

DTU Fødevareinstituttets vurdering af nyt langtidsstudie med gensplejset majs NK603 og med sprøjtemidlet Roundup

DTU Fødevareinstituttet finder, at det nye studie ikke er designet korrekt, at der ikke gøres brug af den korrekte statistik, og til sidst at forfatterne ikke diskuterer deres data, som videnskabelig praksis foreskriver inden for toksikologi. DTU Fødevareinstituttet konkluderer, at artiklen er af ringe faglig kvalitet, og at den ikke burde have været publiceret i et peer-review tidsskrift.

Indledning

Det nye studie, der henvises til, fremgår af artiklen Séralini G, Clair E, Mesnage R, Gress S, Defarge N, Malatesta M, Hennequin D, Spiroux de Vendômois J 2012: Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize som er accepteret til publikation i tidsskriftet Food and Chemical Toxicology.

Artiklen beskriver resultater fra et toårs fodringsforsøg med rotter af typen Sprague-Dawley (SD). Formålet er at vise effekter på rotter efter fodring med forskellige koncentrationer af den gensplejsede NK603 majs samt effekter på rotter efter tilsætning af Roundup i drikkevand. NK603 majs er gensplejset til at kunne tåle glyfosat, der er det aktive stof i ukrudtsmidlet Roundup. I forsøget indgår både NK603 majs, der har været sprøjtet med Roundup og NK603 majs, der ikke er sprøjtet med Roundup. Majsen NK603 er godkendt til konsum i EU samt en lang række andre lande.

I alt er anvendt 200 SD rotter til studiet, 100 af hvert køn, med opdeling i hold hver med 10 rotter. For hvert køn blev 3 hold fodret med NK603 majs i koncentrationer på hhv. 11, 22 og 33 % i foderet. En anden gruppe med 3 hold fik tre forskellige koncentrationer af Roundup i drikkevandet. Den tredje gruppe fik 3 forskellige koncentrationer (11, 22 og 33 %) af den gensplejsede NK603 majs der var sprøjtet med Roundup. Det sidste hold var kontrollen, hvor hverken GMO majs eller Roundup indgik i foderet.

Artiklen forsøger at vise, at flere rotter døde i de hold, der fik NK603 majs eller Roundup i drikkevand end i kontrolhold. Artiklens forsøger også at vise, at der var en højere forekomst af kræftknuder, og at rotterne døde tidligere i de hold, der var fodret med NK603 majs eller fodret med Roundup i drikkevandet, end kontrolholdet der blev fodret med traditionel majs, og som ikke fik Roundup i drikkevand.

DTU Fødevareinstituttet har som en af sine opgaver at foretage risikovurderinger og kommunikere resultater, også på området gensplejsede fødevarer. Det er vores vurdering, at artiklen ikke lever op til sædvanlig videnskabelig standard på dette område og således har givet anledning til at skabe unødigt bekymring omkring effekter af gensplejset majs og sprøjtemidlet Roundup. Vi har derfor ment, at det vigtigt at fjerne misforståelser ved at påpege, at artiklen har metodiske fejl, der giver fejlagtige konklusioner.

DTU Fødevareinstituttets vurdering

DTU Fødevareinstituttet har grundigt gennemlæst artiklen og fundet en lang række problemstillinger, der gør det umuligt at drage konklusioner om effekter af hverken den gensplejsede majs eller Roundup. De data der præsenteres i artiklen giver således ikke grundlag for at ændre på tidligere vurderinger af hverken den gensplejsede majs NK603 eller det aktive stof glyfosat, der indgår i sprøjtemidlet Roundup.

De vigtigste indvendinger imod artiklen baserer sig på, at der anvendes for få dyr i hvert hold til at vise effekter, og at forsøget ikke lever op til de internationale accepterede retningslinjer for udførelse af langtidsforsøg. Der mangler basal statistik på dyreforsøget, og de statistiske metoder, som er blevet anvendt til dokumentation af de observerede biokemiske effekter, er ikke udført i overensstemmelse med de gældende OECD retningslinjer for statistisk afrapportering.

Forfatterne konkluderer, at der er en højere dødelighed og flere af tumorer i de behandlede dyr, men dødeligheden samt antal og typer af tumorer ligger i alle testhold indenfor den variation man ser i kontrolhold fra andre undersøgelser med Sprague-Dawley rotter.

De vurderinger om effekter af NK603 majs og Roundup, som forfatterne fremkommer med, er ikke i overensstemmelse med andre studier, hvor NK603 majs eller Roundup er undersøgt.

DTU Fødevareinstituttet finder det etisk uforsvarligt at lade dyrene gå så længe med tumorer uden at det bidrager til opnåelse af vigtige data.

DTU Fødevareinstituttet finder, at artiklen er af ringe faglig kvalitet, og at den ikke burde kunne publiceres i et peer-review tidsskrift.

