

Projectnr.: 113.0002

Voedselveiligheidsaspecten van genetisch gemodificeerde landbouwprodukten

Projectleider: dr. ir. H.A. Kuiper

Rapport 92.48

november 1992

EVALUATIE VAN STRATEGIEËN TER BEOORDELING VAN DE VOEDSELVEILIGHEID VAN GENETISCH GEMODIFICEERDE LANDBOUWPRODUKTEN

ir. E.J. Kok

DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT-DLO)

Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen

Postbus 230, 6700 AE Wageningen

Telefoon 08370-75400

Telex 75180 RIKIL

Telefax 08370-17717

VOORWOORD

Nieuwe technieken brengen nieuwe vragen met zich mee. Hoe groter de mogelijkheden zijn die een techniek in zich heeft, hoe talrijker de vragen zullen zijn. De recombinant-DNA technieken vormen op deze regel geen uitzondering. In theorie zijn de mogelijke toepassingen van deze technieken bijna onbeperkt en kan men even zoveel problemen voorzien bij deze toepassingen. In de praktijk blijkt dat het aantal toepassingen (voorlopig) nog beperkt is en dat het mogelijk is om een betrouwbare risico-evaluatie van de nieuwe produkten te maken. Een dergelijke risico-evaluatie doet zeker niet onder voor die van nieuwe produkten verkregen middels klassieke veredeling, zo hier al sprake is van een risico-evaluatie.

In dit rapport worden de mogelijke toepassingen van genetische modificatie in landbouwprodukten en de (voorgestelde) richtlijnen voor een adequate voedselveiligheidsevaluatie van deze produkten besproken. Tevens wordt ingegaan op een aantal knelpunten die op dit moment een optimale risico-analyse belemmeren.

Dit rapport is geschreven in het kader van het RIKILT-DLO projekt 'Risico-analyse van met behulp van gentechnologie verkregen produkten voor de consument', dat uitgevoerd wordt binnen het stimuleringsprogramma 'Ecologische, maatschappelijke en ethische aspecten van biotechnologie' gefinancierd door de Directie Wetenschap en Technologie van het Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij.

SAMENVATTING

Ontwikkelingen in de gentechnologie hebben de plantenveredelaar in staat gesteld om genencombinaties tot stand te brengen, die door middel van klassieke veredelingsprocedures niet bereikt kunnen worden. Hierdoor is het mogelijk gebleken om een aantal (kwalitatieve) eigenschappen te verbeteren in verschillende species. Voorbeelden van eigenschappen die middels genetische modificatie verbeterd kunnen worden zijn ziekte-, insect-, en vorstresistentie, houdbaarheid en bewaarkwaliteit, nutritionele samenstelling en sensorische eigenschappen. Andere kenmerken die op deze wijze zijn gemodificeerd zijn o.m. herbicide-resistentie en mannelijke steriliteit.

Door deze ontwikkelingen in de plantenveredeling hebben nationale en internationale overheden zich over de vraag gebogen in hoeverre de bestaande regelgeving ten aanzien van voedselveiligheid nog voldoende houvast biedt voor de beoordeling van nieuwe voedselprodukten afkomstig van deze genetisch gemodificeerde organismen. Dit heeft geleid tot een aantal adviserende rapporten, waarin verschillende strategieën voor de risico-evaluatie worden voorgesteld. Belangrijke internationale rapporten in dit verband zijn de rapporten afkomstig van de IFBC (International Food Biotechnology Council) en FAO/WHO, de ontwerp-verordening van de EG en het (concept)rapport van de OECD. Op nationaal niveau zijn adviezen voor regelgeving uitgebracht in Groot-Brittannië en Nederland. Daarnaast heeft een Skandinavische adviescommissie richtlijnen opgesteld. Tot dusver zijn alleen in de Verenigde Staten van overheidswege richtlijnen geformuleerd. In dit rapport worden de verschillende strategieën ter beoordeling van de voedselveiligheid van genetisch gemodificeerde landbouwprodukten geëvalueerd en er worden suggesties gedaan voor verdere verbetering van de risico-evaluatie van genetisch gemodificeerde complexe produkten.

INHOUD	<u>blz</u>
SAMENVATTING	3
1 TOEPASSINGEN VAN GENETISCHE MODIFICATIE	7
1.1 Inleiding	7
1.2 Ziekteresistentie	9
1.3 Insectresistentie	10
1.4 Vorstresistentie	10
1.5 Herbicide-resistentie	11
1.6 Houdbaarheid en bewaarkwaliteit	12
1.7 Mannelijke steriliteit	12
1.8 Nutritionele samenstelling	13
1.9 Sensorische eigenschappen	13
2 RICHTLIJNEN	14
2.1 Inleiding	14
2.2 International Food Biotechnology Council (IFBC)	16
2.3 Scandinavia - Adviescommissie Voedselvraagstukken	19
2.4 Verenigd Koninkrijk - Advisory Committee on Novel Foods and Processes	21
2.5 Food and Agriculture Organization/World Health Organization	23
2.6 Nederland - Gezondheidsraad en Voedingsraad	27
2.7 Directoraat-generaal Interne Markt en Industrie	30
2.8 OECD - Environment Directorate	32
2.9 Verenigde Staten - Food and Drug Administration	34
2.10 Conclusie richtlijnen	35
3 KNELPUNTEN	39
3.1 Inleiding	39
3.2 Transformatie-systemen	40
3.3 Merkergenen	41
3.4 Regulatorelementen	43
3.5 Component-analyse en metaboliet-profiling	45
3.6 Immunotoxiciteit	46
3.7 Posttranslatieve modificatie	46
3.8 Etikettering	46

4 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN	48
REFERENTIES	50
BEGRIPPEN- EN AFKORTINGENLIJST	59

1 TOEPASSINGEN VAN GENETISCHE MODIFICATIE

1.1 Inleiding

Recombinant-DNA technieken hebben in korte tijd een breed scala aan toepassingen gevonden in de plantenveredeling. De meest gebruikte toepassing is het opsporen van bepaalde DNA-sequenties die coderen voor of correleren met een gewenste produkteigenschap. In het eerste geval heeft men met het gen dat de produkteigenschap bewerkstelligt zelf te doen, terwijl het in het tweede geval een aangrenzende sequentie betreft of een functioneel verwant gen. Op dit moment wordt op tal van plaatsen en in het kader van verschillende onderzoeknetwerken gewerkt aan de invulling van genenkaarten voor een aantal belangrijke voedingsgewassen, waaronder bijvoorbeeld de tomaat en de aardappel. Het inzicht in de genetische structuur op DNA-niveau kan de veredeling helpen om sneller voortgang te boeken, doordat men nu in elk stadium van ontwikkeling de aanwezigheid van gewenste produkteigenschappen kan bepalen. Waar men in het verleden een plant volledig moest laten uitgroeien alvorens te kunnen testen op eigenschappen als ziekteresistentie of opbrengstniveau is het nu afdoende om, indien deze eigenschappen op DNA-niveau gekarakteriseerd zijn, een eenvoudige DNA-test uit te voeren bij de kiemplant.

De meest opmerkelijke toepassing van recombinant-DNA technieken in de plantenveredeling is het genetisch modifieren van voedingsgewassen. Het kan hierbij gaan om genen die al van nature in de plant voorkomen (cisgenese) en die slechts kunstmatig geamplificeerd worden, maar de meeste toepassingen betreffen de introductie van soortvreemde genen van plantaardige, bacteriële, dierlijke of eventueel zelfs humane oorsprong (transgenese). De DNA-code is universeel en dus in principe uitwisselbaar tussen alle levende organismen. Er komen echter wel dialecten voor binnen de code en ten behoeve van het expressie-niveau is het daarom soms wenselijk om het DNA van het ene organisme naar dat van het andere te 'vertalen', alvorens dit DNA-segment in het genoom van de gastheer in te brengen.

Op dit moment zijn er verschillende transformatie-systemen voorhanden om genetische modificatie te bewerkstelligen [Potrykus, ??]. Het meest gebruikte en tot dusver meest efficiënte systeem is het systeem dat gebruikt maakt van de bacterie *Agrobacterium tumefaciens*. Deze bacterie bevat een plasmide met een transposabel element, dat bij infectie van plantaardig materiaal overgebracht kan worden naar het genetisch materiaal van de plant. Door een deel van dit transposon te vervangen door het doelgen is men in staat gebleken om gericht een gewenste eigenschap over te brengen naar

het DNA van plantecellen. Naast dit *Agrobacterium tumefaciens*-systeem kunnen er nog andere systemen als elektroporatie, micro-injectie en micro-projectilering gebruikt worden om plantecellen genetisch te modificeren, maar deze systemen zijn, met name in dicotyle gewassen, tot dusver veel minder efficiënt gebleken.

Andere belangrijke technieken die toegepast worden om genetische modificatie te bewerkstelligen - maar waarbij echter geen sprake is van gerichte modificatie - zijn somaclonale variatie en protoplastfusie. Somaclonale variatie is een verschijnsel dat zich voordoet bij iedere weefselkweek. De variatie is het gevolg van mutaties op bestaande loci maar het is niet uitgesloten dat er op deze wijze ook nieuwe genen ontstaan [Cocking, 1990]. Naast het feit dat modificatie niet gericht plaats kan vinden, is het tot dusver bij diverse soorten een probleem gebleken om de cellen weer efficiënt uit te laten groeien tot planten. Door middel van protoplastfusie kunnen transgene planten worden verkregen die eigenschappen bezitten van soorten of lijnen die langs klassieke weg niet gekruist kunnen worden. Protoplastfusie kan tot stand gebracht worden onder invloed van een spanningsveld of met behulp van polyethyleenglycol (PEG). Het resultaat van de fusie is een heterokaryon die vervolgens weer uit kan groeien tot een plant. Protoplastfusie is lange tijd de enige beschikbare methode geweest om graansoorten, bijv. rogge en rijst genetisch te modificeren [Van der Maas et al., 1990; Hensgens et al., 1990]. Een probleem hierbij was lange tijd de uiterst lage efficiëntie waarmee de heterokarya tot planten uitgroeiden [Cocking, 1990; Lazzeri et al., 1990].

Het is niet alleen mogelijk om nieuw genetisch materiaal in de kern in te bouwen, maar indirect, door middel van tRNA van nucleaire sequenties, lijkt het mogelijk om transgene mitochondria te produceren [Small et al., 1992]. De techniek is echter nog niet goed ontwikkeld en het is nog niet duidelijk of relatief lange DNA-fragmenten op deze wijze geïntroduceerd kunnen worden. Dit laatste zal nodig zijn om een effect te kunnen bewerkstelligen.

De lijst met genetisch gemodificeerde voedingsgewassen groeit gestaag. Hoewel een groot deel van de experimenten waarbij planten genetisch gemodificeerd worden een fundamenteel onderzoekskarakter hebben, neemt het aantal experimenten gericht op de verbetering van productie-eigenschappen van commerciële plantenvariëteiten toe. Tot dusver beperkt dit zich tot eigenschappen die door slechts één gekarakteriseerd en gelokaliseerd gen gecodeerd worden. Het aantal landbouwkundig interessante eigenschappen dat middels genetische modificatie verbeterd kan worden is tot nu toe gering, omdat deze veelal op een samenspel van meerdere genen berusten.

1.2 Ziekteresistentie

Virusresistentie is de meest veelvuldig geïntroduceerde eigenschap op dit moment. Virusresistentie middels genetische modificatie is verkregen in o.m. tabak, tomaat, aardappel, meloen, suikerbiet, soyabonen, alfalfa, artisjok en rijst. Resistentie kan op deze wijze worden verkregen tegen uiteenlopende virussen als alfalfamozaïekvirus, komkommermozaïekvirus, de aardappelvirussen X (PVX) en Y (PVY) en het aardappelbladrolvirus [Nelson et al., 1990; Gadani et al., 1990; Harlander, 1990; Fraley, 1992]. Onderzoek wordt verder verricht om virusresistentie in cassave te introduceren [Persley, 1990]. Om resistentie te bewerkstelligen zijn verschillende genen die coderen voor virus-manteliwitten in deze species in het genoom ingebracht. Dit heeft al regelmatig geleid tot resistentie tegen het desbetreffende virus, ook al is het mechanisme dat tot resistentie leidt tot op heden niet volledig opgehelderd.

Daarnaast is het ook mogelijk gebleken om virusresistentie te bewerkstelligen door de inbouw van andere, niet voor manteliwitten coderende virussequenties. Een voorbeeld hiervan is resistentie door de incorporatie van een deel van het replicase-gen van het tabaksmozaïekvirus [Fraley, 1992]. Overigens is onlangs gebleken dat de op deze wijze verkregen resistentie doorbroken kan worden, wanneer het ingebrachte DNA-fragment recombineert met defect virus, waarin de transgene sequentie ontbreekt. Het is niet duidelijk in hoeverre dit gevolgen zou kunnen hebben voor de biologische veiligheid van plantevariëteiten die virussequenties in het genoom hebben opgenomen [Gal et al., 1992; Allison et al., 1990; Creamer et al., 1990].

Andere methoden die mogelijk leiden tot virusresistentie zijn o.m. de introductie van anti-sense virale transcripten, de expressie van antivirale antilichamen of de expressie van interferon [Gadani et al., 1990]. Tot nu toe hebben deze methoden echter nog niet tot afdoende resistentie kunnen leiden.

Een zekere resistentie tegen de schimmels *Alternaria longipes* en *Rhizoctonia* spp. heeft men weten te bewerkstelligen door inbouw van een bacterieel chitinase-gen in tomaat, aardappel, sla en suikerbiet [Fraley, 1992; Jones 1992]. Verder wordt er onderzoek verricht naar resistentie tegen bacteriële ziekten door middel van introductie van verschillende antibakteriële agentia afkomstig van insecten (bijv. sarcotoxines, apidaecines, cecropines), vertebraten (magainines) of planten (thionines) [Florack et al., 1990]. Transgene tabaksplanten waarin het gen voor acetyltransferase was geïntroduceerd, bleken resistent tegen wildvuur, dat veroorzaakt wordt door *Pseudomonas syringae*.

1.3 Insektresistentie

Om commerciële plantenlijnen resistent te maken tegen een serie bedreigende insekten wordt momenteel een aantal strategieën uitgewerkt. De meest gehanteerde strategie is introductie van een gen dat codeert voor een kristaleiwit van de bacterie *Bacillus thuringiensis*. Onderzoekers van Plant Genetic Systems uit België waren de eersten die tabaksplanten insektresistent maakten door middel van de inbouw van het Bt-gen. Dit eiwit heeft een insecticide werking bij met name de larven van een aantal schadelijke insekten. Er zijn inmiddels vele *B. thuringiensis* -lijnen gekarakteriseerd die elk specifieke toxiciteit vertonen tegen bepaalde insektenfamilies. De meeste lijnen zijn actief tegen larven van bepaalde vlindersoorten. Er zijn er echter ook met activiteit tegen Diptera of Coleoptera -species. Van vele moet de specifieke activiteit nog bepaald worden [Goré et al., 1986]. Het gen, dat codeert voor het actieve toxine, is ingebracht in het genoom van o.m. de tomaat, aardappel, walnoot, rijst, mais en katoen [Harlander, 1990; Perlak et al., 1990] en is hierbij effectief gebleken tegen de vraatzucht van een aantal insekten-larven. Men heeft verder gevonden dat de effectiviteit wordt verhoogd wanneer de expressie wordt verbeterd als gevolg van 'vertaling' van het bacteriële DNA naar een code die eenvoudiger herkend wordt in een plantecel [Perlak et al., 1990].

Een andere mogelijkheid om planten insektresistent te maken is middels de introductie van proteïnase-inhibitoren. Deze stoffen worden van nature gevonden in leguminosen en granen en komen reeds in flinke hoeveelheden voor in het humane dieet. De inhibitor die tot dusver het meest gebruikt is in experimenten met genetische modificatie is de proteïnase-inhibitor van kouseband (cow pea trypsin inhibitor) [Hilder et al., 1990]. In transgene planten moet de expressie van deze proteïnase-inhibitoren echter relatief hoog zijn om het gewenste effect te bewerkstelligen. Het is dan ook mogelijk dat de inhibitoren hun insektresistente effect niet goed kunnen uitoefenen bij afwezigheid van andere toxische factoren. Proteïnase-inhibitoren zijn geïntroduceerd in o.m. tabak en aardappel. In deze species is insektresistentie ook verkregen door de introductie van lectine-genen (haemagglutinines) [Edwards et al. 1991]. Lectinen komen van nature veelvuldig voor, vooral in de zaden van leguminosen. Lectinen kunnen carbohydraten specifiek binden, maar het precieze mechanisme van insektresistentie is nog niet opgehelderd.

1.4 Vorstresistentie

Op dit moment vindt onderzoek plaats naar de gevolgen van invriezen en ontdooien voor de samenstelling en smaak van transgene tomaten, waarin een gen is geïntroduceerd dat codeert voor een antivries-eiwit. Dit eiwit is afkomstig van winterbot, die zich hiermee in de arctische wateren tegen

bevrozen beschermt. Wanneer de experimenten slagen, zal men vervolgens op overeenkomstige wijze proberen aardbeien vorstbestendig te maken [Jones, 1992]. Een aantal van de eerste veldexperimenten betrof genetisch gemodificeerde bacteriën die deficiënt waren voor het 'ice'-gen. Dit gen codeert voor een eiwit dat de vorming van ijskristallen katalyseert onder bepaalde milieu-omstandigheden. Wanneer planten worden bestoven met ice⁻-bacteriën, veroorzaakt dit een zekere mate van vorstresistentie [Drahos, 1991].

1.5 Herbicide-resistentie

Resistentie tegen een aantal herbiciden is verkregen, waardoor in principe meer effectieve of biologisch afbreekbare herbiciden eenvoudiger kunnen worden toegepast. Een andere toepassing van herbicide-resistentie-genen is als merker-genen bij transformatie-experimenten. Met name voor het onderzoek is dit een belangrijke toepassing.

