

## INFORME GAHSHA

### **Solicitud de liberación para producción y uso comercial para consumo directo o procesamiento**

**SOLICITANTE:** DAS Agro Uruguay S.A.

**Nombre:** Soja DAS-44406-6XDAS-81419-2

### **EVALUACIÓN DE LA INOCUIDAD ALIMENTARIA**

De acuerdo a lo convenido en el año 2019, para los eventos que cuenten con aprobación en la Unión Europea no se considera necesario un estudio completo del dossier por parte de este grupo AdHoc, sino que se realiza una revisión del informe EFSA. El grupo comenzó a evaluar este evento cuando el mismo no contaba con la aprobación, pero dicha aprobación ocurrió mientras el grupo realizaba el análisis del dossier. Por este motivo en el presente informe algunas partes fueron analizadas como corresponde a un análisis completo del dossier, mientras en otras el grupo se limitó a la revisión del informe EFSA del evento en cuestión (2020) que figura en la bibliografía citada al final de este informe.

La revisión del informe EFSA (2020) y el análisis del dossier fueron realizados por Evaluadores del MGAP e IP.

#### **C2.1 Composición nutricional**

Para la evaluación de este punto, se consideró el informe de EFSA (2020). Se realizó el análisis de todos los parámetros requeridos por OECD, tanto para semilla como para forraje. Se consideraron siete localidades de Estados Unidos, las cuales contemplaron diversas condiciones de clima y suelo aptos para el cultivo de soja. El estudio contempló el evento DAS-44406-6XDAS-81419-2 (con y sin tratamiento de herbicidas), su contraparte convencional y una serie de variedades comerciales.

Tanto en semilla como en forraje proveniente de cultivos tratados y no tratados, no se encontraron diferencias significativas entre el evento DAS-44406-6XDAS-81419-2 (con y sin tratamiento de herbicidas) y su contraparte convencional. Sin embargo, se identificaron algunas diferencias significativas que caen dentro del rango de no equivalencia las cuales se detallan a continuación. En semilla, dicha diferencia fue registrada para los niveles de fibra detergente ácida, fosfatidilinositol, ácido glutámico y lecitina mientras que en forraje se obtuvo diferencia significativa para fibra detergente ácida, fibra detergente neutra, fibra cruda y fósforo.

En lo que respecta a la diferencia en los niveles de antinutrientes, su nivel se ve disminuido a niveles seguros frente a los tratamientos previos que debe ser sometida la soja previo al consumo, tanto humano como animal. Por lo que las diferencias registradas en los niveles de lecitina no tienen impacto nutricional. En lo que respecta a la alimentación humana, evaluando las magnitudes de las diferencias encontradas y el tipo de nutriente que se considera, se concluye que dichas diferencias no resultan ser relevantes. Considerando la alimentación animal, evaluando las magnitudes de las diferencias encontradas, y que las dietas animales son suplementadas con otros alimentos, se concluye que no resultan ser relevantes.

#### **C2.2 Alergenicidad**

En este punto se realiza una revisión del informe EFSA (2020). El mismo expresa que todas las nuevas proteínas expresadas en el evento han sido estudiadas previamente. En ningún caso se encontró evidencia de alergenidad al realizar las evaluaciones iniciales, ni tampoco se encontró al 2020 nueva información al respecto que pudiera generar preocupación acerca de su alergenidad (EFSA, 2020). También se menciona

que no se identifican preocupaciones como consecuencia de las interacciones en este evento apilado (EFSA, 2020).

En lo que respecta a la adyuvancia, el informe se centra en las proteínas Cry. Aplica lo mismo que para alergenicidad, con la consideración adicional de que el nivel de expresión de las proteínas individuales ya estudiadas es similar al del evento apilado (EFSA, 2020). Al no haber indicaciones que a estos niveles estas proteínas pudieran actuar como adyuvantes, se considera que no hay razones que indiquen que la adyuvancia pudiera ser una preocupación (EFSA, 2020).

En el informe EFSA (2020), por ser la soja un alimento comúnmente alergénico, también se evalúa el posible cambio de alergenicidad endógena de la soja. Se consideraron pertinentes y suficientes los estudios presentados por la empresa aplicante y el razonamiento que fundamenta la elección de los alérgenos que consideraron para los estudios (EFSA, 2020). Se revisó la alergenicidad de las lectinas de soja, dado que se identificó un aumento en el contenido de lectina en relación a la soja convencional, y que se ha sugerido que tienen un potencial alergénico (EFSA, 2020). Sin embargo, se concluyó que la evidencia clínica que indica potencial alergenicidad es muy reducida, y considerando el aumento en el contenido de esta proteína en las evaluaciones de los eventos individuales (EFSA GMO Panel, 2016; EFSA GMO Panel, 2017), se consideró que no representa un motivo de preocupación.

