



**Bewertungsbericht des Robert Koch-Institutes
nach Richtlinie 2001/18/EG**

8. April 2003

**Insektenresistenter Mais MON 863
und MON 863 X MON 810**

**Antrag der Firma Monsanto Company, USA, vertreten durch Monsanto
Europe S.A., Brüssel, Belgien, auf Inverkehrbringen von gentechnisch
verändertem Mais nach der Richtlinie 2001/18/EG**

Inhalt:

1. Einleitung
2. Gegenstand des Antrags
3. Bewertung der vorgelegten Daten und Unterlagen
 - 3.1. Angaben zum Empfängerorganismus und zur Verwendung von Mais
 - 3.2. Beschreibung der gentechnisch veränderten Organismen
 - 3.2.1. MON 863
 - 3.2.2. MON 810
 - 3.2.3. Expressionsanalyse der Cry-Proteine und von NPT II
 - 3.3. Erfahrungen aus vorausgegangenen Untersuchungen im Freiland
 - 3.4. Erteilte Genehmigungen zum Inverkehrbringen außerhalb der EU
 - 3.5. Bewertung der Verwendung in Futtermitteln
 - 3.5.1. Bewertung der neu gebildeten Proteine
 - 3.5.1.1. MON 863 (NPT II, MON 863 Cry3Bb1)
 - 3.5.1.2. MON 810
 - 3.5.2. Fütterungsstudien
 - 3.5.2.1. Fütterungsstudien mit MON 863-Maiskörnern
 - 3.5.2.2. Fütterungsstudie mit MON 810-Maiskörnern
 - 3.5.3. Bewertung einer möglichen Veränderung von Inhaltsstoffen
 - 3.5.3.1. Inhaltsstoffe
 - 3.5.3.2. Mikrobielle Metabolite
 - 3.5.4. Horizontaler Gentransfer im Verdauungstrakt
 - 3.6. Risikoabschätzung zur Umweltsicherheit
 - 3.6.1. Bewertung der Fähigkeit des gentechnisch veränderten Mais zu überdauern oder sich zu etablieren und der Möglichkeit der Übertragung der eingeführten Gene durch Pollen auf andere Pflanzen
 - 3.6.2. Bewertung der durch die übertragenen Gene bewirkten Veränderungen auf die Umwelt
 - 3.6.2.1. *MON 863 cry3Bb1* und *cry1A(b)*
 - 3.6.2.2. *nptII*
 - 3.6.3. Bewertung eines horizontalen Gentransfers von den GVO auf Mikroorganismen
4. Überwachungsplan (Monitoring)
5. Schlussfolgerungen, Auflagen
 - 5.1. Schlussfolgerungen
 - 5.2. Auflagen und Vorbehalte einer Genehmigung durch das Robert Koch-Institut
6. Zitierte Literatur

1. Einleitung

Am 13. August 2002 wurde von der Firma Monsanto Company, USA, vertreten durch Monsanto Europe S.A., 270-272 Avenue de Tervuren, B-1150 Brussels, Belgien, ein Antrag auf Genehmigung des Inverkehrbringens von gentechnisch verändertem Mais (*Zea mays*) MON 863 und MON 863 X MON 810 gemäß Richtlinie 2001/18/EG für den maximal möglichen Genehmigungszeitraum von zehn Jahren beim Robert Koch-Institut (RKI) eingereicht.

Eine erste Prüfung der Antragsunterlagen durch das RKI ergab, dass sie nicht vollständig und daher weitere Unterlagen nachzuliefern waren. Nach Lieferung dieser Unterlagen durch den Antragsteller im Dezember 2002 sowie im Januar und Februar 2003 wurde der Antrag am 14. Februar 2003 vom RKI als vollständig im Sinne der Richtlinie 2001/18/EG erklärt.

Eine Zusammenfassung der Antragsunterlagen (SNIF) wurde am 17. Februar 2003 auf den Internetseiten des Joint Research Center der EU veröffentlicht.

Die Auswahl, Darstellung und Qualität der mit dem vollständigen Antrag vorliegenden Daten steht in Übereinstimmung mit der Richtlinie 2001/18/EG und ist aus Sicht des RKI geeignet, ausreichend und angemessen, um eine Bewertung der Produkte, die in Verkehr gebracht werden sollen, vornehmen zu können. Soweit verfügbar, wurden die Untersuchungen entsprechend international anerkannter Methoden durchgeführt. Eine Validitäts- und Plausibilitätsprüfung ist erfolgt. Die Interpretationen und Bewertungen des Antragstellers bzgl. der für die Sicherheitsbewertung relevanten Informationen und Daten sind ausreichend belegt, nachvollziehbar sowie schlüssig dargestellt und werden vom RKI geteilt.

Vom Antragsteller wurden einige Unterlagen als vertraulich gem. Art. 25 der Richtlinie 2001/18/EG erklärt. Der Antragsteller erläuterte, dass eine Verbreitung dieser Informationen seiner Wettbewerbsposition schaden könnte. Aus Sicht des RKI genügen die Angaben des Antragstellers den Anforderungen der Richtlinie 2001/18/EG. Ein Versagungsgrund ist nicht ersichtlich.

Der Antragsteller erklärte, Händler und weitere bei der Verwendung der Produkte beteiligte Akteure zu informieren, dass die Produkte den Anforderungen zur Kennzeichnung und Rückverfolgbarkeit der Richtlinie 2001/18/EG unterliegen und dass die Produkte ggf. weiteren Anforderungen zu Kennzeichnung und Rückverfolgbarkeit basierend auf europäischem Recht („any Community legislation adopted to regulate the traceability and labelling of transgenic organisms“) genügen müssen.

Als Vorschlag für eine Kennzeichnung gemäß Art. 13 Abs. 2 f) der Richtlinie 2001/18/EG ist vom Antragsteller vorgesehen, ein Etikett bzw. die Begleitpapiere mit der Aufschrift „this product contains genetically modified organisms“ zu versehen.

Die Weitergabe von Information zu den Unique Identifiers ist ebenfalls vorgesehen. Ein Vorschlag wurde in Übereinstimmung mit den Vorgaben durch die OECD gemacht: MON-Ø863-5 für MON 863 und MON-Ø81Ø-6 für MON 810. Für die Hybride MON 863 X MON 810 wird eine Kombination beider Unique Identifiers vorgeschlagen.

Weitere relevante Produktinformationen wie Handelsnamen und Informationen zum öffentlichen Register der EU sollen ebenfalls an die Händler weitergeleitet werden.

Für den Nachweis von MON 863 wurden von der Antragstellerin Informationen zu einem PCR-basierten, „Event“-spezifischen Nachweisverfahren geliefert. Der Antragsteller erklärte ferner, dass er sich an der Entwicklung eines validierten Nachweisverfahrens durch das Joint Research Center (JRC) der EU durch Lieferung von MON 863-Referenzmaterial, Methoden und Sequenzinformationen zu den zugehörigen PCR-Primern beteiligen wird.

Für MON 810 wurden bereits „Event“-spezifische Nachweisverfahren publiziert (2002/66/EC - ABL. EG Nr. 26 vom 30. Januar 2002, S. 8). Weitere Arbeiten zur Methodvalidierung werden derzeit durchgeführt. Der Antragsteller hat dem JRC hierfür bereits ausreichende Mengen an MON 810-Referenzmaterial zur Verfügung gestellt.

In einem Begleitschreiben im Rahmen der Nachlieferung von Antragsunterlagen (Dezember 2002) erklärte der Antragsteller, dass dem RKI im Juni 2003 geeignetes Referenzmaterial überlassen werde.

2. Gegenstand des Antrages

Gegenstand des Antrages ist das Inverkehrbringen von Maiskörnern von Nachkommen der gentechnisch veränderten Maislinie MON 863 mit einer Resistenz gegen bestimmte Coleopteren, insbesondere Larven von Maiswurzelbohrern (*Diabrotica* sp.), sowie das Inverkehrbringen von Maiskörnern der durch konventionelle Kreuzung der beiden gentechnisch veränderten Maislinien MON 863 und MON 810 erzeugten Maishybride MON 863 x MON 810, die die Resistenz gegen Coleopteren mit einer Resistenz gegen bestimmte Lepidopteren wie z. B. den Maiszünsler (*Ostrinia nubilalis*) kombiniert.

Maiskörner sollen in die Europäische Union für Futtermittelzwecke und zur weiteren Verarbeitung importiert werden. Weder der Anbau in der EU noch eine Verwendung von Produkten aus den gentechnisch veränderten Maiskörnern für die menschliche Ernährung sind Gegenstand des vorliegenden Antrags.

Die uneingeschränkte Genehmigung zum Zwecke des Inverkehrbringens von Nachkommen der gentechnisch veränderten Maislinie MON 810 und von daraus hergestellten Produkten (Notification C/F/95/12-02) auf dem EU-Markt wurde 1998 durch die Entscheidung der Kommission 98/294/EG vom 22. April 1998 und die Veröffentlichung des Bescheides der zuständigen französischen Behörde am 05.08.1998 auf der Basis der Richtlinie 90/220/EWG erteilt.

3. Bewertung der vorgelegten Daten und Unterlagen

Für die Bewertung des vorliegenden Antrags wurde unter Berücksichtigung der präsentierten Ergebnisse aus Inhaltsstoffanalysen, Tierfütterungsversuchen, der Charakterisierung agronomischer und morphologischer Eigenschaften sowie der Ermittlung weiterer phänotypischer Parameter davon ausgegangen, dass für die gentechnisch veränderten Organismen und daraus gewonnene Produkte mit Ausnahme der Expression der neu in die Empfängerpflanzen übertragenen Gene und dem damit verbundenen Gehalt an Cry-Proteinen und NPT II wesentliche Gleichwertigkeit mit entsprechenden herkömmlichen Erzeugnissen besteht. Als Vergleich lässt sich konventioneller Mais, für den langjährige Erfahrungen bezüglich Anbau und Verwendung als Rohstoff für Nahrungs- und Futtermittel bestehen, heranziehen.

Basierend auf dem Konzept der wesentlichen Gleichwertigkeit als Ausgangspunkt der Sicherheitsbewertung ist es aus Sicht des RKI möglich und sinnvoll, die Prüfung und Bewertung der Produkte auf die neu übertragenen Merkmale und Eigenschaften zu konzentrieren.

3.1. Angaben zum Empfängerorganismus und zur Verwendung von Mais

Für den Empfängerorganismus Mais bestehen langjährige Erfahrungen für Anbau und Verwertung als Rohstoff für Futter- und Lebensmittel. Die gentechnischen Veränderungen

betreffen agronomische Eigenschaften und zielen nicht auf Änderungen der ernährungsphysiologischen Eigenschaften, von Inhaltsstoffen oder eine veränderte Verwendung des Mais als Rohstoff ab.