Herbicide-resistentie komt van nature voor bij verschillende planten. Gebleken is dat deze resistentie vaak veroorzaakt wordt door een enkelvoudige dominante mutatie. Herbicide-resistentie kan verkregen worden door het expressie-niveau en de gevoeligheid van het targetenzym van het herbicide te modificeren of door een gen in het genoom van de plant te introduceren dat detoxificatie van het herbicide bewerkstelligt [Oxtoby et al., 1990]. De eerste strategie wordt met name toegepast bij herbiciden, waarbij de werking berust op inhibitie van de fotosynthese, bijv. triazines, of van de aminozuurbiosynthese bijv. glyphosate (Roundup), fosphinotricine (Basta), sulfonylurea's en imidazolinons. Triazine-resistentie (atrazine) is verkregen in tabak en momenteel worden er experimenten uitgevoerd in Brassica- en Solanum-lijnen. Men probeert momenteel ook resistentie tegen de fotosynthese-inhibitor Bromoxynil te verkrijgen door het bacteriële *bxn*-gen in te brengen in tabaks- en tomaatplanten. Het *bxn*-gen, dat codeert voor een nitrilase, is in staat Bromoxynil te detoxificeren. Op dezelfde wijze tracht men resistentie tegen fosphinotricine in tabak, aardappel en tomaat te introduceren door middel van het bacteriële *bar*-gen, dat codeert voor een acetyltransferase. Veel herbiciden worden snel afgebroken door bodembacteriën, waardoor deze bacteriën een bron van herbicide-resistentie-genen vormen. Glyphosate-tolerantie door middel van modificatie van het targetenzym is verkregen in tabak, tomaat en Petunia. Fosphinotricine-resistentie en sulfonylurea- en imidazolinon-resistentie is op deze wijze bewerkstelligd in tabak, soyabonen en mais. Tot slot worden er momenteel experimenten in tabaksplanten uitgevoerd om door middel van introductie van het bacteriële *tfdA*-gen resistentie tegen het herbicide 2,4-D te verkrijgen. 2,4-D is een groeiremmer, waarvan het targetenzym nog niet is geïdentificeerd [Oxtoby et al., 1990; Llewellyn et al., 1990; Fraley, 1992].

1.6 Houdbaarheid en bewaarkwaliteit

Verbeterde bewaarkwaliteit en houdbaarheid is verkregen door inactivatie van bepaalde genen. Deze inactivatie wordt hierbij veroorzaakt door de introductie van anti-sense sequenties. In de tomaat heeft de introductie van de anti-sense sequentie van het gen dat codeert van het enzym polygalacturonase geresulteerd in de bijna complete verdwijning van dit enzym in rijpe tomaten [Lindsey, 1991; Grierson et al., 1990]. In een alternatieve strategie om de houdbaarheid en bewaarkwaliteit van tomaten te verbeteren is de anti-sense sequentie van 1-aminocyclopropaan-1-carboxylaat of van ACC-oxidase, stoffen die een rol spelen bij de ethyleensynthese, geïntroduceerd [Lindsey, 1991; Fraley, 1992; Jones, 1992]. Hoewel men vermoedt dat door hybridisatie van de sense en anti-sense fragmenten effectieve translatie wordt voorkomen is het mechanisme achter de werking van de anti-sense sequenties nog niet volledig bekend [Holden, 1990]. Modificatie van de bloemkleur in *Petunia* berust op de inactivatie van het bij de flavonoidsynthese betrokken enzym chalconsynthase [Lindsey, 1991]. Hierbij wordt echter geen gebruik gemaakt van anti-sense genen, maar wordt inactivatie veroorzaakt door een onbekende interactie tussen meerdere ingebrachte chalconsynthase-genen. Een andere techniek die momenteel wordt ontwikkeld en die tot de inactivatie van specifieke genen moet leiden, maakt gebruik van genetisch gemodificeerde ribozymen. Ribozymen zijn RNA-partikels met een uiterst specifieke endoribonuclease activiteit [Holden, 1990]. Specifieke ribozymen kunnen worden ontwikkeld tegen bepaalde mRNA-sequenties, waardoor deze sequenties niet langer getranslateerd kunnen worden in eiwit.

1.7 Mannelijke steriliteit

Mannelijke steriliteit is in koolzaad, tabak, sla, Brussels lof, bloemkool, katoen, tomaat en mais verkregen door introductie van een weefsel (tapetumcellaag in antheren)- en ontwikkelingsstadium-specifieke promotor, gekoppeld aan een RNase afkomstig uit een schimmel [Rochaix, 1992]. Introductie van het gen dat codeert voor dit RNase voorkomt pollenvorming, wat in mannelijk steriele planten resulteert. Deze planten kunnen vervolgens weer ingezet worden in klassieke kruisingsschema's om op deze wijze hybriden met de gewenste eigenschappen te verkrijgen. De fertiliteit van deze planten kan eventueel hersteld worden door introductie van een specifieke RNase-inhibitor in planten van dezelfde variëteit. Kruisingen van beide transgene lijnen zal vervolgens deels fertiele planten opleveren.

1.8 Nutritionele samenstelling

Wijzigingen in het metabolisme van een plant kunnen leiden tot een verbeterde nutritionele samenstelling. Een voorbeeld hiervan is wijziging van het metabolisme in koolzaad waardoor gemodificeerde vetzuurketens ontstaan met een verhoogde nutritionele waarde [Amer. Medic. Ass., 1991]. De nutritionele eigenschappen van een plant kunnen ook verbeterd worden door de introductie van nonsens-eiwitten met een gunstige aminozuursamenstelling, door verhoging van de expressie van specifieke genen [Lindsey et al., ??] of door eliminatie van schadelijke metabolieten in bepaalde plante-variëteiten. Op dit moment wordt onderzoek gedaan naar het verbeteren van de aminozuurproductie van aardappels en van de aminozuursamenstelling van cassave door middel van introductie van synthetische genen [Persley, 1990]. Verder is men er in geslaagd om de zetmeelproductie in aardappels met 20-40 procent te verhogen door het bacteriële gen ADP-glucose-pyrofosforylase in aardappelknollen onder de controle van een weefsel-specifieke patatin-promotor tot expressie te laten komen [Fraley, 1992; Rochaix 1992]. Een hoger zetmeelgehalte verlaagt de verwerkingskosten en zorgt bovendien voor een verminderde vetabsorptie tijdens frituren. Verhoogde sucrose-niveaus en verlaagde zetmeelgehalten zijn verkregen door het sucrosefosfaat-synthase-gen in te bouwen. Verhoging van de expressie van bepaalde genen kan plaatsvinden door de traditionele promotor te vervangen door een promotor met een hogere activiteit of door een promotor die gedurende langere tijd in de ontwikkeling van de plant of in andere dan de traditionele organen expressie van het gen veroorzaakt. Op dit moment zijn echter nog slechts weinig weefsel- of ontwikkelingsstadiumspecifieke promotoren geïdentificeerd. Naast wijzigingen in het metabolisme van planten ten behoeve van een verbeterde nutritionele samenstelling worden er ook wijzigingen in het metabolisme tot stand gebracht die uitsluitend een industriële toepassing (agrificatie) tot doel hebben.

1.9 Sensorische eigenschappen

Experimenten om de sensorische eigenschappen van plantprodukten te verbeteren worden gedaan met o.m. genen die coderen voor de eiwitten thaumatine en monelline. Deze eiwitten zijn de zoetste stoffen die op dit moment bekend zijn. Ze zijn afkomstig van de planten *Thaumatococcus daniellii* en *Dioscoreophyllum cumminsii*, respectievelijk. Thaumatine-genen zijn experimenteel tot expressie gebracht in aardappel [Jones, 1992]. Monelline is tot expressie gebracht in tomaat en sla [Peñarrubia et al., 1992]. Het is te verwachten dat deze natuurlijke, niet op suiker gebaseerde zoetstoffen in de toekomst breder toepassing zullen vinden.

2 RICHTLIJNEN

2.1 Inleiding

Uit het voorgaande is gebleken dat er vele mogelijkheden zijn om middels genetische modificatie bepaalde eigenschappen in organismen te wijzigen. Modificatie kan introductie van een gen(produkt) inhouden, maar ook gewijzigde expressie of inactivatie. Deze vormen van genetische recombinate worden nu op grote schaal toegepast bij micro-organismen en planten en op kleine schaal bij dieren. Voorbeelden van toepassingen in de levensmiddelensector zijn de productie van voedselingrediënten, zoals zoetstoffen, voedingszuren en enzymen door micro-organismen, verhoging van de productie van voedingsgewassen door verhoogde ziekteresistentie en mogelijk in de toekomst de productie van minder vet vlees.

Veredeling door middel van genetische modificatie biedt een aantal voordelen boven de klassieke veredeling. De belangrijkste aan de techniek verbonden voordelen zijn:

- de precisie van de modificatie,
- het soortgrensoverschrijdend vermogen om gunstige genencombinaties tot stand te brengen.

Er zijn echter ook een aantal beperkingen aan de toepassingen van de techniek:

- de beschikbare transformatie-systemen kunnen nog niet op elk organisme toegepast worden,
- voor hogere organismen kan inbouw in het genoom nog niet gericht plaatsvinden.

Een bijkomend probleem dat zowel in de klassieke veredeling als in de 'moleculaire' veredeling een rol speelt, is de beperkte kennis van de fysiologie en samenstelling van de al dan niet veredelde organismen. Deze factoren zijn van belang bij de risico-evaluatie van consumptie van genetisch gemodificeerde voedselprodukten.

Op dit moment bevinden genetisch gemodificeerde produkten zich nog voornamelijk in de onderzoeks- of ontwikkelingsfase. Verwacht mag worden dat binnen afzienbare tijd diverse van deze produkten aangeboden zullen worden aan de markt. Op diverse fronten wordt daarom nu aan een risico-evaluatie van deze produkten voor de consument gewerkt. In de afgelopen tijd zijn er enkele voorstellen gepubliceerd voor (inter)nationale regelgeving op het terrein van de voedselveiligheid van genetisch gemodificeerde landbouwprodukten. De voorgestelde richtlijnen zijn er alle op gericht om de veiligheid van de consument maximaal te waarborgen, waarbij het vrije handelsverkeer minimale belemmering ondervindt.

De volgende organisaties hebben inmiddels voorstellen voor een dergelijke regelgeving gepubliceerd:

- * International Food Biotechnology Council (1990)
- * Scandinavia: Adviescommissie Voedselvraagstukken (NNT, 1991)

- * United Kingdom: Advisory Committee on Novel Foods and Processes (ACNFP, 1991)
- * FAO/WHO (1991)
- * Nederland: Gezondheidsraad (1992)

Verder bereiden de volgende organisaties richtlijnen voor:

- * Nederland: Voedingsraad
- * EEG: DG III
- * OECD: Environment Directorate
- * Verenigde Staten : De Food and Drug Administration (FDA) heeft tot dusver als enige van regeringswege richtlijnen naar buiten gebracht. Dit geschiedde in een 'Statement of Policy: Foods derived from new plant varieties' in 1992. Deze richtlijnen hebben uitsluitend betrekking op nieuwe plantelijnen.

Een belangrijke overeenkomst tussen de voorstellen van deze organisaties, met uitzondering van het ontwerp-voorstel van de EG, is de **afwijzing van een aparte wetgeving** voor voedselprodukten afkomstig van genetisch gemodificeerde organismen. Algemeen is men van mening dat de nieuwe produkten beoordeeld kunnen worden aan de hand van bestaande wetgeving, die hiertoe op enkele punten specifieke aanvulling behoeft.

In de volgende hoofdstukken komen de tot dusver geformuleerde richtlijnen of (concepten van) voorstellen voor richtlijnen kort aan de orde met een analyse van de overeenkomsten en verschillen. Deze opsomming van voorgestelde richtlijnen is niet uitputtend. Er is een selectie gemaakt, waarbij de alternatieve denkbeelden zo goed mogelijk in beeld worden gebracht. Zo heeft ook de 'Food Sanitation Investigation Council' van de Japanse Commissie voor de Biotechnologie in 1990 concept-richtlijnen uitgebracht voor produkten die verkregen zijn middels recombinant-DNA technieken [Food Sanitation Invest. Council, 1990]. Deze richtlijnen hebben echter uitsluitend betrekking op produkten van genetisch gemodificeerde organismen, waarbij het gerecombineerde organisme zelf niet in het voedsel terecht komt. Verder heeft ook het 'Technical committee on novel foods' van ILSI Europe in 1989 een concept van een discussiestuk gepubliceerd [ILSI, 1989]. Voor deze voorstellen wordt verwezen naar de literatuurlijst.

Figuur 1. Ontwikkelingen ten aanzien van genetisch gemodificeerde voedselprodukten en regelgeving met betrekking tot de voedselveiligheid van deze produkten.

1973	Eerste succesvolle transformatie-experiment in micro-organismen (E.coli)
1982	Eerste succesvolle transformatie-experiment in zoogdieren (muis) Eerste succesvolle transformatie-experiment in planten (tabak)
1988	Toelating van het eerste produkt afkomstig van een GGO op de markt (Zwitserland: chymosine afkomstig van Kluyveromyces lactis)
1990	Toelating van het eerste GGO op de markt (Groot Brittannië: bakkersgist) Calgene Inc. biedt een rapport over voedselveiligheidsaspecten van het kanamycine-resistentiegen aan aan de FDA als een verzoek om advies Publikatie van het IFBC (International Food Biotechnology Council) -rapport over de voedselveiligheid van produkten afkomstig van GGOs
1991	Publikatie van rapporten over voedselveiligheidsaspecten van produkten afkomstig van GGOs door Skandinavische en Britse adviescommissies en door FAO/WHO Calgene Inc. biedt een rapport over de voedselveiligheidsaspecten van een transgene tomaat aan aan de FDA als een verzoek om advies
1992	Publikatie van het rapport over voedselveiligheidsaspecten van GGOs door de Gezondheidsraad Publicatie van de FDA-richtlijnen voor voedselveiligheidsaspecten van nieuwe plantenvariëteiten

2.2 International Food Biotechnology Council (IFBC)

De IFBC is in 1988 opgericht en bestaat uit een dertigtal (bio)technologische bedrijven uit de levensmiddelenindustrie. Achtergrond voor instelling van de Council is onder meer geweest dat het bedrijfsleven richtlijnen nodig heeft om in te kunnen spelen op eisen die gesteld gaan worden ten aanzien van de veiligheid van nieuwe 'biotech' produkten [Lindemann, 1990]. In 1990 bracht de Council een rapport uit onder de titel 'Biotechnologies and food: assuring the safety of foods produced by genetic modification' [IFBC, 1990]. Dit rapport gaat uitvoerig gedocumenteerd in op risico-evaluatie van genetisch gemodificeerde voedselprodukten. Doelstelling was het opstellen van wetenschappelijk verantwoorde criteria ter beoordeling van de voedselveiligheid van produkten of ingrediënten afkomstig van genetisch gemodificeerde planten en micro-organismen. Toepassingen van biotechnologie in de dierlijke produktie worden buiten beschouwing gelaten.

Het IFBC-rapport bevat een historisch overzicht van voedselproductie en -veiligheidsbeoordeling door de eeuwen heen en een hoofdstuk waarin de technieken van achtereenvolgens de klassieke veredeling en veredeling middels genetische modificatie behandeld worden. Daarnaast wordt een uitgebreid overzicht gegeven van de huidige kennis over de samenstelling, met betrekking tot macro- en micronutriënten, natuurlijke toxines en anti-nutritionele factoren (ANFs) van landbouwgewassen. Een belangrijk uitgangspunt van de IFBC is dat er reeds voldoende kennis aanwezig is ten aanzien van de samenstelling van gangbare voedingsprodukten om gericht onderzoek te kunnen doen naar mogelijke veranderingen in samenstelling van genetisch gemodificeerde produkten. Hierbij worden de volgende knelpunten gesignaleerd:

- het gebruik van antibioticumresistie-genen als merker-genen in transformatie-experimenten. Gesteld wordt, in navolging van een door Calgderwerp [Calgene, 1990], dat het gebruik van antibioticumresistentie-genen geen risico's oplevert mits er geen zware selectiedruk wordt uitgeoefend op bijv. micro-organismen in de darm die een dergelijk resistentie-gen hebben verkregen door horizontale genoverdracht vanuit de plant. In hoofdstuk 3 wordt hierop dieper ingegaan.
- pleiotrope effecten, waaronder positie-effecten ten aanzien van expressie-niveaus en insertie in coderende en niet-coderende sequenties. Gesteld wordt dat de gebruikelijke laboratorium- en veldtesten mogelijke pleiotrope effecten aan het licht zullen brengen. Het feit dat er in de natuur transposons bestaan en chromosomale recombinatie voorkomt geeft aan dat pleiotrope effecten bestaande fenomenen zijn.
- veranderingen in de genetische code ten gevolge van weefselkweken. Ook bij dit knelpunt wordt gesteld dat de gebruikelijke procedures voldoende mogelijkheden bieden om eventuele schadelijke genotypische veranderingen aan te tonen.

Vervolgens worden drie beslisbomen opgesteld die bij de verschillende produktcategorieën uitsluitend moeten geven over de noodzakelijke informatie om de produktveiligheid te kunnen beoordelen. De beslisbomen hebben achtereenvolgens betrekking op:

- Voedselingrediënten afkomstig van micro-organismen.

Risico-analyse van deze voedingsmiddelen en -ingrediënten dient zich hoofdzakelijk te richten op de genetische achtergrond van de gebruikte organismen en constructen en de kennis die er bestaat ten aanzien van hun toxiciteit. Wanneer van organisme en construct bekend is dat ze niet coderen voor pathogene en/of toxische elementen wordt het genetisch gemodificeerde organisme in principe als veilig beschouwd. Andere factoren die van belang zijn en bepaald dienen te worden zijn de genetische stabiliteit van het producerend organisme en de invloed van procesvariabelen en regulerende elementen. De beslisboom geeft verder aan dat er geen antibioticumresistentie-genen in het uiteindelijke organisme mogen voorkomen.