## **C2.3 Toxicidad**

En este punto se realiza una evaluación completa del evento.

### **C2.3.1 Historia toxicológica de las especies donantes y receptoras**

De acuerdo a los datos aportados, se describe que no se identifican toxinas conocidas naturalmente presentes en las especies donantes de los genes principales que codifican las cinco proteínas expresadas en la soja DAS-44406-6XDAS-81419-2 (*Bacillus thuringiensis*, *Delftia acidovorans*, *Streptomyces viridochromogenes*, y *Zea mays*), ni en la especie receptora (*Glycine max*).

#### **C2.3.2.1 Historia de las nuevas proteínas expresadas que puedan aportar a la evaluación de su toxicidad**

En el informe se detalla que excepto la proteína AAD-12, todas las proteínas expresadas poseen una larga historia de uso seguro en varios cultivos. La proteína Cry1Ac es idéntica a aquella expresada en el evento de algodón DAS-21023-5, evento aprobado para su consumo en varios países, y la proteína Cry1F es idéntica a la expresada en el evento de algodón DAS-24236-5 aprobado en varios países y el evento en soja MON87701 aprobado en nuestro país. Por otro lado, la proteína PAT posee una larga historia de uso en eventos transgénicos ya que se encuentra presente, entre otros, en los eventos en maíz TC1507 y DAS59122-7, y el organismo donante del gen *pat*, *Streptomyces viridochromogenes*, carece de antecedentes de efectos perjudiciales en individuos expuestos. La proteína 2mEPSPS es similar tanto en estructura como función a la EPSPS, con largo historial de consumo seguro. La proteína 2mEPSPS posee historia de uso seguro en otros eventos transgénicos ya que se encuentra presente en los eventos en maíz GA21 y GlyTol™.

Por otro lado, la nueva proteína expresada AAD-12 es producida naturalmente por una bacteria gram-negativa presente en el suelo y el agua, y es utilizada en la industria alimenticia para la transformación de ácido felúrico en vainillina y otros metabolitos relacionados, sin antecedentes de potencial tóxico.

#### **C2.3.2.2 Similitud de nuevas proteínas expresadas con sustancias tóxicas conocidas (análisis bioinformáticos).**

Para evaluar este punto, se utilizó el software BLASTp a mayo 2013 realizando la búsqueda de similitud de secuencias frente al conjunto de proteínas no-redundantes.

Con respecto a las proteínas Cry1Ac, Cry1F, PAT, AAD-12 y 2mEPSPS, la empresa no reporta datos de homología significativa con toxinas conocidas para humanos y animales.

#### **C2.3.2.3 Evaluación de toxicidad aguda de las nuevas proteínas expresadas (en modelos animales o por métodos alternativos).**

La toxicidad oral aguda de las proteínas PAT FL (6000 mg/kg) y de la Cry1F (2000 mg/kg) fueron evaluadas en ratones CD1 siguiendo guías internacionales. Los animales fueron administrados con las proteínas por vía oral y se realizó un seguimiento del peso y signos clínicos durante 14 días. Al día 14, los mismos fueron necropsiados para evaluar posible toxicidad de los compuestos. No se encontraron signos clínicos de toxicidad durante el ensayo ni a la necropsia. Se concluyó que ninguna de las proteínas tenía efectos tóxicos, con una DL50 mayor a 6000 o 2000 mg/kg respectivamente.

Para las proteínas Cry1Ac (5000 mg/kg), AAD-12 (2000 mg/kg) y 2mEPSPS (5000 mg/kg) se realizó un ensayo similar. Los parámetros evaluados durante el período de dos semanas de observación incluyeron peso corporal y observaciones clínicas detalladas. Se examinó cualquier alteración patológica en cada uno de los animales. Todos los animales sobrevivieron y no se observaron síntomas clínicos durante el estudio. Al momento de la finalización del estudio todos los animales habían ganado peso. Tampoco se observaron efectos patológicos relacionados con el tratamiento. El estudio permitió concluir que la DL50 fue mayor a 5000, 2000 o 5000 mg/kg respectivamente.

