab1 und Cry35Ab1 in simulierter Magenflüssigkeit wurde untersucht. Nach Inkubation während 6.5 Minuten bei Cry34Ab1 und weniger als 5 Minuten bei Cry35Ab1 waren die Proteine zu 90% degradiert (Ref. 6, 10).

In zwei Versuchen wurde die akute Toxizität von Cry34Ab1 und Cry35Ab1 durch Verabreichung von Einzeldosen an Mäusen untersucht. Im einen Versuch waren es Dosen von 2700 mg Cry34Ab1/kg Körpergewicht bzw. 1850 mg Cry35Ab1/kg Körpergewicht, im anderen Versuch eine kombinierte äquimolare Dosis der beiden Proteine. Die Tiere wurden nach Verabreichung der Proteine zwei Wochen lang beobachtet. In allen Verfahren legten die Tiere im gleichen Masse an Gewicht zu, und es wurden keine klinischen Symptome einer toxischen Wirkung beobachtet (Ref. 6, 15).

Ein weiterer Versuch betraf die tägliche Verabreichung dreier unterschiedlich hoher Dosen einer Mischung von Cry34Ab1 und Cry35Ab1 über einen Zeitraum von 28 Tagen an Mäuse. Die Dosen entsprachen der 10-, 100- und 1000-fachen Menge der maximal zu erwartenden täglichen Aufnahme von 0.197 mg Cry34Ab1/kg Körpergewicht und Tag bzw. 0.0078 mg Cry35Ab1/kg Körpergewicht und Tag beim Menschen. Futteraufnahme und Körpergewicht der Versuchstiere wurden regelmässig erfasst. Nach Abschluss der Fütterungsperiode wurden Untersuchungen bezüglich Hämatologie, klinischer Chemie, Organgewicht, Histopathologie und weiteren Parametern vorgenommen. Es wurden in keinem der Verfahren Symptome festgestellt, die mit der Verabreichung von Cry34Ab1 und Cry35Ab1 in Verbindung gebracht werden könnten (Ref. 6, 15).

Für die toxikologischen Versuche mit dem Protein PAT wurde bakterielles Protein aus *Pseudomonas fluorescens* verwendet.

Das Protein PAT wurde in simulierter Magenflüssigkeit rasch degradiert (Ref. 6).

In einem Versuch zur Abklärung der akuten Toxizität von PAT wurde Mäusen eine einzelne, hohe Dosis von PAT verabreicht. Die Dosis betrug 5000 mg PAT/kg Körpergewicht. Es wurden keine Symptome beobachtet, die mit der Fütterung mit PAT in Verbindung gebracht werden könnten (Ref. 6, 8).

Ebenso wurde über einen Zeitraum von 14 Tagen Mäusen wiederholt Futter mit zwei unterschiedlich hohen Anteilen an PAT, nämlich 5 und 50 g PAT/kg Futter, verabreicht. Die höhere Dosis entsprach einer Aufnahme von 7.6-7.9 g PAT/kg Körpergewicht und Tag. Futteraufnahme und Körpergewicht der Versuchstiere wurden täglich erfasst. Es wurden Untersuchungen bezüglich Hämatologie, klinischer Chemie, Organgewicht, Histopathologie und weiteren Parametern vorgenommen. Der Versuch ergab keine Anzeichen für einen schädlichen Effekt von PAT (Ref. 6).