- Enkelvoudige chemische stoffen en eenvoudige chemische mengsels.

Anders dan bij complete voedingsmiddelen kunnen enkelvoudige chemische stoffen en eenvoudige mengsels relatief goed gekarakteriseerd worden. Over het algemeen zal protocolair toxiciteitsonderzoek de veiligheid van voedseladditieven, micro-nutriënten, residuen en contaminanten voldoende kunnen waarborgen. Een voorbeeld van zo'n stof is het door micro-organismen geproduceerde chymosine.

Voor zowel nieuwe als reeds erkende voedselingrediënten, geproduceerd met behulp van recombinant-DNA technieken, geldt dat ze als veilig worden beschouwd wanneer ze geen toxische of onbekende componenten bevatten en wanneer de toekomstige blootstelling de (bestaande) limiet niet overschrijdt. Hiervoor dient de genetische achtergrond van construct en produktie-organisme goed gedocumenteerd te zijn.

- Complexe produkten en andere complexe chemische mengsels.

Complexe voedingsmiddelen en macro-ingrediënten moeten ook zoveel mogelijk beoordeeld worden op basis van bestaande procedures en richtlijnen zoals ze gelden voor vergelijkbare, op klassieke wijze verkregen voedingsmiddelen en -ingrediënten. Zo zal een genetisch gemodificeerde tomaat, waarin de anti-sense sequentie voor het enzym polygalacturonase is ingebouwd om de bewaarkwaliteit te verbeteren, in principe beoordeeld worden als een traditionele tomaat. Beoordeling moet verder geschieden op grond van de genetische opbouw en de samenstelling van het produkt, voor zover bekend en afwijkend van de traditionele tegenhanger, en op de te verwachten blootstelling. Kennis van de genetische opbouw houdt in dat het produkt goed gekarakteriseerd moet zijn en het gebruikte construct volledig geanalyseerd en gekarakteriseerd moet zijn en niet codeert voor toxische elementen. Toxiciteitsstudies met proefdieren zouden slechts in een uiterste geval uitgevoerd moeten worden, mede met het oog op moeilijkheden bij uitvoer en interpretatie van dergelijke studies. Met name de combinatie van het samenstellen van een uitgebalanceerd dieet en het toepassen van een veiligheidsfaktor zoals gebruikelijk in protocoltoxicologisch onderzoek levert grote problemen op. Mogelijke veranderingen in samenstelling kunnen bepaald worden door analytisch onderzoek naar nutriënten, natuurlijke toxinen en factoren die de verwerking van het produkt kunnen beïnvloeden. Bij de beoordeling moet meegenomen worden dat er in landbouwprodukten aanzienlijke variatie van samenstellende ingrediënten kan bestaan binnen een soort en in de tijd (rijping, bewaring). Zo is het bekend dat bijvoorbeeld het gehalte aan tomatines sterk kan variëren afhankelijk van het rijpingsstadium van de tomaat. Een extra paragraaf is gewijd aan toxiciteitstesten van complexe voedingsmiddelen en de problemen die zich hierbij voor kunnen doen.

Samenvattend kan gesteld worden dat de benadering van de IFBC voor veiligheidsbeoordeling van nieuwe produkten een 'case-by-case' benadering is, waarbij de nadruk wordt gelegd op het produkt. De gebruikte techniek om tot het produkt te komen acht de IFBC niet van wezenlijk belang voor de beoordeling van het produkt.

Tot slot geeft het rapport een overzicht van de Amerikaanse wetgeving zoals die momenteel geldt voor (eetbare delen van) planten en plantprodukten, verwerkingsprodukten van planten, andere biologische ingrediënten en verwerkingsstoffen en chemische additieven. De IFBC pleit er voor om beoordeling van middels recombinant-DNA technieken voortgebrachte nieuwe produkten in eerste instantie via bestaande procedures te laten verlopen. Nieuwe plantenvariëteiten zouden in principe niet aangemeld hoeven te worden. De IFBC is er voor om aanmelding van genetisch gemodificeerde lijnen op vrijwillige basis te laten geschieden.

2.3 Scandinavia - Adviescommissie Voedselvraagstukken

In 1988 stelde de Skandinavische Adviescommissie Voedselvraagstukken - waarin Denemarken, Finland, IJsland, Noorwegen en Zweden participeren - de Nordic Working Group on Food Toxicology and Risk Assessment (NNT) in. Deze bracht in 1991 een rapport uit onder de titel 'Food and new biotechnology - novelty, safety and control aspects of foods made by new biotechnology' [Nordic Working Group, 1991].

Het rapport geeft een overzicht van nieuwe biotechnologische technieken en een inschatting van de impact die deze technieken op de levensmiddelensector zal hebben [Klopper, 1991]. De invloed van de nieuwe technieken, beperkt tot genetische modificatie en celfusie, op achtereenvolgens planten, micro-organismen en dieren wordt geanalyseerd. In alle drie categorieën is er sprake van beperkingen bij de toepassing van genetische modificatie. Met name betreft dit :

- beperkte kennis van de genregulatie
- gebrek aan goede, stabiele en efficiënte transformatie-systemen
- gebrek aan geschikte gekloneerde genen.

Met name de genetische modificatie in de plantenveredeling zal op termijn van invloed zijn op de voeding, gezien het grote aandeel van planten in het dagelijks consumptiepatroon. Overigens constateert de werkgroep dat de grens tussen de traditionele en geavanceerde biotechnologie niet absoluut is en daarom moeilijk als zodanig in regelgeving vast te leggen. Het is de verwachting dat Solanaceae (aardappel, tabak en tomaat) en belangrijke dicotyle landbouwgewassen als koolzaad en suikerbiet het eerst in genetisch gemodificeerde vorm op de markt zullen verschijnen, gevolgd door Leguminosae (bijv. sojabonen) en de eerste granen (rijst en mais). De werkgroep verwacht verder dat met betrekking tot genetische modificatie bij dieren transgene vissen in eerste instantie het meeste perspectief zullen bieden. De reden hiervan is dat genetische modificatie van vissen op minder ethische bezwaren zou stuiten.

Met betrekking tot de veiligheid van deze nieuwe producten, in vergelijking met de traditionele tegenhanger, wordt gesteld dat in de laatste (hoewel verondersteld wordt dat ze veilig zijn) vaak hoge gehalten aan natuurlijke toxinen voor kunnen komen, die aanleiding kunnen geven tot acute of chronisch toxische verschijnselen. In het rapport wordt een uitgebreid maar niet uitputtend overzicht van natuurlijke toxinen gegeven. Bovendien treft men binnen een soort vaak grote variatie aan wat betreft nutriënten- en toxinen-samenstelling. Het rapport geeft aan dat de nieuwe biotechnologische technieken onder meer de concentratie van deze natuurlijke toxinen positief kan beïnvloeden.

Risico-evaluatie van voedselproducten afkomstig van genetisch gemodificeerde organismen zou op de volgende drie principes moeten berusten:

1. Insertie van een genconstruct geeft een overeenkomstig effect als bij mutagenese. De insertie als zodanig geeft geen aanleiding tot specifieke problemen.
2. De biochemische eigenschappen van het nieuwe genproduct(en) zijn doorslaggevend voor de risico-evaluatie, alsmede het expressie-patroon.
3. De nieuwe expressieproducten kunnen op indirecte wijze het metabolisme van het organisme beïnvloeden. Als voorbeelden van beïnvloeding worden downstream effecten ten gevolge van interferentie tussen het insert en het DNA van het gastheerorganisme en de concurrentie om aminozuren vermeld.

Andere aandachtspunten bij de beoordeling op veiligheid zijn de genetische stabiliteit, de genetische afstand tussen de donor-organismen en de selectieprocedure. Nadruk wordt gelegd op het belang van een analytisch referentiekader voor zowel traditioneel als via genetische modificatie ontwikkelde voedselproducten.

De werkgroep stelt voor de te volgen procedure bij de beoordeling op veiligheid van het nieuwe produkt te relateren aan de relatieve nieuwheid van het produkt. Deze kan bepaald worden door de huidige samenstelling van het levensmiddelenpakket als referentiebasis te laten dienen. De werkgroep stelt hierbij een case-by-case benadering voor. Vervolgens moet een vierstapsprocedure doorlopen worden, vergelijkbaar met de beslisbomen die door andere organisaties zijn opgesteld. Iedere stap kan leiden tot acceptatie, nadere bestudering of verwerping van het nieuwe produkt.

In de eerste stap wordt de kennis van de genetische achtergrond, de samenstelling en de verwachte blootstelling geïnventariseerd. Informatie omtrent de samenstelling moet gegevens bevatten over het gehalte aan eiwitten en peptiden, vetten en vetzuren, enkelvoudige en complexe carbohydraten, alsmede over natuurlijke toxinen en antinutritionele factoren, voor zover van toepassing, en overige componenten zoals enzymen, mineralen en vitaminen. De gewenste informatie, die veelomvattend is,

dient om het nieuwe produkt met de traditionele tegenhanger te kunnen vergelijken. Wanneer uit deze inventarisatie blijkt dat het produkt niet als nieuw beschouwd kan worden, wordt het vrijgegeven. Wanneer het wel om een nieuw produkt gaat, vindt er vervolgens een veiligheidsbeoordeling plaats van het geïntroduceerde genprodukt en van eventuele secundaire veranderingen in samenstelling. De beoordeling van het genprodukt geschiedt aan de hand van de regels zoals opgesteld voor additieven of contaminanten.

Wanneer het uiteindelijke produkt een complex produkt is, dan bestaat de volgende stap uit niet-humaan voedingsonderzoek en studies naar het metabolisme van het produkt, zowel in-vitro als in-vivo. Een 90-dagen voederproef met het produkt in ratten zal standaard deel uitmaken van deze studies. Bij deze toxicologische testen is een veiligheidsfaktor van minder dan 100 acceptabel wanneer het om nutritionele elementen gaat. Wanneer het om anti-nutritionele factoren of toxinen gaat, dan gelden de traditionele veiligheidsfactoren voor additieven. De laatste stap bestaat uit onderzoek bij humane vrijwilligers. Humane allergie en intolerantie zullen hier met name de belangstelling hebben. Tenslotte beveelt de werkgroep post-marketing onderzoek aan.

Deze concepten worden door middel van een aantal voorbeelden uitgewerkt. Bij een transgene tomaat waarin een manteleiwit van het tabaksmozaïeksvirus is ingebouwd, zal het natuurlijke gehalte van deze eiwitten in niet-gemodificeerde tomaten bepaald moeten worden, alvorens de nieuwheid van het produkt vastgesteld kan worden. Een transgene wortel, waarin een trypsine inhibitor in het genoom is ingebracht zal daarentegen in elk geval als een nieuw produkt worden beschouwd, omdat de inhibitor van nature niet in de wortel voorkomt en de wortel bovendien mogelijk een ander bereidingsproces ondergaat dan het gewas waaruit de inhibitor is geïsoleerd.

Het rapport bepleit tevens de mogelijkheid tot identificatie van produkten die met behulp van genetische modificatie zijn geproduceerd. De werkgroep adviseert dat bij goedkeuring van een produkt ook de identificatiemethode wordt vastgelegd, zodat controle mogelijk is. Een geopperde mogelijkheid tot identificatie is de inbouw van eenvoudig detecteerbare markers bij genetisch gemodificeerde organismen, planten of dieren, die niet bestemd zijn voor voedingsdoeleinden.

2.4 Verenigd Koninkrijk - Advisory Committee on Novel Foods and Processes

In 1988 werd in het Verenigd Koninkrijk de adviescommissie 'Novel Foods en Processes' (ACNFP) ingesteld. De voorloper van deze adviesgroep was de in 1980 ingestelde adviescommissie 'Irradiated and Novel Foods'. Het ACNFP heeft in 1991 een advies aan de Ministers van Gezondheid en van

Landbouw van het Verenigd Koninkrijk en aan de departementshoofden van Gezondheid, Sociale Zaken en Landbouw van Noord-Ierland uitgebracht met de titel 'Guidelines on the assessment of novel foods and processes' [ACNFP, 1991]. Hierin doet de commissie voorstellen voor richtlijnen voor producenten van nieuwe voedselprodukten. Voor de verschillende produktcategorieën wordt aangegeven welke informatie moet worden verschaft, alvorens toelating van het produkt op de markt overwogen kan worden.

Het ACNFP hanteert een ruime definitie van nieuwe produkten en processen, te weten alle voedingsmiddelen of -ingrediënten die tot dusver in het Verenigd Koninkrijk niet in significante hoeveelheden voor humane consumptie beschikbaar zijn en alle produktieprocessen die tot dusver niet of die in ingrijpend gewijzigde vorm voor de produktie van voedingsmiddelen gebruikt zijn. Produkten als raapzaadolie en processen als vriesdrogen en doorstraling zijn daarmee ook onderworpen aan de richtlijn [Klopper, 1991]. Wanneer een produkt door middel van een dergelijk proces is geproduceerd, dan dient de producent het ACNFP hiervan op de hoogte te stellen. Het ACNFP voert dan vervolgens de risico-evaluatie uit aan de hand van de door de producent geleverde gegevens.

De voorgestelde richtlijnen zijn er op gericht mogelijke veranderingen in samenstelling, met name wat betreft nutriënten en natuurlijke toxinen, aan het licht te brengen. Dit geldt zowel voor produkten die zijn verkregen door klassieke veredeling als met behulp van genetische modificatie. Het is tot dusver aan de bedrijven om te beslissen of nieuwe produkten voldoende veilig zijn en of de produkten aan de adviescommissie voorgelegd zullen worden.

Het ACNFP heeft een beslisboom opgesteld om te bepalen welke informatie verschaft moet worden. De opzet van deze beslisboom verschilt op een aantal punten met die van het IFBC. Ten eerste gaat deze beslisboom zowel over produkten als over processen. De produkten worden ook niet bij voorbaat in categorieën ingedeeld, maar doorlopen alle hetzelfde schema. Tenslotte levert het schema geen richtlijnen op voor de toelating van nieuwe produkten, maar beperkt het zich tot het aangeven welke informatie verstrekt dient te worden. De te leveren informatie voor produkten afkomstig van genetisch gemodificeerde organismen komt veelal overeen met de informatie zoals die bij vergelijkbare beslisbomen wordt gevraagd: genetische achtergrond van het organisme, gegevens ten aanzien van de samenstelling, m.n. nutriënten en natuurlijke toxinen, wijze van verwerking, het te verwachten consumptiepatroon, het effect van de genetische modificatie op het metabolisme van het oorspronkelijke produkt en mogelijke overdracht van het ingebouwde construct op andere organismen. Bovendien wordt expliciet informatie gevraagd over de stabiliteit van alle genetisch gemodificeerde organismen, alsook een beschrijving van de weefsels of organen waarin het

ingebouwde genetisch materiaal tot expressie komt. Zo kan een belangrijke faktor bij de beoordeling van bijvoorbeeld een genetisch gemodificeerde aardappel zijn of het ingebouwde construct al dan niet in de aardappel tot expressie komt. Wanneer het te verwachten consumptiepatroon aangeeft dat het produkt in grote hoeveelheden geconsumeerd zal worden, dan zouden humane studies overwogen moeten worden, waarbij het produkt op allergeniteit getest kan worden. *Overigens benadrukt de adviescommissie dat de beslisboom niet slechts als checklist bedoeld is. De commissie streeft naar een flexibele benadering bij de risico-evaluatie, waarbij per nieuw produkt kan worden overwogen welke informatie al dan niet relevant is bij de veiligheidsbeoordeling.*

Het ACNFP staat dus ook een case-by-case benadering voor, waarbij gepoogd wordt de richtlijnen overzichtelijk te houden door ze alle onder één noemer onder te brengen. De adviescommissie benadrukt verder in haar rapport het belang van een zo groot mogelijke openheid naar het publiek toe en adviseert hiertoe het ter inzage leggen van protocollen voor de beoordeling bij de British Library.

Het rapport geeft een achttal voorbeelden van informatie die verschaft zou moeten worden, wanneer de door de Adviescommissie opgestelde beslisboom gevolgd wordt. De voorbeelden variëren van een nieuwe toepassing van een bekend produkt, geproduceerd middels een bekend proces, tot de introductie van genetisch gemodificeerd bakkersgist.

In een appendix bij het rapport wordt nog vermeld dat, met betrekking tot de etikettering van produkten afkomstig van genetisch gemodificeerde organismen, het Food Advisory Committee in het Verenigd Koninkrijk voorstelt de volgende categorieën te onderscheiden:

- natuuridentieke produkten
- produkten die bestaan uit cisgene organismen of deze bevatten
- nieuwe produkten, zonder traditionele tegenhanger
- produkten die bestaan uit transgene organismen of deze bevatten.

Etikettering zou in principe vereist moeten zijn bij de laatste twee categorieën. Benadrukt wordt dat ook hier enige flexibiliteit mogelijk moet zijn.

2.5 Food and Agriculture Organization/World Health Organization

In november 1990 heeft in Genève een gezamenlijk FAO/WHO expert-overleg plaatsgevonden over 'Assessment of Biotechnology in Food Production and Processing as Related to Food Safety'. In 1991 is door de WHO een rapport gepubliceerd, waarin de conclusies van deze bijeenkomst zijn verwoord [WHO/FAO, 1991].

Eén van de doelstellingen van het overleg was een aanzet te geven tot internationale consensus ten aanzien van richtlijnen om de veiligheid van produkten, verkregen met behulp van genetische modificatie, te kunnen waarborgen. Dit zou als basis kunnen dienen voor nationale regelgeving. De bijeenkomst in Genève kan gezien worden als de eerste in een reeks activiteiten om tot dit doel te komen.

Het rapport geeft een overzicht van de toepassingen van genetische modificatie bij 1) bacteriën en schimmels, 2) planten en 3) dieren, gevolgd door een beschouwing van de veiligheidsaspecten.

