

arquivar em 21/09/2000-04
0004/2002-74

Faculdade de Ciências e Tc
1895
[Signature]



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas

A SETORIAL
PROVIDÊNCIA S
em 04.09.07
[Signature]

MCT / CTNBio
03 SET 2007
Número de Controle:
30517 / 07

São Paulo, 6 de agosto de 2007

Atendendo ao convite que me foi feito pelo coordenador geral da CTNBio, Dr. Jairo Alcir Santos do Nascimento, para emitir um parecer técnico sobre a liberação comercial de milhos resistentes a insetos da ordem Lepidoptera (Milho Bt. 11 e Milho ICP-4), esclareço que vou me ater aos aspectos toxicológicos para humanos e algumas considerações ao meio ambiente que este tema suscita.

A tecnologia do DNA recombinante produziu o milho Bt11, que contém uma endotoxina cujo principio ativo é o mesmo do inseticida biológico, comercializado há quatro décadas, o formulado contendo *Bacillus Thuringiensis* (Bt). A avaliação do risco deste produto pela Agencia de Proteção Ambiental (EPA) dos Estados Unidos da América concluiu que não existe evidência de efeito nocivo, quando usado de acordo com a boa prática agrícola.

A avaliação do risco para substancias químicas utiliza os preceitos estabelecidos por Paracelsus (1493-1541), de que a dose ou concentração são fundamentais no estabelecimento de relações de causa/efeito. Além disso, para o aparecimento de sinais e sintomas, no caso de uma exposição aos contaminantes químicos, são de relevância o tempo e a frequência da exposição, as vias de introdução no organismo, as propriedades fisicoquímicas do contaminante e a susceptibilidade entre as espécies consideradas. O estado da arte na avaliação da toxicidade preconiza o uso de ensaios de experimentação animal, como forma



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas

científica da caracterização qualitativa e quantitativa do potencial de efeitos adversos à saúde humana causada pela exposição a toxicantes ambientais ou presentes em alimentos. Desta forma, sempre que viável, realizam-se os ensaios toxicológicos de xenobióticos em animais de experimentação, administrando-os pelas vias de exposição que permitam a extrapolação dos resultados observados em animais para humanos. Esta extrapolação nos permite estabelecer a IDA ou Dose de Referência, cujo conceito é o de que um indivíduo poderá se expor a dose desta substância todos os dias por toda a vida sem que se observem efeitos nocivos decorrentes dessa exposição.

Dessa forma, o estudo da proteína Btk do milho Bt11 foi conduzido por via oral aguda em ratos, bem como ensaios de digestibilidade. No ensaio de digestão simulada observou-se que a meia vida da proteína é inferior a 30 segundos no sistema gástrico e que no sistema intestinal a proteína de cadeia completa é convertida no fragmento central resistente à tripsina. O estudo da toxicidade por via oral aguda foi conduzido em ratos, não se observando efeitos nocivos em nenhuma das doses avaliadas sendo que a maior dose testada, de 4000mg/kg de peso corpóreo, foi a considerada a NOEL do ensaio, ou seja, a maior dose na qual não se observam efeitos nocivos, estimando-se dessa forma a DL_{50} como sendo superior aos 4000mg/kg de peso corpóreo. Tabelas de classificação toxicológica consideram como de baixa toxicidade doses superiores a 2000mg/kg de peso corpóreo. Pode-se concluir que a ausência de efeitos neste ensaio estava relacionada com o baixo potencial de absorção da proteína demonstrado no estudo de digestibilidade *in vitro*, onde observou-se sua rápida degradação no fluido gástrico de mamíferos, com menos de 4% de



Em relação ao milho ICP-4, a análise dos seus componentes principais e controles isogênicos (não transgênicos) de: cinza, gordura, fibra total, umidade e proteína, amido, carotenóides (xantofilas e β -caroteno), teor de amino ácidos, vitaminas, fibra em detergente ácido, fibra em detergente neutro, perfil de ácidos graxos apresentaram algumas discrepâncias, dentro da amplitude estabelecida para milho, porém não correlacionáveis ao processo de transformação ou expressão dos genes introduzidos nas plantas ICP-4, sendo consideradas biológica e nutricionalmente insignificantes, indicando que a composição tecidual deste tipo de milho é muito semelhante aos controles não transgênicos.

Um estudo de espécies não alvo, ou seja, da toxicidade oral aguda da proteína ICP, em codornas, efetuado segundo o protocolo n. 71-1 da USEPA, concluiu que os exames anatomo-patológicos de todas as aves ao término do estudo não apresentaram anormalidades, sendo que os tecidos analisados incluíram o trato gastrointestinal, fígado, rins, coração, baço, músculo e tecido adiposo. A DL_{50} foi considerada superior a maior dose testada de 2000mg/kg de peso corpóreo, sendo portanto esta dose a NOEL (dose na qual não se observa efeito) obtida neste estudo. Esta substância seria classificada como praticamente não tóxica, de acordo com o protocolo da EPA-540/9-8-007.