In einem Fütterungsversuch wurden Ratten 90 Tage mit einer Ration gefüttert, die 35% Maiskörner enthält. Verfahren waren Mais 59122, zu Mais 59122 annähernd isogener Mais sowie eine kommerzielle Maishybridsorte (Ref. 6). Es wurden keine signifikanten Unterschiede bezüglich Körpergewicht, Gewichtszunahme, Futteraufnahme und -verwertung festgestellt. Bezüglich des Blutbildes wurden Unterschiede gefunden. In Männchen wurden Unterschiede bezüglich Retikulozyten, Erythrozytenverteilungsbreite, mittlerem korpuskulärem Hämoglobin und mittlerer korpuskulärer Hämoglobinkonzentration, in Weibchen Unterschiede bezüglich der Thrombozytenanzahl gefunden. Die Unterschiede waren aber gering, und die Werte lagen in Bereichen, die in früheren Fütterungsversuchen gefunden worden waren. Die beobachteten Unterschiede wurden deshalb als toxikologisch nicht relevant bewertet (Ref. 6, 18).

In einem ähnlichen Versuch wurden wiederum Ratten 90 Tage mit Rationen gefüttert, die diesmal 50% bzw. 70% Maisgriess enthielten. Verfahren waren Mais 59122, zu Mais 59122 annähernd isogener Mais und ein Standardfutter für Nagetiere. Unterschiede bezüglich hämatologischer und serochemischer Parameter ergaben sich zwischen den Rationen mit Mais und dem Standardfutter, nicht aber zwischen Mais 59122 und herkömmlichem Mais. Bezüglich der anderen untersuchten Parameter wurden keine Unterschiede festgestellt (Ref. 9).

Bewertung der möglichen Allergenität

Die Sequenz der Proteine Cry34Ab1 und Cry35Ab1 wurden *in silico* geprüft und mit Sequenzen von bekannten Allergenen verglichen. Es wurde einerseits nach Homologien von 8 aufeinanderfolgenden Aminosäuren, die IgE-bindenden Epitopen entsprechen könnten, und andererseits nach Peptiden, die innerhalb des Rahmens einer Proteinsequenz von 80 Aminosäuren eine Homologie von mindestens 35% zeigten, gesucht. Beide Suchen ergaben keine Homologien zu bekannten Allergenen.

Da für die Bewertung von Proteinen bezüglich einer möglichen Allergenität Übereinstimmungen von 8 Aminosäuren bzw. von 35% bezogen auf 80 Aminosäuren als Schwelle angegeben werden, wurden für Cry34Ab1 und Cry35Ab1 keine entsprechenden Bedenken geäußert (Ref. 6).

Die Sequenz von PAT wurde ebenso *in silico* geprüft. Es wurden keine Homologien von 8 Aminosäuren zu bekannten Allergenen gefunden (Ref. 6).

Der rasche Abbau von von Cry34Ab1, Cry35Ab1 und PAT in simulierter Magenflüssigkeit wurde bereits erwähnt.

Mais wird gewöhnlich nicht als allergenes Lebensmittel betrachtet. Durch Mais als Lebensmittel ausgelöste Allergien sind selten und im Wesentlichen auf Bevölkerungen bestimmter geografischer Gebiete beschränkt. Die mögliche Überexpression endogener Proteine würde somit kaum zu einer Änderung bezüglich Allergenität führen (Ref. 6).

Aus den Resultaten wird gefolgert, dass von Mais 59122 kein erhöhtes Risiko von Nahrungsmittelallergien ausgeht (Ref. 6).

Untersuchung der wichtigsten Giftstoffe

Die Substanzen Phytinsäure, Raffinose und Inositol sowie Mais-Trypsininhibitor, die nachteilige Effekte auf die Verdauung haben können (Ref. 22), wurden bestimmt. Die Gehalte in Mais 59122, ob mit Glufosinat behandelt oder nicht, und konventionellem Mais unterschieden sich nicht signifikant (Ref. 8). Das gegen Insekten wirksame Toxin 2,4-Dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one (Dimboa) ist im Maiskorn allgemein nicht festzustellen (Ref. 2).

