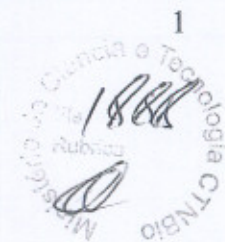


PARECER TÉCNICO



Processo: 01200.002109/2000-04.

Assunto: Parecer sobre biossegurança do milho (evento Bt 11) para uso na alimentação humana ou animal, alergenicidade a humanos ou animais, toxicidade a humanos ou animais, valor nutricional para alimentação de humanos e possíveis efeitos adversos decorrentes do uso.

Interesse: Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CNTbio).

Esse Parecer Técnico, que vai exarado no anverso de 06 páginas, atende a uma solicitação da Comissão Técnica de Biossegurança (CNTbio) de 06 de Março de 2007.

Relatório.

Trata-se de um processo iniciado em 27 de Junho de 2000 requerendo a aprovação para cultivo, manipulação, transporte, comercialização, consumo, liberação e descarte do organismo geneticamente modificado –OGM, resistente a insetos, definido no processo como Milho BT 11.

O processo está instruído em três volumes perfazendo um total de 1250 páginas.

O ingrediente ativo do milho geneticamente modificado (evento Bt 11), protegido contra insetos é uma forma truncada de uma proteína inseticida do *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Btk) cepa HD-1. A proteína truncada, uma vez produzida dentro dos tecidos do milho, confere proteção ao ataque de Lepdópteros-Praga. Em acréscimo ao gene Btk HD-11, o milho Bt 11 também contém um gene marcador de seleção do microorganismo do solo *Streptomyces viridochromogenes*. Esse gene codifica um marcador selecionável, a enzima fosfinotricina-N-acetil transferase (PAT), cuja atividade inativa o glufosinato de amônio conferindo desse modo resistência ao herbicida.

O gene *ampR*, que confere resistência à ampicilina, foi usado como marcador quando o plasmídeo estava sendo gerado em *E. coli*. Esse gene não se expressa em células vegetais e foi removido pela digestão do plasmídeo pZO1502 com a endonuclease de restrição NotI anteriormente à transformação. Conforme bem documentado (página 85) demonstrou-se que as linhagens derivadas do evento inicial Bt 11 não contêm o gene *ampR*. Portanto, o gene de resistência à ampicilina não está presente nas linhagens de híbridos de milho Bt 11, nem nos grãos produzidos por elas.



Parecer

Há extensa documentação no Processo demonstrando a inocuidade do Milho Bt 11 para o ser humano, para animais e para o meio ambiente. Assim, cabe destacar as seguintes informações:

- Apesar de décadas de uso generalizado das proteínas BtK, não existem relatos de reações alérgicas imediatas ou tardias à proteína Btk através de exposição oral, dermal ou por inoculação do produto.
- A proteína PAT não compartilha de seqüência homóloga significativa com quaisquer toxinas protéicas conhecidas, enterotoxinas bacterianas, alergênicos ou venenos; nenhum relato foi encontrado sobre toxidez ou capacidade alergênica associada com acetil-transferase como classe e o organismo doador, *S. viridochromogenes*, não tem potencial patogênico.
- A proteína CryIA(b) presente no milho não apresenta riscos para seres humanos, animais de produção ou de vida selvagem, insetos benéficos ou para o meio ambiente e tem rápida degradação residual. Esta proteína é uma delta-endotoxina que apresenta atividade específica sobre o sistema digestivo de algumas famílias de insetos. Mais especificamente, sob a ação de proteases presentes no estômago de insetos e no pH estomacal desses insetos transforma-se na forma ativada (núcleo tripsina resistente) que se liga a receptores específicos de alta afinidade presentes em insetos e ausentes em mamíferos.
- A proteína PAT é degradada em meio de cultura semelhante ao suco gástrico, perdendo suas características físico-químicas após exposição oral; desse modo, não é de se esperar que essa proteína seja absorvida na forma íntegra, portanto sendo improvável que produza efeitos adversos ou tóxicos.
- Estudos realizados no Brasil demonstraram ausência de diferenças entre os resíduos de glufosilato de amônio encontrados na variedade parental em relação à variedade transgênica (evento T25) quando o herbicida é aplicado conforme padrões da legislação brasileira para a avaliação dos Limites Máximos de Resíduos.
- Estudos de equivalência de composição centesimal do milho Bt realizados nas linhagens desenvolvidas no Brasil demonstraram ausência de diferenças consideráveis entre a linhagem parental e a linhagem transgênica.
- Estudos de toxicidade oral para camundongos demonstraram que o nível sem efeito observado para o milho Bt é superior a 4000 mg/kg de peso corpóreo, tendo sido proposta uma DL₅₀ aguda para o mesmo superior a esse valor.