Begrundelsen for denne vurdering er baseret på en række forhold i forsøgsdesign og i fortolkningen af resultater, som fremgår af artiklen og er nærmere beskrevet nedenfor.

Forsøgsdesign

- Der anvendes ikke en forsøgsprotokol, der opfylder OECD's standard for denne type dyreforsøg. Blandt andet er antallet af dyr på 10 i hver gruppe langt under det anbefalede. Det betyder, at resultaterne ikke kan tillægges større vægt da mindre forskelle vil blive skjult i de store tilfældige udsving.
- Normalt anvendes som udgangspunkt i sådanne forsøg, det samme antal dyr i kontrol- og testhold. Samme kontrolhold kan i visse tilfælde anvendes til flere testhold. I dette forsøg anvendes 10 dyr pr. hold, og kun et af holdene for hvert køn er kontrolhold, der bruges til sammenligning med alle ni andre testhold. Som udgangspunkt er dette alt for få dyr i hvert hold i et langtidsstudie som dette. Dels forventes det, at der med 10 dyr pr. hold i slutningen af forsøget er for få dyr tilbage til at lave statistik på, og dels kan kontrolgruppen let afvige meget af tilfældige årsager, uden at dette kan be- eller afkræftes. I det sidste tilfælde kan et unormalt kontrolhold fremkalde falske indikationer på, at alle testhold afviger fra det normale. Flere kontroldyr, sammenholdt med en fornuftig statistisk analyse, kunne være anvendt til at mindske usikkerheden omkring vurderingen af om kontrolholdet repræsenterer det "normale", og om de fund som blev rapporteret for testholdene kan

relateres til behandling. Udvælgelsen af rottestammen Sprague-Dawley (SD) er ikke velvalgt, fordi stammen er kendt for hyppigt at få spontane tumorer (prevalence ca 45 %) og har en relativ høj dødelighed (i 2 års forsøg vil mindre end 50 % i gennemsnit være i live¹). Valget af rottestamme mangler begrundelse i artiklen.

- Ud fra en etisk synsvinkel er studiet problematisk på flere områder. Antallet af dyr er så lavt, at eventuelle effekter ikke kan afsløres ved statistisk analyse af data. Forfatterne refererer selv til en artikel¹, der beskriver overlevelseshaster for SD rotter under langtidsforsøg, og er derfor vidende om problemet allerede inden de starter forsøget. Et andet aspekt er, at de lader tumorer vokse sig meget store, før dyrene aflives. Der mangler en faglig begrundelse for ikke at aflive dyrene med tumorer på et tidligere tidspunkt. Vi finder det etisk uforsvarligt at lade dyrene gå så længe med tumorer, hvis det ikke bidrager til, at der opnås vigtige data. De retningslinier DTU Fødevareinstituttet anvender ved dyreforsøg sikrer, at tumorerne ikke påvirker dyrets tilstand. Vores kriterier er, at den enkelte tumors vægt ikke overstiger 4 g svarende til en diameter på 20 mm, og at den samlede tumormasse ikke overstiger 10 % af rottens normalvægt. Disse kriterier er i overensstemmelse med Dyreforsøgstilsynets retningslinier for tilladelse til at udføre sådanne dyreforsøg.

Det fremgår ikke klart af artiklen hvor tæt, genetisk, kontrol-majsen er beslægtet med den gensplejede majs NK603. Der er heller ikke data om svampetoksin (mykotoksin) indhold eller andre dyrkningsmæssige forhold der kan have betydning for forsøget. Mykotoksiner kan være leverskadende, nyreskadende eller kræftfremkaldende og derfor burde forfatterne have foretaget disse målinger. Det er ikke oplyst, om alle dyrehold fodres med samme koncentration af majs (om der kompenseres med traditionel majs i foderblandinger hvor der f.eks. gives 11 % GM majs).

- Der er ingen data for dyrenes indtagelse af foder eller væske. Det er væsentlige parametre for at vurdere dyrenes tilstand, fx kan det tænkes at rotter undlader at drikke eller drikker mindre alene, fordi drikkevand med Roundup smagsmæssigt afholder dem fra at drikke efter behov.

Resultater og konklusioner

- I studiet er der en forsøgsserie, hvor SD rotter får forskellige koncentrationer af Roundup i drikkevandet. Den aktive ingrediens i Roundup er glyfosat. Glyfosat er undersøgt i mange langtidsforsøg i både rotter og mus. Ingen af disse studier viser tegn på, at glyfosat har potentiale til at være carcinogent, eller at dyrene har øget dødelighed eller har givet anledning til hormonale effekter. Ud over glyfosat indeholder sprøjtemidlet Roundup forskellige co-formulanter, fx overfladeaktive stoffer, men det fremgår ikke af artiklen hvilke stoffer der er tale om. Designet af studiet er så mangelfuldt, at det ikke kan udledes om indgivelse af Roundup i drikkevand har effekt på rotterne i langtidsforsøg. Derfor er de konklusioner som forfatterne drager på dette materiale ikke valide.