Bij de eerste categorie, de micro-organismen, noemt het rapport een aantal factoren die van invloed zijn op de veiligheid van het uiteindelijke produkt. Dit zijn o.a. de genetische achtergrond van het oorspronkelijke, niet gemodificeerde organisme, de eigenschappen van dit organisme en de gebruikte methoden om de gewenste eigenschappen te introduceren. Functionele merker genen dienen verwijderd te zijn in het uiteindelijke productie-organisme. Ook intermediaire organismen moeten goed gekarakteriseerd zijn. Op dit moment worden er hiertoe 'food-grade vectors' ontwikkeld: vectoren die zonder risico voor de gezondheid in de voedselproductie gebruikt kunnen worden. Belangrijk hierbij is dat het construct geen toxische elementen bevat en dat het stabiel geïncorporeerd wordt.

Gesteld wordt dat de kans op (schadelijke) pleiotrope effecten niet groter is dan bij traditionele veredeling. *Een risico-analyse betreffende de gevolgen van consumptie voor de humane gezondheid dient te zijn gebaseerd op bepaling van pathogeniteit, toxiciteit en mogelijke veranderingen in nutriëntensamenstelling ten opzichte van de traditionele tegenhanger.* Het rapport noemt tevens de mogelijkheid van toename van allergische reacties door de introductie van nieuwe of gewijzigde eiwitten. Kennis omtrent allergie-inductie is op dit moment gering en er zijn nog geen betrouwbare methoden ontwikkeld om allergeniteit te meten.

Andere factoren die de veiligheid kunnen beïnvloeden zijn:

- het fermentatie-proces, inclusief de substraten en andere aanwezige stoffen en de condities waaronder groei plaatsvindt.
- de isolatie-procedure en de opeenvolgende stappen in het eventuele opzuiveringsproces.
- de uiteindelijke normalisering van het produkt.

Belangrijk is verder dat er altijd onder GMP-omstandigheden wordt geproduceerd. Benadrukt wordt dat er altijd een zekere variatie binnen een groep produkten met dezelfde genetische achtergrond bestaat. Dit is zelfs het geval wanneer het om enkelvoudige stoffen gaat. Deze overweging moet meegenomen worden bij de beoordeling van de voedselveiligheid van een nieuw produkt.

De expertgroep zou graag zien dat richtlijnen voor nieuwe produkten aansluiten bij de FAO/WHO-richtlijnen voor voedseladditieven. Deze staan een case-by-case benadering voor. De voorkeur van de expertgroep gaat uit naar algemene principes, gebaseerd op wetenschappelijke bevindingen, in plaats van specifieke voorschriften voor bepaalde produktcategorieën. Voor micro-organismen houdt dit in dat, wanneer het genetisch gemodificeerde organisme aantoonbaar grote overeenkomst vertoont met zijn traditionele tegenhanger, weinig aanvullende testen nodig zullen zijn.

Om de juiste vragen te stellen ten aanzien van de voedselveiligheid van de tweede categorie produkten, afkomstig van genetisch gemodificeerde planten, is het van belang de toegepaste technologie en de effecten van de genetische modificatie te kennen. Mogelijke risico's moeten hierbij gerelateerd worden aan de risico's zoals zich voordoen bij klassiek veredelde voedingsgewassen.

In het rapport wordt een aantal aspecten genoemd die de aandacht verdienen bij de beoordeling van genetisch gemodificeerde gewassen op voedselveiligheid. Het construct en de mogelijke expressie-produkten dienen veilig te zijn. Er wordt vanuit gegaan dat expressie-patronen bij stabiele inbouw een vaste waarde bereiken en voorspelbaar zijn. Informatie omtrent dit expressie-patroon moet zo gedetailleerd mogelijk verstrekt worden.

Onder de pleiotrope effecten worden hier met name de metabole effecten van het geïntroduceerde expressie-produkt verstaan. Verwacht wordt dat de biochemie van het expressie-produkt over het algemeen voldoende gekarakteriseerd is om deze effecten te kunnen voorspellen. Bovendien is de problematiek niet wezenlijk verschillend van die voor klassieke vormen van veredeling. Ook insertionele mutagenese is in dit opzicht geen nieuw fenomeen. De expertgroep is van mening dat een veranderde samenstelling met betrekking tot natuurlijke toxinen en/of nutriënten op zich geen reden behoeft te zijn om introductie te blokkeren.

De werkgroep gaat specifieker in op mogelijke toxicologische en nutritionele veranderingen dan de overige rapporten. Een vijftal mogelijke toxicologische veranderingen wordt opgesomd:

- * veranderingen in het gehalte aan natuurlijke toxinen
- * de introductie van produktvreemde toxinen
- * inductie van allergieën/intoleranties
- * ophoping van toxinen of microbiële contaminanten uit het milieu
- * veranderingen in de beschikbaarheid van toxinen als gevolg van de verwerking van het produkt.

Veranderingen in voedingswaarde kunnen het gevolg zijn van:

- * modificatie van macro- en/of micro-nutriënten of antinutriënten in het voedsel
- * veranderingen in de biologische beschikbaarheid van deze stoffen
- * veranderingen in de voedingswaarde als gevolg van de verwerking van het produkt.

Gesteld wordt dat het uitvoeren van toxicologische testen van complete voedingsprodukten vaak grote problemen met zich brengt. Veiligheidsbeoordeling aan de hand van gegevens over moleculaire, biologische en chemische eigenschappen van het produkt is daarom te prefereren. Analyse van het produkt zou onderzoek naar de eiwit- en aminozuursamenstelling kunnen inhouden, alsmede samenstelling van de suiker- en lipidefractie, anorganische componenten en vitaminen, natuurlijk voorkomende toxinen en antinutritieve factoren en bewaarkwaliteit. Wanneer het gewas een belangrijk onderdeel uitmaakt van het nationale dieet, kunnen ook biologische beschikbaarheidsstudies noodzakelijk zijn. Indien de zo verkregen informatie niet voldoende is om een goede inschatting te kunnen maken van de veiligheid van het produkt, dan moeten proefdierstudies en, eventueel, humane studies overwogen worden. De laatste zouden voedingsproeven met vrijwilligers of een beperkte introductie op de markt in kunnen houden. De gebruikte technologie, klassiek of recent ontwikkeld, bepaalt hoeveel en welke informatie gewenst is.

Voor de derde categorie produkten, afkomstig van genetisch gemodificeerde dieren, wordt de veiligheidsbeoordeling relatief eenvoudig geacht. Beoordeling dient gebaseerd te zijn op risico-evaluatie van het expressie-produkt, het construct en pleiotrope effecten. De risico-analyse van het expressie-produkt kan geschieden overeenkomstig een gelijkwaardig, exogeen toegediend produkt. Het construct moet vrij zijn van virale sequenties, zodat genoverdracht naar darmflora onwaarschijnlijk wordt. Potentiële pleiotrope effecten zullen, aldus de werkgroep, waarschijnlijk aan het licht komen wanneer ze dusdanig zijn dat ze de gezondheid van het dier negatief beïnvloeden. Onaanvaardbaar hoge toxine-niveaus bij gezonde dieren zijn in de geschiedenis van de veefokkerij echter niet voorgekomen en de kans hierop lijkt niet wezenlijk toe te nemen wanneer genetische modificatie toegepast wordt. In lagere vertebraten of evertrebraten is deze kans mogelijk reëler en zou derhalve een factor kunnen zijn in de risico-analyse van produkten afkomstig van deze dieren.

Belangrijk bij genetisch gemodificeerde dierlijke produkten is de bepaling van eventuele veranderingen in de voedingswaarde. De samenstelling van het nieuwe produkt moet hiertoe geanalyseerd worden. Ook het ontstaan van mogelijke voedselintoleranties kan een factor van belang zijn. Dit kan veroorzaakt worden door introductie van soortvreemde genen, maar ook door het ontstaan van chimaere eiwitten als gevolg van de associatie van transgene en endogene sequenties. Over het algemeen zal het niet noodzakelijk zijn om toxiciteitstesten met het complete produkt uit te voeren.

Het rapport staat een wetenschappelijk gefundeerde case-by-case benadering voor. Bij een dergelijke flexibele benadering is het mogelijk om de laatste ontwikkelingen op wetenschappelijk gebied bij de besluitvorming te betrekken. Het rapport signaleert verder de noodzaak van goede databanken met betrekking tot de inhoudstoffen van voedingsmiddelen (nutriënten en toxinen) en van genenkaarten van organismen die gebruikt worden in de voedselproductie. Tenslotte wordt het belang onderstreept van een goede informatie-voorziening naar de consument toe, zowel ten aanzien van de toepassingen van biotechnologie in de voedsel-productie als ten aanzien van de veiligheid van deze produkten.

2.6 Nederland - Gezondheidsraad en Voedingsraad

In 1988 is door de Minister van Landbouw, Natuurbeheer en Visserij en door de Staatssecretaris van Welzijn, Volksgezondheid en Cultuur een adviesaanvraag ingediend bij de Voedingsraad ten aanzien van 1) aspecten van nieuwe biotechnologische technieken die de bijzondere aandacht van de overheid vragen, en 2) de wijze waarop zo verantwoord en effectief mogelijk in de behoefte aan voorlichting van en informatie aan de consument kan worden voorzien. Toxicologische aspecten hoeven niet in het advies betrokken te worden daar de Gezondheidsraad hierover een advies uit zal brengen. De Gezondheidsraad heeft hiertoe op 6 april 1990 een Commissie Toxicologische Aspecten van Biotechnologisch Bereide Produkten (verder aangeduid als de Commissie Toxicologie) ingesteld. De Commissie Toxicologie beschouwt zowel biotechnologisch bereide geneesmiddelen als voedingsmiddelen. De Voedingsraad heeft de Commissie Biotechnologie ingesteld.

Na overleg tussen beide commissies is besloten om over onderwerpen op het gebied van de beoordeling van de voedselveiligheid een eensluidend advies uit te brengen. Het advies van de Commissie Toxicologie aan de Minister en Staatssecretaris van Welzijn, Volksgezondheid en Cultuur is inmiddels verschenen [Gezondheidsraad, 1992]. Het rapport van de Commissie Biotechnologie wordt binnen afzienbare tijd verwacht. Aspecten die aan de orde komen zijn potentiële toepassingen, consumentenaspecten, voedingswaarde en veiligheid, alsmede regelgeving en toelatingsbeleid.

Op dit moment berust de verantwoordelijkheid voor de veiligheidsbeoordeling bij de producent en toetst de overheid deze beoordeling niet expliciet. De Commissie Toxicologie adviseert in haar rapport dat beoordeling van nieuwe produkten, die verkregen zijn door gebruik van recombinant-DNA technieken of van celfusie, zal gebeuren aan de hand van door de Commissie opgestelde beslisbomen, waarbij de overheid de beoordeling naderhand toetst.

De Commissie Toxicologie beperkt zich in haar advies niet tot toxicologische aspecten, maar beschouwt de produktveiligheid in bredere zin. *In haar rapport wijst de Commissie erop dat nieuwe biotechnologische technieken niet per se meer veiligheidsproblemen oproepen dan de traditionele veredeling, maar dat er slechts onvoldoende ervaringsgegevens ten aanzien van deze technieken bestaan.*

Om tot een veiligheidsbeoordeling van biotechnologisch bereide producten te komen heeft de Commissie Toxicologie een viertal beslisbomen opgesteld die betrekking hebben op:

- enkelvoudige chemicaliën en chemisch gedefinieerde mengsels, - plantaardige voedingsmiddelen, - voedingsmiddelen van dierlijke oorsprong en - voedingsmiddelen en voedselingrediënten van microbiële herkomst. De beslisbomen zijn grotendeels afgeleid van de beslisbomen zoals in het IFBC-rapport voorgesteld, met dien verstande dat een extra beslisboom voor producten van dierlijke oorsprong is toegevoegd.

Bij de beoordeling van producten in de eerste categorie worden dezelfde uitgangspunten gehanteerd als bij de IFBC-beslisboom voor dezelfde categorie, te weten voldoende kennis ten aanzien van de genetische achtergrond en toxiciteit van de componenten van het producerende organisme, alsmede over de genetische stabiliteit en variatie in expressie. Als voorwaarde voor toelating wordt verder het hanteren van GMP (good manufacturing practice) -procedures gesteld.

In tegenstelling tot het IFBC-rapport stelt de Commissie de afwezigheid van genen die coderen voor antibioticum-resistentie niet als voorwaarde voor toelating. Dit wordt niet noodzakelijk geacht, daar het eindproduct gezuiverd wordt, waardoor het risico van overdracht van deze genen verwaarloosbaar klein is. Wanneer het eindproduct onbekende componenten bevat of wanneer dit niet uitgesloten kan worden, wordt een 90-dagen voederproef noodzakelijk geacht. Een ander verschil ten opzichte van de IFBC-beslisboom is dat deze laatste de ADI (Acceptable Daily Intake) van het produkt zou willen herzien wanneer deze bij consumptie van het nieuwe produkt overschreden wordt. De Nederlandse regelgeving biedt deze mogelijkheid alleen indien de ADI (mede) werd bepaald door factoren die met betrekking tot het nieuwe produkt geen rol spelen.

De door de Commissie Toxicologie opgestelde criteria voor de veiligheidsbeoordeling van voedingsgewassen vertoont grote overeenkomsten met die van de IFBC. Wanneer uitgegaan wordt van een 'GRAS'-produkt, zijn met name kennis van de genetische achtergrond van het insert en de invloed van het insert op de samenstelling van het produkt, alsmede het te verwachten consumptiepatroon van belang. Om eventuele wijzigingen in samenstelling van voedselproducten, zowel van plantaardige als van dierlijke oorsprong en andere macro-ingrediënten, te kunnen detecteren wordt het gewenst geacht om over een analytisch referentiekader te beschikken. Het Nederlands Voedingsstoffenbestand (NEVO) en de bij het RIKILT-DLO aanwezige databank van contaminanten (COBA) zouden hiervoor als basis kunnen dienen. Merker genen coderend voor antibioticumresistentie worden toelaatbaar geacht, wanneer bewezen is dat ze stabiel geïncorporeerd zijn.

Het belangrijkste verschil tussen de Nederlandse beslisboom voor voedingsgewassen en de IFBC-tegenhanger is dat de eerste bij elk nieuw produkt een 90-dagen voederproef eist. De beslisboom biedt slechts één ontsnappingsclausule, namelijk wanneer de insertieplaats dermate goed is gekarakteriseerd dat vastgesteld kan worden dat het metabolisme niet dusdanig is gewijzigd dat het schadelijke gevolgen voor de consument op kan leveren.

De beslisboom voor voedselprodukten van dierlijke oorsprong is toegevoegd omdat men van mening is dat er voldoende gegevens zijn om het opstellen van criteria voor dergelijke produkten te rechtvaardigen. Middels deze beslisboom kunnen zowel produkten van genetisch gemodificeerde dieren, als ook produkten van dieren die behandeld zijn met langs biotechnologische weg verkregen preparaten, beoordeeld worden. Bij de laatste categorie gaat het met name om contaminanten van het preparaat, die het gevolg zijn van de produktiewijze. Het preparaat zelf of residuen ervan zullen over het algemeen beoordeeld dienen te worden volgens de Wet op de Diergeneesmiddelen.

Ook bij produkten van dierlijke oorsprong is het, zoals reeds gesteld, belangrijk om eventuele veranderingen in samenstelling ten gevolge van de genetische modificatie te kunnen waarnemen. In principe gelden dezelfde uitgangspunten als bij produkten van plantaardige herkomst. Wel is het zo dat het produktiedier als veiligheidsfilter kan fungeren bij bijv. de toediening van onzuivere preparaten. Het wordt verder niet waarschijnlijk geacht dat pleiotrope effecten inductie van toxische stoffen in deze produkten teweeg zullen brengen. De gezondheidstoestand van het dier wordt hierbij als een belangrijke criterium beschouwd.

Ten aanzien van de laatste categorie produkten, de voedingsmiddelen en voedselingrediënten van microbiële oorsprong, wordt gesteld dat het niet altijd evident is of een bepaald produkt tot deze of tot één van de voorgaande categorieën moet worden gerekend. Zo zullen paddestoelen als primair voedingsmiddel onder de categorie voedingsgewassen vallen en zullen enkelvoudige stoffen die door micro-organismen geproduceerd worden, over het algemeen beter met behulp van de tweede beslisboom beoordeeld kunnen worden.

Het rapport wijst op het belang, naast de uitgangspunten voor deze categorie zoals ze ook door het IFBC-rapport verwoord zijn, van het bepalen van de invloed van de produktie-omstandigheden op het gebruikte organisme c.q. de gebruikte stam. Het is bekend dat er onder bepaalde omstandigheden toxinen gevormd kunnen worden door een doorgaans niet-pathogene stam.

In het organisme mogen geen genen aanwezig zijn die coderen voor antibioticumresistentie, daar genoverdracht naar bijv. bacteriën in het maagdarmkanaal en daaropvolgende expressie van het gen niet uitgesloten kan worden. Produktie van het organisme zal verder onder GMP-kondities dienen te geschieden.

In tegenstelling tot de IFBC-boom eist de Nederlandse variant een precieze karakterisering van het ingebouwde construct en schenkt de Nederlandse beslisboom verder aandacht aan de invloed van introductie van het produkt op de voedingstoestand van de consument. Daarnaast zijn twee extra vragen toegevoegd om het gebruik van micro-organismen als probiotica te kunnen beoordelen. Tenslotte wordt ook bij deze categorie produkten een 90-dagen voederproef als ultieme toets gevraagd indien er niet voldoende kennis van de insertieplaats is om te kunnen waarborgen dat de genetische modificatie geen veranderingen in het metabolisme teweeg heeft gebracht die schadelijke gevolgen kunnen hebben voor de consument.

Veiligheidsbeoordeling van bovengenoemde categorieën produkten zou door of in opdracht van het betrokken bedrijf uitgevoerd moeten worden en vervolgens door een onafhankelijke instantie getoetst moeten worden. Dit laatste is ook noodzakelijk omdat de beslisbomen enige interpretatieruimte laten. Na drie jaar zou er vervolgens een evaluatie van de gehanteerde criteria en beoordelingsmethodiek plaats moeten vinden.