O estudo de toxicidade em dose oral única para camundongos machos e fêmeas com o VIP3A-0199 foi desenvolvido de acordo com os protocolos da Organisation for Economic Cooperation and Development, n.401 e USAEPA OPPTS870.1100 (aceitos internacionalmente em avaliações de toxicidade) não observando-se nenhuma mortalidade. Os valores estimados para a DL_{50} em



camundongos machos e fêmeas serão superiores a 5000mg/kg corpóreo, sendo esta a maior dose testada. Esta dose corresponde a 2700mg/kg de proteína VIP3A/kg de peso corpóreo. Os resultados das avaliações anatomo-patológicas não apresentaram evidências de efeitos associados a substância administrada

A empresa indica que iniciará um programa de monitoramento, através da coleta de populações específicas de insetos-praga em áreas representativas da cultura de milho no Brasil visando acompanhar o potencial de seleção de indivíduos resistentes à toxina expressa no milho ICP-4, o que deve ser considerado no processo de liberação do produto.

Os ensaios, apresentados pela empresa interessada na obtenção do registro, foram realizados de acordo com as Boas Práticas de Laboratório (BPL), sistema de qualidade adequado a estudos que visam obtenção de registros em órgãos governamentais, e estão de acordo com a Organisation for Economic Cooperation and Development Principles of Good Laboratory Practices, C(97) 186 e USAFIFRA Good Laboratory Practices Standards, 40 CFR160, exceto os realizados no Brasil, que não mencionam a aderência às BPL.

Em toxicologia ambiental, como nas demais áreas de aplicação dessa ciência, o estabelecimento do binômio causa/efeito é de primordial relevância.

A extensa documentação enviada para análise não apresenta evidência de toxicidade, nas condições de uso propostas. O que permitiria recomendar que o pedido de liberação fosse deferido. Porém, é importante observar que isso só seja efetuado na ausência de informações recentes que contradigam os estudos anteriormente apresentados, uma vez que foram avaliados documentos, em sua maior parte, anteriores a 2001. Resta, portanto o interesse em saber se novos



atividade após 2 minutos. Este ensaio demonstrou a estabilidade da proteína por 19h no fluido intestinal. Não se justificaria avaliar a toxicidade desta proteína por via inalatória ou dérmica, pois apresenta alto peso molecular, não sendo volátil.

Estudo de toxicidade em ratos alimentados com a proteína em questão durante 14 dias não apresentou evidencia de toxicidade.

Estudos de resistência a antibióticos não demonstraram que o milho Bt11 contenha o gene que permita a expressão deste efeito. As evidências apresentadas pela empresa para o milho Bt11 também não demonstram que este possa produzir um efeito alergênico.

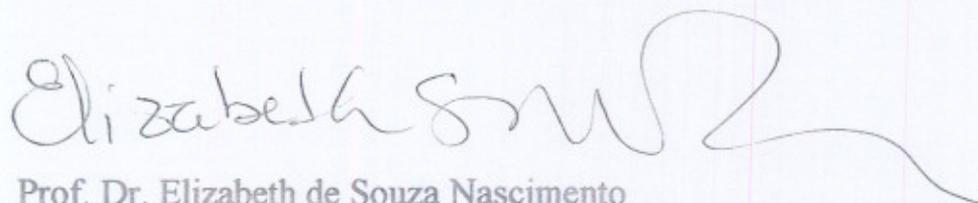
A avaliação da microbiota fúngica e produção de micotoxinas em milho transgênico Bt11 constataram que este apresentou menor contaminação por fungo quando comparado com o milho híbrido 7590, que foi significativamente mais atacado por fungos, e os fungos presentes no milho transgênico Bt11 não produziram micotoxinas, enquanto que esses fungos produziram fumosinina B1 no híbrido 7690. É sabido que o milho Bt11 é um organismo geneticamente modificado, que tem por objetivo permitir a produção de teores elevados de proteínas inseticidas, que permitem que as plantas não sofram: (1) a ação de *Fusarium* sp produtor de micotoxinas, entre elas as fumosininas acima mencionadas, cujos efeitos em animais e no homem, entre outros é o câncer e (2) de pragas como os Lepidópteros (*Diatrea saccharalis*, *Spodoptera frugiperda*, *Mocis latipes* e *Helicoverpa zea*). A ausência desta micotoxinas é uma grande vantagem, pois minimiza a exposição a compostos cancerígenos pela dieta.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas



estudos foram apresentados pela empresa, ou por pesquisadores independentes, ao longo destes últimos anos que permitam uma melhor avaliação do risco destes milhos geneticamente modificados.



Prof. Dr. Elizabeth de Souza Nascimento