

Evaluación de inocuidad de alimentos y forrajes derivados de cultivos obtenidos por ingeniería genética: utilización de la formulación de problemas [Traducción al español del original]

Mónica García-Alonso

Estel Consult Ltd, 5 Hillside drive, Binfield, Bracknell RG424HG, United Kingdom

E-mail: mgarcia@estelconsult.com

Adaptación al español: *Danilo Fernández Ríos¹, Nidia Benítez Candia¹, Clara Rubinstein², Carmen Vicién³*

¹Departamento de Biotecnología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FACEN –UNA), San Lorenzo, Paraguay, E-mail: biotecnologia@facen.una.py

²International Life Sciences Institute-Argentina (ILSI-Argentina). Buenos Aires. Argentina.

³Center for Environmental Risk Assessment (CERA).

Resumen

Todos los organismos obtenidos por ingeniería genética (GE) con fines de uso como alimentos y forraje deben ser evaluados en cuanto a su inocuidad para seres humanos y otros animales. Los datos y la metodología utilizados para realizar estas evaluaciones se han desarrollado a lo largo de muchos años. Organizaciones internacionales tales como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la Organización Mundial de la Salud (OMS), y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD) han estado facilitando la armonización de las metodologías de evaluación de inocuidad de alimentos y forraje. La Comisión del Codex Alimentarius, establecida por la FAO y la OMS en 1963, ha desarrollado estándares alimentarios internacionales armonizados, directrices y códigos de práctica, y ha promovido la coordinación de todos los trabajos sobre estándares de alimentos emprendidos por las organizaciones internacionales gubernamentales y no gubernamentales. Las evaluaciones realizadas hoy en día para determinar la inocuidad de los cultivos GE utilizados en alimentos y forraje siguen estos estándares. Estas evaluaciones se realizan para apoyar a las autoridades regulatorias nacionales en la toma de decisiones sobre si aprobar o no la utilización de un determinado cultivo GE en su país. Así, las evaluaciones de inocuidad deben cumplir con cada requerimiento delineado en el marco regulatorio del país y proveer información científica sólida y claramente detallada para facilitar este proceso de toma de decisiones. En otras palabras, la evaluación de inocuidad se debe realizar de manera que facilite la toma de decisiones, cumpliendo con las normas internacionales y locales y con metodologías científicas robustas.

Collection of Biosafety Reviews Vol. 8 (2013): 72-101

© International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB)

Padriciano, 99, 34149 Trieste, Italy

<http://www.icgeb.org/biosafety/publications/collections.html>

La utilización de la metodología de formulación de problemas en las evaluaciones provee una herramienta para asegurar que las evaluaciones provean la información necesaria para la toma de decisiones. La formulación de problemas tiene en cuenta los objetivos nacionales de protección y los requerimientos regulatorios clave, e impulsa la compilación de información relevante para la evaluación. Dada la riqueza de información en métodos de evaluación y la existencia de documentos de consenso internacionalmente aceptados, el objetivo de este artículo de revisión no es proveer una guía completa sobre cómo realizar evaluaciones de inocuidad de alimentos y forrajes. El objetivo es más bien demostrar cómo la formulación de problemas puede utilizarse en estas evaluaciones para facilitar la toma de decisiones.

Palabras clave: *bioseguridad, biotecnología moderna, ingeniería genética, evaluación de inocuidad, formulación de problemas*

1. INTRODUCCIÓN

Cuando un cultivo convencional es modificado a través de técnicas de ingeniería genética existe una preocupación de que el cultivo resultante pueda inducir daños a los humanos o animales si sus productos se consumen como alimentos o forraje. Así, el uso de cultivos ingeniería genética (GE¹) como alimentos y forrajes está estrictamente regulado y la mayor parte de las autoridades alrededor del mundo solicitan una evaluación de inocuidad exhaustiva. El objetivo principal de esta evaluación es proveer información relevante para permitir que las autoridades regulatorias tomen decisiones informadas con respecto a su uso futuro. Por lo tanto, es necesario que estas evaluaciones tengan en cuenta los requerimientos de datos y los objetivos de protección establecidos dentro del marco regulatorio relevante.

El proceso y la metodología a seguir en evaluaciones de inocuidad de cultivos GE han sido desarrollados a lo largo de muchos años. Luego de mucha investigación se han desarrollado métodos genéricos a seguir, que se han construido sobre la experiencia de evaluaciones, aprobaciones y comercializaciones previas de cultivos GE a lo largo de más de veinte años. Organizaciones internacionales tales como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la Organización Mundial de la Salud (WHO), y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD) han estado facilitando la armonización de las metodologías de evaluación de riesgo de alimentos y forraje. La Comisión del Codex Alimentarius, establecida por la FAO y la OMS en 1963, ha desarrollado estándares alimentarios internacionales armonizados, directrices y códigos de práctica, y ha promovido la coordinación de todos los trabajos sobre estándares de alimentos emprendidos por las organizaciones internacionales gubernamentales y no gubernamentales. La utilización de esta guía y la aplicación de la metodología de la formulación de problemas, una metodología a menudo utilizada en evaluaciones de riesgo ambiental, provee una forma útil de coleccionar y organizar información relevante para la evaluación. La formulación de problemas tiene en cuenta los objetivos de protección y los requerimientos regulatorios nacionales para guiar la recopilación de información relevante para la combinación cultivo/característica

¹ Nota de los traductores: En la revisión original se utiliza el término "Genetically Engineered", para el cual no existe equivalente castellano de precisión suficiente, por lo que optamos por utilizar las siglas "GE" a fin de significar que un organismo fue obtenido a través ingeniería genética.

específica bajo evaluación. La etapa de la formulación de problemas es también en la cual se realiza una caracterización inicial del posible riesgo, utilizando información disponible, para establecer si ésta es suficiente para caracterizar el riesgo o si se debe generar información adicional. Si se concluye esto último, la formulación de problemas provee una buena metodología para desarrollar un plan de análisis basado en objetivos específicos de evaluación a partir de los cuales se puedan confirmar o rechazar las hipótesis de riesgo planteadas. Esto incrementa la probabilidad de que la evaluación de inocuidad sea relevante para la toma de decisiones. Este proceso es ampliamente utilizado en evaluaciones de riesgo y ahora es parte de la directriz provista por algunas autoridades regulatorias. Este artículo de revisión aporta un resumen acerca de cómo la formulación de problemas puede utilizarse en la evaluación de inocuidad alimentaria de cultivos GE para facilitar la toma de decisiones regulatorias.

2. CONCEPTOS CLAVE

Se acepta que los riesgos relevantes de los alimentos y el forraje que han sido consumidos por humanos y animales durante años son conocidos, y en general, son considerados como seguros; esta es la base para los conceptos como “familiaridad” (OECD, 1993a) e “historial de uso seguro” (OECD, 1993b). Esto incluye alimentos con contenido conocido de toxinas, como la mandioca, las papas y las legumbres que pueden causar problemas de salud si se consumen crudos, pero que son considerados seguros para el consumo una vez que se haya seguido el procesamiento correcto.

Del mismo modo que para los alimentos convencionales, la inocuidad de los alimentos y el forraje GE no puede determinarse mediante un solo estudio (OECD, 1993b). Los alimentos completos son complejas mezclas de numerosos compuestos, a menudo caracterizadas por amplias variaciones en composición y valores nutricionales. A menudo los factores ambientales y agronómicos influyen en la composición de los componentes en variedades similares del mismo cultivo convencional. De esta manera, la evaluación de inocuidad de los alimentos usualmente se basa en componentes específicos (Codex Alimentarius, 2003b).

Se acepta ampliamente que la mejor estrategia para iniciar la evaluación de seguridad de alimentos y forraje GE es una estrategia comparativa (Codex Alimentarius, 2003a, 2003b; Hammond, 2008; Kleter, Kok, & others, 2010; Kok & Kuiper, 2003; König *et al.*, 2004; OECD, 1993b; Schauzu, 2000), en donde el cultivo GE es comparado con su contraparte convencional para determinar potenciales cambios en la composición de componentes clave. Este proceso se conoce como la evaluación de “equivalencia sustancial” (Schauzu, 2000) y ha sido adoptado por organismos regulatorios líderes en evaluación de alimentos y regulación en todo el mundo. De acuerdo con este concepto, si se muestra que un nuevo alimento o forraje derivado de un cultivo GE es sustancialmente equivalente a su contraparte convencional, se considera tan seguro como éste y la evaluación entonces se centra en la seguridad de las características introducidas (Codex Alimentarius, 2003a).