2.7 EG - Directoraat-generaal Interne Markt en Industrie

De EG-Commissie heeft onlangs een ontwerp-voorstel aangenomen, waarin het directoraat-generaal Interne Markt en Industrie (DG III) een verordening heeft opgesteld voor de lidstaten ten aanzien van nieuw ontwikkelde voedingsprodukten en -ingrediënten om belemmering van het vrije handelsverkeer van deze produkten zoveel mogelijk te voorkomen [EC, 1992]. De verordening heeft zowel betrekking op alle voedingsmiddelen en -ingrediënten die tot dusver binnen de gemeenschap niet op grote schaal voor humane consumptie beschikbaar waren, als op produkten die door hun productieproces ingrijpende wijzigingen hebben ondergaan wat betreft samenstelling, voedingswaarde en/of verwachte consumptie-patroon. Voedseladditieven, aroma's, extracten en produkten die zijn behandeld met ioniserende straling vallen hier niet onder.

Uitgangspunten bij toelating van nieuwe voedselprodukten en -ingrediënten zijn:

1. De produkten moeten veilig zijn voor de consument wanneer zij in de beoogde hoeveelheden voor de voeding worden gebruikt;
2. De produkten mogen de consument niet misleiden;
3. De produkten mogen niet zodanig verschillen van soortgelijke voedingsmiddelen of voedselingrediënten die zij in de voeding kunnen vervangen, dat de normale consumptie daarvan uit voedingsoogpunt voor de consument nadelig zou zijn.

Alvorens een nieuw produkt op de (EG-)markt gebracht mag worden, moet de producent aantonen dat het produkt aan bovengenoemde criteria voldoet. Dit kan geschieden aan de hand van de resultaten van wetenschappelijk verantwoord onderzoek aan het produkt. Eén of meerdere gekwalificeerde en onafhankelijke experts (door de Commissie wordt een lijst van nationale experts opgesteld) dienen de conclusies van dit onderzoek te bevestigen. Wanneer aan deze voorwaarden is voldaan kan het produkt op de markt gebracht worden, mits een notificatie naar de Commissie gezonden wordt. Deze notificatie moet een samenvatting bevatten met de nodige informatie om de veiligheid van het produkt aan te tonen. De Commissie verwittigt vervolgens de competente autoriteiten in de lidstaten.

Wanneer het nieuwe produkt geheel of gedeeltelijk uit levensvatbare organismen bestaat, of wanneer er niet voldoende wetenschappelijke gegevens voorhanden zijn om de veiligheid van het produkt aan te tonen, dan kan men niet volstaan met notificatie, maar zal de producent een autorisatie-aanvraag in moeten dienen.

Wanneer het hierbij gaat om een genetisch gemodificeerd organisme, dan moeten ook bewijzen worden bijgevoegd van toestemming van de competente autoriteit (Min. van VROM in Nederland) voor onderzoek en ontwikkeling van het betreffende organisme, alsmede het complete technische dossier dat nodig is voor de risico-analyse ten aanzien van mens en milieu, zoals aangegeven in de betreffende EG-richtlijnen. De Wetenschappelijke Commissie voor de Voeding zal dit dossier bij hun beoordeling betrekken. Deze Commissie zal geraadpleegd worden wanneer het een nieuw produkt betreft dat onder deze richtlijnen valt en dat mogelijk een negatief effect zou kunnen hebben op de gezondheid.

De Commissie zal de lidstaten van een autorisatie-aanvraag op de hoogte brengen, waarna de lidstaten kunnen adviseren en/of relevante wetenschappelijke informatie kunnen verschaffen. De aanvraag zal behandeld worden door het Permanente Comité voor Voedingsmiddelen. Dit Comité zal zich buigen over de te nemen maatregelen, zoals ze voorgesteld worden door de Commissie en zal vervolgens advies uitbrengen binnen een door de voorzitter vast te stellen termijn. Deze termijn wordt vastgesteld naargelang de urgentie van de aangelegenheid. De Commissie houdt rekening met het advies van het Comité.

Wanneer een lidstaat alsnog bezwaar heeft tegen toelating van een bepaald produkt dan bestaat de mogelijkheid om toelating van het produkt binnen de eigen landsgrenzen op te schorten of te

beperken. Dit moet direkt kenbaar gemaakt worden aan de andere lidstaten en aan de Commissie onder opgaaf van redenen. De Commissie zal deze redenen zo spoedig mogelijk binnen het Permanente Comité voor Levensmiddelen onderzoeken. Hierbij wordt de reeds eerder beschreven procedure opnieuw gevolgd.

Wanneer de Commissie van mening is dat de nationale maatregel moet worden gewijzigd of opgeheven, zal deze procedure leiden tot het vaststellen van gepaste maatregelen.

2.8 OECD - Environment Directorate

In 1990 is in de OECD een Werkgroep Voedselveiligheid en Biotechnologie ingesteld binnen de Groep van Nationale Experts op het gebied van Veiligheid in Biotechnologie (GNE). De Werkgroep houdt zich bezig met wetenschappelijke vragen op het gebied van de voedselveiligheid van nieuwe voedselprodukten en -ingrediënten, waarbij de nadruk ligt op produkten die geproduceerd zijn met behulp van biotechnologische technieken. Het gaat hierbij om produkten van (land)microbiële, plantaardige en dierlijke oorsprong. Voedseladditieven, contaminanten, proceshulpstoffen en verpakkingsmaterialen worden buiten beschouwing gelaten. *De Werkgroep heeft zich ten doel gesteld om wetenschappelijke concepten uit te werken, waardoor de veiligheid van deze nieuwe produkten aantoonbaar van hetzelfde niveau is als dat van de traditionele tegenhanger.*

In de introductie van het (concept)rapport dat in december 1991 is verschenen wordt een historisch overzicht gegeven van verschillende aspecten die de voedselveiligheid door de eeuwen heen beïnvloed hebben [OECD, 1991]. Variatie in nutriënten- en toxinensamenstelling worden beschouwd in het licht van veredelingsprocessen voor een hogere opbrengst, betere resistentie en betere sensorische eigenschappen, maar ook als gevolg van de invloed van externe milieufactoren en van interne factoren als opeenvolgende rijpingsstadia.

De Werkgroep heeft wetenschappelijke principes als uitgangspunt, die, rekening houdend met de specifieke kennis van het nieuwe produkt, op flexibele wijze gehanteerd moeten worden. De specifieke kennis heeft betrekking op de geïntroduceerde eigenschap, de consequenties voor de voedingswaarde en het toxinegehalte, het te verwachten consumptie-patroon en de bereidings- en verwerkingswijze van het produkt. De Werkgroep kiest voor een veel nadrukkelijker case-by-case benadering dan uit de hierboven beschreven voorgestelde procedures spreekt en stelt dan ook geen richtlijnen in de vorm van beslissbomen voor.

*De Werkgroep is van mening dat de nieuwe biotechnologische technieken noch een fundamenteel andere aanpak van de voedselveiligheidsproblematiek vereisen, noch nieuwe veiligheidsnormen. Basisgedachte van de evaluatie is de bepaling van **wezenlijke gelijkheid** (substantial equivalence) tussen het nieuwe produkt en de traditionele tegenhanger, indien voorhanden. Om dit vast te kunnen stellen is voldoende kennis nodig van het traditionele produkt, van het nieuwe produkt en van het ingebouwde construct en de expressieprodukten daarvan. Factoren van belang zijn verder de verwerkings- en/of bereidingswijze en het consumptie-patroon.*

De Werkgroep beoordeelt voedselprodukten of -componenten, afkomstig van organismen waarin een goed gekarakteriseerd construct is ingebouwd dat met een zekere waarschijnlijkheid niet codeert voor toxische elementen en geen pleiotrope effecten veroorzaakt, als equivalent aan hun traditionele tegenhanger. Op veranderingen in samenstelling en eventuele pleiotrope effecten kan gescreend worden door niveaus van bekende inhoudstoffen als nutriënten en toxinen te bepalen.

Wanneer de aanname van wezenlijke gelijkheid is gemaakt, kan het produkt overeenkomstig de traditionele tegenhanger beoordeeld worden. Wanneer er geen traditionele tegenhanger voorhanden is en het concept van wezenlijke gelijkheid niet zonder meer toegepast kan worden, dan moet evaluatie geschieden op grond van de ervaring met de evaluatie van vergelijkbare stoffen of produkten.

Het rapport van de Werkgroep geeft een negental voorbeelden van toepassingen van de hierboven beschreven principes. De gekozen voorbeelden variëren van een traditioneel produkt als LEAR (Low Erucic Acid Rapeseed) -olie tot produkten van transgene dieren. Allereerst wordt per voorbeeld een beschouwelijk overzicht gegeven van zaken die van belang kunnen zijn bij de uiteindelijke beoordeling. Dit kunnen uiteenlopende overwegingen zijn: continuïteitsconcept (wanneer het produkt niet verandert, maar het consumptie-patroon wel), temporeel concept (veranderingen in samenstelling van het traditionele produkt in de tijd), variabiliteitsconcept (variatie in toxine-gehalte in de opeenvolgende rijpingsstadia), en ook het concept van wezenlijke gelijkheid. Behandeld worden:

- de kennis van het produkt
- de evaluatie van de traditionele tegenhanger. Dit is sterk afhankelijk van de aard van het produkt.
- de eventuele beschikbaarheid van een databestand om het traditionele en nieuwe produkt zinvol te kunnen evalueren. Als voorbeeld geldt het databestand dat bij het RIKILT-DLO is aangelegd voor contaminanten in voedselprodukten (COBA).
- de kennis van de nieuwe faktor in het produkt.
- eventuele additionele evaluatie-procedures, wanneer dit noodzakelijk wordt geacht, met een motivering voor deze procedures.

De benadering van de Werkgroep is nieuw in die zin dat men meer uitgaat van wetenschappelijke concepten dan van technische dossiers. De case-by-case benadering is hier absoluut. Een beslisboom, die de dossierbeoordelaar behulpzaam zou moeten zijn in het formuleren van de eisen voor toelating, ontbreekt. Er worden verder bij voorbaat geen voorwaarden gesteld aan de technische details die geleverd moeten worden met betrekking tot construct en incorporatie-proces.

2.9 Verenigde Staten - Food and Drug Administration

De Food and Drug Administration (FDA) in de Verenigde Staten publiceerde in 1992 'Statement of Policy: Foods derived from new plant varieties' [FDA, 1992]. De FDA is daarmee de eerste overheidsinstantie die met een beleidsnota over het op de markt brengen van produkten afkomstig van genetisch gemodificeerde planten, naar buiten is getreden. De nota heeft betrekking op alle nieuwe plantenvariëteiten, ongeacht of deze door klassieke dan wel geavanceerde veredelings technieken zijn geproduceerd. De FDA stelt dat de bestaande wetgeving voldoende houvast biedt om ook produkten afkomstig van plantenlijnen die zijn verkregen met behulp van moderne technieken, te kunnen beoordelen. *Op dit moment worden nieuwe plantenlijnen niet systematisch aan een veiligheidsevaluatie onderworpen. De FDA is van mening dat dit ook in de toekomst, wanneer nieuwe plantenvariëteiten op de markt gebracht zullen worden die zijn verkregen met behulp van geavanceerde technieken, niet noodzakelijk is.* Men stelt dat de wettelijke status van een voedselprodukt afhankelijk is van de karakteristieken van dat produkt en van de wijze waarop het gebruikt zal worden en niet van de manier waarop het is ontwikkeld. Kennis van dit laatste kan hoogstens een aspekt zijn dat een juiste veiligheidsbeoordeling van het uiteindelijke produkt kan bewerkstelligen. *In bepaalde gevallen zal de FDA een veiligheidsevaluatie vooraf verlangen. In alle gevallen blijft de producent verantwoordelijk voor de veiligheid van het produkt voor de consument.*

In de Verenigde Staten kent men het Food Additives Amendment, waarin de toelating van voedseladditieven geregeld is. Hierin is bepaald dat voor voedseladditieven een veiligheidsevaluatie vooraf vereist is, tenzij het een stof betreft die als 'GRAS' erkend is of kan worden. Een beperkte lijst van 'GRAS'-stoffen is door de FDA opgesteld. Geadviseerd wordt met de FDA te overleggen in die gevallen waarin de producent van mening is dat een, niet op de lijst voorkomende, stof 'GRAS' is.

De FDA stelt dat een geïnserteerd gen en het expressie-produkt daarvan onder de regelgeving voor voedseladditieven vallen. Dit houdt in dat er in principe een evaluatie vooraf plaats dient te vinden, tenzij de stof voorkomt op de 'GRAS'-lijst of alsnog als 'GRAS' erkend wordt. Een aantal andere aspecten van nieuwe plantenlijnen die mogelijk geëvalueerd moeten worden teneinde de

voedselveiligheid van de produkten ervan te kunnen beoordelen, zijn: onvoorziene effecten, waaronder pleiotrope effecten, mogelijke veranderingen in gehalten van natuurlijke toxinen en van belangrijke nutriënten, mogelijke (verhoogde) allergeniteit en de aanwezigheid van antibioticumresistentie-genen als selectiemarkers.

Etikettering wordt in de nota noodzakelijk geacht wanneer de consument misleid dreigt te worden. Dit kan het geval zijn wanneer het nieuwe produkt dermate van een vergelijkbaar traditioneel produkt verschilt dat de traditionele naam niet langer betrekking heeft op het gemodificeerde produkt. Ook wanneer er (mogelijk) een allergeen is geïntroduceerd in het nieuwe produkt zal etikettering vereist zijn. In het algemeen is de FDA echter van mening dat etikettering van produkten die verkregen zijn door middel van geavanceerde veredelings technieken niet noodzakelijk is.

Een aantal beslisbomen is opgenomen als leidraad voor de producent bij de evaluatie van het produkt. Een zestal beslisbomen is hiertoe opgesteld, met betrekking tot de veiligheidsevaluatie van de gastheerplant, van het geïnserteerde fragment, van geïntroduceerde eiwitten, geïntroduceerde of gemodificeerde suikers, geïntroduceerde of gemodificeerde vetzuren en een beslisboom die de verschillende elementen samenvat. Op verschillende punten in deze beslisbomen, waar zich onduidelijkheden kunnen voordoen, wordt de producent geadviseerd om zich in verbinding te stellen met deskundigen van de FDA. Dit heeft als consequentie dat de uiteindelijke criteria waarop de FDA de nieuwe produkten beoordeelt enigszins vaag blijven.

Een complicerende faktor bij de Amerikaanse wetgeving is de verdeling van taken tussen de verschillende instellingen. Zo ligt de verantwoordelijkheid voor pesticiden bij de EPA (Environmental Protection Agency). Op dit moment zou een genetisch gemodificeerde en daardoor insect- of virusresistente plant door de EPA moeten worden beoordeeld, voor zover het de ingebrachte resistentie aangaat. Dit houdt in dat ook de voedselveiligheidsaspecten van het geïntroduceerde gen en de eventuele bijbehorende merker genen door de EPA beoordeeld zouden moeten worden.

2.10 Conclusies richtlijnen

In de voorgaande paragrafen is een overzicht gegeven van de richtlijnen voor de introductie van genetisch gemodificeerde produkten, zoals door verschillende organisaties (in concept) voorgesteld. In sommige gevallen zijn deze richtlijnen ingebed in bestaande richtlijnen voor produkten die verkregen zijn door middel van meer traditionele technieken, in andere gevallen worden richtlijnen voorgesteld als specifieke aanvulling op reeds bestaande richtlijnen. De hier beschreven richtlijnen hebben betrekking op produkten die zijn verkregen middels het gebruik van een aantal min of meer nauwkeurig omschreven technieken, met name recombinant-DNA technieken.

Figuur 2. Overzicht van de elementen in de verschillende voorgestelde beoordelingsstrategieën.

	A	B	C	D	E	F
IFBC	+	+	-	-	-	+
Skand.-NNT	-	+	?	+	+	-
VK-ACNFP	+	+	-	+/-	+	+
FAO/WHO	-	+	-	-	+	?
Gezondheidsr.	+	+	-	+	-	-
EG	?	+	+	?	?	-
OECD	-	+	-	-	-	?
VS-FDA	+	+	-	-	+	+

A: maakt gebruik van beslisbomen (de aard van de beslisbomen kan enigszins verschillen, zie beschrijving in tekst).

B: case-by-case benadering

C: nieuwe regelgeving nodig

D: risico-analyse m.b.v. dierexperimenten

E: aandacht voor allergeniteit bij risico-analyse

F: verantwoordelijkheid bij producent

+/- in bepaalde gevallen

Elk van deze organisaties heeft bij de risico-evaluatie van nieuw te introduceren produkten gekozen voor een case-by-case benadering. Dit wil echter niet zeggen dat er geen grote verschillen tussen de verschillende benaderingen zijn. Tussen de voorgestelde richtlijnen is een aanzienlijke variatie in interpretatie-ruimte waarneembaar. Zo zijn er voorstellen die de produkten in categorieën indelen en de beoordeling in eerste instantie op deze indeling baseren (m.n. voorstellen van de IFBC en de Nederlandse adviesorganen). Het OECD-voorstel voert het case-by-case principe het meest vergaand door. Er lijkt in die zin een zeker proces doorlopen te worden, waarbij de meer recente voorstellen de case-by-case benadering het verst doorvoeren.

Het voorstel van de Nederlandse Gezondheids-Voedingsraad is met name geënt op het IFBC-voorstel, dat de nadruk legt op beoordeling van het produkt en deze produkten in een aantal categorieën indeelt. Ook het rapport van de Skandinavische adviescommissie stelt voor om het produkt te beoordelen en niet het proces. Hier worden de produkten echter niet in categorieën ingedeeld, althans niet bij aanvang van beoordeling. De interpretatie-ruimte lijkt bij deze voorstellen beperkt. Bij het voorstel van de Engelse adviescommissie worden geen produktcategorieën gehanteerd. Zowel produkten als processen zijn onder één noemer gebracht. De Engelse beslisboom is geen beslisboom als zodanig; het is een leidraad om na te gaan welke informatie aangeleverd moet worden voor

beoordeling. Het zijn slechts globale richtlijnen. Er zijn geen consequenties aan verbonden en de interpretatie-ruimte van deze richtlijnen is groot.