Bewertung der Stoffwechselprodukte

Mais 59122 wurde bezüglich der stofflichen Zusammensetzung mit herkömmlichem Mais verglichen. Eine Reihe von Messungen erfasste die Parameter Protein, Fett, Asche, Kohlenhydrate, Faser (Säure-Detergenz-Faser, Neutral-Detergenz-Faser) und Mineralstoffe (Elemente Ca, P). Die Maispflanzen stammten aus nord- und südamerikanischen sowie europäischen Feldversuchen, welche Verfahren mit und ohne Behandlung mit Glufosinat umfassten. Die Kontrollen bestanden aus konventionellen Linien und Hybriden von Mais. (Ref. 6).

Eine weitere Reihe von Messungen erfasste die Parameter Fettsäuren, Aminosäuren, Mineralstoffe (Elemente Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P, K, Na, Se, Zn), Vitamine (Provitamin A, Vitamine B1, B2, Folsäure, beta-Carotine, Vitamin E) (Ref. 6).

Es wurden bezüglich einiger Stoffe statistisch signifikante Unterschiede gemessen, dies aber nur vereinzelt und nicht durchgängig über die Standorte und Jahre. Zudem lagen die betreffenden Werte innerhalb der in der Literatur angegebenen Bandbreite (Ref. 6).

Weiter wurden die sekundären Stoffwechselprodukte Furfural (2-Furaldehyd), Ferulasäure und p-Cumarinsäure (Ref. 22) bestimmt. Die Gehalte an Furfural waren unter der Bestimmungsgrenze; die Gehalte bezüglich der anderen Stoffe waren mit den Werten in konventionellem Mais vergleichbar (Ref. 8).

Statistisch signifikante Abweichungen bezüglich einzelner Parameter wurden vereinzelt in ganzen Pflanzen von Mais 59122 gemessen, aber nicht durchwegs über alle Versuche (Ref. 6). Über alle Standorte und Jahre betrachtet, ergaben sich keine konsistenten statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Mais 59122 und konventionellem Mais. Die gemessenen Werte lagen im Bereich der in der Literatur publizierten Werte. Die Messungen ergaben somit, dass Mais 59122 mit konventionellem Mais vergleichbar ist, abgesehen vom Gehalt an Cry34Ab1, Cry35Ab1 und PAT im Maiskorn (Ref. 6).

Bewertung des Nährwertes

Der Nährwert von Mais 59122 wurde in Fütterungsstudien mit verschiedenen Nutztierarten untersucht.

In einem Fütterungsversuch wurde Milchkühen eine Mischration mit 23% Maiskörnern, 21% Maissilage aus ganzen Pflanzen sowie weiteren Komponenten verabreicht. Verfahren waren die Verfütterung von Mais 59122 und zu Mais 59122 annähernd isogenem Mais. Die Tiere erhielten während 6 Wochen das eine und hernach während 6 weiteren Wochen das andere Verfahren (switch back). Gemessen wurden Futtermittelverzehr, Milchleistung und Milchzusammensetzung. Es zeigten sich geringe, nicht signifikante Unterschiede bezüglich der Futteraufnahme. Der Körperzustand (bestimmt durch visuelle Taxierung) war bei Mais 59122 etwas besser. Bezüglich des Nährwertes wurden keine Unterschiede festgestellt (Ref. 1).

In einem Fütterungsversuch wurden Ochsen während 64 Tagen Rationen mit Mais verabreicht, wobei der Maisanteil von anfänglich 60.5% auf 82% in der Endphase stieg. Verfahren waren Mais 59122, zu Mais 59122 annähernd isogener Mais und eine kommerzielle Hybridsorte. Gemessen wurden Futtermittelverzehr, Futtermittelverwertung und Gewichtszunahme sowie Gewicht und Fleischqualität des Schlachtkörpers. Es wurden keine Unterschiede zwischen den Fütterungsverfahren gemessen. Daraus wurde geschlossen, dass Mais 59122 bezüglich des Nährwertes gleichwertig zu herkömmlichem Mais ist (Ref. 12).

