



Vitenskapskomiteen for mattrygghet
Norwegian Scientific Committee for Food Safety

Vurdering av publikasjonen:

“Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize”

(Séralini et al. (2012), Food Chem Toxicol 50*)

Uttalelse fra Faggruppen for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet

Dato: 20.12.2012

Dok. nr.: 12-314-endelig

ISBN: 978-82- 8259-073-0

VKM Report 2012: 32

Bidragsytere

Den som utfører arbeid for VKM, enten som oppnevnte medlemmer eller på ad hoc-basis, gjør dette i kraft av sin egen vitenskapelige kompetanse og ikke som representanter for den institusjon han/hun arbeider ved. Forvaltningslovens habilitetsregler gjelder for alt arbeid i VKM-regi.

Medlemmene av ad hoc-gruppen

Professor Audun H. Nerland, Gades institutt, Universitetet i Bergen og leder for VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer (GMO).

Forsker Åshild Andreassen, Nasjonalt Folkehelseinstitutt og VKMs faggruppe for GMO.

Førsteamanuensis Anne Marie Bakke, Norges veterinærhøgskole.

Forsker Aksel Bernhoft, Veterinærinstituttet og leder av VKMs faggruppe for fôr.

Forsker Edgar Rivedal, Radiumhospitalet og VKMs faggruppe for plantevernmidler.

Forsker Torfinn Torp, Bioforsk.

Takk til

Ad hoc-grupped medlemmene takkes for sine viktige bidrag til vurderingen av studien.

Vurdert av

Rapporten fra ad hoc-gruppen er vurdert og godkjent av Faggruppen for genmodifiserte organismer.

Faggruppen for genmodifiserte organismer

Audun H. Nerland (leder), Åshild Andreassen, Per Brandtzæg, Hilde-Gunn Hoen-Sorteberg, Askild Holck, Olavi Junttila, Heidi Sjursen Konestabo, Richard Meadow, Kåre M. Nielsen, Rose Vikse

Koordinator(er) fra sekretariatet

Arne Mikalsen

Ville Erling Sipinen

Sammendrag

Den 19. september 2012 ble det publisert en artikkel i det tyske tidsskriftet «Food and Chemical Toxicology» som vakte oppmerksomhet i store deler av verden. Artikkelen bygger på en toårig fôringsstudie med rotter og konkluderer med en antatt økt hyppighet for ulike svulstdannelser og nyrelidelser blant dyrene knyttet til den genmodifiserte maisen NK603 og plantevernmidlet Roundup som inneholder glyfosat.

Grunnet den store oppmerksomheten ga Mattilsynet i et brev datert 19.10.2012 (ref. 2012/225329) VKM i oppdrag å vurdere den aktuelle publikasjonen fra Séralini et al. «Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize», og å gi svar på følgende spørsmål:

Gir den aktuelle publikasjonen av Séralini et al. grunnlag for å revurdere konklusjonen i VKMs tidligere helserisikovurdering av NK603?

VKM opprettet i november en tverrfaglig ad hoc-gruppe for å utarbeide dette dokumentet som svar til Mattilsynet. Rapporten fra ad hoc-gruppen ble vurdert og godkjent av Faggruppen for genmodifiserte organismer på deres faggruppemøte 7.12.2012.

VKM konkluderer med at studien til den franske forskeren Gilles-Eric Séralini og medarbeidere har alvorlige statistiske mangler, mangler i design, metodikk og analyse. Den tilfredsstillende derfor ikke godkjente vitenskapelige standarder. VKM mener det ikke er behov for å revurdere sin tidligere risikovurdering av den genmodifiserte maisen NK603 på bakgrunn av Séralini og medarbeidernes studier.