Die Verarbeitungswege von Mais müssen nicht neu bewertet werden, da weder Änderungen bei der Verarbeitung noch neue Produkte zu erwarten sind und langjährige Erfahrungen im Umgang mit Mais bestehen.

3.2. Beschreibung der gentechnisch veränderten Organismen

3.2.1. MON 863

Mit Hilfe der „particle acceleration“-Methode wurde die Empfänger-Maislinie AT, Zelllinie AT824, mit dem 4691 bp großen *MluI*-Fragment PV-ZMIR13L des pUC-Plasmidderivates PV-ZMIR13 transformiert. Das gewünschte Fragment wurde durch agarosegelelektrophoretische Aufreinigung isoliert. Auf diesem Fragment befindet sich neben einem *nptII*-Gen aus *E. coli Tn5* unter Kontrolle des 35S Promotors des Cauliflower Mosaic Virus (CaMV) und der Terminatorregion des *nos*-Gens aus *Agrobacterium tumefaciens* das Gen, das die Resistenz gegen Coleopteren verleiht, *MON 863 cry3Bb1*. Bei diesem Gen handelt es sich um eine synthetische Variante von *cry3Bb1* aus *Bacillus thuringiensis* ssp. *kumamotoensis* mit vom Wildtyp abweichender DNA-Sequenz. Gegenüber der Aminosäuresequenz des ursprünglichen Proteins Cry3Bb1 unterscheidet sich die von der synthetischen Genvariante kodierte Version MON 863 Cry3Bb1 durch einen zusätzlichen Alaninrest an Position 2 und sechs weitere Aminosäureaustausche (D166G, H232R, S312L, N314T, E318K, Q349R), wodurch eine gesteigerte Toxizität gegenüber den Zielorganismen erreicht wurde.

Das *MON 863 cry3Bb1* Gen steht unter der Kontrolle einer vierfachen Kopie eines mit AS1 (*activating sequence 1*) bezeichneten jeweils 21 bp großen Abschnittes des CaMV 35S-Promotors in Verbindung mit einem weiteren Teil des 35S-Promotors (4AS1-Promotor). Daran anschließend befindet sich der 5' nicht-translatierte leader-Bereich wt CAB des *chlorophyll a/b-binding protein* aus *Triticum aestivum* als Translationsverstärker gefolgt vom ersten Intron des *actin 1* Gens aus *Oryza sativa* als Transkriptionsverstärker. Terminiert wird das *MON 863 cry3Bb1* Gen durch die 3' nicht-translatierte Region des *heat shock protein 17.3* aus *Triticum aestivum* (siehe Abb. 1).

Im 3'-Bereich des *nptII* Gens liegt auf PV-ZMIR13L ein Fragment, welches 51 aminoterminalen Aminosäuren des *ble*-Gens (bleomycin binding protein, *Tn5*) von insgesamt 121 Aminosäuren codiert. Das offene Leseraster des Fragmentes beginnt 20 nt hinter dem Stopcodon von *nptII*. Dieses Fragment bildet zusammen mit einem Polylinker und Teilen des *nos*-Terminators ein offenes Leseraster, das für insgesamt 89 Aminosäuren kodieren könnte. Daraus ergäbe sich ein Protein mit einem Molekulargewicht von 10.25 kDa, im Antrag mit BLE 10.25 bezeichnet. Das offene Leseraster für das *ble*-Fragment liegt nicht im gleichen Leseraster wie das *nptII*-Gen.

Aufgrund theoretischer Erwägungen erscheint eine Translation dieses offenen Leserasters allein oder als Fusionsprotein mit NPT II unwahrscheinlich. Natürliche Ribosomenbindungsstellen wie IRES (Internal Ribosome Entry Sites) wurden nicht identifiziert und ein *read through* von Ribosomen aus dem *nptII* Transkript in das offene Leseraster von BLE 10.25 ist aufgrund verschiedener Leseraster nicht zu erwarten.

Western Blot Analysen mit Antikörpern gegen den BLE-Anteil des hypothetischen Proteins ergaben keine Hinweise auf eine Expression des ORF (Nachweisgrenze von 1,7 µg/g Frischmasse).

Sollte entgegen der theoretischen Überlegungen und der ELISA-Ergebnisse BLE 10.25 in geringem Maße gebildet werden, erscheint eine Funktionalität, d. h. die Fähigkeit zur Bindung und damit Inaktivierung von Bleomycin (Glycopeptid-Antibiotikum aus *Streptomyces verticillus*), unwahrscheinlich. Das natürliche Protein BLE wird als Homodimer wirksam und verfügt über keine enzymatische Aktivität. Das Protein bindet lediglich Bleomycin und inaktiviert so dessen DNA-schneidende Wirkung. Da dem verkürzten BLE 10.25 wesentliche Bereiche für die Dimerisierung fehlen, ist eine Bindungskapazität für Bleomycin unwahrscheinlich.

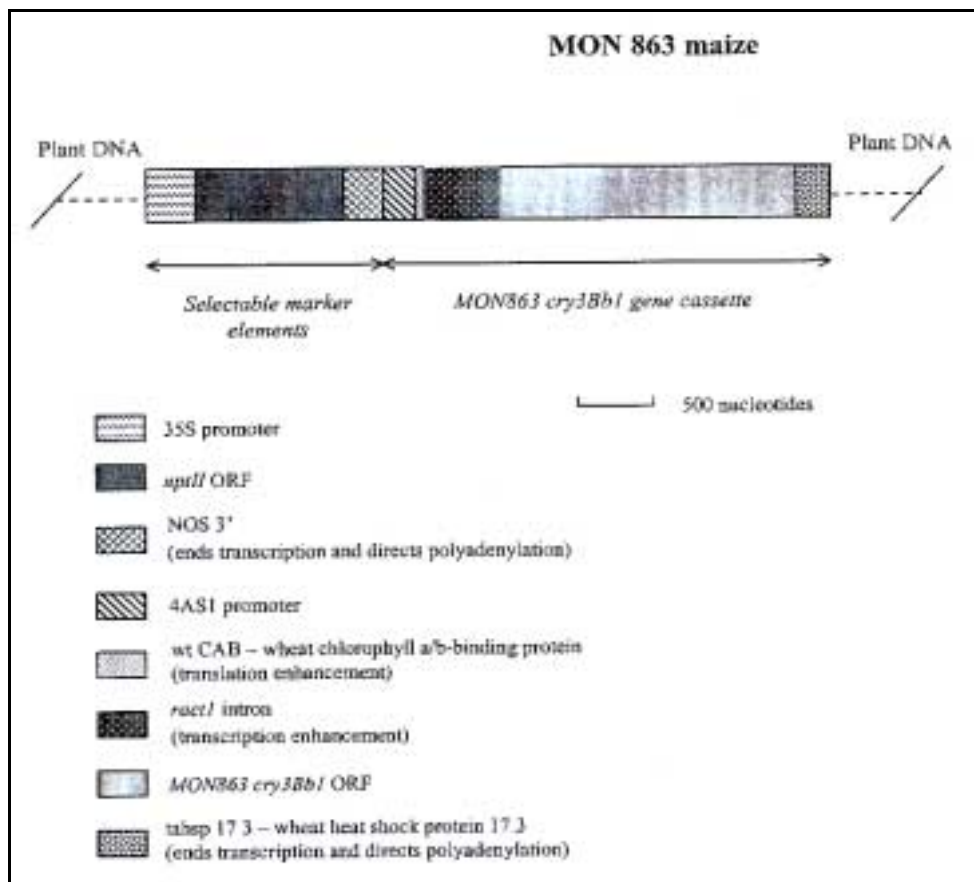


Abbildung 1: Schematische Darstellung des in die Empfängerpflanzen bei der Transformation von MON 863 übertragenen Inserts (Quelle: Antrag)

Durch Segregationsanalysen und Untersuchungen der genomischen DNA von MON 863 mittels Southern-Blot-Analysen, PCR und DNA-Sequenzierung konnte gezeigt werden, dass eine (1) Kopie des übertragenen Fragmentes an einer (1) Stelle in das Maisgenom integriert wurde und stabil an die Nachkommenschaft vererbt wird. Ergänzende Analysen unter Verwendung verschiedener Restriktionsenzyme und Sonden bestätigten, dass die Gene in der vorgesehenen Form auf dem übertragenen Fragment vorliegen. Es wurden keine weiteren Sequenzen, insbesondere keine Sequenzen des pUC-Plasmid-backbone, gefunden.

PCR-Amplikons aus genomischer DNA der Maislinie MON 863, die Überlappungen der beiden Insert-Enden mit den flankierenden Sequenzen repräsentieren, wurden sequenziert. Am 5´ Ende wurde eine 508 bp Region amplifiziert mit einem nicht zum Insert gehörenden flankierenden Bereich von 242 bp Länge. Am 3´ Ende wurden 584 bp amplifiziert mit einem flankierenden Bereich von 224 bp Länge. Es zeigte sich, dass die Sequenz des Inserts in MON 863 mit dem Bereich von Position 7 bis 4681 des *geschossenen* Fragmentes PV-ZMIR13L übereinstimmt, so dass alle funktionellen Bereiche im Zuge der Transformation übertragen wurden. Somit ist davon auszugehen, dass in der Maislinie MON 863 durch die gentechnische Veränderung zwei neue Proteine, MON 863 Cry3Bb1 und NPTII, in voller Länge exprimiert werden (siehe Expressionsanalyse).

Aus einem Sequenzvergleich der flankierenden Regionen mit öffentlichen Sequenzdatenbanken ergibt sich für den 5´-Bereich eine 99%ige Homologie mit Exon 4 der mitochondrial kodierten *Zea mays* NADH Dehydrogenase Untereinheit 4 (*nad4*). Es besteht die Möglichkeit, dass im Zuge der Transformation eine Integration mitochondrialer Sequenzen stattgefunden hat.

Für die Sequenzen im 3´ flankierenden Bereich finden sich in den öffentlichen Datenbanken keine ausgeprägten Homologien zu gespeicherten pflanzlichen DNA-Sequenzen.

Eine bioinformatische Analyse der Aminosäuresequenzen durch Vergleich aller möglicher offener Leseraster der Übergangsbereiche vom Insert in die flankierenden Regionen unter Verwendung geeigneter Proteindatenbanken lieferte keine Hinweise auf strukturelle oder immunologische Ähnlichkeiten mit bekannten Allergenen, Toxinen oder pharmakologisch wirksamen Proteinen.