#### **C2.3.2.4 Evaluación de toxicidad subcrónica o crónica de las nuevas proteínas expresadas. Si no corresponde, justificar por qué.**

Este ensayo no fue realizado ya que los ensayos de toxicidad oral aguda para las proteínas Cry1Ac, Cry1F, PAT, AAD-12 y 2mEPSPS no proporcionaron indicios de efectos tóxicos. A su vez, los organismos donantes tienen historia de uso seguro y las proteínas expresadas no presentaron homología significativa con toxinas conocidas.

#### **C2.3.2.5 Ensayos de carácter carcinogénico y teratológico a corto y mediano plazo. Si no corresponde, justificar por qué.**

Al igual que el punto anterior, este ensayo no fue realizado ya que los ensayos de toxicidad oral aguda no proporcionaron indicios de efectos tóxicos de las nuevas proteínas expresadas.

#### **C2.3.3 En el caso que existan cambios biológicos relevantes en la composición del OVGM (en relación a su homólogo convencional o comparador adecuado), diferentes a las nuevas proteínas expresadas, realizar la evaluación toxicológica de los nuevos componentes. Si no corresponde, justificar por qué.**

No se evidencian cambios biológicos relevantes en la composición del OGVM, por lo cual no se realiza evaluación toxicológica de los nuevos componentes.

#### **C2.3.4 Evaluación toxicológica del alimento completo.**

La empresa presenta un estudio de alimentación en pollos parrilleros, donde muestran datos objetivos y concluyen que la alimentación con soja (harina) conteniendo DAS-44406-6XDAS-81419-2, es tan inocua desde el punto de vista toxicológico como la alimentación con soja (harina) convencional.

Además, en el informe EFSA (EFSA GMO Panel, 2020) se informa que la empresa realizó un estudio de 90 días, donde se evaluaron grupos de ratas que recibieron dietas que contenían soja DAS-81419-2 o DAS-44406-6 y se compararon con un grupo control (Test OECD 408). Un total de 256 ratas CrI: CD (SD) (128 por sexo) se dividieron en ocho grupos de tratamiento (un grupo control, una dosis baja y una alta de DAS-81419-2, una dosis baja y una dosis alta de DAS-44406-6 y tres grupos de referencia, n = 16 / sexo por grupo). Los grupos de prueba recibieron dietas que contenían aproximadamente 15% (p / p) de harina tostada desgrasada, 1% de cáscara y 1,35% de aceite (dosis baja) y 30%, 2% de cáscara y 2,7% de aceite (dosis alta) de DAS-81419-2 o DAS-44406-6, respectivamente. El DAS-44406-6 se roció con los herbicidas previstos. DAS-81419-2 no se trató con glufosinato (el gen pat se usa solo como marcador seleccionable). El material de control (Maverick) es apropiado. La identidad de los materiales de prueba DAS-81419-2 y DAS 44406-6 (comidas) fue confirmada por PCR. Se prepararon dietas balanceadas de acuerdo con las especificaciones de la dieta de laboratorio para roedores certificada por PMI # 5002, pero no se analizaron para detectar la presencia de los eventos respectivos. Se analizaron los elementos de prueba, los materiales de control y de referencia, así como las dietas de prueba, control y referencia en busca de proximales, aminoácidos, minerales, micotoxinas, pesticidas y antinutrientes.

El análisis estadístico se realizó por separado para DAS-81419-2 y DAS-44406-6. Para cada uno de los dos eventos, las ratas que consumieron las dietas de prueba de dosis baja y alta se compararon con las que consumieron la dieta de control. Para los parámetros continuos, se aplicó un modelo lineal mixto a los datos de animales individuales para los dos sexos combinados (efectos fijos: dieta, sexo e interacción sexo por dieta; efectos aleatorios: bloque dentro del sexo y jaula). Las comparaciones de prueba y control se realizaron entre sexos y por separado para machos y hembras; en caso de que se identificara una interacción significativa entre el sexo y la dieta, solo se consideraron para la evaluación los resultados específicos del sexo. Los datos de los tres grupos de referencia se incluyeron en el análisis y se utilizaron para calcular los rangos de variabilidad de los parámetros.