Nøkkelord

Séralini et al. 2012, NK603, mais, CP4 EPSPS, Glyfosat, Roundup

Innholdsfortegnelse

Vurdering av publikasjonen:	1
“Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize”	1
Sammendrag	3
Nøkkelord	3
Innholdsfortegnelse	4
Bakgrunn	5
Oppdrag fra Mattilsynet	6
Generelt om vurdering av GMO som mat og fôr	6
1 Presentasjon av Séralini-artikkelen og dens budskap	7
1.1 Hva selve artikkelen beskriver	7
2 Tilleggsinformasjon og kommentarer gitt under høring og/eller i tilsvaret fra Séralini et al. til ANSES angående mangler og uklarheter	13
2.1 Begrunnelse for å holde tilbake primærdata	13
2.2 Begrunnelse for hvorfor studien ikke følger OECDs retningslinjer	13
2.3 Begrunnelse for valg av antall dyr	13
2.4 Begrunnelse for å ikke bruke historiske kontrolldata (fra tilsvarende forsøk med samme rottetype)	13
2.5 Begrunnelse for valg av rottelinje	14
2.6 Tilleggsinformasjon om førsammensetning	14
2.7 Tilleggsinformasjon om bruken av sprøytemidler	14
2.8 Tilleggsinformasjon om objektivitet ved håndtering og prøvetaking av dyr, avliving etc.	14
2.9 Begrunnelse for utradisjonell statistikk	15
2.10 Begrunnelse for selektiv fremstilling av data med stor betydning tillagt dødelighet og svulstutvikling	15
3 VKMs kommentarer til artikkelen	15
3.1 Eksperimentelt design	15
3.2 Valg av rottelinje.....	16
3.3 Presentasjon av data	17
3.4 Valg av Roundup-konsentrasjoner i drikkevannet til forsøksdyrene	17
3.5 Innholdet av mais i det testede fôret kontra gjennomsnittlig inntak via kosthold for den voksne befolkningen	18
3.6 Statistikk	18
4 Konklusjon	21
Sluttkommentar	21
Referanser	22

Bakgrunn

Den genmodifiserte glyfosattolerante maislinjen NK603 ble første gang vurdert av VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer (FG3) i 2005. Med bakgrunn i data fra et 90 dagers fôringsforsøk med rotter hvor dyrene ble fôret med henholdsvis glyfosatbehandlet NK603, nær-isogen maislinje og konvensjonelle umodifiserte maissorter, konkluderte faggruppen at det ikke var grunn til å anta at NK603 skiller seg fra annen umodifisert mais med hensyn til helseeffekter. NK603 er også blitt vurdert senere i forbindelse med søknader om godkjenning av ulike maishybrider, der NK603 inngår som en av foreldrelinjene.

I innspill til Direktoratet for naturforvaltning (DN) om slutføring av saksbehandling for NK603 (C/ES/00/01) i 2006 støttet Mattilsynet VKMs konklusjon i at NK603 ikke innebærer endret helserisiko som mat og fôr i forhold til annen mais.

VKM fikk i 2010 i oppdrag av Mattilsynet å vurdere publikasjonen "A Comparison of the effects of three GM corn varieties on mammalian health, *Int. J. Biol. Sci.*, 2009;5:706-726". Publikasjonen er skrevet av de Vendômois, Roullier, Cellier & Sèralini.

En egen ad hoc-gruppe innen VKM vurderte publikasjonen og skrev rapporten: "Vurdering av ny publikasjon om mulige helseeffekter av genmodifisert glyfosattolerant maislinje NK603 og de insekts-resistente maislinjene MON810 og MON863", publisert og oversendt Mattilsynet 30. april 2010. VKMs hovedkomite vurderte rapporten og konkluderte med at den besvarte oppdraget fra Mattilsynet på en tilfredsstillende måte.

Maislinjen NK603 er godkjent i EU til bruk i næringsmidler og fôr og eventuelle andre bruksområder unntatt dyrking. NK603 er også søkt godkjent til dyrking.

Den 19. september 2012 ble det publisert en artikkel der det ble hevdet å være påvist at rotter gitt fôr basert på maislinje NK603 hadde høyere dødelighet og høyere hyppighet for svulstutvikling enn kontrollrotter (Sèralini et al., Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Food Chem. Toxicol.* <http://dxdoi.org/10.1016.j.fct.2012.08.00>– Pre-release version dated 19th September 2012)

Oppdrag fra Mattilsynet

Med denne bakgrunn ga Mattilsynet i et brev datert 19.10.2012 (ref. 2012/225329) VKM i oppdrag å vurdere den aktuelle publikasjonen fra Séralini et al., og spesielt å gi svar på følgende spørsmål:

Gir den aktuelle publikasjonen av Séralini et al. grunnlag for å revurdere konklusjonen i VKMs tidligere helserisikovurdering av NK603?

VKM opprettet i november en tverrfaglig ad hoc-gruppe for å utarbeide et dokument som svar til Mattilsynet. I den forbindelse ble det av VKMs sekretariat gitt følgende spesifisering og selvplagte utvidelse av oppdraget:

1. Ad hoc-gruppen skal med utgangspunkt i tilsendt publikasjon, avklare om endringer i organer og biologiske parametre som Séralini et al. mener å ha påvist, gir grunnlag for å hevde at fôring med maislinjen NK603 har påført forsøksdyrene helseskade. Ad hoc-gruppen skal grunngi sine vurderinger.
2. Avgrense utredningen til de organer og biologiske parametre, der Séralini et al. mener å ha påvist helseskade som følge av den aktuelle maislinjen med og uten Roundup.
3. Ad hoc-gruppen skal på grunnlag av den aktuelle publikasjonen uttale seg om konklusjonene i vurderingene av maislinjen NK603 utført av VKMs faggruppe for genmodifiserte organismer, kan ha blitt gjort på sviktende grunnlag.