3. LA EVALUACIÓN COMPARATIVA

Como se discutió en la sección anterior, los resultados de un solo estudio no pueden establecer en forma conclusiva si un alimento o forraje derivado de un cultivo GE presenta un riesgo bajo para la salud humana o animal. Por lo tanto la estrategia propuesta por expertos internacionales en el área es la realización de una evaluación comparativa (Codex Alimentarius, 2003b; OECD, 1993b). La

evaluación comparativa permite la identificación de cualquier diferencia entre cualquier cultivo GE y sus contrapartes convencionales que puedan haber surgido debido a la modificación genética. El proceso sigue una estrategia de “peso de la evidencia”, en donde se utilizan numerosas fuentes de información para identificar estas potenciales diferencias y sus implicancias para la seguridad del alimento o el forraje (Figura 1) (Cockburn, 2002; Herman, Chassy, & Parrott, 2009; Herman & Price, 2013; König *et al.*, 2004; Kuntz & Ricroch, 2012; Parrott *et al.*, 2010; Ricroch, 2013).

Es importante notar que a veces se detectan diferencias entre la planta GE y su contraparte convencional. Sin embargo, una diferencia no necesariamente tendrá un efecto adverso. Una vez detectadas las diferencias se evalúa su relevancia biológica y la probabilidad de que conduzcan a un efecto adverso en la salud humana o animal. Si las diferencias son biológicamente relevantes y pueden causar efectos adversos, entonces la evaluación de riesgo se enfoca en el riesgo asociado con estas diferencias (García-Alonso, 2010).

El paquete regulatorio para un nuevo cultivo GE usualmente comprende datos sobre caracterización molecular, análisis de composición y caracterización agronómica ya que estos son datos requeridos en la mayoría de los marcos regulatorios. Por lo tanto, estos datos pueden ser utilizados durante la formulación de problemas.

Para los productos GE que ya se han comercializado en un país y están siendo evaluados para aprobación en otro, la formulación de problemas puede ayudar a establecer si los datos ya disponibles para la evaluación comparativa son suficientes o si se deben generar más datos. Si la evaluación de inocuidad para alimentos y forraje anterior no reveló ninguna preocupación y estableció que el cultivo GE era tan seguro para el consumo como sus contrapartes convencionales, tal evaluación puede utilizarse en otras geografías y no es necesariamente obligatoria la generación de más datos. Ocurren excepciones cuando existen requerimientos de datos específicos establecidos en el marco regulatorio nacional que no se satisfacen completamente, o en donde existen aspectos específicos del hábito de consumo de alimentos o forraje en el país importador que deben tenerse en cuenta.

Para la mayoría de los cultivos GE las únicas diferencias identificadas son las esperadas debido al efecto deseado de la modificación, que son llamadas diferencias “intencionales”. Sin embargo, existe una preocupación de que el proceso de transformación haya podido llevar a algunas diferencias “no intencionales”, tal vez debido a la interrupción de un gen o una ruta metabólica endógena. Tales diferencias no intencionales no son exclusivas a los cultivos GE y también pueden ocurrir en el mejoramiento convencional de cultivos.

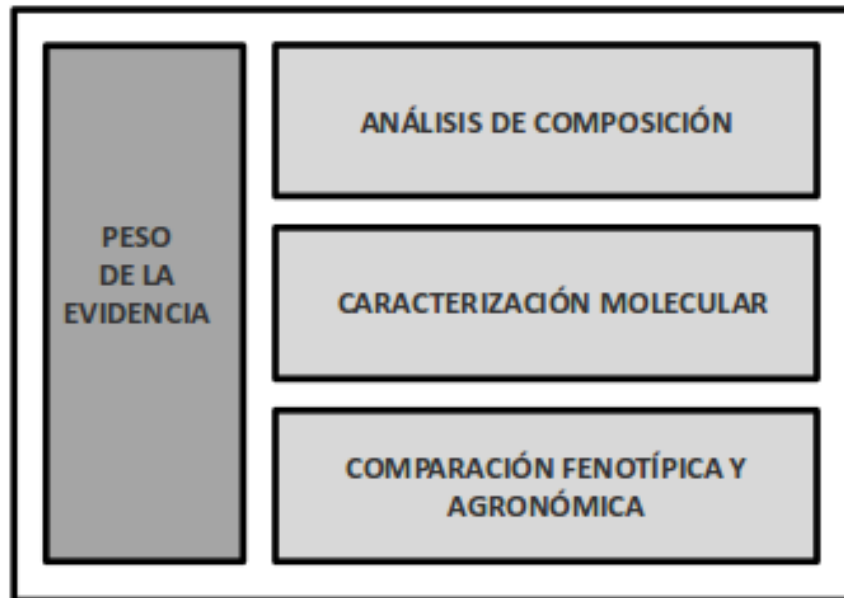


Figura 1. La estrategia del peso de la evidencia utilizada en las evaluaciones comparativas tiene en cuenta datos de caracterización molecular, análisis de composición y comparaciones fenotípicas y agronómicas.

3.1. Caracterización molecular

El uso de la caracterización molecular para las evaluaciones de riesgo ambiental o de alimentos y forraje ha sido bien descrito en un documento de consenso publicado por la OECD (OECD, 2010). Los datos de caracterización molecular proveen información que puede servir para la evaluación de riesgo de cultivos GE.

Aunque provee conocimiento a nivel molecular del DNA insertado, el sitio de inserción y el material expresado, y puede dar información sobre los efectos intencionales y no intencionales, no es el medio principal para detectar tales efectos indeseados (Macdonald, 2012).

La caracterización molecular realizada para cultivos GE incluye un análisis de la secuencia del gen para asegurar que no hayan ocurrido cambios en ella durante el proceso de transformación. Se realiza también un análisis de las regiones flanqueantes del gen para establecer si la inserción ha resultado en alguna interrupción de genes endógenos. También incluye un análisis de marcos abiertos de lectura (*open reading frame*, ORF)² para determinar si otras proteínas además de las intencionales podrían ser producidas por la planta GE. Si se produjeran nuevas proteínas (aparte de la[s] intencional[es]), la seguridad de estas proteínas no intencionales debe ser evaluada (OECD, 2010).

En resumen, la caracterización molecular indica si la modificación genética resultó como fue planeada, y si ocurrió alguna interrupción a nivel molecular luego de la transformación. Esta información es útil como un indicador de potenciales problemas; sin embargo la evaluación de

² También llamados TRF (*theoretical reading frame*).

riesgo depende más fuertemente en otras fuentes de información basadas en las características fenotípicas reales de la planta (Macdonald, 2012).

3.2. Análisis de la composición

Los análisis de composición constituyen el núcleo de la evaluación de riesgo de alimentos y forraje GE (Codex Alimentarius, 2003a). En estos estudios la composición de un cultivo GE se compara con la de su contraparte convencional que tiene un historial de consumo seguro. El objetivo es establecer si el cultivo GE es “sustancialmente equivalente” al cultivo convencional y si las únicas diferencias son aquellas planeadas en la modificación genética (Schauzu, 2000). Si este es el caso, la evaluación de seguridad se enfoca en las propiedades de los productos génicos expresados por los transgenes (Codex Alimentarius, 2003a, 2003b; OECD, 1993a, 1993b). Si se encuentra que las diferencias son consistentes y biológicamente relevantes, y tienen potencial para causar daño a humanos u otros animales, entonces se incluyen en la evaluación de riesgo para mayor análisis (Sección 3.4).