De risico-evaluatie van de FAO/WHO-werkgroep is gericht op zowel het produkt als het proces. De gebruikte technologie bepaalt de hoeveelheid en de aard van de informatie die verschaft moet worden ten aanzien van het produkt. Hoewel de risico-analyse per categorie van produkten beschreven wordt, is men voorstander van algemeen geldende regels op wetenschappelijke basis in plaats van specifieke voorschriften voor produktcategorieën. Er wordt geen beslisboom gehanteerd. De interpretatie-ruimte is aanzienlijk.

De richtlijnen van de EG zijn geen richtlijnen zoals die in de overige adviezen worden gevonden. In het ontwerp-voorstel wordt beschreven hoe de beoordelingsprocedure dient te verlopen en er wordt een categorie produkten aangegeven waarvoor te allen tijde een autorisatie-procedure moet worden doorlopen.

De OECD gaat, zoals reeds gesteld, het verst in de case-by-case benadering. Deze benadering vertoont overeenkomst met die van de FAO/WHO of zoals deze uitgewerkt zou kunnen worden.

De FDA, ten slotte, hanteert ook een duidelijke case-by-case benadering, waarbij een zestal beslisbomen aan de producent aangereikt worden om de risico-evaluatie van een nieuw produkt uit te kunnen voeren. De producent blijft te allen tijde verantwoordelijk voor de op de markt gebrachte produkten. Wanneer deze beslisbomen geen uitsluitel kunnen geven ten aanzien van bepaalde vragen van de producent dan wordt deze geadviseerd om contact op te nemen met de FDA. Hierdoor blijven de uiteindelijke criteria van de FDA nogal vaag. Speciale aandacht wordt besteed aan de introductie van antibioticumresistentie-genen en de mogelijke introductie van potente allergenen. De FDA beraadt zich momenteel nog over deze onderwerpen. Door in principe geen autorisatie-procedure voor nieuwe, genetisch gemodificeerde produkten te eisen, wijkt de FDA duidelijk af van de standpunten zoals binnen de EG en OECD verwoord.

Omdat de interpretatie-ruimte bij de meeste voorstellen aanzienlijk is, is het niet eenvoudig na te gaan in hoeverre de invoering van deze richtlijnen zal leiden tot overeenkomstige beoordeling van nieuwe produkten in de verschillende landen of invloedssferen. Verschillende organisaties hebben zich al uitgesproken voor algemene, internationale richtlijnen op het gebied van de 'novel foods'. Met de publicatie van het ontwerp-voorstel van de Europese Commissie en de FDA-richtlijnen in de Verenigde Staten is het echter duidelijk geworden dat men wereldwijd nog ver verwijderd is van overeenstemming op dit gebied. Een belangrijk voordeel van algemeen aanvaarde richtlijnen is dat introductie van deze nieuwe produkten geen belemmerende invloed op het vrije handelsverkeer zal veroorzaken. Het is daarom belangrijk dat de internationale organisaties het voortouw nemen bij de discussie over richtlijnen voor de produktie van voedselprodukten en -ingrediënten afkomstig van genetisch gemodificeerde organismen.

Risico-evaluatie van enkelvoudige stoffen en eenvoudige chemische mengsels zal over het algemeen geen aanleiding geven tot grote verschillen in beoordeling. Ook met betrekking tot de beoordeling van genetisch gemodificeerde micro-organismen is in de voorstellen geen sprake van grote tegenstellingen, al kunnen lacunes in de taxonomische kennis hier wel voor de nodige problemen bij de risico-evaluatie zorgen [Franklin, 1988].

Er zijn echter wel redenen om aan te nemen dat zich, bij invoering van de hier beschreven beoordelingsstrategieën voor transgene plantaardige en dierlijke producten, aanzienlijke verschillen in de beoordelingen voor zullen doen. Met name de internationale organisaties pleiten voor beoordeling op grond van moleculair biologische en biochemische bepalingen, waarbij het nieuwe produkt wordt vergeleken met de traditionele tegenhanger. Ook de FDA adviseert de producent een analytische benadering. De Skandinavische en Nederlandse rapporten tenderen daarentegen naar beoordeling mede op grond van toxiciteitstesten van het produkt.

De rapporten die de voorkeur geven aan de analytische benadering wijzen er op dat het uitvoeren van toxiciteitstesten in dieren een omslachtige en tijdrovende procedure is, waarbij de verkregen gegevens vaak moeilijk interpreteerbaar zijn. Het uitvoeren van dergelijke testen zou daarom slechts na een grondige afweging plaats moeten vinden.

Het is de vraag in hoeverre de kans op insertionele mutagenese met negatieve effecten voor de voedselveiligheid werkelijk groter is bij toepassing van genetische modificatie in vergelijking met traditionele veredelings technieken. Ook bij traditionele veredelings technieken maken weefselkweekstappen vaak deel uit van de procedure. Hierbij kunnen in 30%-40% van de cellen veranderingen in de DNA-structuur ontstaan leidend tot morfologisch waarneembare veranderingen [Van den Bulk et al., 1990]. Een extra argument tegen het standaard uitvoeren van dierexperimenten is dat er mogelijk variatie in de genetische samenstelling binnen de ontwikkelde genetisch gemodificeerde lijn voorkomt. De lijn die uiteindelijk op de markt komt is vaak het resultaat van terugkruising van een aantal geslaagde transformantlijnen met de niet-gemodificeerde lijn. Een analytische benadering geeft hier waarschijnlijk meer informatie dan dierexperimenten over eventuele variatie in biochemische samenstelling en mogelijke toxicologische consequenties daarvan.

3 KNELPUNTEN

3.1 Inleiding

Wanneer een veiligheidsevaluatie van de producten van genetisch gemodificeerde organismen wordt uitgevoerd, kan een aantal aspecten problemen opleveren. Deze houden merendeels verband met de modificatie en slechts in enkele gevallen met de toegepaste technieken. In dit hoofdstuk worden een aantal van deze knelpunten kort besproken.

3.2 Transformatie-systemen.

De verschillende transformatie-systemen zijn er alle op gericht om genetische informatie van het ene naar het andere organisme over te brengen. Zelfs wanneer het een species-eigen gen betreft, zal er toch over het algemeen een vermenigvuldigingsstap in een micro-organisme plaatsvinden. Bovendien maakt het bij planten meest gebruikte transfer-systeem, het *Agrobacterium tumefaciens* systeem, gebruik van een micro-organisme als vector.

Hoewel de schade aan de cel niet bij alle systemen even groot zal zijn, zal selectie op basis van de morfologie deze verschillen grotendeels terugbrengen tot vergelijkbare waarden. Met andere woorden, wanneer een bepaald transformatie-systeem grote beschadigingen aan het plantegenoom veroorzaakt, zullen deze veranderingen spoedig morfologisch waarneembaar zijn en uitgeselecteerd kunnen worden. De overige veranderingen ten gevolge van de insertie, subtieler van aard, zullen min of meer overeenkomen met veranderingen veroorzaakt door andere, elegantere transformatie-systemen. Een systeem zal dan ook met name gekozen worden vanuit het oogpunt van efficiëntie. Toekomstige verbeteringen in de systemen, bijvoorbeeld de toepassing van homologe recombinatie, kunnen echter wel een factor zijn bij de veiligheidsevaluatie. Bij homologe recombinatie kan men een DNA-fragment gericht op een van tevoren bepaalde plaats incorporeren. De kans op insertionele mutagenese zal hierdoor aanzienlijk worden verlaagd. Op dit moment zijn de technieken voor homologe recombinatie in planten echter nog niet beschikbaar.

Overigens is het niet uitgesloten dat genetische modificatie middels het *Agrobacterium tumefaciens* systeem aanleiding kan geven tot effecten in de plant. Uit experimenten op praktijkschaal is gebleken dat verschillende soorten, onafhankelijk van de aard van de genetische modificatie, een zwakkere groei vertonen. Momenteel worden er experimenten uitgevoerd met wilde *Agrobacterium tumefaciens* stammen om te bepalen of dit effect ook bij deze stammen optreedt. Een andere mogelijke verklaring voor deze waarnemingen zou zijn dat het hier secundaire effecten van het vrij algemeen gebruikte merkergen npt II betreft.

3.3 Merkergenen

Om geslaagde transgenese-experimenten te kunnen herkennen, is het noodzakelijk om naast het doelgen een ander gen, het merkergen, mee in te bouwen. Om als merkergen dienst te kunnen doen moet het expressie-produkt zo spoedig mogelijk na afloop van het experiment aantoonbaar zijn. Verschillende genen die resistentie bieden tegen bepaalde externe factoren, zoals antibiotica of herbiciden in het medium, voldoen aan deze voorwaarde. Deze stoffen hebben bovendien als voordeel dat de niet geslaagde experimenten direkt uitgeselecteerd worden.

Het veruit meest gebruikte merkergen bij experimenten met genetische modificatie is het neomycine fosfotransferase II (npt II) -gen (= aminoglycoside (3') fosfotransferase II, APH (3') II). Het expressie-produkt veroorzaakt resistentie tegen o.m. neomycine en kanamycine. Deze antibiotica worden nog slechts op beperkte schaal toegepast in de humane geneeskunde. In de veterinaire geneeskunde worden ze nog wel op grotere schaal gebruikt, met name in de rundvee- en varkenshouderij [Bijvoet, 1991]. Aminoglycoside antibiotica worden toegediend bij infecties die veroorzaakt worden door aerobe gram-negatieve bacteriën. Anaerobe bacteriën (99% van de darmflora) zijn van nature resistent tegen aminoglycosides dankzij een gebrek aan respiratoire quinonen en bindingsplaatsen, nodig voor het transport van antibiotica naar het cytoplasma.

Over de voedselveiligheid van dit gen als merkergen bij de genetische modificatie van tomaten heeft het gentechnologie-bedrijf Calgene Inc. een lijvig rapport geschreven, dat ter beoordeling aan de FDA is voorgelegd. Het rapport gaat uit van theoretische overwegingen. Praktisch onderzoek is op dit gebied nog nauwelijks verricht. In dit rapport wordt gesteld dat het merkergen op drie manieren schadelijk zou kunnen zijn, nl. door een directe toxische werking, door immunologische effecten (allergische reactie) of door een verminderde effectiviteit bij medische behandeling. Een toxische werking van het DNA als zodanig is niet waarschijnlijk. Het rapport stelt dat er nog nooit een aanwijzing is gevonden voor de mogelijkheid van transformatie van darmepitheelcellen in vivo. De epitheelcellen zijn volledig gedifferentieerd en hebben een halfwaardetijd van 5-8 dagen. Transformatie van deze cellen zal een dermate kortdurend effect hebben, dat behandeling met antibiotica er niet door in gevaar wordt gebracht. Verder zijn er geen gevallen bekend van spontane transformatie van een bacteriesoort in de maagdamtractus van de mens of onder de omstandigheden die daar gelden. Het rapport beschrijft een risico-analyse voor een dergelijke transformatie en concludeert dat, in een 'worst case scenario', bij 1 op de 1000 personen, die de gemiddelde dagelijkse hoeveelheid genetisch gemodificeerde tomaten verorbert, één bacterie in de darmflora resistent wordt tegen neomycine en kanamycine. Vergeleken met de grote aantallen aerobe bacteriën die al resistentie hebben opgebouwd tegen deze antibiotica, lijkt dit verwaarloosbaar [Calgene, 1990].

Met betrekking tot de effecten van het genprodukt wordt er door Calgene van uitgegaan dat de introductie van resistentie-genen geen immunologische gevolgen heeft. Redenen hiervoor zijn dat het gen al van nature in de darmflora voorkomt en het gegeven dat mutaties in microbiële cellen zorgen voor een constante stroom van nieuwe eiwit- en nucleïnezuurmolekules. Een verminderde effectiviteit van het antibioticum als geneesmiddel wordt onwaarschijnlijk geacht, omdat het enzym snel zou worden afgebroken in het maagdarmkanaal. Bovendien is voor effectieve inactivatie van bijv. kanamycine ATP nodig. Dit is waarschijnlijk niet voorhanden in het maagdarmkanaal [Calgene, 1990].

Sinds kort is een methode beschikbaar om het antibioticum-resistentie-gen na afloop van de geslaagde transformatie weer uit het plantegenoom te verwijderen. Hiertoe wordt een extra gen ingebracht dat verwijdering van het npt II -gen bewerkstelligt, waarna het extra gen uitgekruist wordt [Moffat, 1991]. Dit betekent echter een aanzienlijke vertraging in de totale veredelingsprocedure.

Naast antibioticumresistentie-genen worden in beperkte mate ook herbicide-resistentie-genen als merker-genen gebruikt. Deze hebben het voordeel dat er naast snelle identificatie van geslaagde experimenten directe selectie plaats kan vinden. Op dit moment zijn er echter nog geen marktrijpe producten, waarbij een herbicide-resistentie-gen als merker-gen is ingebouwd. Een (toxicologische) risico-evaluatie van deze genen en genprodukten heeft nog niet plaatsgevonden.

In micro-organismen is men er in geslaagd methoden te ontwikkelen, waarmee een essentieel gen, noodzakelijk voor normale groei en reproductie, uit het genoom verwijderd kan worden. Vervolgens wordt dit gen samen met het doelgen weer in het genoom geïntroduceerd, waardoor het als merker-gen kan fungeren. Het lijkt nog slechts een kwestie van (onderzoek)tijd alvorens dergelijke systemen voor hogere organismen beschikbaar komen. Wanneer er geen zwaarwegende argumenten uit een toxicologische evaluatie voortkomen, lijkt het vooralsnog aanvaardbaar om in de tussentijd het gebruik van de resistentie-genen als merker-genen toe te staan. Tegelijkertijd zal het onderzoek naar alternatieve systemen gestimuleerd moeten worden, alsmede postmarketing onderzoek naar de gevolgen van introductie van deze merker-genen voor de antibioticumresistentie van de darmflora.

3.4 Regulatorelementen

Het lijkt nog slechts een kwestie van tijd voordat het technisch mogelijk is om elk gewas, mono- en dicotyl, genetisch te modificeren. Identificatie en isolatie van geschikte genen en regulatorelementen zal dan nog meer de beperkende factor worden bij het aantal nieuwe toepassingen van deze technieken. Het modificeren van een produkt van secundair metabolisme (geen eiwit) vergt aanzienlijk

meer fundamentele biochemische kennis dan op dit moment beschikbaar is [Lindsey et al., ??]. Ook de identificatie van specifieke regulatorelementen als promotoren of enhancers die weefsel specifiek of ontwikkelingsstadiumafhankelijk actief zijn verloopt op dit moment nog moeizaam. Daarbij komt dat de specifieke werking van een regulatorelement in de ene species geen garantie blijkt voor eenzelfde werking in een andere soort. Het is echter wel mogelijk gebleken om de promotor-activiteit te manipuleren door middel van het vervangen van bepaalde sequenties binnen de promotor [Schöffl et al., 1990].

Er zijn nog maar enkele weefsel specifieke promotoren geïdentificeerd. Voorbeelden van dergelijke promotoren zijn de patatin-promotor (expressie in de aardappelknol), de faseollin- en conglycinine-promotoren (cotyledon), glutenine- en β -hordeïne-promotoren (endosperm) en de α -amylase-promotor (aleuron) [Lindsey et al., ??].

Naast deze specifieke promotoren is een aantal constitutieve en induceerbare promotoren bekend. De meest gebruikte constitutieve promotoren zijn de nos- (nopaline synthase) en CaMV (Cauliflower Mosaic Virus) -promotoren. De laatste veroorzaakt gemiddeld een dertig maal hoger expressie-niveau dan de eerste [Holden, 1990]. De tot dusver bekende, induceerbare promotoren zijn gevoelig voor licht (de promotoren van de kleine subeenheid van Rubisco en van chlorofylbindend eiwit), voor anaerobiosis (van alcoholdehydrogenase I), voor hiteshokken (heat shock proteins), voor schimmelfactoren (chalconsynthase) of voor verwonding (potato inhibitor II) [Lindsey et al., ??].

Een groep promotoren waar op dit moment veel onderzoek aan gedaan wordt zijn de promotoren van de 'heat shock proteins (hsp)'. Dit is een groep eiwitten die bij een plotselinge temperatuurverhoging en mogelijk ook bij andere stress-inductoren tot expressie komen. Hierbij wordt tegelijkertijd de translatie-efficiëntie van andere mRNAs tijdelijk verlaagd. Vermoedelijk beschermt deze reactie de cel tegen de gevolgen van hittestress. Hoewel de hs-eiwitten uit verschillende families bestaan en grote diversiteit vertonen, zijn grote overeenkomsten gevonden tussen deze eiwitten in verschillende organismen. De precieze rol van de hs-eiwitten is niet opgehelderd. Het lijkt erop dat ze bij de ontwikkeling van het individu een rol spelen, onafhankelijk van de temperatuur. Binnen de promotoren van hs-genen zijn sequenties gevonden die van belang zijn voor de hitte-inductie en voor expressieverhoging. Met kennis van deze elementen zijn promotoren samengesteld die een verhoogde expressie bewerkstelligen [Schöffl et al., 1990].

Ook door duplicatie van promotoren of enhancers in transgene gewassen is het mogelijk gebleken om de expressie dramatisch te verhogen. Toepassingen van deze nieuwe regulatorelement-doelgencombinaties doet de noodzaak voor onderzoek naar goede systemen voor metabolietprofilering en component-analyse verder toenemen. Zo kan, zoals reeds gesteld, een promotor die in een bepaald organisme specifieke expressie bewerkstelligt in een weefsel of ontwikkelingsstadium constitutieve expressie veroorzaken in een ander organisme. Tussenliggende scenario's, bijv. expressie in meerdere maar niet in alle weefsels, zijn hierbij ook mogelijk. Voor een goede veiligheidsevaluatie is het van belang dat hier meer inzicht in wordt verkregen.