Generelt om vurdering av GMO som mat og fôr

Bruken av genmodifiserte organismer i mat og fôr er et mye diskutert og for mange et følelsesladet tema. Det er derfor avgjørende at regulatoriske myndigheter baserer sine beslutninger angående hver enkelt GMO og dens avledete produkter på godt dokumenterte vitenskapelige risikovurderinger. I Norge har VKM siden opprettelse i 2004 utført uavhengige helserisikovurderinger og miljørisikovurderinger av GMOer på oppdrag for både Mattilsynet og Direktoratet for naturforvaltning. I tillegg tar VKM opp saker på eget initiativ ved behov. VKM forholder seg til enhver tid til gjeldende retningslinjer utarbeidet av EUs mattrygghets organ, EFSA, i sine risikovurderinger av hver enkelt GMO det søkes godkjenning for av industrien. VKM har tidligere vurdert EFSAs retningslinjer og funnet at disse er dekkende for Norges behov (Protokoll fra møte i faggruppe for GMO 02. 02. 2005: <http://www.vkm.no/dav/8460c0d209.pdf>).

EFSAs retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte organismer for bruk som mat og fôr er blitt revidert flere ganger. Faggruppen har vurdert EFSAs retningslinjer når de har blitt revidert. Siste innspill fra Faggruppen til EFSAs retningslinjer var i 2008. Siste versjon av EFSAs retningslinjer ble publisert i 2012.

EFSAs retningslinjer omhandler: molekylær karakterisering, som gir informasjon om struktur og uttrykk av innskuddsge(n)er med påfølgende tester som viser den genetiske stabiliteten

over flere generasjoner; toksikologisk vurdering som adresserer virkningen av biologisk relevant endring(er) i GM planter og/eller avledet mat og fôr som følge av genmodifisering; vurdering av potensiell allergenisitet, vurdering av nye protein(er) så vel som hel mat/fullfôr avledet fra den genmodifiserte planten; ernæringsmessig vurdering om mat og fôr avledet fra GM-planten er næringsmessig lik mat og fôr fra tilsvarende ikke-GM plante.

Når det gjelder mer direkte helsemessige vurderinger skal det beskrives hvorvidt de(n) genetiske forandring(en)e kan ha ført til utilsiktede effekter, basert på de foregående sammenligninger med henblikk på molekylæranalyse, innhold av ernæringsrelaterte komponenter eller fenotypisk analyse. Dersom slike endringer er påvist skal søker vurdere behovet for toksikologiske tester. Den toksikologiske vurderingen skal omfatte tilstedeværelsen og nivået av nye proteiner, potensialet for tilstedeværelsen av andre nye bestanddeler, og eventuelle effekter av andre endringer som følge av genmodifiseringen.

Mulige helsefarer for mennesker og dyr forbundet med inntak av mat og fôr som er avledet fra GM-planter bør vurderes med hensyn på uttrykk av nye proteiner og/eller metabolitter, samt om det er endrede nivåer av endogene planteproteiner og/eller metabolitter i mat og fôr. EFSA's retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter for bruk som mat og fôr krever pr. i dag ikke at det skal utføres korttids eller langtids dyrestudier, men at behovet for slike studier skal vurderes fra søknad til søknad.

1 Presentasjon av Séralini-artikkelen og dens budskap

Bakgrunnsmateriale for Ad hoc gruppens arbeid:

- Séralini artikkel: Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize (Food Chem. Toxicol. 2012; 50:4221-4231)
- Rapporten fra ANSES (French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety) fra 19. oktober 2012 (ref. EFSA 2012), der det framkommer en del tilleggsinformasjon fra Séralini-gruppen
- Artikkelen der Séralini *et al.* svarer på kritikk: Answers to critics: Why there is a long term toxicity due to NK603 Roundup-tolerant genetically modified maize and to a Roundup herbicide. Séralini *et al.* Food Chem Toxicol. 2012 Nov 9. doi:pii: S0278-6915(12)00814-9. 10.1016/j.fct.2012.11.007. [Epub ahead of print]
- Tidligere tester og publikasjoner (både fra industrien og forskningsinstitusjoner) relatert til planter som er modifisert når det gjelder genet som koder for EPSPS (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) som gir toleranse for glyfosat
- Publikasjoner omkring bruk og egenskaper til Sprague Dawley rotter