No se reportaron incidentes de mortalidad o signos clínicos relacionados con la dieta. No se identificaron hallazgos adversos relacionados con la dieta de prueba en ninguno de los parámetros investigados. Se observó una pequeña cantidad de hallazgos estadísticamente significativos, pero estos no se consideraron efectos adversos del tratamiento por una o más de las siguientes razones:

- estuvieron presentes en la dosis baja pero no en los grupos de dosis alta;
- estuvieron dentro de la variación normal para el parámetro en ratas de esta edad;
- fueron de pequeña magnitud;
- se identificaron solo en un pequeño número de intervalos de tiempo sin impacto en el valor general;
- no exhibió un patrón consistente con los parámetros relacionados o puntos finales.

No se observaron hallazgos patológicos graves relacionados con la administración de las dietas de prueba en la necropsia en ratas que recibieron dietas que contenían soja DAS-81419-2, y los exámenes

microscópicos de órganos y tejidos seleccionados no identificaron diferencias relevantes en la incidencia y gravedad de la enfermedad histopatológica.

Con respecto a los grupos que recibieron dietas que contenían materiales de prueba de soja DAS-44406-6, en el examen post mortem, se informaron hallazgos macroscópicos y / o histopatológicos en los testículos y epidídimos de cuatro ratas del grupo de dosis alta. Se identificó una rata de dosis alta con testículos de muy bajo peso, como se esperaba, en el examen macroscópico con testículos de tamaño reducido. Se encontró que otra rata de dosis alta tenía un testículo flácido. La degeneración de los túbulos seminíferos se informó en los testículos de tres ratas de dosis alta y una rata control en el examen histopatológico. Se encontraron elementos espermáticos disminuidos y / o degenerativos en los epidídimos de cuatro ratas de dosis alta en comparación con ninguno en los controles. No se informaron efectos sobre la patología de las vesículas seminales y la inflamación de la próstata fue más prevalente en los controles (8/16) que en el grupo de dosis alta (6/16). Los hallazgos en los testículos y epidídimos no mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos, ocurren espontáneamente en ratas de esta cepa y edad y no hubo aumentos en las lesiones en otras partes del sistema reproductor masculino, por lo que se considera que no son un efecto adverso del tratamiento. No se observaron otros hallazgos macroscópicos relacionados con la administración de la dieta de prueba en la necropsia. Los exámenes microscópicos de órganos y tejidos seleccionados (dosis altas y dietas control) no identificaron diferencias relevantes en la incidencia y gravedad de los hallazgos histopatológicos relacionados con la administración de la dieta de prueba.

La EFSA concluye que no se observaron efectos adversos relacionados con el tratamiento en ratas después de alimentarlas con dietas que incluían soja DAS-81419-2 o soja DAS-44406-6 (hasta 30% de harina tostada desgrasada, 2% de cáscara y 2,7% de aceite) durante 90 días.

## **Conclusiones**

De acuerdo a los datos aportados por la empresa y considerando el informe EFSA (EFSA GMO Panel, 2020), se considera que la soja DAS-44406-6XDAS-81419-2 es tan inocua desde el punto de vista toxicológico como su contraparte convencional y las variedades de referencia de soja no modificadas genéticamente probadas, con respecto a los efectos potenciales sobre la salud humana y animal.

## **CONCLUSIONES**

Respecto a la solicitud de liberación para producción y uso comercial para consumo directo o procesamiento para la Soja DAS-44406-6XDAS-81419-2, en base a la revisión del informe EFSA (2020), no se identifican posibles efectos adversos a la salud humana y animal del evento en ninguna de las características estudiadas y en el contexto de la aplicación planteada.

## **BIBLIOGRAFÍA**

EFSA Panel on Genetically Modified Organisms (GMO), 2020. Scientific Opinion on application EFSA-GMO-NL-2016-132 for authorisation of genetically modified of insect-resistant and herbicide-tolerant soybean DAS-81419-2 9 DAS-44406-6 for food and feed uses, import and processing submitted in accordance with Regulation (EC) No 1829/2003 by Dow Agrosiences LCC. EFSA Journal 2020;18(11):6302, 37 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6302>

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2017. Scientific opinion on an application by Dow AgroSciences LLC (EFSAGMO-NL-2012-106) for the placing on the market of genetically modified herbicide-tolerant soybean DAS-44406-6 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003. EFSA Journal 2017;15(3):4738, 33 pp. doi:10.2903/j.efsa.2017.4738

EFSA GMO Panel (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms), 2016. Scientific Opinion on an application by Dow AgroSciences (EFSA-GMO-NL-2013-116) for placing on the market of genetically modified insect-resistant soybean DAS-81419-2 for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003. EFSA Journal 2016;14(12):4642, 23 pp. doi:10.2903/j.efsa.2016.4642