¹ Brix, A.E., Nyska, A., Haseman, J.K., Sells, D.M., Jokinen, M.P., Walker, N.J., 2005. Incidences of selected lesions in control female Harlan Sprague-Dawley rats from two-year studies performed by the National Toxicology Program. Toxicol. Pathol. 33, 477–483.

- De eneste resultater som forfatterne fremlægger af deres sammenlignende studier af indholdsstoffer i NK603 majs og kontrol majs er, at ferulinsyre og kaffesyre koncentrationerne er væsentlig lavere i NK603 majs – det gælder både Roundup behandlet og ikke-Roundup behandlet majs. Forfatterne argumenterer for, at disse syrer har en beskyttende effekt på dyrene, og at NK603 majs derfor mangler den beskyttende effekt, hvilket kan forklare visse negative effekter på nyrerne i dyr fodret med NK603. Disse forskelle er ikke set i tidligere undersøgelser, hvor den gensplejsede majs NK603 er undersøgt, hvilket forfatterne undlader at nævne.
Det kan derfor udledes, at det ikke er det nye protein, CP4-EPSPS, som findes i NK603, eller andet relateret til gensplejsningen i NK603, der er årsag til de lavere mængder af ferulinsyre og kaffesyre i forsøget. Eventuelle negative effekter på nyrerne som følge af det lave indhold af ferulinsyre og kaffesyre er derfor ikke relateret til den gensplejsede majs, men til alle sorter af majs med lavt indhold af disse syrer.
- Der er ingen dosis-respons relationer for parametre rapporteret i studiet. Der vil normalt forventes en vis dosis-respons relation, så de dyr der er fodret med de største mængder af et teststof udviser de største effekter. I dette studie ses denne relation ikke. Forfatterne henviser til, at dette ikke er tilfældet for alle stoffer, men er afhængigt af stoffets effekt på dyrene.
DTU Fødevareinstituttet er bekendt med disse forhold, men finder ikke, at fortolkningen af de opnåede resultater, herunder at det kan skyldes hormonale effekter, er underbyggede.
- Der drages konklusioner ud fra forskelle baseret på få dyr som forfatterne mener, kan tillægges betydning. Her mangler en neutral statistisk analyse af data bl.a. for dødelighed og antal tumorer til sammenligning mellem de forskellige hold.
- De data om dødelighed og forekomst af tumorer som forsøget leverer, falder indenfor de historiske data for SD rottestammen², fx er overlevelsesraten: 17-62,9 % i hanner og 20-62 % i hunner. Forfattere oplyser ikke hyppigheden af dyr med maligne og godartede tumorer i mammavævet separat. De tumorer de finder i vævet i mælkekirtler hos hunrotter (fibroadenoma og adenocarcinoma) er kendt at forekomme hyppigt hos aldrende hunrotter og at udvise stærkt varierende forekomst mellem undersøgelserne³.
- Der mangler en afbalanceret videnskabelig diskussion. Generelt undlader forfatterne at henvise til relevant og vigtig litteratur på området og sammenholde deres resultater med tilsvarende publicerede undersøgelser. I artiklen argumenteres for, at hanrotter hovedsagligt døde pga. en væsentlig nedsat funktion af lever og nyrer. Men disse ændringer er en del af patologien af den aldrende rotte dvs. dette er ganske normalt. Derfor skal deres relation til behandling evalueres med stor forsigtighed og en potentiel relation til behandling bør kun fremsættes, hvis forekomsten i de behandlede grupper er statistisk signifikant højere end i kontrollerne, og der er en tydelig relation mellem dosis og respons. Artiklen indeholder ingen data der kan dokumentere udsagnet, herunder data fra mikroskopiske undersøgelser af lever og nyrer, leverfunktions målinger, urinalyser og cytochrom aktivitet. Til støtte for deres argumenter henviser forfatterne til deres tidligere

² Compilation of Spontaneous Neoplastic Lesions and Survival in Crl:CD[®] (SD) Rats from Control Groups. Charles River Laboratories March 2004.

³ Greaves P, 2000: Mammary Gland and Haematopoietic and Lymphatic Systems In: Histopathology of Preclinical Toxicity Studies. Interpretation and Relevance in Drug Safety Evaluation. 2nd edition, pp 55-125, Elsevier Science.

publikation ⁴. Denne tidligere publikation, der er en statistisk reanalyse af eksisterende data, er imidlertid tidligere blevet alvorligt kritiseret af både eksperter og myndigheder for at være uden plausible videnskabelige forklaringer.

⁴ Spiroux et al. Int. J. Biol. Sci. 5:706-726, 2009