Con el fin de generar los datos para los estudios de análisis de composición, se conducen ensayos de campo en un rango de localidades representativas de distintos agroecosistemas en donde se podría utilizar el cultivo GE. Se colectan muestras de tejidos que podrían ser consumidos en alimentos o forraje para el análisis de distintos componentes. El número de ensayos puede variar de región a región, pero el objetivo de realizarlos en lugares distintos es investigar si existen factores ambientales que podrían revelar diferencias entre la composición del cultivo GE y la contraparte convencional (George *et al.*, 2004; Herman *et al.*, 2009; Ricroch, 2013). Existe una gran cantidad de literatura científica y muchas solicitudes de autorización evaluadas por autoridades regulatorias que demuestran la equivalencia de la composición de numerosos cultivos GE testeados en distintas áreas geográficas (Harrigan *et al.*, 2010; Herman *et al.*, 2009; Herman & Price, 2013; Reynolds, Nemeth, Glenn, Ridley, & Astwood, 2005). Los estudios a menudo reportan que se observan diferencias estadísticamente significativas en la composición entre distintas variedades del mismo cultivo, pero no entre el cultivo GE y su comparador (Harrigan *et al.*, 2010; Herman *et al.*, 2009; Herman & Price, 2013; Reynolds *et al.*, 2005). Una vez que se han realizado los ensayos en diversos ambientes, la incertidumbre sobre las diferencias debidas a factores ambientales está mejor definida y generalmente se reduce. Cualquier instrucción regulatoria para realizar ensayos de campo para generar más información debe ser considerada cuidadosamente, ya que podría constituir una duplicación de trabajo y podría no ayudar a reducir la incertidumbre.

Los componentes analizados en los tejidos vegetales se eligen utilizando conocimiento experto, mucho del cual ha sido cotejado y publicado por la OECD en documentos de consenso sobre las características de composición para el cultivo (Tabla 1).

Tabla 1. Lista de documentos de consenso de la OECD disponibles sobre las consideraciones de la composición y la biología de los cultivos. Disponible en: www.oecd.org/env/ehs/biotrack/consensusdocumentsfortheworkonthesafetyofnovelfoodsandfeedsplants.htm

Cultivo	Consideraciones de composición	Biología
Alfalfa	√	
Bananas y plátanos		√
Cebada	√	
Mandioca	√	
Chile, pimientos picantes y dulces		√
Algodón	√	√
Cucurbitas		√
Sorgo	√	
Maíz	√	√
Colza/Canola	√	√
Papaya	√	√
Papa	√	√
Arroz	√	√
Soja	√	√
Remolacha azucarera	√	√
Caña de azúcar	√	
Girasol	√	√
Batata	√	
Tomate	√	
Trigo	√	√

Estos documentos de consenso que listan componentes clave para distintos cultivos convencionales son una fuente muy valiosa de información, ya que proveen una técnica armonizada en cuanto a los componentes evaluados. Esto contribuye al conocimiento sobre los niveles de componentes que han sido utilizados de manera segura como alimento y forraje (historial de uso seguro), permitiendo así la construcción de bases de datos que proveen información sobre los rangos seguros de cada componente para estos cultivos (ILSI, 2010). Para el maíz, por ejemplo (Cuadro 1), se recomiendan muestras específicas de grano y forraje para la recolección (OECD, 2002), y representan

componentes de valor nutricional o indicadores de rutas metabólicas que son importantes para la evaluación de seguridad. En el grano de maíz, entre 60 y 70 componentes son analizados y comparados estadísticamente (Herman & Price, 2013; OECD, 2002; Reynolds *et al.*, 2005). Esto representa un gran número de análisis y comparaciones.

CUADRO 1. EJEMPLO DEL MAÍZ

Considere un estudio de análisis de composición para una variedad GE de maíz en donde se realizaron cuatro ensayos de campo. En cada ensayo, se sembraron bloques con la planta GE y el comparador. Los bloques fueron replicados cuatro veces y distribuidos al azar. Si se colectó un tipo de tejido, por ejemplo el grano, fueron analizados por lo menos 60 componentes por muestra. Esto significa que existe un total de 32 muestras (4 ensayos, 2 bloques, 4 repeticiones, 1 tejido), para las cuales se analizan 60 componentes dando un total de 3840 análisis. Estos datos son entonces analizados estadísticamente para establecer si se detectan diferencias en niveles de componentes entre los distintos bloques y entre localizaciones geográficas.

En algunos estudios, también se incluyen variedades convencionales comerciales del cultivo como referencia, incrementando el número de bloques y por ende el número de análisis y comparaciones.

Dado el gran número de comparaciones hechas, no es raro detectar algunas diferencias estadísticamente significativas aleatorias. Se consideran relevantes diferencias en un componente que son consistentes entre localizaciones geográficas y tienen una tendencia común (siempre mayores o menores en alguno de los bloques), y por lo tanto su potencial impacto para la salud humana o animal es evaluado en mayor profundidad. Los niveles del componente encontrado en la planta GE se comparan con la variabilidad normal en las variedades comerciales del cultivo (Codex Alimentarius, 2003b; Herman & Price, 2013). El rango de variabilidad encontrado para componentes clave en muchos cultivos puede encontrarse en bases de datos *online*, como la base de datos del ILSI (ILSI, 2010). Si las diferencias observadas para el componente en la planta GE caen dentro de los rangos considerados seguros en las variedades comerciales, puede concluirse que el cultivo GE será tan seguro como las variedades convencionales del cultivo aparte de la(s) característica(s) introducida (s), la cual es entonces evaluada (Codex Alimentarius, 2003b). Si se descubre que las diferencias caen fuera de los rangos, se evalúan la relevancia biológica y posibles implicancias para la salud humana y animal durante la evaluación de riesgo (García-Alonso, 2010).

3.3. Comparaciones agronómicas y fenotípicas

La mayoría de los paquetes regulatorios contienen estudios enfocados a comparar las características fenotípicas y agronómicas de la planta GE con sus contrapartes convencionales. Estos estudios proveen información útil para evaluaciones de riesgo ambiental, ya que permiten establecer si la modificación genética ha resultado en cambios en alguna característica fenotípica o agronómica que pudiera causar daño ambiental. Por ejemplo, los cambios en las características reproductivas que estén ligados a un potencial de convertir a tales cultivos en malezas son evaluados para estimar si la planta GE podría ser más persistente o invasiva que las contrapartes convencionales. Sin embargo, estos estudios también utilizan la evaluación de seguridad comparativa como un componente adicional del abordaje del peso de la evidencia para identificar diferencias no deseadas entre el cultivo GM y las contrapartes convencionales.

En estos estudios la planta GE es cultivada junto a la contraparte convencional en varios ensayos de campo conducidos en una variedad de sitios representativos de agroecosistemas en donde el cultivo GE podría ser utilizado. Los parámetros medidos se derivan de la experiencia de los fitomejoradores y cubren parámetros tanto morfológicos como fisiológicos. Estos parámetros se seleccionan específicamente de manera a que sean sensibles y representativos de las características biológicas clave que determinan la conducta agronómica del cultivo (García-Alonso, 2010; Gray, 2012; Macdonald, 2012).

Cualquier diferencia consistente identificada es evaluada en cuanto a su relevancia biológica y sus posibles implicancias de seguridad, y se toman como indicadores de manifestaciones de potenciales efectos no intencionales de la modificación genética. Como con los análisis de composición, a veces existen diferencias entre la planta GE y sus contrapartes convencionales; cuando son identificadas, estas diferencias son evaluadas en cuanto a su relevancia y potencial para causar daño. Sin embargo, para la mayoría de los cultivos GE que ingresan al proceso regulatorio, los grandes cambios fenotípicos no intencionales en la planta que podrían causar efectos adversos son muy poco probables, ya que los desarrolladores realizan numerosos estudios de caracterización vegetal durante la selección y el desarrollo del evento; y los eventos con fenotipos no deseados identificados son descartados rápidamente (Gray, 2012).