3.5 Component-analyse en metaboliet-profilering

Gebleken is in het verleden dat vergaande selectie op ziekteresistentie in klassieke veredelingsprogramma's kan leiden tot onaanvaardbaar hoge niveaus van natuurlijke toxinen. Een voorbeeld is het hoge solanine-gehalte in resistente aardappelvariëteiten [Anderson et al., 1987; Mahon, 1990]. Van de biochemische achtergrond van natuurlijke resistentie is vaak nog maar weinig bekend. Derhalve is het vooral nog belangrijk om in nieuwe variëteiten, verkregen middels klassieke dan wel nieuwe veredelingsmethoden, een component-analyse uit te voeren. Op deze wijze kan inzicht worden verkregen in veranderde gehalten aan natuurlijke toxinen, maar ook van belangrijke nutriënten. De OECD beschouwt dit als één van de belangrijkste pijlers van de risico-evaluatie en heeft hiervoor het concept van wezenlijke gelijkheid ingevoerd. Dit concept geeft een beschouwelijke basis voor de risico-evaluatie van producten die slechts op één of enkele punten gewijzigd zijn ten opzichte van het klassieke produkt [OECD, 1991].

Figuur 3. Basiselementen in de risico-evaluatie van genetisch gemodificeerde complexe producten.

Blootstelling:

- aan de nieuw geïntroduceerde eiwitten, inclusief de markereiwitten
- aan het gehele complexe produkt

Wezenlijke gelijkheid:

- van het nieuwe produkt in vergelijking met de traditionele tegenhanger

[DNA - analyse:

- van de insertieplaats en de flankerende regio's]

(Immuno)toxiciteit:

- van de nieuw geïntroduceerde eiwitten, inclusief de markereiwitten
- van traditionele inhoudsstoffen, indien significant verhoogd

In verschillende andere rapporten, o.m. van de FDA, is dit idee verder uitgewerkt en wordt gesteld dat het niveau aan natuurlijke toxinen dat in andere eetbare variëteiten van dezelfde soort niet mag overschrijden [FDA, 1992; Stewart, 1992]. Andere rapporten geven echter aan dat een gewijzigde samenstelling met betrekking tot nutriënten of natuurlijke toxinen niet hoeft in te houden dat deze produkten niet langer als veilig kunnen worden beschouwd. De bereidingswijze van het produkt is bij de veiligheidsevaluatie ook een factor. Wanneer deze erop gericht is om het produkt te ontdoen van natuurlijke toxinen, bijvoorbeeld middels koken, dan is dit een belangrijk gegeven bij de risico-evaluatie.

Algemeen wordt verwacht dat er ten gevolge van de toepassing van genetische modificatie in de veredeling een kritischer houding zal ontstaan ten opzichte van alle nieuwe landbouwprodukten, geproduceerd zowel via traditionele dan wel geavanceerde biotechnologische technieken. De biotechnologie kan in dit opzicht bijdragen tot de bewustwording van de consument. Er zal hierdoor ook een toenemende behoefte ontstaan aan goede analyse-methoden voor complexe produkten. Verder is het van belang dat de verspreid aanwezige databestanden ten aanzien van voedingscomponenten zo spoedig mogelijk gecombineerd worden, daar modificatie-analyse van complexe produkten zich (voorlopig?) zal concentreren op bekende nutriënten, toxinen en anti-nutritionele factoren. Op deze manier kan inzicht verkregen worden in de samenstellende stoffen van een produkt, maar ook met name in de variatie in deze samenstelling, afhankelijk van bijv. lijn, rijpingsstadium of plaats van bemonstering.

Op dit moment is er weinig bekend ten aanzien van de spreiding van de verschillende componenten in de diverse variëteiten. Om een oordeel te kunnen geven over toe- of afgenomen toxiciteit van een nieuw produkt zal het daarom noodzakelijk zijn inzicht te verwerven in de biochemische veranderingen ten gevolge van een bepaalde genetische modificatie, anders dan de beoogde veranderingen. Hiertoe zullen databestanden moeten worden opgezet waarin bestaande gegevens aangevuld worden met gegevens uit gericht onderzoek.

Een alternatief voor component-analyse is metaboliet-profilering. In het laatste geval wordt, met behulp van technieken als NMR, (N)IR, LC(GC)-MS, een beeld verkregen van een nieuw produkt. Dit beeld kan vergeleken worden met de klassieke tegenhanger van het nieuwe produkt en met profielen van produkten van andere variëteiten. Het zal hierbij niet nodig zijn om de individuele pieken uit het spectrum te karakteriseren: het profiel als zodanig verschaft informatie over eventuele veranderingen in biochemische samenstelling. Wanneer op deze wijze grote verschillen tussen het klassieke en

nieuwe produkt worden gevonden, kan alsnog worden overwogen om via gericht vervolgonderzoek de biochemische achtergrond van deze verschillen te bepalen. Wanneer de verschillen zich echter slechts in één of enkele transformantlijnen voordoen, dan zal het over het algemeen aanbevelenswaardig zijn om niet met deze lijnen verder te gaan. Op deze wijze kan metabolië-profilering ook al in een vroeg stadium in het veredelingsprogramma van dienst zijn.

3.6 Immunotoxiciteit

Een aspect dat in verschillende rapporten genoemd wordt en dat een belangrijke faktor geacht wordt bij de introductie van een eiwit in de voedselketen, is de immunotoxiciteit van dat eiwit. Dit is een nog relatief onontgonnen onderzoekgebied. Een eiwit(fragment) kan een immunologisch effect bewerkstelligen wanneer een bepaald epitoom ongewijzigd wordt opgenomen of wanneer het eiwit(fragment) zodanige modificatie heeft ondergaan dat er een effect op kan treden. Overigens lijkt het erop dat voedselintolerantie (niet-immunologische voedselovergevoeligheid) vaker voorkomt dan voedselallergie. Voedselintolerantie kan het gevolg zijn van het ontbreken van bepaalde essentiële enzymen, maar andere oorzaken zijn geenszins uitgesloten. De onderliggende oorzaak van voedselintolerantie is zelden bekend en er wordt relatief weinig onderzoek verricht op dit gebied [Gezondheidsraad, 1991]. Nu mogelijk binnen afzienbare tijd een aantal nieuwe stoffen in aanzienlijke hoeveelheden in het humane dieet zullen verschijnen, lijkt het wenselijk om het onderzoek naar allergeniteit en intolerantie-inductie te intensiveren.

In het maagdarmkanaal bevinden zich verschillende soorten gespecialiseerde immuuncellen en -weefsels. De belangrijkste hiervan zijn Peyer's patches (gegroepeerde T- en B-lymfocyten in de dunne darm). Over de Peyer's patches liggen epitheliale cellen gevouwen (M cellen) die waarschijnlijk een presenterende functie hebben. Peyer's patches bevatten de precursors voor secretoir IgA. Belangrijke celtypen zijn verder o.m. de intra-epitheliale lymfocyten, de lamina propria lymfocyten, macrofagen, mestcellen. Toetsen op immunotoxiciteit zijn met name gebaseerd op veranderingen in (de samenstelling van) deze immuuncelpopulaties. Een goede beschrijving van de verschillende vormen van immuunrespons na antigeenstimulatie is te vinden in het Gezondheidsraadrapport over immunotoxiciteit [Gezondheidsraad, 1991]. Dit bevat tevens een overzicht van de testsystemen die voorhanden zijn om immunotoxiciteit van stoffen te bepalen. De door het rapport voorgestelde onderzoekstrategie bij het bepalen van de immunotoxiciteit van (nieuwe) stoffen berust grotendeels op een door de IPCS uitgebracht rapport uit 1987, waarin een meerfasensysteem wordt voorgesteld. Aanwijzingen voor immunotoxiciteit in de eerste fase leidt dan tot tweede-fase-onderzoek met meer specifieke testen. Gevalideerde testsystemen om sensibiliserende eigenschappen van stoffen te

onderzoeken in verband met voedselallergie zijn er echter niet. Een testsysteem dat in het rapport als veelbelovend wordt aangemerkt is de 'popliteale lymph node (PLN)' -test, die berust op een lymfoproliferatieve reactie in de popliteale lymfklier. Tot dusver zijn hiermee goede resultaten geboekt bij het voorspellen van het vermogen van stoffen om contactdermatitis en auto-immuunziekten te veroorzaken. In hoeverre de test ook geschikt gemaakt kan worden om voedselallergenen te toetsen is nog onduidelijk. Het grootste probleem bij de ontwikkeling van goede testsystemen is de grote interindividuele variatie in gevoeligheid voor sensibilisatie en de daarmee samenhangende allergie [Gezondheidsraad, 1991; Schou 1990]. Tezamen met de in het rapport genoemde toetsen wordt dan ook steeds 'postmarketing surveillance' en epidemiologisch onderzoek geadviseerd.

3.7 Posttranslatieve modificatie

Posttranslatieve modificatie kan een factor zijn bij zowel toxiciteit als immunogeniteit. Hoe groot de invloed is van bijvoorbeeld glycosylering op de immunogeniteit, receptorherkenning, degradatiesnelheid en afbraakprodukten van een eiwit is niet bekend. Er zijn echter aanwijzingen dat deze niet onderschat moet worden [Alexander et al., 1984; Goldberg et al., 1990; Mahon, 1990]. Ook andere vormen van posttranslatieve modificatie, zoals fosforylering, zouden in bepaalde gevallen toxicologische effecten kunnen veroorzaken. Ook kan juist het ontbreken van posttranslatieve modificatie een toxicologisch effect teweegbrengen. Dit is denkbaar wanneer een eukaryoot gen in een prokaryoot organisme tot expressie wordt gebracht, bijv. door micro-organismen geproduceerd chymosine [Mahon, 1990]. Op dit gebied is meer onderzoek noodzakelijk.

3.8 Etikettering

In verschillende rapporten wordt etikettering van genetisch gemodificeerde produkten kort besproken. Niet alle rapporten zijn hierbij eensgezind met betrekking tot de produkten die van een etiket zouden moeten worden voorzien. Sommige adviesraden zijn van mening dat alle produkten die zijn verkregen middels genetische modificatie een etiket behoren te krijgen om de keuzevrijheid van de consument te waarborgen. Andere instanties, waaronder de FDA, menen dat etikettering alleen noodzakelijk is wanneer een produkt zodanig gewijzigd is, dat consumptie van dit produkt een risico vormt voor een selecte groep consumenten. Een voorbeeld hiervan is de modificatie waarbij een bekend allergeen, bijvoorbeeld een pinda-allergeen, is overgebracht in een produkt waarin dit allergeen voorheen niet voorkwam [FDA, 1992; Anderson et al., 1987].

Wanneer etikettering verplicht wordt voor bepaalde categorieën producten, dan zullen analytische methoden beschikbaar moeten zijn om controle mogelijk te maken. Duidelijk is dat goede identificatiemethoden noodzakelijk zijn voor effectieve controle. Onduidelijk is hoe maatregelen voor snelle identificatie genomen kunnen worden zonder daarbij een extra risico-factor, bijvoorbeeld een extra identificatie-sequentie, in te voeren. Identificatie zal daarom produktspecifiek moeten plaatsvinden. Wanneer een natuuridentiek gen wordt ingebouwd zal controle aan de hand van biochemische analyses over het algemeen niet voldoende zijn en zullen testsystemen op DNA-niveau moeten worden ontwikkeld. Daar elke transformant in principe uniek is, zullen deze systemen zich moeten richten op algemene karakteristieken, waardoor ze mogelijk minder gevoelig zullen worden [Jones, 1992]. Andere voorstellen, zoals de co-introductie van genen die opvallende kenmerken veroorzaken voor organismen die niet voor consumptie geschikt zijn [Anderson et al., 1987], lijken minder realistisch.

Een andere voorwaarde voor etikettering is een goede definitie van bijvoorbeeld genetische modificatie en andere begrippen die hierbij een rol spelen. In de praktijk blijkt dat het vaak moeilijk is om een scherpe grens te trekken tussen verschillende categorieën producten.

Het is duidelijk dat het informeren van de consument van cruciaal belang is voor de acceptatie van de nieuwe producten [De Greef, 1991; Middlekauff, 1990; Hamstra et al., 1989]. In Nederland wordt de discussie hierover nog volop gevoerd. Vooralsnog lijken de uitkomsten te stroken met de aanbevelingen van het Engelse rapport: geen etikettering voor natuuridentieke producten. In een voorlopige overeenkomst staat dat gebruik van het natuuridentieke chymosine niet op de verpakking vermeld hoeft te worden.

4 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

Uit de voorgaande hoofdstukken worden de volgende conclusies getrokken:

* De voorgestelde richtlijnen voor de beoordeling van de voedselveiligheidsaspecten van met behulp van recombinant-DNA technieken gemodificeerde voedingsmiddelen vertonen grote overeenkomst met hier en daar accentverschillen. Belangrijke overeenkomsten zijn de benadering van het transgene expressie-produkt als additief. Toxiciteit en blootstelling dienen bepaald te worden. Om mogelijke pleiotrope effecten in complexe produkten op te merken maken alle richtlijnen gebruik van het principe om het nieuwe produkt qua samenstelling te vergelijken met de klassieke tegenhanger (substantial equivalence). Verschillen tussen de voorgestelde richtlijnen voor complexe produkten zijn er met name ten aanzien van de noodzaak voor aanvullende toetsen ter bepaling van bijvoorbeeld toxiciteit en allergeniteit van het produkt.

De criteria waarop getoetst zal worden zijn echter nog geenszins duidelijk. Om hierin meer inzicht in te krijgen en om de richtlijnen te toetsen op mogelijke onvolkomenheden zal het nodig zijn om een aantal testcases volgens een selectie van de voorgestelde procedures te evalueren. Door de resultaten van deze evaluaties terug te koppelen kan een optimale beoordelingsstrategie worden bevorderd. Voorgesteld wordt om in eerste instantie produkten te toetsen aan de richtlijnen zoals voorgesteld door resp. de Gezondheidsraad, OECD en FDA.

* De case-by-case benadering is algemeen aanvaard en lijkt de beste aanpak om de grote verscheidenheid aan genetische modificaties in diverse produkten te evalueren. Bovendien kunnen bij een case-by-case benadering de laatste wetenschappelijke inzichten bij de beoordeling betrokken worden, waardoor de veiligheid van de nieuwe produkten maximaal gewaarborgd wordt. Een nadeel van de case-by-case benadering is dat er mogelijk meer inspanning voor nodig is om de uniformiteit bij de beoordeling te handhaven. Verder kan de communicatie met de consument door deze benadering bemoeilijkt worden en zal de beoordelingsprocedure meer tijd vergen.

Wanneer enige ervaring is opgedaan met het beoordelen van produkten zal het waarschijnlijk mogelijk blijken om produktcategorieën aan te geven, die op grond van de kennis van produkt en insert een eenvoudiger beoordelingsprocedure kunnen doorlopen.

* Het is discutabel of voederproeven met het produkt een onderdeel van de toxicologische risico-evaluatie zouden moeten zijn. De meer recente rapporten pleiten met name voor een analytische in plaats van een dierexperimentele benadering voor de risico-analyse. Gezien de problemen bij de dierexperimentele benadering (moeilijkheden bij het samenstellen van een uitgebalanceerd

proefdierdieet, lage veiligheidsfactoren) lijkt deze keuze voor een analytische benadering gerechtvaardigd. Op dit moment zijn voor de toxicologische toetsing van het (complexe) produkt alleen de klassieke toxicologische dierexperimenten beschikbaar.

Een alternatief voor deze experimenten zouden in theorie een analytische benadering op DNA/(RNA) - niveau dan wel componenten-analyse of metabolietprofilering kunnen zijn. Fundamentele kennis op DNA-niveau ontbreekt echter grotendeels. Component-analyse en metabolietprofilering lijken perspectief te bieden om (op relatief eenvoudige en proefdierbesparende wijze) een beeld te geven van veranderingen in samenstelling na genetische modificatie. Wanneer de analytische benadering niet voldoende gegevens oplevert omtrent de veiligheid van het produkt, kan aanvullend gericht dierexperimenteel onderzoek alsnog worden overwogen.

* Wanneer voor een analytische benadering wordt gekozen, zullen de randvoorwaarden hiervoor geschapen moeten worden. Hierbij gaat het zowel om het ontwikkelen van systemen om het concept van wezenlijke gelijkheid te toetsen (metabolietprofilering, component-analyse), alsmede om het opzetten van databanken om risico-analyses in de toekomst efficiënter uit te kunnen voeren. Deze databanken moeten informatie verschaffen over de aanwezigheid van en variatie in nutriënten en anti-nutritionele factoren in bepaalde (variëteiten van) gewassen.

* Op een aantal terreinen is aanvullend fundamenteel onderzoek noodzakelijk om de veiligheidsevaluatie in de toekomst efficiënter uit te kunnen voeren. Dit onderzoek is nodig op het gebied van de immunotoxicologie, darmtoxicologie en de fundamentele moleculaire biologie (regulatorelementen, gen-gen-interactie). Daarnaast is uitbreiding van de kennis van de fysiologie van de plant van belang voor de veiligheidsevaluatie van de nieuwe variëteit. Tenslotte is aanvullende kennis van het verschijnsel van posttranslatieve modificatie nodig teneinde de evaluatie beter te kunnen uitvoeren. Op korte termijn zou met name toegepast onderzoek op het gebied van posttranslatieve modificatie, immuno- en darmtoxicologie van (gemodificeerde) complexe voedingsmiddelen gestimuleerd dienen te worden om evaluatieprocedures te verbeteren. De ontwikkeling van in-vitro systemen zou bovendien proefdierbesparend kunnen werken.

REFERENTIES

Alexander S., J.H. Elder.

Carbohydrate dramatically influences immune reactivity of antisera to viral glycoprotein antigens.
Science 226(1984):1229-1330.

Allison R., Thompson C., Ahlquist P.