3.2.2 MON810

Mit Hilfe der „particle acceleration“-Methode wurde der Empfänger-Mais Hi-II, der sich aus den Inzuchtlinien A188 und B73 herleitet, mit dem Plasmid pV-ZMBK07, einem pUC19-Derivat, transformiert. Er enthält neben dem Replikationsursprung (*ori*) und den *lac*-Sequenzen das *nptII*-Gen des Transposons Tn5 aus *E. coli* unter der Kontrolle seines eigenen Promotors.

Das Plasmid pV-ZMBK07 enthält darüber hinaus das Gen *cryIA(b)* für ein δ -Endotoxin aus *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki*-Stamm HD1. Das *cryIA(b)*-Gen umfasst 3468 Basenpaaren und kodiert für ein Protein aus 1156 Aminosäuren. Zur Optimierung der Expression im Mais wurde das Gen an die in Pflanzen übliche Codonverwendung angepasst, und es wurde vor der δ -Endotoxin-Kodierregion die Intron-Sequenz des *hsp70*-Gens (Hitzeschock-Protein) aus Mais inseriert. Die Expression des δ -Endotoxin-Gens wird in den gentechnisch veränderten Pflanzen durch einen 35S-Promotor aus CaMV mit verdoppelter „enhancer“-Region (E35S) gesteuert. Als Transkriptionsterminator wurde die nicht-translatierte DNA-Sequenz (*nos* 3´) des Nopalinsynthase-Gens aus *Agrobacterium tumefaciens* verwendet.

Bei der Transformante MON 810 wurde von den beschriebenen Bereichen des Plasmids pV-ZMBK07 nur eine (1) am 3´-Ende verkürzte Kopie des *cryIA(b)*-Gens mit dem E35S-Promotor und dem *hsp70*-Intron an einem (1) Locus in das Maisgenom integriert (siehe Abb. 2). Von dem verkürzten Gen werden die Aminosäuren 1 bis 816 codiert. Das offene Leseraster setzt sich im benachbarten Bereich des Genoms fort und kodiert für zwei weitere Aminosäuren (Phenylalanin und Arginin) gefolgt von einem Stopcodon, so dass ein Protein aus insgesamt 818 Aminosäuren gebildet wird.

Die stabile chromosomale Integration des übertragenen *cryIA(b)*-Genes wurde durch Segregations-Analysen und Untersuchungen der genomischen DNA von MON 810 mittels Southern-Blot-Analysen nachgewiesen.

Ebenfalls durch Southern Blot Analysen wurde gezeigt, dass die auf dem für die Transformation verwendeten Vektor vorhandenen *nptII*- und *ori*-Sequenzen nicht in die Empfängerpflanze übertragen wurden. NPT II konnte überdies mittels Western Blot Analysen nicht nachgewiesen werden.

Da das in das Genom der Maislinie MON 810 übertragene, verkürzte *cryIA(b)*-Gen aus *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* ausgehend von einem 35S-Promotor transkribiert wird, ist von einer konstitutiven Expression in der Pflanze auszugehen (siehe Expressionsanalyse).

DNA-Sequenzen der Überlappungen der beiden Insert-Enden mit den flankierenden Bereichen wurden vom Antragsteller eingereicht. Am 5' Ende wurde ein 244 bp großer Bereich der flankierenden Region angegeben, am 3' Ende 195 bp.

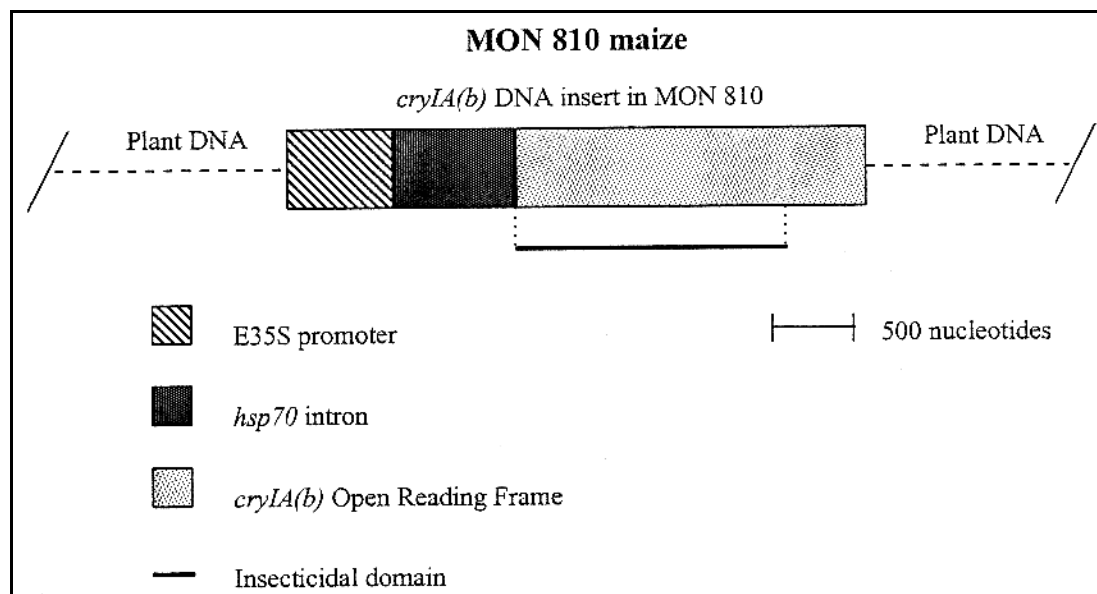


Abbildung 2: Schematische Darstellung des in die Empfängerpflanzen bei der Transformation von MON 810 übertragenen Inserts (Quelle: Antrag)

Aus einem Sequenzvergleich der flankierenden Bereiche mit öffentlichen Sequenzdatenbanken ergeben sich für den 3'-Bereich Homologien zum mitochondrial kodierten ribosomalen Protein 13 (*rps13*) und dem in der mtDNA eng gekoppelten Gen für die Fo ATPase Untereinheit 9, was eine Co-Integration mitochondrialer DNA im Zuge der Transformation möglich erscheinen lässt.

Für die Sequenzen im 5' flankierenden Bereich finden sich in den Datenbanken Hinweise für Homologien zu verschiedenen genomischen Mais DNA-Sequenzen, insbesondere Zein-Gene.

Eine bioinformatische Analyse der Aminosäuresequenzen durch Vergleich aller möglicher offener Leseraster des 3'-Übergangsbereiches vom Insert in die flankierenden Regionen unter Verwendung geeigneter Proteindatenbanken ergab keine Hinweise auf strukturelle oder immunologische Ähnlichkeiten mit bekannten Allergenen, Toxinen oder pharmakologisch wirksamen Proteinen. Nur für das Leseraster in dem *Cry1A(b)* kodiert ist, ergaben sich beim Vergleich mit Toxin-Datenbanken Homologien zu weiteren *Cry*-Toxinen.

3.2.3. Expressionsanalyse der Cry-Proteine und von NPT II

Pflanzenproben von mehreren Standorten in den USA (1999) und in Argentinien (1999/2000) wurden mittels ELISA auf Gehalte an MON 863 Cry3Bb1, CryIA(b) und NPTII untersucht. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 1 bis 4 zusammengefasst dargestellt. Die höchsten Expressionsmittelwerte wurden im Fettdruck wiedergegeben. Aus Untersuchungen zur Expression von MON 863 Cry3Bb1 und NPTII in Blättern, gesamten Pflanzen und Wurzeln im Verlauf einer Vegetationsperiode ergab sich ein Abfall der Proteingehalte in Bezug auf die Frischmasse in allen untersuchten Geweben (Daten nicht gezeigt).

Tab. 1: **MON 863 Cry3Bb1** und **NPT II** Proteingehalte in µg/g Frischmasse in Pflanzengeweben von MON 863 aus Freilandversuchen 1999 in den USA

Tissue Type	Days Post-Planting	Cry3Bb1 (range)	NPT II (range)
Young Leaf	21	81 (65-93)	0,98 (0,74-1,4)
Forage	90	39(24-45)	0,19 (0,17-0,23)
Mature Root	90	41 (25-56)	not done
Grain	125	70 (49-86)	<0,076 (LOD)
Silk	58	10 (1 Probe)	not done
Pollen	60	62 (30-93)	not done

Tab. 2: **MON 863 Cry3Bb1** Proteingehalte in µg/g Frischmasse in Pflanzengeweben von MON 863 X MON 810 und MON 863 aus Freilandversuchen 1999/2000 in Argentinien.

Tissue Type	Days Post Planting	MON 863 X MON810	MON 863
Young Leaf	18	46,7 (35,5-53,2)	30,0 (21,3-47,2)
Pollen	60	79,6 (65,1-96,5)	60,4 (29,7-90,7)
Forage	90	23,6 (6,7-39,7)	12,8 (<0,22-28,8)
Grain	117	61,1 (38,5-83,1)	43,7 (<0,096-84,1)

Tab. 3: **Cry1A(b)** Proteingehalte in µg/g Frischmasse in Pflanzengeweben von MON 863 X MON 810 und MON 810 aus Freilandversuchen 1999/2000 in Argentinien.

Tissue Type	Days Post Planting	MON 863 X MON810	MON 810
Young Leaf	18	17,9 (14,1-27,5)	13,0 (1,5)
Pollen	60	<0,08 (<0,08-0,18)	<0,08 (<0,08)
Forage	90	7,9 (3,9-11,9)	5,6 (3,0-8,2)
Grain	117	0,84 (0,63-1,2)	0,46 (0,24-0,77)

Tab. 4: **NPT II** Proteingehalte in µg/g Frischmasse in Pflanzengeweben von MON 863 X MON 810 und MON 863 aus Freilandversuchen 1999/2000 in Argentinien.

Tissue Type	n	MON 863 X MON810	MON 863
Young Leaf	18	1,60 (0,53-2,32)	1,06 (0,58-1,56)
Forage	90	0,19 (0,13-0,27)	0,17 (<0,075-0,33)
Grain	117	<0,076 (LOD)	<0,076 (LOD)

3.3. Erfahrungen aus vorausgegangenen Untersuchungen im Freiland

In der Europäischen Union erfolgten bisher weder Freisetzen mit MON 863 noch mit der Hybride MON 863 X MON 810.

Die gentechnisch veränderte Maislinie MON 863 wurde in den USA, Kanada, Chile, Argentinien und Japan freigesetzt. Die Hybride MON 863 X MON 810 wurde in den USA und Argentinien in Freisetzenversuchen untersucht.