1.1 Hva selve artikkelen beskriver

Séralini *et al.* rapporterer i sin publikasjon "Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize" (Food Chem. Toxicol. 2012; 50:4221-4231),

resultater fra et to års fôringsforsøk med rotter. Det ble testet 11 %, 22 % og 33 % innblanding av den genmodifiserte maislinjen NK603 i fôret til Harlan albino Sprague Dawley rotter (SD-rotter). NK603 er modifisert ved at det er innsatt to kopier av det bakterielle *cp4-epsps* genet fra *Agrobacterium tumefaciens*, som uttrykker enzymet CP4-EPSPS. Dette enzymet gir økt toleranse mot virkestoffet glyfosat som normalt hemmer planters egne EPSPS-enzymmer, men ikke den bakterielle varianten. EPSPS inngår i metabolismen av aromatiske aminosyrer.

Fôret til kontrolldyrene var tilsatt 33 % nær-isogen ikke-GM mais. Under dyrking av all mais ble det benyttet konvensjonelle sprøytemidler i tillegg til herbicidet Roundup som inneholder glyfosat på utvalgte avlinger av NK603. Roundup ble også tilsatt i drikkevannet til noen av rottegruppene ved tre ulike innblandingsnivåer, henholdsvis $1,1 \cdot 10^{-8}$ % (0,1 ppb Roundup dvs. 50 ng glyfosat/L), 0,09 % Roundup (400 mg glyfosat/kg, tilsvarer USAs maksimum tillatte restmengde av glyfosat i fôr) og 0,5 % Roundup (2,25 g glyfosat/L, dvs. ca. 50 % av anbefalt minimumsfortynning av Roundup-løsning brukt under sprøyting). Hensikten var ifølge forfatterne blant annet å gjenspeile de normalt forekommende kontamineringsnivåene av Roundup som allerede finnes i ulike matprodukter på markedet i EU og i drikkevannskilder. Forsøket var satt opp med totalt 200 dyr, fordelt på 10 eksponeringsgrupper med 20 rotter i hver – 10 hanndyr og 10 hunndyr. Fôringsforsøket ble startet etter at dyrene var akklimatisert og var åtte uker gamle. De hadde fri tilgang til både mat og drikke under hele studien.

Séralini et al. hevder å ha funnet en økt dødelighet blant dyrene i de eksponerte gruppene i forhold til kontrolldyrene, et høyere antall hunnrotter med svulster i jur-kjertlene og i hypofysen, og en hyppigere forekomst av fokale leverendringer og nyresvulster hos hanner. Forfatterne hevder at funnene kan knyttes til både den genmodifiserte maisen og herbicidet Roundup. Mulige mekanismer foreslås å være hormonelle forstyrrelser i enkelte av gruppene som en direkte effekt av Roundup, og det vises blant annet til studier der Roundup påvirket funksjonen av enzymet aromatase som inngår i syntesen av østrogen, eller der Roundup påvirket cellenes østrogen og androgenreseptorer. For mais NK603 spekuleres det i at den kan inneholde ukjente komponenter som enten direkte eller indirekte fører til kronisk toksisitet, eller at det produserte CP4-EPSPS proteinet selv øker forekomsten av planteøstrogen i maisen som igjen fører til endokrine forstyrrelser hos dyrene. I de biokjemiske analysene ble det ifølge forfatterne funnet reduserte nivåer av ferul - og kaffesyre i NK603-mais i forhold til ikke-genmodifisert mais, hvilket nevnes som en mulig medvirkende årsak til økt kreftforekomst blant rottene foret med NK603. Forfatterne forklarer dette ved at ferul- og kaffesyre er rapportert å kunne virke beskyttende mot kreft, og at lavere nivåer av disse i fôret vil kunne redusere beskyttelsen.

Et sammendrag av studien er gjengitt i Tabell 1, dødsrater for de ulike behandlingene og prosentvis fordeling av døde og avlivede dyr i de ulike gruppene i Tabell 2, 3 og 4. Resultater av enkle statistiske beregninger foretatt av ad hoc-gruppen, er vist i tabellene.