3.4. Efectos no intencionales de la modificación genética

Una de las preocupaciones sobre los cultivos GE es que la modificación genética pueda haber resultado en cambios no intencionales en el cultivo que puedan causar algún efecto sobre el ambiente o la salud humana o animal. La evaluación comparativa provee un abordaje de peso de la evidencia que permite la identificación de diferencias entre la planta GE y sus comparadores (Figura 2). Para la mayoría de los cultivos GE, las únicas diferencias identificadas son las esperadas debido al efecto deseado de la modificación (diferencias intencionales). En otros casos, es posible la identificación de otras diferencias, por ejemplo en la composición o en las características agronómicas (diferencias no intencionales). Una diferencia no constituye necesariamente una indicación de efectos adversos, por lo tanto cualquier diferencia observada, sea intencional o no, es evaluada primero en cuanto a su relevancia biológica y potencial para causar daño. Si se identifican tales diferencias, éstas son evaluadas, independientemente de que sean intencionales o no (García-Alonso, 2010).

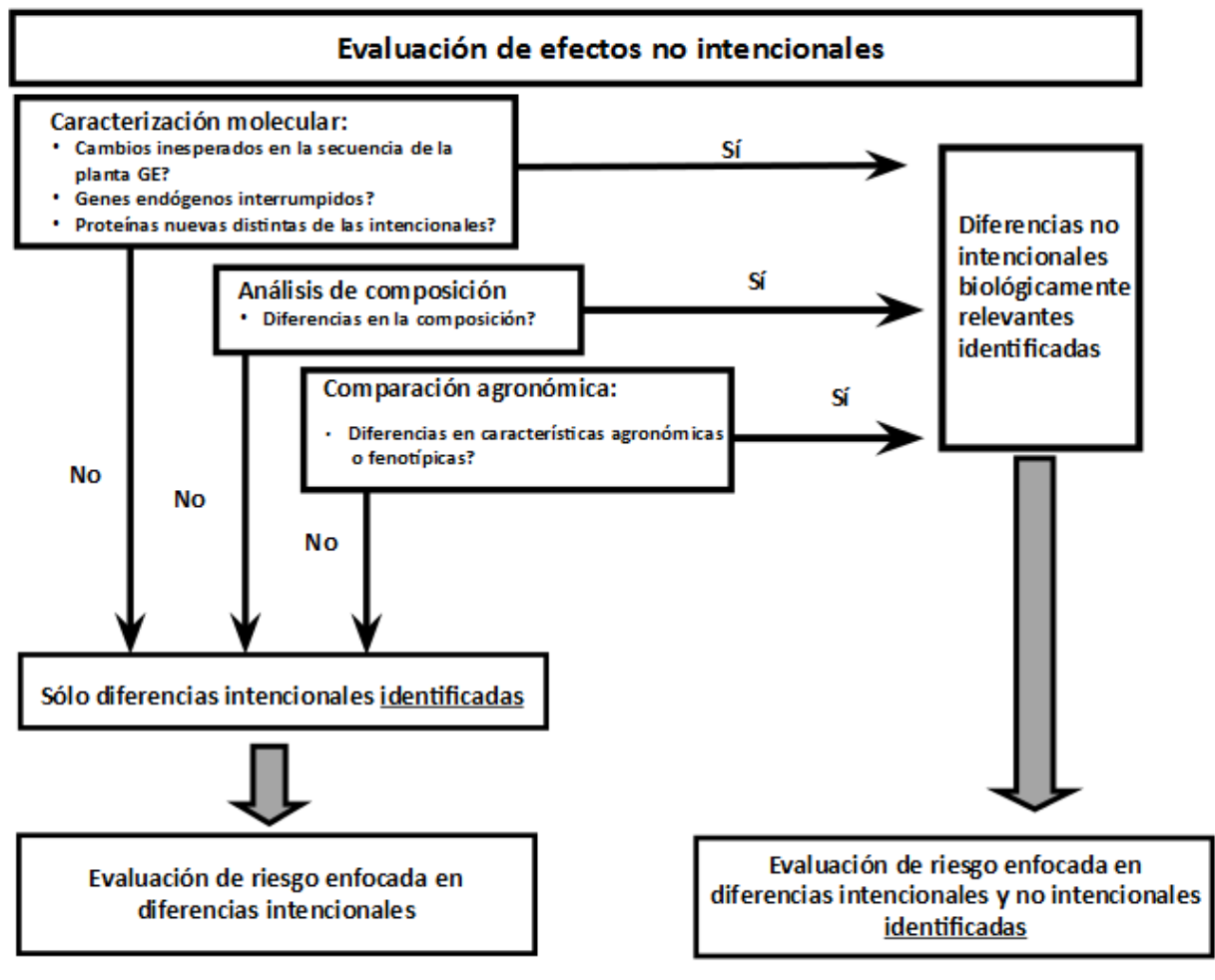


Figura 2. El abordaje de peso de la evidencia utilizado en las evaluaciones comparativas facilita la identificación de cambios no intencionales en la planta GE que podrían tener que evaluarse en la evaluación de riesgo.

4. EVALUACIÓN DE ALERGENICIDAD

Un aspecto clave de la evaluación de inocuidad de alimentos y forrajes es evaluar si la modificación genética ha resultado en la introducción de un gen que codifique una proteína alergénica importante en un cultivo alimenticio que previamente no la producía. Algunos cultivos alimenticios ampliamente consumidos contienen alérgenos conocidos que resultan en alergias alimentarias (por ejemplo las nueces (Taylor & Hefle, 2001). Entonces, la evaluación también considera si la modificación genética pudo haber incrementado los niveles de alérgenos endógenos en el cultivo GE.

En evaluaciones de alergenicidad, la formulación del problema puede aplicarse para enfocar la evaluación en las preguntas clave y permitir la recolección y organización de la información de manera lógica y estructurada. Aquí la evaluación comparativa se utiliza para establecer el enfoque de la evaluación. Virtualmente todos los alérgenos alimentarios conocidos son proteínas, por lo tanto el enfoque de la evaluación de alergenicidad para cultivos GE es evaluar el potencial alergénico de las nuevas proteínas producidas por el cultivo. En cuanto a la alergenicidad, si se ha establecido la equivalencia sustancial y las únicas proteínas nuevas producidas son las intencionales, la evaluación

de alergenicidad se enfoca en esas proteínas. Si se identifican nuevas proteínas no intencionales, también se evalúa su alergenicidad potencial. Además, si se sabe que el cultivo convencional contiene alérgenos, se realiza una evaluación para establecer si la modificación genética ha causado cambios en los niveles de esos alérgenos endógenos.

Reconociendo que no existen pruebas únicas definitivas, se utiliza un abordaje de peso de la evidencia para la alergenicidad con varias fuentes de información. El Codex Alimentarius provee una guía (Codex Alimentarius, 2003b) sobre los tipos de información y el proceso a seguir para evaluar la alergenicidad de los cultivos GE. El primer paso en este abordaje consiste en la recolección de información disponible sobre las proteínas en evaluación:

- *Fuente donante* - conocer la fuente de los genes utilizados en la modificación genética provee información sobre si éstos provinieron de una fuente alergénica y por lo tanto si tienen potencial de alergenicidad.
- *Secuencia de la proteína* - comparar la secuencia de la proteína derivada del transgén con la secuencia de las proteínas que son alérgenos conocidos provee una indicación de si puede ocurrir una sensibilización cruzada. Se han definido criterios específicos basados en el porcentaje de homología entre las secuencias (Codex Alimentarius, 2003a; Goodman *et al.*, 2008), que pueden ayudar a decidir si el grado de similitud es significativo y si es necesario añadir pasos a la evaluación.
- *Susceptibilidad a la digestión proteolítica* - algunos alérgenos conocidos son resistentes a la degradación en presencia de pepsina, por lo tanto el grado de tal resistencia se utiliza en la evaluación como indicador de alergenicidad potencial. Sin embargo, es importante notar que no todos los alérgenos son resistentes a la degradación en presencia de pepsina y que no todas las proteínas resistentes a tal degradación son alérgenos.
- *Susceptibilidad a la degradación térmica* - algunos alérgenos permanecen estables en el calor y pueden sobrevivir procedimientos de cocción.
- *Prevalencia en alimentos* - muchas proteínas alergénicas son proteínas de almacenamiento expresadas en semillas como constituyente proteico mayoritario en cultivos alimentarios. Los niveles de expresión de las proteínas nuevas en el producto comercial son considerados en este contexto para determinar su contribución al perfil proteico total del alimento.
- *Historial de exposición segura* - revisión de la presencia del organismo donador de la proteína nueva, y de proteínas homólogas a la proteína nueva en la cadena alimentaria. Es poco probable que una proteína nueva ya conocida como alimento seguro y como derivada de un organismo seguro presente un riesgo inesperado de alergia.