Die Versuche dienten insbesondere der Erarbeitung von Daten für Zulassungsverfahren und der Überprüfung der Effizienz der übertragenen Insektenresistenz sowie weiterer agronomischer Eigenschaften. Es ergaben sich für MON 863 keine Hinweise für stoffwechselbedingte, phänotypische Unterschiede bezüglich verschiedener agronomischer Parameter (Pflanzenentwicklung, Blütezeitpunkt, Morphologie, Ertragsparameter, Überdauerung) zwischen GVO und Kontrollen. Somit liegen keine Hinweise für eine Veränderung von MON 863 hinsichtlich der Überlebens-, Vermehrungs- und Ausbreitungsfähigkeit vor.

Für MON 810 wurde im Antrag basierend auf Freilanduntersuchungen festgestellt, dass der gentechnisch veränderte Mais, abgesehen von der Resistenz gegenüber einigen *Lepidoptera*-Arten, die gleichen Eigenschaften besitzt wie nicht gentechnisch veränderte Maislinien.

Im vorliegenden Antrag wird basierend auf den jeweiligen Untersuchungen mit MON 863 und MON 810 für die Hybride aus beiden geschlussfolgert, dass auch MON 863 X MON 810 sich voraussichtlich nicht hinsichtlich der Überlebens-, Vermehrungs- und Ausbreitungsfähigkeit verändert.

Für eine unbeabsichtigte Beeinflussung des pflanzlichen Stoffwechsels durch die gentechnische Veränderung im Sinne eines sogenannten Positionseffektes oder durch pleiotrope Effekte ergaben sich an Hand der Ergebnisse von Analysen ausgewählter Inhaltsstoffe von MON 863 und der Hybride mit MON 810 keine Hinweise.

3.4. Erteilte Genehmigungen zum Inverkehrbringen außerhalb der EU

Die gentechnisch veränderte Maislinie MON 863 wurde in Japan und den USA in Verkehr gebracht. Die gentechnisch veränderte Maislinie MON 810 wurde in der EU, Argentinien, Australien, Kanada, Japan, Korea, den Philippinen, Südafrika, der Schweiz und den USA in Verkehr gebracht (Quelle: AGBIOS-Database)

Über den internationalen Genehmigungsstatus von Hybriden, die durch konventionelle Kreuzung erzeugt wurden, liegen keine Informationen vor. Eine gesonderte Genehmigung für das Inverkehrbringen der Hybriden aus zugelassenen GVO ist jedoch nicht in jedem Land erforderlich.

3.5. Bewertung der Verwendung in Futtermitteln

Eine Risikobewertung in Bezug auf eine Verwendung von Produkten der gentechnisch veränderten Maispflanzen zur Herstellung von Tierfutter erfordert eine Bewertung der durch die übertragenen DNA-Abschnitte bewirkten Veränderungen in der Zusammensetzung der gentechnisch veränderten Maispflanzen einschließlich der neu gebildeten Proteine, einer möglichen Veränderung der Inhaltsstoffe durch Kontextänderungen sowie eines möglichen horizontalen Gentransfers auf Mikroorganismen des Magen-Darm-Trakts.

3.5.1. Bewertung der neu gebildeten Proteine

Die Bewertung der toxikologischen und allergenen Eigenschaften des neuartigen Lebensmittels erfolgt maßgeblich auf Grundlage von Untersuchungen mit den neu gebildeten Proteinen. Eine derartige Bewertung ist möglich, weil sich in den weiteren Untersuchungen mit der Zusammensetzung von MON 863 und MON 863 X MON 810 keine biologisch relevanten Unterschiede zu konventionellen Maislinien hinsichtlich der Inhaltsstoffe sowie phänotypischer und physiologischer Parameter ergaben.

3.5.1.1. MON 863 (NPTII, MON 863 Cry 3Bb1)

Um die Identität des in MON 863 exprimierten Cry3Bb1 im Vergleich mit der aus der DNA-Sequenz abgeleiteten Aminosäuresequenz zu bestätigen, wurde durch Immunoaffinitätschromatographie gereinigter Proteinextrakt mittels N-terminaler Sequenzierung und nach Trypsinverdau durchgeführter MALDI TOF Massenspektrometrie untersucht. Dieses Verfahren ermöglicht auf Basis von Molekülmassenbestimmungen den Vergleich theoretisch abgeleiteter Fragmente mit tatsächlich gefundenen Fragmenten. Die im Rahmen der MALDI TOF MS identifizierten Fragmente (Molekülmassen) stimmten mit postulierten Fragmenten des MON 863 Cry3Bb1 Proteins überein. Die Ergebnisse liefern starke Hinweise für die Übereinstimmung des in MON 863 exprimierten Cry3Bb1 Proteins mit dem Vorhergesagten.

Bei der N-terminalen Aminosäuresequenzierung des 74 kDa Proteins aus MON 863 ergab sich im Gegensatz zu entsprechendem Protein aus mikrobieller Herstellung kein verwertbares Ergebnis (blocking). Dies wird vom Antragsteller dahingehend interpretiert, dass es zu einer post translationalen Modifikation im aminoterminalen Bereich gekommen sein könnte (N-terminale Acetylierung).

Der Antragsteller teilte in einem Begleitschreiben zu einer Nachlieferung von Antragsunterlagen (Dezember 2002) mit, dass ihm keine Daten oder wissenschaftlichen Publikationen bekannt sind, die darüber berichten, dass nicht-toxische oder nicht-allergene Proteine durch eine N-terminale Acetylierung toxisches oder allergenes Potenzial entwickelt hätten.

Auch das RKI geht davon aus, dass ein wesentlicher Einfluss dieser Proteinmodifikation auf die physikochemischen Eigenschaften unwahrscheinlich ist. Im Zusammenhang mit Merkmalen von Allergenen wird posttranslationale N-terminale Acetylierung nicht diskutiert (wohl aber Glycosylierung).

Die funktionelle und biochemische Äquivalenz zwischen bakteriell in *E. coli* und pflanzlich produziertem Cry3Bb1 Protein in MON 863 wurde mittels MALDI TOF Massenspektrometrie, N-terminaler Sequenzanalyse (nicht durch N-Acetylierung blockiert, da an partiell abgebauten N-Termini beginnend), Immunoblot, Insekten-Bioassay, SDS-PAGE, Analyse der Glykosylierung und Bestimmung der Aminosäurezusammensetzung nachgewiesen.

Für das NPTII Protein wurde im Immunoblot die Vergleichbarkeit hinsichtlich des Molekulargewichtes (ca. 29 kDa) und der immunologischen Reaktivität gegenüber monoklonalen Antikörpern für die Proteine aus MON 863 und *E. coli* nachgewiesen.

Die Ergebnisse von Studien, die mit den bakteriell produzierten Proteinen durchgeführt wurden, lassen sich somit auf die Sicherheitsbewertung von MON 863 übertragen.

NPTII

Die Neomycin-Phosphotransferase ist eine Aminoglycosid-3'-Phosphotransferase des Typs II (APH(3')II = NPT II), welche die ATP-abhängige Phosphorylierung der 3'-Hydroxyl-Gruppe des Aminohexose-Ringes bestimmter Aminoglycosid-Antibiotika katalysiert und diese damit inaktiviert. Das Enzym zeichnet sich durch eine hohe Substratspezifität aus (Nap et al., 1992). Eine katalysierende Wirkung des Enzyms im Magen-Darmtrakt von Säugern hängt von der Verfügbarkeit von Substraten (Antibiotikum und ATP) sowie geeigneten Reaktionsbedingungen ab.

Für NPT II wird in der „Stellungnahme der ZKBS zur biologischen Sicherheit von Antibiotika-Resistenzgenen im Genom gentechnisch veränderter Pflanzen“ aus dem Jahr 1999 ausgeführt: „Zu den Substraten der APH(3')II-Enzyme zählen die Antibiotika Kanamycin, Neomycin, Geneticin, Butirosin, Gentamicin A und B sowie Paromomycin. Die in der Humanmedizin therapeutisch bedeutsamen Amikacin, Gentamicin (vorwiegend C1, C1 α und C2) und sonstige Aminoglycoside und Aminocyclitole gehören nicht zum Substratspektrum der APH(3')-II-Enzyme (Trieu-Cuot et al., 1987; Davies, 1991; Simon und Stille, 1989).“

Obwohl teilweise in Europa zugelassen, spielen potenzielle Substrate von NPT II wie z. B. Neomycin, Kanamycin, Gentamicin A und B sowie Paromomycin aufgrund ihrer Toxizität und/oder der ungünstigen Resistenzsituation nur noch eine geringe Rolle in der Human- und Veterinärmedizin bzw. ihre Anwendung (Paromomycin) ist auf sehr spezielle Infektionen beschränkt (Kroker et al., 2002).

Folglich ist allein aufgrund des Mangels an Substraten nicht zu erwarten, dass es basierend auf einer enzymatischen Wirkung von mit dem Futter aufgenommenen NPT II-Protein auf einer breiten Basis zur Bildung neuer potenziell schädlicher Reaktionsprodukte im Verdauungstrakt kommt.

Bei einem **Vergleich der Aminosäuresequenz** des NPT II Proteins **mit bekannten Toxinen und pharmakologisch aktiven Substanzen** mittels Datenbankrecherchen wurden bei einer Gesamtzahl von 4677 Proteinsequenzen keine biologisch relevanten Ähnlichkeiten zu säugertoxischen oder pharmakologisch aktiven Proteinen ermittelt, so dass sich basierend auf dieser Untersuchung keine Hinweise für ein toxisches Potenzial von NPT II ergeben.

Die Prüfung der **akuten Toxizität** von NPT II erfolgte mit in *E. coli* hergestelltem Protein (Fuchs et al., 1993). Das Protein wurde in 2 aufeinanderfolgenden Verabreichungen (4 Stunden Zeitdifferenz) an Albinomäuse in 3 Dosierungen (100, 1000 und 5000 mg/kg KG) oral an jeweils 10 männliche und 10 weibliche Tiere pro Dosis verabreicht. Klinische Beobachtungen wurden durchgeführt und die Entwicklung des Körpergewichtes (KG) sowie der Futterverbrauch wurden ermittelt. Am Testende (Tage 8 und 9) wurden die Tiere getötet und nekroskopiert.

Es wurden keine substanzbedingten, negativen Effekte bei oraler Verabreichung von NPT II Protein bis zu einer Dosierung von 5000 mg/kg KG festgestellt. Damit ist die LD50 > 5000 mg/kg KG und die NOEL = 5000 mg/kg KG.