Por outro lado, uma consulta mais detalhada feita à bibliografia pertinente, mostra que ensaios de segurança sobre plantas e sementes geneticamente

1890
3
O

modificadas estão descritos e podem ser encontrados na literatura desde as primeiras publicações sobre essa transformação genética (Padgett *et al.*, *J. Nutr.* 126:717-27, 1996; Hammond *et al.*, *J. Nutr.* 126:717-27, 1996; Harrison *et al.*, *J. Nutr.* 126:728-40, 1996). Mais especificamente e quanto à toxicidade:

- Harrison e colaboradores (*J. Nutr.* 126:728-40, 1996) mostraram, através de administração por gavagem de quantidades de molécula protéica superiores em até 1000 vezes às encontradas em sementes modificadas, que o tratamento não causou quaisquer alterações fisiológicas nos animais testados.

- Brake e colaboradores (*Poult. Sci.* 82:551-9, 2002) compararam os efeitos nutricionais do milho Bt com milho não modificado em frangos de corte; mostraram que a administração de milho geneticamente modificado durante 35 dias não interferiu com o ganho de peso ou com as características de digestibilidade das proteínas ingeridas pelos frangos. Esses resultados foram confirmados, entre outros, por Taylor e colaboradores (*Poult. Sci.* 84:1893-9, 2005).

- Folmer e colaboradores (*J. Anim. Sci.* 80:1352-61, 2002) compararam os efeitos nutricionais do milho Bt com milho não modificado em gado de corte; concluíram que a administração do milho Bt não modificou quaisquer parâmetros indicativos de eficiência alimentar ou de ganho de peso dos animais tratados em relação àqueles do grupo controle.

- Ipharraguerre e colaboradores (*J. Dairy Sci.* 86:1734-41, 2003) mostraram que a composição e a produção de leite de vacas alimentadas com forragens e grãos de milho provenientes de plantas geneticamente modificadas não difere daquela proveniente de vacas alimentadas com plantas e sementes convencionais. Trabalho de Donkin e colaboradores (*J. Dairy Sci.* 86:1780-88, 2003) confirma esses dados.

- Hyun e colaboradores mostraram que a administração de milho transgênico (evento nK603) não modifica a performance de suínos em relação àquela de animais tratados com milho convencional (*J. Anim. Sci.* 82: 571-580, 2004).

- Alexander e colaboradores (*J. Biotechnol.* 112:255-66, 2004) avaliaram, em ovelhas, a digestibilidade e o tempo de permanência no trato gastrointestinal dos animais do DNA recombinante proveniente de alimentação dos mesmos com canola tolerante ao glifosato. Mostraram que os genes presentes em rações permanecem íntegros por período relativamente curto, diminuindo a probabilidade de sua absorção pelo animal; mostraram, ainda, que os microorganismos intestinais são os responsáveis pela rápida degradação do DNA a pH 7,0.

- Sanden e colaboradores (*J. Fish Dis.* 28:317-30, 2005), fazendo um estudo de longa duração (8 meses) em salmões, relataram ausência de alterações no desenvolvimento corporal e nos tecidos do cécum pilórico e do intestino médio dos peixes.