In einem Fütterungsversuch wurden Schweinen Rationen mit Mais verabreicht. Verfahren waren Mais 59122 (mit Glufosinat behandelt), zu Mais 59122 annähernd isogener Mais und eine kommerzielle Hybridsorte; Die Fütterung erfolgte in drei Phasen, wobei der Anteil Mais in den Rationen mit zunehmendem Gewicht der Versuchstiere von 69% auf 75% und zuletzt 82% stieg. Gemessen wurden Gewichtszunahme, Futtermittelverzehr und -verwertung sowie die Schlachtkörperzusammensetzung. Es wurden keine Unterschiede zwischen Mais 59122 und der annähernd isogenen Linie gefunden. Die Autoren schlossen, dass Mais 59122 bezüglich des Nährwertes gleichwertig zu herkömmlichem Mais ist (Ref. 23).

In einem Fütterungsversuch wurde Legehennen während 12 Wochen eine Ration mit 65% Mais verabreicht. Verfahren waren Mais 59122, zu Mais 59122 annähernd isogener Mais und eine kommerzielle Hybridsorte. Gemessen wurden Körpergewicht, Gewichtszunahme, Futtermittelverzehr, Eierproduktion, Eigewicht und -zusammensetzung. Bei all diesen Parametern wurden keine Unterschiede gefunden. Daraus wurde geschlossen, dass es zwischen den Verfahren keinen Unterschied bezüglich der Leistung der Legehennen gab (Ref. 14).

In einem Fütterungsversuch wurden Hühnern während 42 Tagen Rationen mit Mais verabreicht. Verfahren waren unbehandelter Mais 59122, zu Mais 59122 annähernd isogener Mais und eine kommerzielle Hybridsorte; die Fütterung erfolgte in drei Phasen von 21, 14 und 7 Tagen Dauer, wobei der Anteil Mais in den Rationen von 53% auf 58% und zuletzt 70% stieg. Gemessen wurden Sterblichkeit, Körpergewicht, Gewichtszunahme, Futtermittelverwertung, Schlachtkörperzusammensetzung sowie Nieren- und Lebergewicht. Bei den weiblichen Tieren wurde eine Erhöhung des Lebergewichts beim Verfahren Mais 59122 gegenüber der annähernd isogenen Linie festgestellt. Das Resultat lag aber innerhalb der Bandbreite der Resultate mit den kommerziellen Sorten und wurde als statistisch nicht signifikant bewertet. Bezüglich der anderen Parameter ergaben sich keine Unterschiede zwischen den Verfahren. Die Nährwerte von Mais 59122 und der annähernd isogenen Linie wurde deshalb als gleichwertig bezeichnet (Ref. 21).

Lebensmittelverarbeitung

Mais 59122 ist substantiell äquivalent zu herkömmlichem Mais. Es ist deshalb davon auszugehen, dass aus Mais 59122 hergestellte Erzeugnisse im Lebensmittelbereich ebenfalls gleichwertig mit herkömmlichen Erzeugnissen sind.

Mögliche Anreicherung von gesundheitsrelevanten Substanzen

In Körnern von mit Glufosinat (Herbizid Liberty[®]) behandeltem Mais 59122 wurden Glufosinat-Ammonium und dessen Metaboliten gemessen. Es wurden Proben mehrerer Standorte untersucht. Die Werte lagen in einem Intervall zwischen nicht nachweisbar und 0.02 mg/kg, ausgedrückt als Glufosinat-Äquivalente (Ref. 20). Gemäss Anhang der Fremd- und Inhaltsstoffverordnung (FIV, SR 817.021.23) beträgt die zugelassene Höchstkonzentration für Glufosinat in Mais 0.05 mg/kg (Toleranzwert). Das Vorkommen von Spuren von Mais 59122 sollte demnach nicht zur Überschreitung des Toleranzwertes in Lebensmitteln führen.

Antibiotikaresistenzmarker

Das Erbgut von Mais 59122 enthält keine gentechnisch eingebrachten Antibiotikaresistenzgene.