Bei einem geschätzten Anteil von 10 g Maiskörnern pro kg Körpergewicht im Futter von Milchkühen ergibt sich bei einer Konzentration von ca. 0,0001 mg NPT II pro g MON 863 Maiskörnern eine tägliche Aufnahme von ca. 0,001 mg NPT II pro kg Körpergewicht. Unter Berücksichtigung der NOEL (für Maus) von > 5000 mg pro kg Körpergewicht ergibt sich ein Sicherheitsfaktor von > 5 000 000 für NPT II im Tierfutter.

Die **Stabilität der Proteine gegenüber proteolytischen Enzymen** wurde *in vitro* in simulierten Säuger-Gastrointestinalflüssigkeiten (Magensaft SGF und Darmflüssigkeit SIF) untersucht. Ein vollständiger Abbau von NPT II aus *E. coli* erfolgte in SGF innerhalb von 10 Sekunden. In SIF wurden in 2 bis 5 Minuten 50% des Enzyms abgebaut. Enzymtests ergaben einen nahezu völligen Verlust der enzymatischen Aktivität nach 2 Minuten Verdauung in SGF bzw. 15 Minuten in SIF (Fuchs et al., 1993).

Die Ergebnisse der Studie zeigten, dass ein schneller Abbau der Proteine unter den Bedingungen des Gastrointestinaltraktes von Säugern angenommen werden kann. Allerdings ist zu bedenken, dass NPT II in MON 863-Mais bei der Aufnahme über das Futter in Pflanzenteilen eingeschlossen sein und daher der Verdauung länger widerstehen kann als durch diese Versuche festgestellt wurde.

Zur weiteren **Bewertung des allergenen Potenzials** des NPT II-Proteins wurde die Aminosäuresequenz mit 567 Proteinsequenzen bekannter Allergene und Zöliakie-auslösender Proteine (Gliadine) verglichen. Es traten keine biologisch relevanten Sequenzhomologien auf. Ein Vergleich aller Möglichkeiten von 8 aufeinanderfolgenden Aminosäuren des Cry3Bb1 Proteins mit den o.g. 567 Proteinsequenzen lieferte keine Hinweise auf Ähnlichkeiten zu Epitopen allergieauslösender Proteine.

MON 863 Cry3Bb1

Bei einem **Vergleich der Aminosäuresequenz** des in MON 863 exprimierten Cry3Bb1 Proteins **mit bekannten Toxinen und pharmakologisch aktiven Substanzen** mittels Datenbankrecherchen wurden bei einer Gesamtzahl von 4677 Proteinsequenzen keine biologisch relevanten Ähnlichkeiten zu säugertoxischen Proteinen ermittelt.

Es wurden Sequenzähnlichkeiten von MON 863 Cry3Bb1 mit anderen insektiziden Toxinen festgestellt. Nahezu alle sequenzähnlichen Toxine gehören in die Gruppe der *B.t.*-Delta-Endotoxine. Die weiteren gefundenen Homologien zu Sequenzen aus *Clostridium bifermentans*, *Caenorhabditis elegans*, *Vibrio cholerae* und *Bacillus popilliae* wurden mangels Hinweisen auf säugertoxische Wirkung als biologisch nicht relevant interpretiert.

Die Prüfung der **akuten Toxizität** erfolgte mit in *E. coli* hergestelltem MON 863 Cry3Bb1. Das Protein wurde in 2 aufeinanderfolgenden Verabreichungen (4 Stunden Zeitdifferenz) an Albinomäuse in 3 Dosierungen (400, 1100 und 3200 mg/kg KG) oral an jeweils 10 männliche und 10 weibliche Tiere pro Dosis verabreicht. Klinische Beobachtungen wurden durchgeführt und die Entwicklung des Körpergewichtes sowie der Futterverbrauch wurden ermittelt (Tag 7/Tag 14). Am Testende (Tag 14) wurden alle Tiere getötet und nekroskopierte.

Es wurden keine substanzbedingten, negativen Effekte bei oraler Verabreichung von MON 863 Cry3Bb1 Protein bis zu einer Dosierung von 3200 mg/kg KG festgestellt. Damit ist die LD50 > 3200 mg/kg KG und die NOEL = 3200 mg/kg KG.

Bei einem geschätzten Anteil von 10 g Maiskörnern pro kg Körpergewicht im Futter von Milchkühen ergibt sich bei einer Konzentration von ca. 0,1 mg Cry3Bb1 pro g MON 863 Maiskörnern eine tägliche Aufnahme von ca. 1 mg MON 863 Cry3Bb1 pro kg Körpergewicht. Unter Berücksichtigung der NOEL (für Maus) von > 3200 mg pro kg Körpergewicht ergibt sich ein Sicherheitsfaktor von > 3000 für das Toxin im Tierfutter.

Die **Stabilität der Proteine gegenüber proteolytischen Enzymen** wurde in simulierten Säuger-Gastrointestinalflüssigkeiten (Magensaft und Darmflüssigkeit) untersucht. MON 863 Cry3Bb1-Protein aus *E. coli* und aus Maiskörnern der Transformante MON 863 wird schnell unter simulierten Bedingungen des Magensaftes von Menschen (SGF) abgebaut. Ein vollständiger Abbau erfolgte innerhalb von 15 Sekunden. Ein niedrigmolekulares Fragment von ca. 3 kDa war bei dem Protein aus MON 863 bis zu einer Inkubationszeit von maximal 15 Minuten als schwache Bande im SDS-PAGE sichtbar (Nachweisgrenze: 17 ng/Spur). Die Ergebnisse der Studie zeigten, dass ein schneller Abbau der Proteine unter den sauren Bedingungen im Magen anzunehmen ist. Auf Grund der geringen Größe des langsamer abgebauten 3 kDa Fragments ist keine allergene Wirkung zu erwarten, weil derart kleine Peptide voraussichtlich nicht in der Lage sind, die für die Auslösung einer allergischen Reaktion erforderlichen zwei Epitope, getrennt durch einen genügend großen Abstand (*spacer*), zu präsentieren.

Verdauversuche mit simulierter Intestinalflüssigkeit (SIF) wurden mit dem in MON 863 exprimierten Cry3Bb1 Protein nicht durchgeführt. Versuche mit einem bis auf 2 Aminosäuren identischen Cry3Bb1 Protein aus mikrobieller Quelle zeigten, dass bis zum Testende nach 24 Stunden ein stabiles Polypeptid von ca. 59 kDa vorlag, welches seine biologische Aktivität beibehielt (Nachweis im Bioassay mit Larven des Kartoffelkäfers). Es kann aufgrund der großen Ähnlichkeit der untersuchten Cry3Bb1-Varianten angenommen werden, dass auch MON 863 Cry3Bb1 aus dem GVO beim Verdau im SIF nur bis zu einem stabilen, insektiziden Fragment („Kernprotein“) abgebaut wird.

Zur weiteren **Bewertung des allergenen Potenzials** des MON 863 Cry3Bb1-Proteins wurde die Aminosäuresequenz mit 567 Proteinsequenzen bekannter Allergene und Zöliakie-auslösender Proteine (Gliadine) verglichen. Es traten keine biologisch relevanten Sequenzhomologien auf. Ein Vergleich aller Möglichkeiten von 8 aufeinanderfolgenden Aminosäuren des Cry3Bb1 Proteins mit den o.g. 567 Proteinsequenzen ergab keine Hinweise auf Ähnlichkeiten zu Epitopen allergieauslösender Proteine.

Insgesamt geben die über die Eigenschaften des MON 863 Cry3Bb1- und NPT II-Proteins vorliegenden Informationen sowie die Ergebnisse zu den Fütterungsstudien an Mäusen, Ratten und Hühnern (s.u.) keinen Anlass zu der Annahme, dass eine Verfütterung dieser Proteine als Bestandteil des gentechnisch veränderten MON 863-Mais schädliche Auswirkungen hat.

3.5.1.2. MON 810

Aus der Produktion und Anwendung konventioneller Pflanzenschutzmittel auf der Basis von B.t.-Toxinen liegen langjährige Erfahrungen hinsichtlich der toxikologischen und allergologischen Eigenschaften auch des CryIA(b)-Proteins vor. Darüber hinaus hat der Antragsteller zur Bewertung des CryIA(b)-Proteins Untersuchungen und Studien zur Stabilität, Toxizität und Allergenität vorgelegt, die bereits im Rahmen des Verfahrens zum Inverkehrbringen der Elternlinie MON 810 (Az.6788-02-13) bewertet wurden.

Hinweise für eine Toxizität gegenüber Vögeln, Säugetieren und den Menschen liegen nicht vor und sind auch nicht zu erwarten, da diesen Taxa die zur Bindung des CryIA(b)-Proteins an gastrointestinale Zellen erforderlichen Rezeptoren fehlen.

Ein **Vergleich der Aminosäuresequenz** des in MON 810 exprimierten Cry1A(b) Toxins **mit bekannten Toxinen** der Datenbanken PIR, EMBL, Swissprot und Genbank lieferte mit Ausnahme von Homologien zu weiteren bekannten *B.t.*-Proteinen keine biologisch relevanten Ähnlichkeiten zu bekannten Toxinen.

Die Prüfung der **akuten Toxizität** erfolgte mit in *E. coli* hergestelltem Cry1A(b) Protein. Da davon ausgegangen werden kann, dass das Protoxin im Zuge der Verdauung bis zum Trypsin-resistenten Kernprotein abgebaut wird, wurde dieses Kernprotein für die Untersuchungen verwendet.

Das Protein wurde in 2 aufeinanderfolgenden Verabreichungen (3 Stunden Zeitdifferenz) an Albinomäuse in 3 Dosierungen (400, 1000, 4000 mg/kg KG) oral an jeweils 10 männliche und 10 weibliche Tiere pro Dosis verabreicht. Klinische Beobachtungen wurden durchgeführt und die Entwicklung des Körpergewichtes sowie der Futterverbrauch wurden bestimmt. Am Testende (Tag 8 und 9) wurden alle Tiere getötet und nekroskopierte.

Es wurden keine substanzbedingten, negativen Effekte bei oraler Verabreichung von Cry1A(b) Protein (trypsinisiertes Kernprotein) bis zu einer Dosierung von 4000 mg/kg KG festgestellt. Damit ist die LD50 > 4000 mg/kg KG und die NOEL = 4000 mg/kg KG.

Bei einem geschätzten Anteil von 10 g Maiskörnern pro kg Körpergewicht im Futter von Milchkühen ergibt sich bei einer Konzentration von ca. 0,001 mg Cry1A(b) pro g MON 863 X MON 810 Maiskörnern eine tägliche Aufnahme von ca. 0,01 mg Cry1A(b) pro kg Körpergewicht. Unter Berücksichtigung der NOEL (für Maus) von > 4000 mg pro kg Körpergewicht ergibt sich ein Sicherheitsfaktor von > 400 000 für das Toxin im Tierfutter.