189/1
CTNBio

▪ Hammond e colaboradores (*Food Chem. Toxicol.*44:1092-9,2006) avaliaram a toxicidade sub-crônica (90 dias) do milho Guardiam em ratos; demonstraram que a adição do milho MON810 em níveis de 11% e 33% (11 a 33 g/kg de peso corporal/dia) em dietas balanceadas não acarretou quaisquer alterações nos animais analisados em relação a outros que receberam linhagem não modificada de milho na ração.

Quanto a possíveis efeitos alergênicos:

▪ Okumuki e colaboradores (*Shokuhin Eiseigaku Zasshi* 43:68-73, 2002) mostraram que a degradação da proteína Cry1Ab após aquecimento é muito rápida e, considerando a digestibilidade da mesma em fluidos gástricos humanos, sugeriram que ela deva apresentar potencial alergênico nulo ou extremamente baixo.

▪ Batista e colaboradores (*J. Allergy Clin. Immunol.* 116:403-10,2005) testaram a alergenicidade de soja e milho geneticamente modificados em indivíduos sensibilizados, comparando-a com aquela produzida por sementes convencionais nos mesmos indivíduos. Mostraram que os produtos modificados são seguros quanto ao potencial alergênico.

▪ Nakajima e colaboradores (*Regul. Toxicol. Pharmacol.* 47:90-95, 2007) confirmam os dados anteriores ao relatarem ausência de níveis significativos de IgE específicos contra Cry1Ab em soro de pacientes com alergia alimentar.

Finalmente, depreende-se a partir da leitura do Processo que o milho Bt já foi analisado por relevantes organismos internacionais de avaliação de segurança. De fato, lê-se à:

▪ Página 74 (item 13): Que a Agência de Avaliação de Drogas dos Estados Unidos (FDA/USA) concluiu, em 18 de janeiro de 1996, que o uso agrícola, não confinado, do milho Bt-11 e de suas progênies não produz qualquer impacto significativo ao meio ambiente (*Federal Register*, vol. 61, pp 2789-2790).

▪ Página 626: Que o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) e o Comitê Assessor sobre Novos Alimentos e Processos do Reino Unido declararam que o milho Bt pode ser considerado semelhante ao milho natural e que pode ser manejado como tal.

▪ Página 626. Que a Agência Norte Americana para Controle de Drogas (FDA/USA) assim como aquela ligada à Proteção Ambiental (EPA/USA) também afirmaram, após avaliação, que o milho Bt não representa risco para o ser humano, para os animais e para o meio ambiente. Especificamente, a EPA/USA assim se manifestou: "The acute oral toxicity test of bacterially-derived PAT protein showed no test substance related deaths at a dose of 2,500 milligrams per kilogram (mg/kg)", como acessado em 20 de Agosto de 2007. (www.epa.gov/fedrgsl/EPA-PEST/1997/April/Day_11/p9373.htm).

1892
CTNMG

▪ Página 626: Que conclusões idênticas às apresentadas nos itens anteriores foram feitas pelas autoridades de avaliação de segurança do Japão e da União Européia. Em especial, a Comissão Científica Sobre Plantas da União Européia assim se manifestou em seu Parecer de 1998: "*The import of genetically-modified maize seed carrying the Bt-11 event can be considered as safe as utilizing seed from non-genetically modified plants*".

▪ Mais recentemente, a *DG Health and Consumer Protection* da Comissão Européia assim se expressou: "The enzyme PAT is not likely to present safety problems. Its enzymatic function is specific to a substrate which is not naturally present in humans, namely phosphinothricin, and furthermore, it is degraded and inactivated in simulated gastric fluid containing pepsin at pH 1-1.2. (...) The PAT protein (51% purity) has been tested for acute toxicity in mice and no toxicity has been reported at a dose of 5 g per Kg body weight". Acessado em 20 de Agosto de 2007 em http://ec.europa.eu/food/fs/sc/oldcomm7/out02_en.html.

A posição desses organismos internacionais de avaliação pode ser compreendida se considerarmos que: 1- a concentração de até 4000 mg/kg de milho geneticamente modificado foi incapaz de produzir efeitos tóxicos agudos em camundongos e, 2- na concentração de 11% e 33% na dieta (11g a 33g /Kg de peso corporal), o milho geneticamente modificado foi incapaz de produzir sinais de intoxicação em ratos alimentados por 90 dias.