El objetivo principal de este abordaje es evaluar la secuencia de aminoácidos y otras características biofísicas de la proteína para identificar similitudes significativas con alérgenos conocidos. Si la proteína no proviene de un donante alergénico, no tiene homología a alérgenos conocidos, no es resistente a la pepsina y no es resistente a la degradación térmica, se puede concluir que es poco probable que sea alergénica (Goodman *et al.*, 2008).

Si la proteína se origina de una fuente conocida como alergénica, o tiene una homología con un alérgeno conocido en su secuencia, entonces la evaluación continúa. Se sigue un abordaje caso-por-caso para diseñar un plan de análisis apropiado (Cuadro 2).

CUADRO 2. EJEMPLO

Considere un maíz GE que produzca una nueva proteína. La alergenicidad de la proteína ha sido investigada. Se ha detectado un nivel significativo de homología entre la secuencia de la proteína y la de un alérgeno conocido (ej. >70% en toda la longitud de la proteína). En este caso, existe un riesgo de reactividad cruzada entre las proteínas, y los humanos sensibles al alérgeno conocido podrían tener reacciones alérgicas a la proteína producida por el maíz GE. Siguiendo la metodología de la formulación de problemas, se tendría que establecer un plan de análisis en cuyo marco se tendrían que realizar estudios de reactividad cruzada cuidadosamente diseñados.

En resumen, la utilización de la formulación de problemas provee una forma lógica de recolectar información relevante para realizar una evaluación de alergenicidad y una caracterización inicial del riesgo para establecer si se necesitan más datos. Si este es el caso, la formulación de problemas puede utilizarse para diseñar el plan de análisis más apropiado para completar la evaluación y así tener conclusiones sobre la seguridad de los alimentos y el forraje.

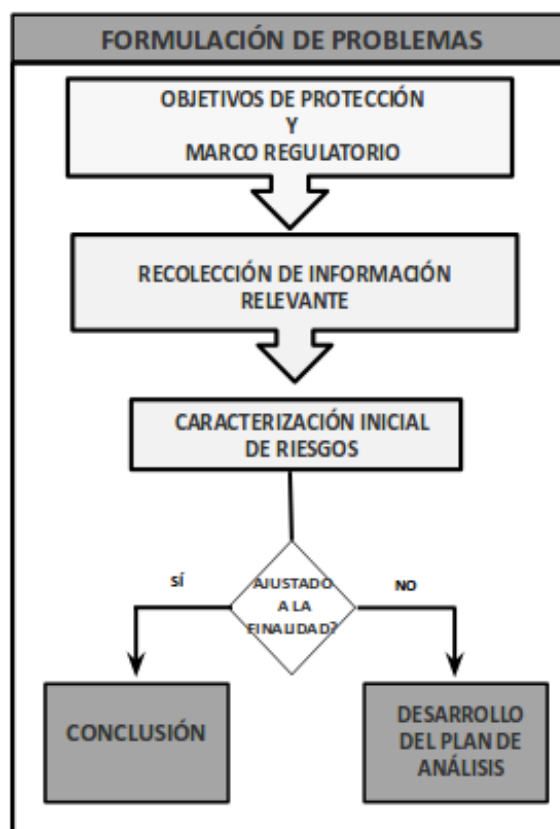
5. UTILIZACIÓN DE LA METODOLOGÍA DE FORMULACIÓN DE PROBLEMAS EN EVALUACIONES DE INOCUIDAD DE ALIMENTOS Y FORRAJE

5.1. Formulación de problemas

La formulación de problemas es un proceso que consiste en la recolección y consideración de todos los datos disponibles sobre el cultivo GE para permitir la formulación de hipótesis de riesgo medibles y el diseño de un plan para probarlas (Raybould, 2006; Wolt *et al.*, 2010). En otras palabras, la formulación de problemas es una herramienta para la identificación de preguntas relevantes para la evaluación de riesgo y la recolección de la información relevante para responderlas (Gray, 2012).

La formulación de problemas considera los objetivos de protección relevantes y los requerimientos de datos fijados en el marco regulatorio, enfocando así la evaluación de riesgo en preguntas claves y asegurando que facilite la toma de decisiones (Figura 3). La formulación de problemas también incluye una caracterización inicial de riesgo, realizada con los datos existentes, para establecer si los datos recolectados son suficientes para caracterizar el riesgo o si se requiere información adicional. Donde se identifica una necesidad de generar más datos, se puede desarrollar un plan de análisis para satisfacer las necesidades especificadas. Si no se requiere información adicional, la evaluación de riesgo puede detenerse en este paso (Cuadro 3).

Figura 3. Componentes de la formulación de problemas.



CUADRO 3. EJEMPLO

Considere un maíz GE que produce una nueva proteína para el control de plagas. El objetivo de la evaluación de seguridad es establecer que el consumo del maíz GE será tan seguro para humanos y animales como el maíz convencional. La evaluación comparativa concluyó que el maíz GE y su contraparte convencional son sustancialmente equivalentes y sólo difieren en la presencia de esa proteína. Dos escenarios pueden surgir:

1. La proteína es bien conocida y ha sido introducida previamente en otros cultivos GE ya comercializados o utilizada en biopesticidas. Entonces se encuentra disponible información sobre la seguridad de la proteína, y puede utilizarse para realizar una caracterización inicial de riesgo utilizando datos de expresión en el cultivo GE en evaluación para realizar una evaluación de exposición. Si el riesgo es aceptable, la caracterización de riesgo puede considerarse completa en este paso (conclusión).
2. La proteína es nueva y no existen datos de seguridad ni datos sobre exposición previa. En este caso, es poco probable que el riesgo pueda caracterizarse completamente en este paso. Se puede diseñar un plan de análisis para determinar qué estudios son necesarios para la evaluación de riesgo.

5.1.1. Objetivos de protección y marcos regulatorios

Cuando se realiza una evaluación de riesgo, es esencial tener una buena comprensión de los objetivos establecidos en la política de protección local. En general, para la evaluación de inocuidad de alimentos y forraje, la protección de la salud humana y animal es un objetivo de protección universal. Existe una tendencia a formular los objetivos de las políticas de protección en términos amplios y cubriendo varios aspectos distintos (Evans, Wood, & Miller, 2006), por ejemplo "Protección de la salud humana". Es necesario que estos objetivos de políticas de protección se

traduzcan en objetivos operativos de protección que puedan utilizarse en la evaluación, de manera que puedan formularse parámetros de evaluación y las hipótesis de riesgo (Figura 4). Por ejemplo, un objetivo operativo de protección podría ser “El consumo de alimentos o forraje GE no debe causar efectos adversos en humanos o animales”. Este tipo de traducción operacional enfoca la evaluación de riesgo en lo que se debe proteger (humanos y animales), de qué se lo debe proteger (el alimento o forraje GE), y en qué situación (cuando el alimento o forraje es consumido). Se elaboran así más parámetros de evaluación, expresando explícitamente el valor ambiental a ser protegido, especificando la entidad ecológica que representa el área de protección (humanos o animales), la unidad (individuos o poblaciones), el atributo a ser protegido (salud), la magnitud (ausencia de efectos alérgicos o tóxicos), y la escala temporal y espacial (en un país particular, luego del consumo de alimentos o forraje GE) y el grado de certeza (alta/media/baja). Los parámetros de evaluación permiten la formulación de hipótesis de riesgo específicas, a partir de las cuales es posible definir objetivos medibles (Gray, 2012; Raybould, 2006).