Die *in vitro* **Untersuchungen zur Stabilität gegenüber simulierten Verdauungssäften** (SGF, SIF) ergaben, dass das Cry1A(B)-Protein *in vitro* empfindlich auf proteolytische Enzyme des Magensaftes (SGF) reagiert und innerhalb weniger Minuten abgebaut wird (> 90% Abbau innerhalb von 2 Minuten). Gegenüber dem Abbau durch intestinale Enzyme (SIF) war das Protein dagegen resistent (kein signifikanter Abbau des *trypsinresistenten Kernproteins* nach 19,5 Stunden), was durch die unterschiedliche Zusammensetzung bezüglich der proteolytischen Enzymen in den simulierten Verdauungssäften zu erklären ist.

Zur weiteren **Bewertung des allergenen Potenzials** des MON 810 Cry1A(b) Proteins wurde die Aminosäuresequenz mit 219 Proteinsequenzen bekannter Allergene verglichen. Es traten keine biologisch relevanten Sequenzhomologien auf. Ein Vergleich aller Möglichkeiten von 8 aufeinanderfolgenden Aminosäuren des Cry1A(b) Proteins mit den o.g. 219 Proteinsequenzen ergab keine Hinweise auf Ähnlichkeiten zu Epitopen bekannter allergieauslösender Proteine.

Insgesamt geben die über die Eigenschaften des Cry1A(b)-Proteins vorliegenden Informationen sowie die Ergebnisse aus den Fütterungsstudien und den Inhaltsstoffanalysen (folgender Abschnitt) keinen Anlass zu der Annahme, dass bei einer Verwendung der gentechnisch veränderten Maiskörner der Linie MON 810 für die Erzeugung von Futtermitteln mit schädlichen Auswirkungen auf die Gesundheit von Tieren zu rechnen ist. Auch der herkömmliche landwirtschaftliche Einsatz von *Bacillus thuringiensis*-Präparaten, die aus einem Gemisch von Sporen und parasporalen Kristallen mit δ -Endotoxinen, u.a. Cry1A(b), bestehen, hat keine Hinweise auf Risiken für die Gesundheit erbracht.

3.5.2. Fütterungsstudien

Da es aus den weiteren Untersuchungen mit der Hybride MON 863 X MON 810 keine Hinweise gibt, dass sich die gentechnischen Veränderungen von MON 863 und MON 810 gegenseitig beeinflussen, lassen sich die Ergebnisse der Fütterungsstudien mit MON 863 und MON 810 Mais auch auf die Sicherheitsbewertung der Hybride MON 863 X MON 810 übertragen.

3.5.2.1. Fütterungsstudien mit MON 863-Maiskörnern

In einer **subchronischen Fütterungsstudie mit Sprague – Dawley Ratten**, denen über einen Expositionszeitraum von 90 Tagen mit dem Futter gentechnisch veränderte MON 863-Maiskörner mit einem Anteil von 11 % und 33 % im Futter verabreicht wurden (jeweils 20 männliche und 20 weibliche Tiere pro Dosis), zeigten sich keine substanzbedingten, biologisch relevanten Effekte im Vergleich mit der nicht-transgenen Kontroll-Hybride und mit sechs weiteren, nicht-transgenen kommerziellen Hybriden. Es wurden klinische Parameter der Hämatologie, klinischen Chemie und Urinchemie ermittelt, Körpergewichts- und Organgewichtsbestimmungen sowie histopathologische Untersuchungen verschiedener Gewebe durchgeführt und der Futterverbrauch und die Mortalität bestimmt. Aus dieser umfangreichen Studie ist abzuleiten, dass auch bei längerfristiger oraler Exposition gegenüber MON 863-Maiskörnern keine schädlichen Auswirkungen zu erwarten sind.

Im Ergebnis der Auswertung eines **Fütterungsversuchs mit Hühnern** (jeweils 50 männliche und 50 weibliche Tiere) über einen Testzeitraum von 42 Tagen, deren Futter bis zu ca. 60 % gentechnisch veränderten MON 863-Mais enthielt, ergaben sich keine Hinweise, dass durch die gentechnische Veränderung die ernährungsphysiologischen Eigenschaften des Mais verändert wurden. Es wurden keine biologisch relevanten Veränderungen beim Vergleich von MON 863 Mais mit der nicht-transgenen Kontrolle (Elternlinie) und sechs kommerziellen Hybriden in Bezug auf die Mortalität, die Körpergewichte, die Körpergewichtsentwicklung, die Futteraufnahme, die Futtereffizienz sowie in verschiedenen Kadaverparametern (Gewichte der einzelnen Körperteile wie Schenkel, Schlegel, Brust, Flügel) und bei Fleischanalysen (Wassergehalt, Protein, Fett von Brust und Schenkel) zwischen den Hühnern, die Futter mit einem Anteil aus MON 863-Mais erhielten, und Hühnern, die Futter mit einem Anteil der nicht-transgenen Vergleichslinie bzw. weiteren sechs verschiedenen Referenzlinien erhielten, festgestellt.

3.5.2.2. Fütterungsstudie mit MON 810-Maiskörnern

In einer **subchronischen Fütterungsstudie mit Sprague – Dawley Ratten**, denen über einen Expositionszeitraum von 90 Tagen mit dem Futter gentechnisch veränderte MON 810-Maiskörner bis mit einem Anteil von 11 % und 33 % im Futter verabreicht wurden (jeweils 20 männliche und 20 weibliche Tiere pro Dosis), zeigten sich keine substanzbedingten, biologisch relevanten Effekte im Vergleich mit der nicht-transgenen Kontroll-Hybride und mit sechs weiteren, nicht-transgenen kommerziellen Hybriden. Es wurden klinische Parameter der Hämatologie, klinischen Chemie und Urinchemie ermittelt, Körpergewichts- und Organgewichtsbestimmungen sowie histopathologische Untersuchungen verschiedener Gewebe durchgeführt und der Futterverbrauch und die Mortalität bestimmt. Aus dieser umfangreichen Studie ist abzuleiten, dass auch bei längerfristiger oraler Exposition gegenüber MON 810-Maiskörnern keine schädlichen Auswirkungen zu erwarten sind.

3.5.3. Bewertung einer möglichen Veränderung von Inhaltsstoffen

Generell besteht bei der Insertion von genetischem Material in das Genom einer Empfängerzelle die Möglichkeit einer Beeinflussung der Expression von direkt am Integrationsort oder genetisch gekoppelt liegenden Genen, was über eine Beeinflussung von Stoffwechselabläufen eine Veränderung der Gehalte an Inhaltsstoffen in den gentechnisch veränderten Organismen verursachen kann. Derartige Kontextänderungen können jedoch auch unter natürlichen Bedingungen (z.B. Transposition, Rekombination) sowie als Folge der Mutagenese von Pflanzenmaterial auftreten (z. B. UV-Licht, Gamma-Strahlung, chemische Mutagene).

3.5.3.1. Inhaltsstoffe

Mit Material von 4 Freilandversuchen in den USA (1999) und 4 Freilandversuchen in Argentinien (1999/2000) wurden Inhaltsstoffanalysen mit gentechnisch verändertem Mais MON 863 und MON 863 X MON 810 im Vergleich mit isogenen, nicht gentechnisch veränderten Maislinien und kommerziellen Hybriden durchgeführt. Die untersuchten Parameter waren: Proximate (Protein, Fett, Asche, Feuchtigkeit), ADF, NDF, Aminosäuren (18), Fettsäuren (16:0, 18:0, 18:1, 18:2, 18:3, 20:0, 20:1, 22:0), Vitamin B1, B2, E, Folsäure, Mineralstoffe (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P, K, Na, Zn), Phytinsäure und Trypsininhibitor sowie Ferulasäure, Inositol, Raffinose, p-Cumarsäure, Furfural in den Körnern sowie Proximate, ADF, NDF in den Blättern. Der Gehalt an Kohlenhydraten in Blättern und Körnern wurde anhand der Messergebnisse für die Proximate berechnet.

Bei den Untersuchungen zeigten sich bei einigen Parametern statistisch signifikante Unterschiede zu den Kontrollen ($p = 0.05$). Fast alle gefundenen Abweichungen fallen in den 99 % Vertrauensbereich der Werte, die für die kommerziellen Sorten ermittelt wurden oder liegen in den Bereichen, die aus der Literatur für die entsprechenden Parameter bekannt sind bzw. entsprechen dem Bereich weiterer konventioneller Sorten („historische Kontrollen“), die in früheren Monsanto Studien untersucht worden waren. Ausnahmen hiervon bilden die Werte für Vitamin B1 an 2 Standorten, eine Fettsäure (22:0 belenic acid), Folsäure, Ferulasäure und p-Cumarsäure an einem Standort, die geringfügig außerhalb der möglichen Vergleichswerte lagen, wobei für diese Parameter teilweise keine Literaturwerte und/oder keine historischen Kontrollen vorlagen. Die gefundenen Abweichungen wurden nicht durchgehend für alle Standorte festgestellt und sind als biologisch nicht relevant einzuschätzen.

Auf Grundlage der Ergebnisse der Inhaltsstoffanalyse kann davon ausgegangen werden, dass die Maiskörner der transgenen Pflanzen mit Ausnahme der neu exprimierten Proteine im wesentlichen gleichwertig mit herkömmlichen Maiskörnern sind.

3.5.3.2. Mikrobielle Metabolite

Basierend auf der gentechnischen Veränderung ist eine prinzipiell abweichende Besiedlung der Maispflanzen durch Mikroorganismen bzw. damit zusammenhängend das Auftreten neuer mikrobieller Stoffwechselprodukte in den Pflanzen nicht zu erwarten. Es besteht jedoch die Möglichkeit, dass es bei der Hybride MON 863 X MON 810 in Abhängigkeit von der Intensität eines Befalls mit Maiszünslern zu einer Verringerung des Fusarienbefalls (*Fusarium ear rot*) beim Anbau und damit zu geringeren Gehalten an pilzlichen Toxinen (Fumonisin B₁, DON, ZON) in geernteten Körnern kommen könnte (Munkvold et al. 1997 und 1999, Valenta et al. 2001). Als Ursachen für den geringeren Fusarienbefall der Maiskolben werden verminderte Eintrittspforten aufgrund geringerer Fraßschäden und das

Wegfallen von Zünslerlarven als Vektoren für ein Eindringen von Pilzsporen in pflanzliche Gewebe diskutiert.

