

São Paulo, 15 de outubro de 2006.

Ilmo.Sr.  
Jairon Alcir Santos do Nascimento  
Coordenador Geral da CTNBio  
Fax 55 61 3317-7475



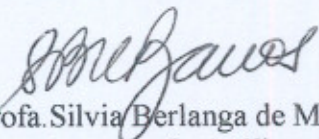
Prezado Senhor,

Em resposta a sua carta 474/06, de 25 de setembro de 2006 estou encaminhando os pareceres sobre os processos 01200.005154/1998-36 e 01200.002995/1999-54 de seu interesse.

Tendo em vista a urgência do mesmo seguem os pareceres via fax. Os pareceres originais serão enviados a seguir.

Agradecendo o convite, coloco-me a disposição para futuras colaborações.

Atenciosamente,

  
Prof. Silvia Berlanga de Moraes Barros  
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Universidade de São Paulo  
Av. Prof. Lineu Prestes, 580  
05508-900 – São Paulo – SP – Brasil  
Telefone: 55 11 3091-3631/3632  
Fax: 55 11 3813-2197  
e-mail: smbarros@usp.br



**Processo:** 01200.002995/1999-54

**Assunto:** Parecer sobre biossegurança do milho Guardian (MON810 geneticamente modificado) 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 seu uso.

**Interessado:** Comissão Técnica Nacional de Biossegurança

Este parecer atende a solicitação da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio) de 25 de setembro de 2006.

### Relatório

Trata-se de processo iniciado em 7 de outubro de 1999 requerendo a análise acerca do Milho Guardian e emissão de parecer técnico conclusivo quanto a biossegurança e substancial equivalência ao milho convencional, com a conseqüente autorização da CTNBio para sua liberação no meio ambiente, registro nos órgãos competentes, uso, ensaio, testes, plantio, transporte, armazenamento, comercialização, processamento, consumo, importação, liberação e descarte.

O processo está instruído com quatro (4) volumes com um total de 2448 páginas.

O milho Guardian constitui uma variedade do milho da linhagem MON810 geneticamente modificada para resistir ao ataque de lagartas praga do milho. Para isto foi inserido o gene *cry1Ab* de *Bacillus thuringiensis*. Uma cópia do gene está presente no genoma do milho. A proteína Cry1Ab está expressa em todas as partes da planta (página 40) notando-se a baixa expressão em grãos e pólen comparativamente as folhas. Testes de campo realizados no Brasil na safra de 2000 com tecidos foliares de híbridos de milho Guardian mostraram que as quantidades da proteína Cry1ab são comparáveis com a média histórica do nível desta proteína, obtido em ensaios de campo nos Estados Unidos da América e na Europa. (página 629).

Para a obtenção da linhagem geneticamente modificada foram empregados também os genes *cp4-epsps.gox* e *nptII* que não estão contidos na linhagem final.

Culturas de *Bacillus thuringiensis* estão registradas na ANVISA para uso em 30 tipos de culturas de vegetais para uso alimentar e sob diferentes tipos de formulações. Esta incluída na classificação toxicológica do grupo IV e não há limite máximo de resíduo e intervalo de segurança determinados

(<http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/b01.pdf>. acesso em 15.10.2006).

## Parecer

Quanto a biossegurança do milho Guardian para alimentação humana e animal devem ser considerados os seguintes aspectos que passo a comentar:

### a- Toxicidade da proteína Cry1Ab

A proteína Cry1Ab é uma delta-endotoxina, produzida pelo *Bacillus thuringiensis* que apresenta atividade específica sobre o sistema digestivo de algumas famílias de insetos. Para sua atividade a proteína deve ser ingerida pelos insetos, cujo pH estomacal é capaz de solubilizar a proteína. Esta, sob a ação de proteases se transforma na forma ativada (núcleo tripsina resistente) que se liga a receptores específicos de alta afinidade presentes em insetos e ausentes em mamíferos.