Analytischer Nachweis von Mais 59122

Der analytische Nachweis von Mais 59122 ist als validierte Methode in einem Protokoll des Referenzlabors der Europäischen Union für GVO-Lebens- und Futtermittel (European Union Reference Laboratory for Genetically Modified Food and Feed, EURL-GMFF) beschrieben (Ref. 5). Es handelt sich um eine molekularbiologische Methode, die auf dem spezifischen Nachweis der gentechnischen Veränderung im Erbgut von Mais 59122 mittels Polymerase-Kettenreaktion beruht. Die Methode ist für den Nachweis in Maiskörnern und -mehl geeignet. Die relative Nachweisgrenze liegt gemäss Angaben der Entwickler der Methode, Pioneer Hi-Bred International und GeneScan Analytics GmbH, bei 0.045%. Die relative Bestimmungsgrenze liegt nach Angaben der Entwickler der Methode bei 0.09%.

Das zertifizierte Referenzmaterial ERM-BF424 wird von der Gemeinsamen Forschungsstelle (Joint Research Centre, Institute for Reference Materials and Measurements, JRC-IRMM) der Europäischen Kommission hergestellt und ist dort verfügbar (Ref. 13).

Schlussfolgerung

Die Prüfung durch das BAG nach Artikel 6a Absatz 1 Buchstabe b Ziffer 2 VGVL ergibt, dass eine Gesundheitsgefährdung des Menschen durch den Genuss von Lebensmitteln, die bis zu einem Anteil von 0.5% Material enthalten, das aus gentechnisch verändertem Mais der Linie 59122 oder deren Kreuzungen mit herkömmlichem Mais besteht oder daraus gewonnen ist, nach dem Stand der Wissenschaft ausgeschlossen werden kann. Der analytische Nachweis der genannten Anteile in Lebensmitteln nach Artikel 6a Absatz 1 Buchstabe b Ziffer 3 VGVL ist möglich. Bezüglich des Schutzes der Gesundheit des Menschen und des Täuschungsschutzes bzw. des Schutzes der Wahlfreiheit des Konsumenten steht einer Aufnahme von Mais 59122 in den Anhang 2 nach Artikel 6a Absatz 5 der VGVL nichts entgegen.

Abteilung Lebensmittelsicherheit
Sektion Mikrobiologische und Biotechnologische Risiken