Regeneration of a functional RNA virus genome by recombination between deletion mutants and requirement for cowpea chlorotic mottle virus 3a and coat genes for systemic infection.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87(1990):1820-1824.

American Medical Association, Council on Scientific Affairs.

Biotechnology and the American Agricultural Industry.

JAMA 265(1991)11:1429-1436.

Anderson D., W.F.J. Cuthbertson.

Safety testing of novel food products generated by biotechnology and genetic manipulation.

Biotechnology and Genetic Engineering Reviews 5(1987):369-395.

Bijvoet J.F.M., Nap J.P.H.

Kanamycine resistentie in transgene planten. Inventarisatie en evaluatie van mogelijke risico's.

B-rapport CPRO-DLO, afd. Mol. Biol.

Biotechnology Committee: Food Sanitation Investigation Council.

Guidelines for safety evaluation of food or food additives produced by rDNA methods.

Biotechnology Committee: Food Sanitation Investigation Council, Japan (1990), draft.

Brostoff J.

Food allergy and intolerance.

Proc. of EAACI (1990) Meeting:325-329.

Calgene, Inc., Davis, California

Kanr gene: safety and use in the production of genetically engineered plants.

Calgene (1990), Request for advisory opinion.

Clare Mills E.N., M.J.C. Alcocer, M.R.A. Morgan.
Biochemical interactions of food-derived peptides.
Trends in Food Science & Technology 3(1992):64-68.

Cocking E.C.

All sorts of genetic manipulation.

Genetic engineering of crop plants. G.W. Lycett, D. Grierson, eds. (1990):1-12. Butterworths.

Creamer R., Falk B.W.

Direct detection of transcapsidated barley yellow dwarf luteoviruses in doubly infected plants.
Journal of General Virology 71(1990):211-217.

De Greef W.

Regulations and the future of agricultural biotechnology.

Agro-food-Industry, Hi-tech 2(1991)4:3-7.

Dept. of Health: Advisory Committee on Novel Foods and Processes.

Guidelines on the Assessment of Novel Foods and Processes.

Dept. of Health, report on health and social subjects 38 (1991),

London HMSO.

Drahos D.J.

Current practices for monitoring genetically engineered microbes in the environment.

AgBiotech News and Information 3(1991)1:39-48.

Edwards G.A., A. Hopher, S.P. Clerk, D. Boulter.

Pea lectin is correctly processed, stable and active in leaves of
transgenic potato leaves.

Plant Molecular Biology 17(1991):89-100.

EEC: DG III

Ontwerp-voorstel voor een Verordening van de Raad betreffende nieuwe voedingsmiddelen en nieuwe
voedsel ingrediënten.

Document COM (1992) 295 FINAL - SYN 426, DG III, EEC.

Florack D.E.A., L. Visser, L. van Vloten - Doting, F. Heidekamp, W.J. Stiekema.

Synthetic hordothionin genes as tools for bacterial disease
resistance breeding.

Agricultural biotechnology in focus in the Netherlands (1990):39-48. J.J. Dekkers, H.C. van der Plas,
D.H. Vuijk, eds. Pudoc, Wageningen.

Food and Drug Administration, Dept. of Health and Human Services,
USA.

Statement of policy: Foods derived from new plant varieties; notice.

Federal Register 57(1992)104:22984-23005.

Fraley R.

Sustaining the food supply.

Bio/Technology 10(1992):40-43.

Franklin C.A.

Modern biotechnology: a review of current regulatory status and
identification of research and regulatory needs.

Toxicology and Industrial Health 4(1988)1:91-105.

Gadani F., Mansky L.M., Medici R., Miller W.A. Hill J.H.

Genetic engineering of plants for virus resistance.

Arch. Virol. (1990):115:1-21.

Gal S., B. Pisan, T. Hohn, N. Grimsley, B. Hohn.

Agroinfection of transgenic plants leads to viable cauliflower mosaic virus by intermolecular
recombination.

Virology 187(1992):525-533.

Gardner M.L.

Gastrointestinal absorption of intact proteins.

Ann. Rev. Nutr. (1988)8:329-350.

Gardner M.L.G.

Absorption of intact peptides and proteins.

Biol.Rev. 59(1984):289-331.

Gezondheidsraad: Commissie Immunotoxicologie.

Immunotoxiciteit van stoffen.

Den Haag: Gezondheidsraad, (1991), publikatienr. 1991/16.

Gezondheidsraad: Commissie Toxicologische aspecten van
biotechnologisch bereide producten.

Productveiligheid bij nieuwe biotechnologie.

Den Haag: Gezondheidsraad (1992); publikatienr. 1992/03.

Goldburg R.J., Tjaden G.

Are B.T.K. plants really safe to eat?

Bio/Technology 8(1990):1011-1015.

Goré J., Hoinard C., Maingault Ph.

Biotin uptake by isolated rat intestinal cells.

Biochimica et Biophysica Acta 856(1986):357-361.

Grierson D., C.J.S. Smith, C.F. Watson, P.C. Morris, J.E. Gray, K. Davies, S.J. Picton, G.A. Tucker, G. Seymour, W. Schuch, C.R. Bird, J. Ray.

Regulation of gene expression in transgenic tomato plants by
antisense RNA and ripening-specific promoters.

Genetic engineering of crop plants (1990):115-126. G.W. Lycett and D. Grierson, eds. Butterworths, London.

Hamstra A.M., M.H. Feenstra.

Consument en biotechnologie. Kennis en meningsvorming van consumenten over biotechnologie.

SWOKA rapport (1989)85.

Harlander S.K.

Food biotechnology.

Biotechnology and food safety. Proceedings of the second
international symposium. Butterworth-Heinemann (1990):3-15.

Hensgens L.A.M., P.E. van Os - Ruygrok.

Design of gene constructs for transformation in grasses.

Agricultural biotechnology in focus in the Netherlands (1990):25-29. J.J. Dekkers, H.C. van der Plas, D.H. Vuijk, eds. Pudoc, Wageningen.

Hilder V.A., Gatehouse A.M.R., Boulter D.

Genetic engineering of crops for insect resistance using genes of plant origin.

Genetic engineering of crop plants. G.W. Lycett and D. Grierson, eds. (1990):51-66. Butterworths.

Holden M.

Prospects for the genetic manipulation of metabolic pathways leading to secondary products.

The impact of biotechnology in agriculture. R.S. Sangwan and B.S.

Sangwan-Norreel (eds.), (1990):403-417. Kluwer Academic Publishers.

ILSI Europe Technical Committee on Novel Foods.

Assessment of novel food.

International Life Sciences Institute, European Branch (1989).

Discussion paper.

International Food Biotechnology Council.

Biotechnologies and food: assuring the safety of foods produced by genetic modification.

Regul. Toxicol. Pharmacol. 12(1990):S1-196.

International Programme on Chemical Safety (IPCS).

Identification of immunotoxic effects of chemicals and assessment of their relevance to man.

Monograph of the European Chemical Industry Ecology & Toxicology Center, ECETOC monograph 10, Brussel (1987).

Jones J.L.

Genetic engineering of crops: its relevance to the food industry.

Trends in Food Science & Technology (1992)3:54-59.

Klopper W.J.

Toelatingsbeleid voedseladditieven en proceshulpstoffen bijstellen.

VMT (1992)8:35-38.

Lazzeri P.A., H. Lörz.

Regenerable suspension and protoplast cultures of barley and stable transformation via DNA uptake into protoplasts.

Genetic engineering of crop plants (1990):231-238. G.W. Lycett and D. Grierson, eds. Butterworths, London.

Lindemann J.

Food safety related to biotechnology: role of IFBC.

Biotechnology and food safety. Proceedings of the second international symposium. Butterworth-Heinemann (1990):17-24

Lindsey K., Jones M.G.K.

Manipulation of plant product quality and quantity.

Plant Biotechnology in Agriculture. Open University Press, London.

Lindsey K., and Jones M.G.K.

The cell biology of genetic engineering.

Plant Biotechnology in Agriculture. Open University Press, London.

Lindsey K.

Crop improvement through biotechnology.

Agro-food-Industry, Hi-tech 2(1991)4:8-16.

Llewellyn D., Lyon B.R., Cousins Y., Huppatz J., Dennis E.S., Peacock W.J.

Genetic engineering of plants for resistance to the herbicide 2,4-D.

Genetic engineering of crop plants. G.W. Lycett and D.Grierson, eds. (1990):67-77. Butterworths.

Mahon D.C.

Assessing the safety of transgenic organisms used in the food industry: issues and concerns.

Biotechnology and Food Safety. Proceedings of the second international symposium (1990):363-381. Bills D.D. and Kung S.-D. (eds.), Butterworth-Heinemann, Boston.

Matthies H., H. Stark, B. Hartrodt

Derivatives of β -casomorphins with high analgesic potency. Peptides 5(1984):463-470.

Middlekauff R.D.

Legal aspects of biotechnology.

Biotechnology and food safety. Proceedings of the second international symposium (1990):33-45.

Nelson R.S., P.A. Powell, R.N. Beachy.

Coat protein-mediated protection against virus infection.

Genetic engineering of plants (1990):13-24. G.W. Lycett and D. Grierson, eds. Butterworths, London.

Nordic Council of Ministers, the Nordic Working Group on Food Toxicology and Risk Assessment (NNT).

Food and new biotechnology. Novelty, safety and control aspects of foods made by new biotechnology.

Nord (1991):18, Nordic Council of Ministers.

Organisation for Economic Co-operation and Development, Environment Directorate, Group of National Experts on safety in biotechnology.

Report on the concepts and principles underpinning safety evaluations of food derived from modern biotechnology.

Environment Directorate, OECD, COM/ENV/DSTI/EC/BT(1991)80/(ADD)

Oxtoby E. and Hughes M.A.

Engineering herbicide tolerance into crops.

Tibtech (1990)8:61-65.

Pelikan Z., M. Pelikan-Filipek.

Voedingsmiddelenallergie. I. Definitie; andere ongewenste reacties op voedingsmiddelen; de mucosale maag-darmbarrière.

Ned. Tijdschr. Geneesk. 135(1991)2:49-55.

Peñarrubia L., Kim R., Giovannoni J., Kim S.-H., Fischer R.L.

Production of the sweet protein monellin in transgenic plants.

Bio/Technology 10(1992):561-564.

Perlak F.J., Fuchs R.L., Dean D.A., McPherson S.L., Fischhoff D.A.

Modification of the coding sequence enhances plant expression of insect control protein genes.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88(1991):3324-3328.

Persley G.J.

Beyond Mendel's garden: biotechnology in the service of world agriculture.

Biotechnology in Agriculture 1(1990).

Potrykus I.

Gene transfer methods for plants and cell cultures.

??

Rochaix J.-D.

Plant molecular biology - moving towards application.

TIBTECH (1992)10:78-79.

Schöffl F., M. Rieping, E. Raschke.

Functional analysis of sequences regulating the expression of heat shock genes in transgenic plants.

Genetic Engineering of Plants (1990):79-94. G.W. Lycett and D.

Grierson, eds. Butterworths, London.

Schou J.S.

Mechanistic studies in man, laboratory animals and in vitro systems.

Fd Chem. Toxic. 28(1990)11:767-770.

Small I., L. Maréchal-Drouard, J. Masson, G. Pelletier, A. Cosset, J.-H. Weil, A. Dietrich.
In vivo import of a normal or mutagenized heterologous transfer RNA into the mitochondria of transgenic plants: towards novel ways of influencing mitochondrial gene expression?
EMBO Journal 11(1992)4:1291-1296.

Stewart K.K.
Food composition and analysis in the assessment of the safety of food produced by biotechnology.
Food Technology, march (1992):103-107.

Van der Maas H.M., F.A. Krens, M.A.C.M. Zaal, H.J. Huizing.
Gametoplast fusion and DNA-transfer in grasses.
Agricultural Biotechnology in focus in the Netherlands (1990):21-24. J.J. Dekkers, H.C. van der Plas, D.H. Vuijk, eds. Pudoc, Wageningen.

Van den Bulk R.W., Löffler H.J.M., Lindhout W.H., Koomreef M.
Somaclonal variation in tomato: effect of explant source and a comparison with chemical mutagenesis.
Theor. Appl. Genet. 80(1990):817-825.

World Health Organization/Food and Agriculture Organization.
Strategies for assessing the safety of foods produced by biotechnology.
Report of a joint FAO/WHO consultation (1991). WHO, Geneva.

BEGRIPPEN- EN AFKORTINGENLIJST

Anti-sense RNA: RNA gecodeerd door de complementerende, niet-coderende DNA-streng van een gen. De verwachting is dat dit RNA een complex vormt met het RNA gecodeerd door de coderende DNA-streng van hetzelfde gen, waardoor inhibitie van translatie en daarmee van expressie plaatsvindt.

Cisgenese: proces van genetische modificatie waarbij een soorteigen gen wordt ingebouwd.

DNA (deoxyribonucleïnezuur): complexe, biochemische substantie waaruit genen bestaan. DNA bevat de genetische informatie in de meeste levende systemen. De volgorde van de basen, die een onderdeel vormen van het DNA, bepaalt wat het expressie-produkt van het gen is, zo er al sprake is van een expressie-produkt.

Elektroporatie: techniek, waarbij DNA-sequenties in een cel geïntroduceerd worden onder invloed van een potentiaalverschil. Dit potentiaalverschil vergemakkelijkt het transport van de DNA-sequenties door de celwand.

Enhancer: DNA-sequentie die in samenwerking met een promotor de expressie van een bepaald gen kan verhogen. Enhancersequenties kunnen zich voor (upstream) of achter (downstream) van een gen bevinden of in het gen zelf. De afstand van een enhancer tot het gen dat onder invloed van deze enhancer staat kan aanzienlijk zijn.

Expressie-produkt: een specifiek eiwit, polypeptide of RNA dat wordt gecodeerd door de DNA-sequentie van een gen.

Gen: specifieke DNA-sequentie, die in het algemeen codeert voor een eiwit dat een bepaalde functie in het organisme vervult.

Genetisch construct: DNA-sequentie van een genetisch element, die is verkregen door gebruik te maken van recombinant-DNA technieken.

Genetische modificatie: additie, deletie, substitutie of anderszins een wijziging van het genetisch materiaal van een organisme door de toepassing van nieuwe technieken, m.n. recombinant-DNA en celfusie-technieken op een manier die van nature door voortplanting en/of natuurlijke recombinatie niet mogelijk is.

Genoom: totaal aan genetisch materiaal in een cel.

GLP (Good Laboratory Practice): organisatorische gang van zaken en de omstandigheden waaronder laboratoriumonderzoek wordt voorbereid, uitgevoerd, gecontroleerd, geregistreerd en gerapporteerd.

GMP (Good Manufacturing Practice): organisatorische gang van zaken en de omstandigheden waaronder producten geproduceerd en behandeld worden, teneinde de vorming van ongewenste bijproducten, zowel als contaminatie, vermenging en foutieve etikettering te voorkomen.

GRAS (Generally Regarded As Safe): predikaat dat in bepaalde gevallen gegeven kan worden aan producten of stoffen die een lange traditie van veilig gebruik kennen zonder dat het product expliciet toxicologisch is getoetst.

Homologe recombinatie: proces van DNA-uitwisseling, waarbij sequenties in het gastheergenoom worden vervangen door sequenties die (bijna) identieke sequenties op de uiteinden bevatten.

Immunotoxiciteit: schadelijke effecten van toxische stoffen op het immunologische afweersysteem.

Insertionele mutagenese: mutagenese ten gevolge van de inbouw van een nieuwe DNA-sequentie.

Merker gen: gen met een herkenbaar of selecteerbaar fenotype, dat om die reden in een genetisch construct wordt opgenomen. Na afloop van de transformatie geeft de expressie van het merker gen informatie over het al dan niet succesvolle verloop van de transformatie.

mRNA (messenger Ribonucleïnezuur): vorm van RNA, afgelezen van het DNA, dat ribosomen informatie verschaft voor de synthese van een eiwit.

Mutagenese: proces dat resulteert in de modificatie van een DNA-sequentie.

Natuurlijk toxine: toxische stof die in voedingsmiddelen voorkomt ten gevolge van biosynthese in het organisme of als gevolg van het natuurlijk voorkomen in het milieu.

Pleiotrope effecten: onbedoelde bij-effecten ten gevolge van een verandering in het genetisch materiaal van een organisme.

Promotor: DNA-sequentie die zich voor een gen bevindt en expressie van dit gen reguleert. De afstand van de promotor tot het gen is in het algemeen redelijk konstant.

Protocollair toxiciteitsonderzoek: onderzoek naar de schadelijke effecten van toxische stoffen volgens voorgeschreven onderzoeksrichtlijnen.

Protoplast: plantecel na verwijdering van de celwand.

Recombinant-DNA technieken: set van technieken om selectief DNA te 'knippen' en te recombineren teneinde het genetisch materiaal van een organisme gericht te wijzigen.

Regulatorsequentie: DNA-sequentie die de expressie van een gen beïnvloedt, bijv. een promotor of enhancer.

Secundaire effecten: indirecte effecten van het (expressie-produkt van) een gen op het metabolisme van het gastheerorganisme.

Sensibilisatie: het ten gevolge van een immunologische reactie optreden van een verhoogde gevoeligheid voor een stof door herhaalde blootstelling.
Somaclonale variatie: fenotypische expressie van genetische veranderingen die waarneembaar zijn bijcel- of weefselkweekstappen.

Transformatie: proces waarbij een cel permanent nieuwe DNA-sequenties in het genoom opneemt.

Transgenese: proces van genetische modificatie waarbij een soortvreemd gen wordt ingebouwd.

Transposon: DNA-segment met de speciale eigenschap dat het zich binnen een genoom kan verplaatsen. Daarnaast kan onder bepaalde omstandigheden ook verplaatsing van het ene naar het andere genoom plaatsvinden.

Vector: DNA-segment dat wordt gebruikt om ander DNA te introduceren in een gastheergenoom met het doel nieuwe genen tot expressie te laten komen of het ingebrachte gen te vermenigvuldigen.