Estudos de toxicidade para aves foram realizados com codornas alimentadas com grãos de milho da linhagem MON810 com até 10% do peso de farelo de grãos integrais de milho na dieta sem efeitos adversos ou tóxicos observados.

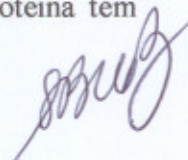
Sanden e colaboradores concluíram ser o milho MON810 adicionado a 12% na ração de peixes tão seguro quanto as variedades não transgênicas, avaliando parâmetros do trato intestinal de salmões do atlântico (Sanden M et al., Na examination of the intestinal tract of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., parrfed different varieties of soy and maize. **J.Fish Dis.**, 28:317-30, 2005).

Os estudos de segurança alimentar para mamíferos foram realizados com a proteína expressa em *E.coli* que se mostrou química e funcionalmente equivalente a expressa na linhagem MON810 bem como em uma formulação do praguicida microbiano (DIPEL®) contendo *Bacillus thuringiensis*. Para estes estudos empregou-se o núcleo tripsina-resistente da proteína, considerando ser esta a forma inseticida ativa da proteína.

Estudos de toxicidade aguda oral para camundongos (página 1491 e seguintes) demonstraram que o nível sem efeitos observados foi de 4000 mg/Kg de peso corpóreo tendo sido proposta uma DL<sub>50</sub> superior a este valor.

Um estudo recentemente publicado que avaliou a toxicidade sub-crônica (90 dias) do milho Guardian em ratos demonstrou que a adição de milho MON810 em níveis de 11% e 33% em dietas balanceadas não acarretou qualquer alteração nos animais alimentados com a variedade geneticamente modificada quando comparada com a linhagem não modificada (Hammond BG et al, Results of a 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn borer-protected corn. **Food Chem Toxicol.** 44: 1092-9, 2006).

Shimada e colaboradores demonstraram a ausência de toxicidade da proteína Cry1Ab sobre cultura de hepatócitos isolados de bovinos sugerindo que a proteína tem



baixa toxicidade aguda para células de mamíferos (Shimada N et al. Effects of Bacillus thuringiensis Cry1Ab toxin on mammalian cells. **J Vet Med Sci.** 65 : 187-91, 2003).

#### **b- Alergenicidade da proteína Cry1Ab**

A proteína Cry1Ab não apresenta característica de alergenidade além de ser degradada no aparelho gastro-intestinal de mamíferos. A seqüência da proteína foi comparada com bancos de dados de proteínas com propriedades alergênicas. Não foi demonstrada homologia biologicamente significativa entre a proteína Cry1Ab completa e seqüência de proteínas com estas propriedades conhecidas à época da apresentação deste processo (1999).

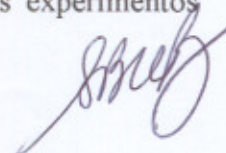
Okunuki e colaboradores sugerem que devido as características de digestibilidade da proteína Cry1Ab em fluidos gástrico e intestinal, esta deve apresentar alergenidade extremamente baixa (Okunuki H et al, Increased digestibility of two products in genetically modified food (CP4-EPSPS and Cry1Ab) after preheating. **Shokuhin Eiseigaku Zasshi**, 43:68-73, 2002). Estes autores demonstraram ainda que, após aquecimento, a degradação é mais rápida o que sugere uma menor concentração da proteína em alimentos a base de milho que sejam aquecidos durante o processamento.

Para verificar o potencial alergênico de proteínas extraídas, entre outros, de milho transgênico (MON810) e da proteína Cry1Ab, Batista e colaboradores avaliaram por meio de testes cutâneos, duas populações sensíveis de indivíduos: crianças com alergia inalatória e alérgica a alimentos e indivíduos com asma-rinite. Além disto, avaliaram os níveis de IgE em soro de indivíduos alérgicos a milho e a proteínas transgênicas puras (Cry1Ab). Os autores concluíram pela segurança dos transgênicos avaliados quanto ao potencial alergênico (Batista R et al., Lack of detectable allergenicity of transgenic maize and soya samples. **J.Allergy Clin.Immunol.**, 116: 403-10, 2005).