Sowohl für MON 810, MON 863 als auch die Hybride MON 863 X MON 810 kann davon ausgegangen werden, dass es basierend auf der zu erwartenden Verringerung von Eintrittspforten für phytopathogene Mikroorganismen zumindest nicht zu einer gesteigerten Besiedlung kommen wird. Insofern ist eine im Vergleich mit konventionellen Sorten höhere Konzentration schädlicher, mikrobieller Stoffwechselprodukte in den Maiskörnern der GVO jedenfalls nicht zu erwarten.

3.5.4. Horizontaler Gentransfer im Verdauungstrakt

Eine Ausbreitung der in MON 863 und MON 863 X MON 810 integrierten *B.t.*-Toxingene und des *nptII*-Gens aus dem gentechnisch veränderten Mais in Mikroorganismen des Verdauungstraktes ist wegen des fehlenden Selektionsvorteils nicht zu erwarten. Das in MON 863 vorhandene *nptII*-Gen wurde in Deutschland von der Zentralen Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS) in ihrer „Stellungnahme der ZKBS zur biologischen Sicherheit von Antibiotika-Resistenzgenen im Genom gentechnisch veränderter Pflanzen“ aus dem Jahr 1999 der Gruppe I zugeordnet: „Die Gruppe I enthält Antibiotika-Resistenzgene, die (a) in Boden- und Enterobakterien bereits weit verbreitet sind und (b) deren relevante Antibiotika keine oder nur geringe therapeutische Bedeutung in der Human- bzw. Veterinärmedizin besitzen, so dass davon ausgegangen werden kann, dass - wenn überhaupt - das Vorhandensein dieser Antibiotika-Resistenzgene im Genom transgener Pflanzen keine Auswirkung auf die Verbreitung dieser Antibiotika-Resistenzgene in der Umwelt zur Folge hat.“ Die Möglichkeit der Übertragung des *nptII*-Gens auf Mikroorganismen des Verdauungstraktes wurde vor der Vermarktung der Flavr-Savr-Tomate in den USA bewertet und als unbedenklich eingestuft. Die ZKBS stimmte in der Vergangenheit dieser Bewertung zu.

Die Annahme der geringen Wahrscheinlichkeit eines horizontalen Gentransfers im Verdauungstrakt wird gestützt durch Untersuchungen, bei denen DNA des Phagen M13 oral an Mäuse verabreicht wurde und Phagen-DNA nur bis maximal 7 Stunden nach der Verfütterung in den Faeces nachgewiesen werden konnte. Es ergaben sich hierbei keine Hinweise auf eine Besiedlung der Darmflora mit Fremd-DNA enthaltenden Bakterien. Fremd-DNA konnte im Blutssystem in sehr geringen Mengen (< 0.1 %) über einen kurzen Zeitraum (maximal 24 Stunden) identifiziert werden (Schubbert et al. 1994).

In Bezug auf die Verwendung des gentechnisch veränderten Maises für die Erzeugung von Futtermitteln lässt sich davon ausgehen, dass nicht mit schädlichen Auswirkungen auf die Gesundheit von Tieren durch einen horizontalen Gentransfer zu rechnen ist.

3.6. Risikoabschätzung zur Umweltsicherheit

Der Anbau des gentechnisch veränderten Maises ist derzeit in der EU weder genehmigt noch beantragt, so dass davon auszugehen ist, dass gentechnisch veränderte Maispflanzen, die auf die Ausgangslinie MON 863 bzw. die Hybride MON 863 X MON 810 zurückgehen, nur unbeabsichtigt und in geringem Umfang ins Freiland gelangen können.

3.6.1. Bewertung der Fähigkeit des gentechnisch veränderten Mais zu überdauern oder sich zu etablieren und der Möglichkeit der Übertragung der eingeführten Gene durch Pollen auf andere Pflanzen

Mais ist eine ausgesprochene Domestikationsform, die u.a. wegen des fehlenden Samenausfalls nur durch Kultivierung durch den Menschen überlebensfähig ist. Maispflanzen sind darüber hinaus nicht winterhart und können sich unter den klimatischen Bedingungen Mitteleuropas in natürlichen Floren nicht etablieren.

Eine Kreuzung mit einheimischen Wildpflanzen ist nicht möglich, da Mais keine Kreuzungspartner in der mitteleuropäischen Flora besitzt. Die eingeführten Gene könnten also lediglich durch Pollentransfer auf Pflanzen anderer Feldbestände von Mais übertragen werden. In der Regel wird geernteter Mais nicht zur Wiederaussaat verwendet, so dass sich die neuen Eigenschaften auf diesem Wege nicht in kultivierte Maissorten ausbreiten werden.

Es ist nicht davon auszugehen, dass die oben genannten Eigenschaften von Mais durch die im Antrag beschriebenen gentechnischen Veränderungen beeinflusst werden. Die Antragstellerin hat bei Freisetzungsversuchen mit den gentechnisch veränderten Pflanzen Untersuchungen zu verschiedenen Inhaltsstoffen, zur vegetativen Entwicklung, zur Blütenbildung, Samenreife und zum Verhalten der Pflanzen gegenüber Krankheiten sowie zum Ertrag durchgeführt. Bei diesen Versuchen hat sich bestätigt, dass sich die gentechnisch veränderten Pflanzen bezüglich der genannten Eigenschaften nicht signifikant von nicht gentechnisch veränderten Maislinien unterscheiden. Die Möglichkeit einer Überdauerung, Ausbreitung, Verwilderung und Pollenübertragung von unbeabsichtigt ausgebrachten gentechnisch veränderten Pflanzen ist nicht anders zu bewerten als die von traditionell gezüchtetem Mais.

3.6.2. Bewertung der durch die übertragenen Gene bewirkten Veränderungen auf die Umwelt

Eine Gefährdung der Umwelt ist durch die Wirkungsweise der in den gentechnisch veränderten Pflanzen gebildeten Cry-Proteine bzw. des NPT II im Rahmen des beantragten Inverkehrbringens nicht zu erwarten.

3.6.2.1. *MON 863 cry3Bb1* und *cry1A(b)*

Beide Gene kodieren für Protein-Toxine. Es liegen keine Hinweise für eine enzymatische Aktivität der in den GVO exprimierten Proteine vor. Es ist folglich davon auszugehen, dass es neben der Bildung der Cry-Toxine in den gentechnisch veränderten Pflanzen zu keiner weiteren Beeinflussung des pflanzlichen Stoffwechsels kommen wird. Diese Annahme stützt sich insbesondere auf die Ergebnisse der Inhaltsstoffanalytik. Aber auch die Bewertung der agronomischen Parameter sowie die phänotypische Charakterisierung der GVO lassen keine Einflüsse auf die pflanzliche Entwicklung und den Metabolismus durch die Expression der Cry-Toxine erkennen.

Sollte es in geringem Umfang dazu kommen, dass gentechnisch veränderte Maispflanzen in die Umwelt gelangen, wäre aufgrund des selektiven Wirkungsmechanismus von Cry-Toxinen, u.a. durch spezifische Rezeptorbindung im Intestinaltrakt von empfindlichen Insekten, nicht mit einem nachhaltig schädlichen Einfluss auf die Umwelt zu rechnen.

3.6.2.2. *nptII*

Nähere Angaben zur Charakterisierung und Wirkungsweise von NPT II (Aminoglycosid-3'-Phosphotransferase II - APH(3')II) sowie zu potenziellen Auswirkungen eines horizontalen Gentransfers werden an anderer Stelle des Bewertungsberichtes ausgeführt.

3.6.3. Bewertung eines horizontalen Gentransfers von den GVO auf Mikroorganismen

Ein horizontaler Gentransfer von Pflanzen auf Mikroorganismen der Umwelt kann nicht ausgeschlossen werden, ist jedoch u. a. basierend auf der Tatsache, dass der beantragte Mais nicht in Europa angebaut werden soll, als unwahrscheinlich einzustufen.

Auswirkungen eines solchen Gentransfers wären nur bei Vorliegen eines Selektionsdrucks zugunsten des übertragenen Gens zu erwarten. Weiterhin muss bei der Bewertung berücksichtigt werden, ob es sich hierbei um ein in entsprechenden Populationen bereits vorhandenes oder um ein neues Gen handelt.

Das MON 863 *cry3Bb1*-Gen wurde von dem natürlich vorkommenden *cry3Bb1*-Gen aus *Bacillus thuringiensis* ssp. *kumamotoensis* abgeleitet und hinsichtlich Toxizität auf Zielorganismen optimiert. Das *cryIA(b)*-Gen wurde von dem natürlich vorkommenden *cryIA(b)*-Gen aus *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* abgeleitet und für die Expression in Pflanzen optimiert. *Bacillus thuringiensis*-Stämme, die derartige δ -Endotoxin-Gene enthalten, kommen auf Pflanzen, also auch im Tierfutter, häufig vor. Diese Gene könnten deshalb auch mit höherer Wahrscheinlichkeit durch horizontalen Gentransfer aus nicht-gentechnisch veränderten *Bacillus thuringiensis*-Stämmen in die Mikroorganismen des Darms oder in die Umwelt gelangen. Ein Selektionsvorteil wäre damit nicht verbunden.

Für eine Bewertung möglicher Auswirkungen eines horizontalen Gentransfers von *nptII* auf Mikroorganismen der Umwelt gelten die weiter oben gemachten Aussagen. Aufgrund der großen Verbreitung von Kanamycin- und Neomycinresistenzen in Organismen der Umwelt ist im unwahrscheinlichen Fall eines horizontalen Gentransfers des *nptII*-Gens und mangels Selektionsdruck nicht mit schädlichen Auswirkungen zu rechnen.

Die übrigen in die gentechnisch veränderten Maispflanzen eingeführten genetischen Elemente stammen aus Reis, Weizen, CaMV, *Tn5* und aus *Agrobacterium tumefaciens*. Sie kommen in der Umwelt ohnehin häufig vor und könnten also auch mit höherer Wahrscheinlichkeit durch horizontalen Gentransfer aus nicht gentechnisch veränderten Organismen in Mikroorganismen in der Umwelt gelangen.

4. Überwachungsplan (Monitoring)

Ziel des Überwachungsplans ist es, zu bestätigen, dass eine Annahme über das Auftreten und die Wirkung einer etwaigen schädlichen Auswirkung eines GVO oder dessen Verwendung in der Umweltverträglichkeitsprüfung (UVP) zutrifft („fallspezifische Überwachung“) (i), und das Auftreten schädlicher Auswirkungen des GVO oder dessen Verwendung auf die menschliche Gesundheit oder die Umwelt zu ermitteln, die in der UVP nicht vorhergesehen wurden („allgemeine überwachende Beobachtung“) (ii) (s. Richtlinie 2001/18/EG, Anh. VII).