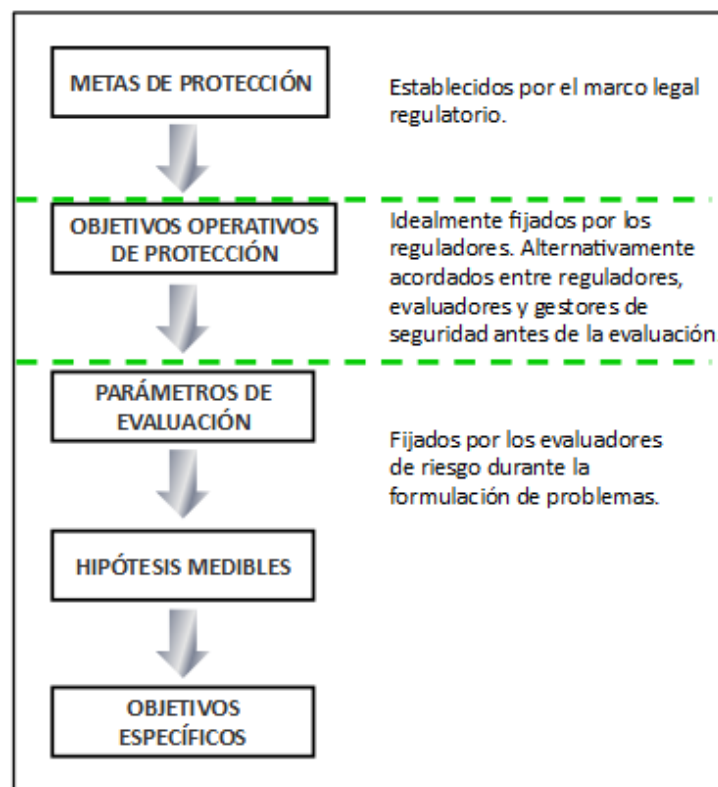


Figura 4. Traducción de objetivos de políticas de protección en objetivos operativos de protección para su utilización en la evaluación de riesgo.

Además de las metas de protección, se considera que los requerimientos de datos expresados en el marco regulatorio aseguran que la evaluación de riesgo provea información suficiente y permita la toma de decisiones.

Los requerimientos regulatorios de datos no siempre están claramente definidos en todos los sistemas regulatorios, pero en la ausencia de directrices regionales específicas, existen organizaciones internacionales como la OECD y el Codex (Codex Alimentarius, 2003a; OECD, 1993b), que han estado facilitando la armonización de los procedimientos de evaluación de riesgo. Algunas autoridades regulatorias tienen amplios documentos guía que delimitan la información y los estudios

requeridos para sus evaluaciones de seguridad. Otras agencias regulatorias son menos específicas, pero aún exigen una amplia evaluación de seguridad (Macdonald, 2012).

Los documentos, que proveen un marco de evaluación y una guía sobre los datos necesarios para realizar la evaluación, fueron desarrollados como resultado de varias conferencias científicas y consultas intergubernamentales sobre la inocuidad alimentaria y la biotecnología (Codex Alimentarius, 2003a, 2003b; OECD, 1993a, 1993b).

En resumen, durante esta etapa en la formulación de problemas es importante tener una comprensión clara de los objetivos de protección y requerimientos regulatorios para asegurar que la evaluación ayude a los reguladores locales a tomar decisiones en cuanto a si aprobar o no el alimento o forraje GE para el consumo en ese país.

5.1.2. Recolección de información relevante

La información utilizada en las evaluaciones debe ser de alta calidad, fiable y bien referenciada de manera que las fuentes de información puedan ser evaluadas y revisadas por otras partes, pero sobre todo, debe ser relevante (“conocimiento necesario” *versus* “conocimiento interesante”) (Raybould, 2012). Por ejemplo, algunas informaciones pueden ser fiables y de alta calidad, pero simplemente irrelevantes, en cuyo caso los reguladores podrían pasar una gran cantidad de tiempo revisando información que no facilitará su conclusión y podría retrasar la toma de decisiones (Raybould, 2012).

Las fuentes de información relevante pueden ser muy variadas e incluir estudios regulatorios generados por el desarrollador, literatura científica, documentos de consenso internacional y reportes de evaluaciones realizadas por autoridades regulatorias en otros países. Los estudios regulatorios apuntan a proveer información utilizando protocolos validados que siguen directrices internacionales. Estos estudios dan confianza en la metodología utilizada y están reportados en suficiente detalle para establecer qué materiales fueron utilizados, cómo fueron producidos y qué técnicas analíticas fueron utilizadas. Los estudios reportados en publicaciones científicas también podrían seguir algunos de estos principios, pero a menudo reflejan innovaciones en metodología que podrían no estar aún validados y por lo tanto requerir más trabajo antes de poder ser utilizados en evaluaciones regulatorias. Al momento de recolectar información para la evaluación de seguridad, es clave que los evaluadores establezcan la relevancia y el peso de cada pieza de información recolectada.

El Codex Alimentarius y los documentos de la OECD citados previamente proveen orientación útil sobre los tipos de información a recolectar para las evaluaciones de seguridad de alimentos y forraje GE. Esto usualmente cubre información sobre el cultivo convencional, sobre los genes transferidos y sobre el cultivo GE. Se realiza entonces una comparación entre el cultivo GE y sus contrapartes convencionales para establecer si existe equivalencia sustancial y para identificar diferencias que podrían causar efectos de salud adversos. Esta parte de la evaluación comparativa se utiliza para determinar si se detectaron diferencias no intencionales relevantes y si deben ser incluidas en la evaluación.

En resumen, la formulación de problemas orienta la recopilación de información relevante para la evaluación de seguridad.

5.1.3. Caracterización inicial de riesgo

Durante el primer paso de la formulación de problemas, toda la información recolectada se utiliza para realizar una caracterización inicial de riesgo. Para la evaluación de inocuidad de alimentos y forraje, la evaluación comparativa es una parte esencial ya que permite identificar los riesgos potenciales que deben incluirse en la evaluación (diferencias deseadas y/o no deseadas identificadas entre la planta GE y la contraparte convencional) y también puede proveer información sobre exposición previa. Ya que el riesgo es una función del peligro y la exposición, la caracterización de riesgo realizada dentro de la formulación de problemas apunta a recolectar información disponible para la evaluación de los efectos adversos para la salud asociados con los peligros identificados y una estimación de los niveles de exposición a esos peligros en alimentos o forraje. Por ejemplo, si la única diferencia observada entre la planta GE y la contraparte convencional es la proteína introducida, la evaluación de riesgo se enfoca en la proteína. La información recolectada puede utilizarse para establecer si la proteína puede ser tóxica para humanos o animales y si la proteína está realmente presente en las partes de la planta que serán consumidas como alimento o forraje.

5.1.3.1. Evaluación de la peligrosidad

El primer paso de la evaluación del peligro es identificar los peligros que presenta la planta GE. Como se explicó más arriba, la evaluación comparativa facilita este proceso (Figura 2). La evaluación de la peligrosidad apunta a establecer el potencial intrínseco del agente de causar efectos de salud adversos. Por lo tanto se evalúa la toxicidad potencial para humanos y animales para cualquier diferencia relevante identificada.

Como se discutió previamente en la Sección 3, en la mayor parte de los cultivos GE evaluados hasta hoy, las únicas diferencias observadas entre la planta GE y las contrapartes convencionales son las características deseadas. La toxicidad potencial de estas características ha sido evaluada. Estas evaluaciones han sido realizadas caso por caso teniendo en cuenta la fuente, la función, la actividad y el historial de consumo seguro para humanos o animales. En general, dadas la estructura y las propiedades de las proteínas introducidas en los cultivos GE hasta hoy, la biodisponibilidad oral de estas proteínas es muy baja y la mayoría de las proteínas no son tóxicas. Sin embargo, dado que existen algunas proteínas que son toxinas conocidas, usualmente se realizan evaluaciones para determinar similitudes de secuencia con toxinas y alérgenos. Las proteínas que son toxinas conocidas generalmente ejercen su efecto a través de modos de acción agudos. Por esta razón, algunas autoridades regulatorias requieren estudios confirmatorios de seguridad. Usualmente esto implica la provisión de datos de toxicidad oral aguda sobre nuevas proteínas administradas a altas dosis en donde se reportan "*niveles sin efecto adverso observable*" (*no observed adverse effects levels*, NOAELs). Para la mayoría de las proteínas utilizadas en cultivos GE, estos NOAELs reflejan la dosis máxima probada en los estudios, ya que jamás se han detectado niveles de efectos tóxicos adversos incluso en estas dosis altas (Hammond, 2008). Están disponibles varias revisiones de literatura que proveen datos sobre estudios de toxicidad realizados en muchas de las proteínas utilizadas en cultivos GE, por ejemplo, Hammond (2008) hace una revisión excelente de los métodos y el proceso utilizados para la caracterización de la toxicidad potencial de las proteínas.