Resultados semelhantes foram observados por Nakajima e colaboradores em pacientes com alergia a alimentos. Nestes pacientes não foram encontrados níveis significativos de IgE específicos contra Cry1Ab em soro (Nakajima O et al., ELISA method for monitoring human serum IgE specific for Cry1Ab introduced into genetically modified corn. **Regul. Toxicolog. Pharmacol.**, sep 15, Epub ahead of print, 2006).

#### **c- Equivalência nutricional**

Quanto à composição centesimal do milho Guardian o processo está instruído com estudos realizados nos USA em 1994 (grãos), na Europa (MON802) em 1995 (grãos e forragem) e em ensaios em campo no Brasil (grãos) com a safra 98/99 (páginas 61 a 72). A análise dos resultados (umidade, minerais totais, proteínas, lipídios, fibra e carboidratos) mostra que não houve diferenças entre as composições centesimais dos milhos colhidos nos diferentes locais e entre o transgênico e sua variedade parental. Para os experimentos





conduzidos nos USA e na Europa foi também realizada a análise da composição de ácidos graxos e de aminoácidos em grãos, estando estes teores dentro dos valores esperados para a variedade transgênica.

***Não há resultados sobre a composição em amino-ácidos e ácidos graxos e vitaminas para o material cultivado no Brasil.***

Estudos conduzidos com vacas leiteiras alimentadas com milho MON810 indicaram a equivalência do valor nutricional e eficiência de produção destes animais quando comparados com a variedade não transgênica. (Donkin SS et al., Effects of feeding silage and grain from glyphosate-tolerant or insect-protected corn hybrids on feed intake, ruminal digestion, and milk production in dairy cattle. **J.Dairy Sci.**, 86:1780-8, 2003).

A semelhança, frangos alimentadas por 42 dias com rações contendo milho MON810 mostraram o mesmo desempenho de crescimento quando comparados aos animais alimentados com a variedades não transgênica e variedades comerciais (Taylor ML et al., Comparison of broiler performance when fed diets containing grain from YieldGard (MON810), YieldGard x Roundup Ready (GA21), nontransgenic control, or commercial corn. **Poult.Sci.**, 82:823-30, 2003).

Manetti e colaboradores aplicando recentemente técnicas de metabonômica descreveram que a introdução do gene Cry1Ab em milho induz alterações metabólicas relacionadas ao metabolismo do nitrogênio (Manetti C et al., A metabonomic study of transgenic maize (*Zea Mays*) seeds revealed variations in osmolytes and branched amino acids. **J.Ex. Bot.**, 57:2613-25, 2006). **Enfatizo que não tive acesso ao trabalho na íntegra, o que dificulta um maior detalhamento nos resultados encontrados e sua relevância para a equivalência nutricional. Além disto, esta metodologia não é ainda aceita para fins regulatórios.**

d- Finalmente é relevante considerar que no caso de milho geneticamente modificados para resistência a insetos a menor infestação observada traz como consequência um menor crescimento de fungos produtores de micotoxinas de importância patológica para humanos e animais reduzindo consideravelmente a contaminação e consequentemente a presença destas toxinas no milho.

Silvia Berlanga de Moraes Barros  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Universidade de São Paulo



**Considerações finais**

Em vista dos estudos apresentados não devem ser esperados efeitos adversos, tóxicos e nutricionais em animais e humanos alimentados com o milho Guardian (MON810) objeto do processo acima referido, feita apenas a ressalva quanto a ausência de dados quanto a composição em aminoácidos e lipídios para a variedade cultivada no Brasil.

15/10/06

A handwritten signature in blue ink, which appears to read 'Silvia Berlanga de Moraes Barros'.

Silvia Berlanga de Moraes Barros, PhD  
Professora Titular  
Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Universidade de São Paulo