Referenzen

1. Brouk *et al.*, 2011. Performance of lactating dairy cows fed corn as whole plant silage and grain produced from genetically modified corn containing event DAS-59122-7 compared to a nontransgenic, near-isogenic control. *J Dairy Sci* 94:1961-1966.
2. Cambier *et al.*, 2000. Variation of DIMBOA and related compounds content in relation to the age and plant organ in maize. *Phytochemistry* 53:223-229.
3. Center for Environmental Risk Assessment, GM Crop Database, Stand Juni 2013. Maize DAS-59122-7 (DAS-59122-7).
4. Codex Alimentarius Commission, 2008. Guideline for the Conduct of Food Safety Assessment of Foods Derived from Recombinant-DNA Plants (CAC/GL 45-2003), Annex 3: Food Safety Assessment in Situations of Low-Level Presence of Recombinant-DNA Plant Material in Food.
5. CRL (European Commission, Community Reference Laboratory), 2005. Event-specific method for the quantitation of maize 59122 using real-time PCR. Protocol.
6. EFSA (European Food Safety Authority), 2007. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-12) for the placing on the market of insect-resistant genetically modified maize 59122, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003, from Pioneer Hi-Bred International, Inc. and Mycogen Seeds, c/o Dow Agrosciences LLC. *The EFSA Journal* 470:1-25. Adopted: 23 March 2007, published: 3 April 2007.
7. EFSA (European Food Safety Authority), 2013. Scientific Opinion on an application from Pioneer Hi-Bred International and Dow AgroSciences LLC (EFSA-GMO-NL-2005-23) for placing on the market of genetically modified maize 59122 for food and feed uses, import, processing and cultivation under Regulation (EC) No 1829/2003. *EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO)*. *EFSA Journal* 11(3):3135. Adopted: 06 March 2013, published: 26 March 2013.
8. FSANZ (Food Standards Australia New Zealand), 2005. Final Assessment Report, Application A543, Food derived from insect-protected, glufosinate ammonium-tolerant Corn Line 59122-7.
9. He *et al.*, 2008. Comparison of grain from corn rootworm resistant transgenic DAS-59122-7 maize with non-transgenic maize grain in a 90-day feeding study in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 46:1994-2008.
10. Herman *et al.* 2003. Rapid Digestion of Cry34Ab1 and Cry35Ab1 in Simulated Gastric Fluid. *J Agric Food Chem* 51:6823–6827.
11. Herman *et al.* 2007. Compositional assessment of event DAS-59122-7 maize using substantial equivalence. *Regul Toxicol Pharmacol* 47:37-47.
12. Huls *et al.*, 2008. Effect of Feeding DAS-59122-7 Corn Grain and Nontransgenic Corn Grain to Individually Fed Finishing Steers. *Professional Animal Scientist* 24:572-577.
13. IRMM (European Commission, Joint Research Centre, Institute of Reference Materials and Measurements), 2013. Certified Reference Materials 2013.
14. Jacobs *et al.*, 2008. Performance of Laying Hens Fed Diets Containing DAS-59122-7 Maize Grain Compared with Diets Containing Nontransgenic Maize Grain. *Poultry Sci* 87:475-479.
15. Juberg *et al.*, 2009. Acute and repeated dose (28 day) mouse oral toxicology studies with Bt proteins used in coleopteran resistant DAS-59122-7 corn. *Regul Toxicol Pharmacol* 54:154-163.
16. Kaiser-Alexnat *et al.*, 2009. Studies on the proteolytic processing and binding of Bt toxins Cry3Bb1 and Cry34Ab1/Cry35Ab1 in the midgut of Western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte). *Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes, IOBC/wprs Bull* 45:235-238.
17. Kaiser-Alexnat *et al.*, 2010. Untersuchungen zur Verarbeitung der *B.t.*-Toxine Cry3Bb1 und Cry34Ab1/Cry35Ab1 im Mitteldarm des Westlichen Maiswurzelbohrers. *J Kulturpfl* 61:135-200.

18. Malley *et al.*, 2007. Subchronic feeding study of DAS-59122-7 maize grain in Sprague-Dawley rats. *Food Chem Toxicol* 45:1277-1292.
19. Masson *et al.*, 2004. A novel *Bacillus thuringiensis* (PS149B1) containing a Cry34Ab1/Cry35Ab1 binary toxin specific for the western corn rootworm *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte forms ion channels in lipid membranes. *Biochemistry* 43:12349-12357.
20. McCormick, 2006. Magnitude of the Residue of Glufosinate and its Metabolites in DAS-59122-7 and DAS-Ø15Ø7-1 X DAS-59122-7 Transgenic Field Corn. Dow AgroSciences LLC, Indianapolis IN, USA. Study ID:040054.
21. McNaughton *et al.*, 2007. Comparison of grain from corn rootworm resistant transgenic DAS-59122-7 maize with non-transgenic maize grain in a 90-day feeding study. *Animal Feed Sci Technol* 132:227-239.
22. OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development), 2002. Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Maize (*Zea mays*): Key Food and Feed Nutrients, Anti-Nutrients and Secondary Plant Metabolites. OECD Environmental Health and Safety Publications, Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, No. 6; ENV/JM/MONO(2002)25. OECD consensus document.
23. Stein *et al.*, 2009. Evaluation of corn grain with the genetically modified input trait DAS-59122-7 fed to growing-finishing pigs. *J Anim Sci* 87:1254-1260.