(i) Aus den Ergebnissen der UVP, bei der MON 863 und MON 863 X MON 810 mit konventionellem Mais verglichen wurden hinsichtlich der Persistenz und Invasivität, des Selektionsvorteils, des Potentials für einen Gentransfer, den Auswirkungen auf Nichtziel- und Zielorganismen, den Effekten auf biogeochemische Prozesse und den Veränderungen in der landwirtschaftlichen Praxis, lässt sich schlussfolgern, dass die Wahrscheinlichkeit für

das Eintreten schädlicher Effekte (Risiko) durch den Import von gentechnisch veränderten Maiskörnern auf die Umwelt vernachlässigbar ist. Es sind im Vergleich mit konventionellem Mais keine anderen Auswirkungen des gentechnisch veränderten Mais zu erwarten. Dies bezieht sich auf Import und Verarbeitung einschließlich der Verwendung für die Tierernährung. Aus diesem Grund ist eine fallspezifische Überwachung nicht erforderlich.

(ii) Im Rahmen der allgemeinen überwachenden Beobachtung („general surveillance“) ist entsprechend des beantragten Verwendungszwecks (Import, Verarbeitung und Verwendung als Tierfutter) von der Antragstellerin vorgesehen:

- Handel und verarbeitender Industrie Produktinformationen zu MON 863 und MON 863 X MON 810 zur Verfügung zu stellen und diese aufzufordern, die zuständigen Behörden über schädliche Auswirkungen der GVO in Bezug auf die menschliche Gesundheit und die Umwelt zu informieren,
- die europäische Futtermittelindustrie direkt mittels einer öffentlichen Bekanntmachung über das Inverkehrbringen von MON 863 und MON 863 X MON 810 zu informieren,
- Akteure, die in der Futtermittelkette tätig sind, aufzufordern, Berichte über schädliche Effekte auf die Tiergesundheit, die im Zusammenhang mit MON 863 und MON 863 X MON 810 auftreten und ihnen von den Landwirten oder den Futtermittelverbänden berichtet werden, an die zuständigen Behörden weiterzuleiten,
- über den gesamten Genehmigungszeitraum die EU-Kommission und die zuständigen nationalen Behörden unmittelbar darüber in Kenntnis zu setzen, wenn Berichte über schädliche Auswirkungen von MON 863 und MON 863 X MON 810 der Antragstellerin bekannt werden.

Das RKI ist der Auffassung, dass ergänzend das jeweilige nationale Veterinärwesen (z.B. Veterinäre, veterinärmedizinische Dienste oder Verbände) sowie nationale Behörden für die Tierernährung und Fütterungsforschung (z. B. Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft in Deutschland) über das Inverkehrbringen von MON 863 und MON 863 X MON 810 informiert werden sollte.

Vom Antragsteller sind dem RKI jährlich Berichte über das Ergebnis der Überwachung der zuständigen Behörde vorzulegen.

5. Schlussfolgerungen, Auflagen

5.1. Schlussfolgerungen

Die von der Firma Monsanto eingereichten Antragsunterlagen enthalten die für eine Sicherheitsbewertung erforderlichen Angaben. Die inhaltliche Prüfung und Bewertung der Unterlagen sowie die Umweltverträglichkeitsprüfung haben ergeben, dass durch das Inverkehrbringen des gentechnisch veränderten Mais keine schädlichen Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit oder die Umwelt zu erwarten sind. Das RKI geht nach derzeitigem Kenntnisstand davon aus, dass Produkte, die ausgehend von dem beantragten Mais als Rohstoff hergestellt wurden, genauso sicher sind wie aus konventionellem Mais erzeugte Produkte.

Basierend auf Untersuchungen zur chemischen Zusammensetzung sowie der agronomischen, morphologischen, phänotypischen, ernährungsphysiologischen und toxikologischen Charakterisierung der GVO lässt sich als Ausgangspunkt der Sicherheitsbewertung von einer wesentlichen Gleichwertigkeit mit Ausnahme der neuen Eigenschaften ausgehen. Als Vergleich wird konventioneller Mais, für den langjährige

Erfahrungen mit dem Anbau und der Verwendung als Rohstoff für Nahrungs- und Futtermittel bestehen, herangezogen.

Da die gentechnische Veränderung auf eine Verbesserung der agronomischen Eigenschaften abzielte, wird kein Einfluss auf die weitere Verwendung dieses Maises als Rohstoff für die Produktion von Futtermitteln im Hinblick auf Verarbeitungsverfahren und mengenmäßiger Nutzung erwartet.

Die molekularbiologische Analyse der gentechnisch veränderten Pflanzen liefert umfassende Informationen zu der vorgenommenen gentechnischen Veränderung. Hieraus ergeben sich keine Hinweise auf zu erwartende schädliche Auswirkungen.

Vom Antragsteller wurden geeignete Angaben über Nachweis- und Identifizierungsverfahren präsentiert. Die Verfügbarkeit von Referenzmaterial ist geregelt.

Ein Monitoringplan wurde präsentiert. Mangels Hinweisen auf mögliche Gefährdungen ist kein fallspezifisches Monitoring vorgesehen.

5.2. Auflagen und Vorbehalte einer Genehmigung durch das Robert Koch-Institut

Um dem Ergebnis der Diskussion auf europäischer Ebene bzgl. des Umgangs mit Antragsverfahren zu gentechnisch veränderten Pflanzen mit bestimmten Antibiotikaresistenzgenen nicht vorzugreifen, werden die Bedingungen der Genehmigung durch das RKI zum Inverkehrbringen der betreffenden GVO mit *npII*-Gen vom Ergebnis der laufenden Beratungen zu Art. 4 Abs. 2 der Richtlinie 2001/18/EG abhängig gemacht.

Aus Art. 4 Abs. 2 ergibt sich, dass für solche Antibiotikaresistenzmarker, die Resistenz gegen in der ärztlichen oder tierärztlichen Behandlung verwendete Antibiotika vermitteln und die schädliche Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit oder die Umwelt haben können, eine schrittweise Einstellung der Verwendung in GVO, die in Verkehr gebracht werden sollen, bis zum 31.12.2004 erfolgt. Das zuständige Gremium bei der Kommission hat eine Arbeitsgruppe für die Erarbeitung eines Konzeptes zur Bewertung von Antibiotikaresistenzmarkern eingesetzt („Working Group on Antibiotic Resistance Marker Genes“ - Article 4 (2) of Directive 2001/18/EC, 1st Meeting, 2. April 2004). Das RKI beabsichtigt, die Genehmigung zum Inverkehrbringen von Maiskörnern der Linie MON 863 und der Hybride MON 863 X MON 810 in Übereinstimmung mit den Erwägungen dieser Arbeitsgruppe bzw. des zuständigen Gremiums bei der Kommission zu erteilen. Sollte zum Entscheidungszeitpunkt noch kein gemeinschaftlicher Standpunkt entwickelt worden sein, der die Bewertung des RKI bestätigt, dass mit dem Vorhandensein des *npII*-Gens in den beantragten GVO keine schädlichen Auswirkungen auf die menschliche Gesundheit oder die Umwelt zu erwarten sind, wird das RKI in Abhängigkeit vom Stand der Diskussion erwägen, die Genehmigung bis zum 31. Dezember 2004 zu befristen.

Das RKI beabsichtigt, die Genehmigung mit der Auflage zu versehen, dass neue Regelungen zur Kennzeichnung und Rückverfolgbarkeit auch auf die beantragten GVO Anwendung finden.

In Ergänzung zum vorgeschlagenen Monitoringplan hält es das RKI für erforderlich, das in den Mitgliedstaaten zuständige Veterinärwesen sowie die nationalen Behörden für die Tierernährung und Fütterungsforschung über das Inverkehrbringen zu informieren und in die allgemeine überwachende Beobachtung (*general surveillance*) einzubeziehen. Darüber hinaus sind jährliche Berichte über das Ergebnis der Überwachung erforderlich.

Entsprechende Auflagen sollen in den Genehmigungsbescheid aufgenommen werden.

6. Zitierte Literatur

AGBIOS-Database - <http://64.26.159.139/dbase.php>

Davies, J. E. (1991) Aminoglycoside-Aminocyclitol antibiotics and their modifying enzymes, in: Lorian, V. (Hrsg.) Antibiotics in Laboratory Medicine, 3. Auflage, Williams und Wilkins, Baltimore.

Fuchs, R. L., Ream, J. E., Hammond, B. G., Naylor, M.W., Leimgruber, R. M., Berberich, S. A. (1993) Safety assessment of the neomycin phosphotransferase II (NPTII) protein. BioTechnology, 11, 1543-1547.

Kroker, R., Scherkl, R., Ungemach, F. R. (2002) Chemotherapie bakterieller Infektionen. In: Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin, 2. Auflage (H.H. Frey, W. Löscher, Hrsg), Enke-Verlag Stuttgart, 353-393 (2002)

Munkvold, G. P., Hellmich, R. L., Rice, L. G. (1999) Comparison of Fumonisin Concentrations in Kernels of Transgenic Bt Maize Hybrids and Nontransgenic Hybrids. Plant Disease, 83(2). 130-138.

Munkvold, G. P., Hellmich, R. L., Showers, W. B. (1997) Reduced Fusarium Ear Rot and Symptomless Infection in Kernels of Maize Genetically Engineered for European Corn Borer Resistance. Phytopathology, 87, 1071-1077.

OECD Guidance for the Designation of a Unique Identifier for Transgenic Plants, Working Group on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, 19.02.2002.

Schubbert, R., Lettmann, C., Doerfler, W. (1994) Ingested foreign (phage M13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice. Mol. Gen. Genet. 242, 495-504.

Simon, G. W., Stille, W. (1993) Antibiotikatherapie in Klinik und Praxis. Schattauer, Stuttgart, New York, 8. Auflage

Trieu-Cuot, P., Arthur, M., Courvalin, P. (1987) Origin, evolution and dissemination of antibiotic resistance genes. Microbiol. Sciences, 4: 263-266.

Valenta, H., Dänicke, S., Flachowsky, G., Böhme, T. (2001) comparative study on concentrations of deoxynivalenol and zearalenone in kernels of transgenic Bt maize hybrids and nontransgenic maize hybrids, Proceedings of 23rd Mycotoxin-Workshop, 2001, Vienna, Mycotoxin Research 17 A, 15-17.

Berlin, den 08.04.2003

i.V. Detlef Bartsch

Dr. H.-J. Buhk
Direktor und Professor