Para peligros identificados durante la evaluación comparativa sobre los cuales no existen datos disponibles en cuanto a exposición previa o toxicidad, la formulación de problemas puede ayudar a determinar qué información debe ser generada para la evaluación de la peligrosidad. Como se describe en el Codex Alimentarius (2003b), uno de los primeros pasos es recolectar toda la información disponible sobre la estructura y la función de las características o los componentes, y determinar si existen similitudes con toxinas o alérgenos conocidos. En el caso de los agentes

peligrosos que son proteínas, su secuencia se compara con secuencias de toxinas, antinutrientes o alérgenos conocidos. La necesidad de realizar estudios adicionales de toxicidad se evalúa caso por caso y dependerá de la identidad y la función biológica del agente bajo estudio en el cultivo GE y la probabilidad de exposición dietaria. También pueden considerarse otros tipos de estudios, tales como estudios *in vitro*.

Por ejemplo si la evaluación ha de enfocarse en una proteína transgénica producida por una planta GE, se puede recolectar información sobre cualquier exposición segura previa en alimentos o forraje, y se puede determinar si fue a niveles similares a aquellos encontrados en la planta GE. Tales proteínas que tienen un historial de consumo seguro en alimentos se consideran seguras para el consumo (Hammond & Cockburn, 2008).

5.1.3.2. Evaluación de exposición

En evaluaciones de riesgo de alimentos y forraje, la evaluación de la exposición se basa en la estimación de la ingesta diaria de los peligros identificados (Cuadro 4) y el cálculo del efecto del procesamiento del alimento o forraje. La evaluación se realiza en un proceso por etapas en donde inicialmente se considera un escenario conservador de “peor caso o de máxima exposición”. El peor caso se construye a fin de reflejar las condiciones de niveles mucho mayores de exposición que los que ocurrirían normalmente para representar la mayoría de los escenarios de exposición. Si el riesgo estimado en este escenario es aceptable, el riesgo asociado a menor exposición será también menor y por lo tanto también aceptable. Si el riesgo no es aceptable, se pueden refinar las estimaciones de exposición para que reflejen niveles más realistas. Los estudios de expresión realizados para determinar las concentraciones de las proteínas nuevas en la planta GE proveen datos sobre sus niveles esperados en tejidos comestibles. Las bases de datos de consumo de alimentos proveen estimaciones sobre la ingestión esperada de ciertos alimentos en la dieta. El conocimiento sobre los usos del cultivo convencional en alimentos y forraje también provee información útil para la evaluación de exposición, ya que ayuda a determinar si el alimento o forraje se consume crudo o cocido o si sólo se consumen ciertos productos procesados de la planta.

Un escenario conservador de “peor caso” de exposición puede construirse considerando los siguientes supuestos:

- El alimento o forraje contendrá los máximos niveles de expresión detectados en la planta GE (exposición máxima, ya que no se consideran procesamientos ni cocción que pudieran disminuirla).
- Toda la ingesta dietaria estimada para ese alimento o forraje se compone del producto GE en evaluación (exposición máxima, ya que los productos agrícolas usualmente son mezclados y la pureza de 100 % es rara).

Existen varias bases de datos que proveen datos recolectados sobre el consumo humano de alimentos en distintos países, por ejemplo los “grupos de régimen alimenticio del Sistema Mundial de Vigilancia del Medio Ambiente (*GEMS/Food Cluster Diets*)” (WHO, 2010). Otros ejemplos de bases de datos pueden encontrarse en una revisión de la literatura (Petersen, 2008).

CUADRO 4. EVALUACIÓN DE EXPOSICIÓN A NUEVA PROTEÍNA

El máximo nivel de expresión de una de las proteínas nuevas introducidas en un maíz GE es de 1,8 µg/g en peso fresco. Asumiendo que el consumo de maíz en la población para la cual se está realizando la evaluación se estima en 150,4 g maíz/persona/día, y considerando que una persona promedio pesa 60 kg, el consumo de maíz es de 2,5 g maíz/kg peso corporal/día. La cantidad de proteína nueva en la dieta sería:

$$150,4 \text{ g maíz}/60 \text{ kg persona/día} \times 1,8 \text{ µg proteína/g maíz} = 0,0045 \text{ mg proteína nueva/día}$$

5.1.3.3. Evaluación de riesgo

Durante esta paso de la formulación de problemas se puede realizar una caracterización inicial de riesgo utilizando todos los datos relevantes disponibles sobre la peligrosidad y la exposición a la característica en cuestión. En el caso de las evaluaciones de riesgo de alimentos y forraje, la toxicidad potencial de los componentes peligrosos identificados (es decir, las diferencias relevantes entre la planta GE y su contraparte convencional que podrían causar daño) es evaluada como se describe en la Sección 4.1.3.1. y la exposición a ellos es estimada como se describe en la Sección 4.1.3.2. Cuando es posible, el riesgo se cuantifica para tener una estimación de la relación toxicidad/exposición y de márgenes de seguridad. Por ejemplo, si se considera que una proteína puede ser tóxica y se ha realizado un estudio de toxicidad, el parámetro medido, usualmente un NOAEL, puede compararse con la exposición estimada en la dieta. Esta técnica se sigue rutinariamente para evaluar el riesgo de productos químicos o sustancias tóxicas para obtener una medida de los márgenes de exposición y estimar cuánto del alimento en el cual la proteína está presente sería necesario consumir para recibir una dosis tóxica. En el caso de las proteínas, esta técnica no es tan útil ya que usualmente no existen efectos adversos detectados en los estudios de toxicidad, por lo cual la estimación indicaría cuánto alimento que contenga la nueva proteína tendría que consumir una persona para recibir una dosis que se haya demostrado que no produce ningún efecto adverso. Entonces la única ventaja de este enfoque es que provee alguna cuantificación, pero ésta requiere interpretación cuidadosa.

A menudo las mediciones cuantitativas de peligrosidad y exposición no son posibles y se utilizan descripciones categóricas ordenadas de riesgo. Un buen ejemplo de categorización de riesgo a través de un abordaje cuantitativo se describe en la Oficina del Regulador de la Tecnología Genética (OTGR, 2009). Esta técnica estima la probabilidad de que ocurra un efecto adverso (evaluación de probabilidad) y la compara con una estimación de las consecuencias si ocurre. Se provee una escala descriptiva para la probabilidad y seriedad del daño en relación con la salud humana (Figura 5). Si no se espera que ocurra daño (por ejemplo, porque el objeto del análisis no es tóxico o no existe exposición verosímil), el riesgo se considera insustancial y el impacto no necesita un análisis más profundo.

		ESTIMACIÓN DE RIESGO			
		Bajo	Moderado	Alto	Alto
EVALUACIÓN DE LA PROBABILIDAD	Altamente probable	Bajo	Moderado	Alto	Alto
	Probable	Bajo	Bajo	Moderado	Alto
	Poco probable	Despreciable	Bajo	Moderado	Moderado
	Muy poco probable	Despreciable	Despreciable	Bajo	Moderado
		Mínimo	Menor	Intermedio	Mayor
EVALUACIÓN DE LAS CONSECUENCIAS					

Figura 5. Matriz de riesgo para estimar el nivel de riesgo de una combinación de resultados de evaluaciones de probabilidad y consecuencia (OTGR, 2009).

En algunos casos, la caracterización inicial de riesgo realizada durante la formulación de problemas no es suficiente y el análisis debe continuar con el diseño de un plan que pueda proveer la información necesaria para completar la evaluación. Esto usualmente involucra una evaluación de la peligrosidad y la exposición más profunda que puede requerir la realización de estudios apuntados al abordaje de hipótesis específicas de prueba. Si luego de completar la evaluación el riesgo o la incertidumbre asociada con él se consideran demasiado altos, se puede implementar un plan de manejo de riesgo. Por ejemplo, si se detecta el riesgo de causar un efecto tóxico debido a una toxina introducida que es lábil al calor, el riesgo podría manejarse recomendando que el alimento no se consuma crudo (tal es el caso de muchos alimentos comunes, como la mandioca).