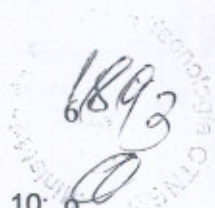
Ora se o milho geneticamente modificado não produziu sinais de toxicidade aguda ou sub-crônica mesmo em concentrações muito acima daquelas esperadas em condições normais de ingestão por animais ou por seres humanos, como pretender determinar uma Ingestão Diária Aceitável (IDA) para o mesmo a exemplo do que normalmente se faz para praguicidas químicos?

Lembra-se, neste momento, que a fórmula usada pelo *Codex alimentarius* da FAO/OMS para o cálculo da IDA (*Evaluation of certain veterinary drug residues in food. Report of the 66th Meeting of the Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA), 2006, 9-12.*) é a seguinte:

$$IDA = \frac{NOEL}{FS}$$

Onde:

- IDA= é a maior quantidade em mg/kg de uma substância química que pode ser ingerida por dia pelo ser humano, durante toda sua vida e que não lhe cause nenhum mal.
- NOEL = é a maior dose de uma substância química (mg/kg) que se usada não produz efeitos tóxicos na espécie animal mais sensível.

- 
- FS = fator de segurança, geralmente igual a 100 (dois fatores de ordem 10: o primeiro considerando-se ser o ser humano 10 vezes mais sensível que a mais sensível espécie animal estudada e o segundo considerando a variabilidade individual dentro da espécie humana).

Nesse sentido, uma vez que a maior quantidade de milho geneticamente modificado usada nos ensaios de toxicidade (33g/kg/dia em ensaio sub-crônico no rato) não produziu efeitos tóxicos e, considerando-se ser impossível administrar por dia quantidade maior que esta para esses animais, depreende-se ser impossível calcular o valor de NOEL. De fato, um rato ingere por dia 10g/100g de peso corporal de ração por dia conforme descrito por Harkness e Wagner (*Biologia e Clínica de Coelhos e Roedores*. Roca Ed. 3ª Ed., 1993, pp 49), sendo impossível alimentá-lo com quantidade maior do produto sem desnutri-los por carência de outros componentes normais da ração. Assim, pode-se compreender o porque da inexistência de valores de IDA para o milho geneticamente modificado.

Por outro lado, da análise dos resíduos (proteínas) eventualmente presentes nos alimentos provenientes de milho Bt 11 a serem fornecidos aos animais e ao ser humano depreende-se que nenhum deles tem potencial cancerígeno, teratogênico ou genotóxico. De fato, essas proteínas não guardam qualquer semelhança estrutural com carinógenos primários ou secundários e não tem condições de ligar-se ao DNA humano como se depreende em Casarett & Doull (*Toxicology: The Basic Science of Poisons*. Mcmillan Publishing Co., Inc., 1975, pp 313-78). Finalmente, a ausência de efeitos agudos ou sub-crônicos produzidos pelo milho geneticamente modificado descarta, também, qualquer possibilidade de neurotoxicidade tardia. Esse efeito tóxico, na verdade, é exclusivo dos praguicidas organofosforados e não guarda qualquer relação com possíveis resíduos do milho Bt 11.

Nesse contexto, é relevante lembrar que não foram apontados efeitos alergênicos para proteínas provenientes de plantas e/ou sementes geneticamente modificadas e que essas conforme relatado acima são degradadas pela cocção, pelos sucos gástricos e por bactérias presentes no trato gastrintestinal.

Conclusão.

Por tudo quanto exposto não devem ser esperados efeitos adversos, tóxicos e nutricionais em animais e humanos alimentados com o milho Bt 11 tolerante ao herbicida Glifosato (milho GA-21) da Empresa Sygenta Seeds Ltda objeto do Processo acima referido.

São Paulo, 28 de agosto de 2007.

Dr. João Palermo Neto
Professor Titular da FMVZ/USP