6. CONCLUSIONES

Los cultivos GE se han comercializado por más de 20 años. Cada cultivo GE comercializado ha sido sometido a una estricta evaluación de seguridad para establecer la inocuidad de su uso como alimento o forraje. La experiencia adquirida en este tiempo ha llevado a una mejor comprensión de los datos requeridos para realizar evaluaciones de seguridad y existen pautas acordadas internacionalmente que describen el proceso a seguir. Sin embargo, la decisión sobre aprobar o no un cultivo GE para comercialización usualmente tiene lugar a nivel nacional, donde existen o deberían existir políticas con metas de protección y marcos regulatorios nacionales. Por lo tanto, todas las evaluaciones de riesgo deben cumplir con estos requisitos nacionales para facilitar el proceso de toma de decisiones. La utilización de la formulación de problemas incrementa la probabilidad de que las evaluaciones faciliten la toma de decisiones, ya que los gestores de riesgo reciben información que es directamente relevante y esencial para la toma de decisiones informadas. La formulación de problemas tiene en cuenta los objetivos de las políticas de protección nacionales y los requerimientos de datos para guiar la recopilación de datos relevantes. La caracterización inicial de riesgo ayuda a establecer si se necesitan más datos; y si es así, la formulación de problemas facilita el diseño de planes de análisis para abordar las preguntas restantes.

7. REFERENCIAS

Cockburn A (2002). Assuring the safety of genetically modified (GM) foods: The importance of a holistic, integrative approach. *Journal of Biotechnology* 98: 79-106.

Codex Alimentarius (2003a). *Principles for the risk analysis of foods derived from modern biotechnology*. CAC/GL 44-2003. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Rome, Italy, pp 4. http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10007/CXG_044e.pdf.

Codex Alimentarius (2003b). *Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant DNA plants*. CAC/GL 45-2003. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Rome, Italy, pp 13. http://www.codexalimentarius.net/download/standards/11023/CXG_068e.pdf.

Evans J, Wood G & Miller A (2006). The risk assessment–policy gap: An example from the UK contaminated land regime. *Environment International* 32: 1066-1071.

García-Alonso M (2010). Current challenges in environmental risk assessment: The assessment of unintended effects of GM crops on non-target organisms. *IOBC/WPRS bulletin* 52: 57-63.

George C, Ridley WP, Obert JC, Nemeth MA, Breeze ML & Astwood J (2004). Composition of grain and forage from corn rootworm protected corn event MON863 is equivalent to that of conventional corn (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 4149-4158.

Goodman RE, Vieths S, Sampson HA, Hill D, Ebisawa M, Taylor SL & van Ree R (2008). Allergenicity assessment of genetically modified crops — What makes sense? *Nature Biotechnology* 26(1): 73-81.

Gray A (2012). Problem formulation in environmental risk assessment for genetically modified crops: a practitioner's approach. *Collection of Biosafety Reviews* (6): 14-65.

Hammond BG (ed) (2008). *Food Safety of Proteins in Agricultural Biotechnology*. CRC Press, Boca Raton, USA. pp. 320.

Hammond BG & Cockburn A (2008). The safety assessment of proteins introduced into crops developed through agricultural biotechnology: A consolidated approach to meet current needs. In: *Food Safety of Proteins in Agricultural Biotechnology*, BG Hammond (ed), CRC Press, Boca Raton, USA. pp 259-288.

Harrigan G, Lundry D, Drury S, Berman K, Riordan SG, Nemeth MA, Ridley WP & Glenn KC (2010). Natural variation in crop composition and the impact of transgenesis. *Nature Biotechnology* 28(5): 402-404.

Herman RA, Chassy BM & Parrott W (2009). Compositional assessment of transgenic crops: An idea whose time has passed. *Trends in Biotechnology* 27(10): 555-557.

Herman R & Price WD (2013). Unintended compositional changes in genetically modified (GM) crops: 20 years of research. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf400135r>.

ILSI (2010). *Crop Composition Database*, Version 4.2. International Life Sciences Institute (ILSI), Washington DC, USA. www.cropcomposition.org.

Kleter GA & Kok EJ (2010). Safety assessment of biotechnology used in animal production, including genetically modified (GM) feed and GM animals – A review. *Animal Science Papers and Reports* 28: 105-114.

Kok EJ & Kuiper HA (2003) Comparative safety assessment for biotech crops. *Trends in Biotechnology* 21: 439-444.

Konig A, Cockburn A, Crevel RWR, Debruyne E, Grafstroem R, Hammerling U, Kimber I, Knudsen I, Kuiper HA, Peijnenburg AACM, Penninks AH, Poulsen M, Schauzu M & Wall JM (2004). Assessment of

the safety of foods derived from genetically modified (GM) crops. *Food and Chemical Toxicology* 42: 1047-1088.

Kuntz M & Ricroch A (2012). Is it time to adjust the current regulatory risk assessment for GM food and feed? *ISB News Report*, February 2012. <http://www.isb.vt.edu/news/2012/Feb/kuntz-ricroch.pdf>.

Macdonald P (2012). Developing workable regulatory frameworks for the environmental release of transgenic plants. *Collection of Biosafety Reviews* 6: 126-159.

OECD (1993a). *Safety Consideration for Biotechnology: Scale-Up of Crop Plants*. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris, France. www.oecd.org/dataoecd/26/26/1958527.pdf.

OECD (1993b). *Safety Evaluation of Foods Derived by Modern Biotechnology, Concepts and Principles*. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris, France. www.oecd.org/env/ehs/biotrack/41036698.pdf.

OECD (2002). *Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Maize (*Zea mays*)*. Key Food and Feed Nutrients, Anti-Nutrients and Secondary Plant Metabolites. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris, France. www.oecd.org/dataoecd/15/63/46815196.pdf

OECD (2010). *Consensus Document on Molecular Characterisation of Plants Derived from Modern Biotechnology*. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), Paris, France. www.oecd.org/dataoecd/16/29/46815346.pdf.

OTGR (2009). *Risk Analysis Framework*. Office of the Gene Technology Regulator (OGTR), Canberra, Australia. [http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/content/raf-3/\\$FILE/raffinal4.pdf](http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/content/raf-3/$FILE/raffinal4.pdf).

Parrott W, Chassy B, Ligon J, Meyer L, Petrick J, Zhou J, Herman R, Delaney B & Levine M (2010). Application of food and feed safety assessment principles to evaluate transgenic approaches to gene modulation in crops. *Food and Chemical Toxicology* 48: 1773-1790.

Petersen B (2008). Methods for estimating the intake of proteins in food. In: *Food Safety of Proteins in Agricultural Biotechnology*, BG Hammond (ed), CRC Press, Boca Raton, USA.

Raybould A (2006). Problem formulation and hypothesis testing for environmental risk assessments of genetically modified crops. *Environmental Biosafety Research* 5: 119-125.

Raybould A (2012). Can science justify regulatory decisions about the cultivation of transgenic crops? *Transgenic Research* 21(4): 691-698.

Reynolds TL, Nemeth MA, Glenn KC, Ridley WP & Astwood J (2005). Natural variability of metabolites in maize grain: Differences due to genetic background. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 10061-10067.

Ricroch A (2013). Assessment of GE food safety using ‘-omics’ techniques and long-term animal feeding studies. *New Biotechnology* 30(4): 349-354.

Schauzu M (2000). The concept of substantial equivalence in safety assessment of foods derived from genetically modified organisms. *AgBiotechNet* 2: 1-4.

WHO (2010). *GEMS Food Consumption Database*. World Health Organisation (WHO), Geneva, Switzerland. <http://www.who.int/foodsafety/chem/gems/en/index1.html>

Wolt JD, Keese P, Raybould A, Fitzpatrick JW, Burachik M, Gray A, Olin SS, Schiemann J, Sears M & Wu F (2010). Problem formulation in the environmental risk assessment for genetically modified plants. *Transgenic Research* 19: 425-436.