Tabell 1. Sammendrag av utførelse av studien

Studieutførelse	
Forsøksparametre:	
Forsøksdyr, art (leverandør)	Sprague Dawley rotter (Harlan, Frankrike)
Varighet	To år
Antall dyr/gruppe/kjønn	10
Antall grupper	10
Kjønn	Begge
Totalt antall dyr	200
GM-plante	Mais NK603
Genmodifisering	To stk <i>CP4-epsps</i> gener
Genprodukt	CP4-EPSPS protein (glyfosat-toleranse)
Eksponering av de ulike gruppene i fôr eller drikkevann R = Roundup RA = Roundup dosering A RB = Roundup dosering B RC = Roundup dosering C	<ol style="list-style-type: none"> 1) 11 %, 22 %, 33 % NK603 maiskorn ikke behandlet med Roundup (% GMO) 2) 11 %, 22 %, 33 % NK603 maiskorn behandlet med Roundup Weather Max (3 L/ha) (% GMO + R) 3) 50 ng/L (RA), 400 mg/kg (RB), 2,25 g/L (RC) Roundup GT Plus i drikkevann.
kontrollgruppe	33 % nær-isogen ikke-GMO maislinje i fôret
Fôr-analyse / sammensetting i de ulike gruppene, balansering av diet	Næringsinnhold skal være balansert, men dette er ikke beskrevet i teksten. Ifølge uttalelser fra Séralinis gruppe under høring, skal mengde mykotoksiner i fôret være under gjeldende anbefalte grenseverdier
Alder på dyrene ved studiestart	8 uker
DATA innsamlet i studien:	Tilgjengelige resultater i artikkelen:
Transgen påvist i planten	Påvist med qPCR iflg tekst, data ikke oppgitt
Drikke og fôrings atferd, konsum	Ikke oppgitt
Vekst	Ikke oppgitt
Dødelighet	Ja, men uklart fremstilt
Vekt av dyr og organer	Ikke oppgitt
Patologiske data	Ja, men uklar fremstilling av antall og alvorlighetsgrad av observerte histopatologiske endringer
Frekvens av svulster	Ja, men uklart fremstilt
Debut-tid for svulstene	Ja
Biokjemiske parametre	Blod og urin (kun utvalgte resultater er oppgitt)
Steroidhormoner	Ja, i blod
Registrering av atferd, prøvetaking, palpering og klinisk oppfølging to ganger i uken. Loggføring av kliniske tegn	Nevnt i teksten, få kvantitative og kvalitative resultater er oppgitt
Oftalmologi/øyeundersøkelser	Nevnt i teksten
Statistisk databehandling	Observerte forskjeller mellom behandlingsgruppene når det gjelder dødelighet og forekomst av svulster beskrives og tolkes, men analyseres ikke statistisk. Diskriminantanalyse basert på metoden OPLS (Orthogonal Partial Least Squares) er utført for biokjemiske data. Ingen punkt- eller intervallestimering (konfidensintervaller) av dose/kjønn/Roundup GMO effekter er gjennomført.
Herbicide-nivåer	Målt med massespektrofotometer, resultater ikke oppgitt

Tabell 2. Antall døde og avlivede hannrotter etter 600 dager i de ulike behandlingsgruppene og kontroll. Statistiske beregninger vha. Fishers eksakte test for 2x2 – tabeller er foretatt av Ad hoc-gruppen.

Behandling	Hannrotter							Antall og prosentvis døde kontrolldyr vs. Sum døde i de ulike gruppene, med og uten avlivede dyr inkludert					
	Totalt ant. døde	P-verdi1	Hvorav avlivet	P-verdi2	Hvorav spontant døde	P-verdi3	Rotter totalt		Sum døde	Hvorav avlivet	Rotter totalt	% døde totalt	% spontane dødsfall
Kontroll	3		0		3		10	Kontroll	3	0	10	30	30
GMO 11 %	5	0,325	1	0,500	4	0,500	10	Sum GMO (11, 22, 33 %)	7	2	30	23,3	16,7
GMO 22 %	1	0,957	0	1,000	1	0,957	10						
GMO 33 %	1	0,957	1	0,500	0	1,000	10						
GMO 11 % + R	4	0,500	1	0,500	3	0,686	10	Sum GMO + R (11, 22, 33 %)	12	4	30	40,0	26,7
GMO 22 % + R	5	0,325	3	0,105	2	0,848	10						
GMO 33 % + R	3	0,686	0	1,000	3	0,686	10						
Roundup 1,1 x 10 ⁻⁸ % (RA)	3	0,686	1	0,500	2	0,848	10	Sum Roundup (RA, RB, RC)	8	3	30	26,7	16,7
Roundup 0,09 % (RB)	4	0,500	2	0,237	2	0,848	10						
Roundup 0,5 % (RC)	1	0,957	0	1,000	1	0,957	10						

Tabell 3. Antall døde og avlivede hunnrotter etter 600 dager i de ulike behandlingsgruppene og kontroll. Statistiske beregninger vha. Fishers eksakte test for 2x2 – tabeller er foretatt av Ad hoc-gruppen.

Behandling	Hunnrotter							Antall og prosentvis døde kontrolldyr vs. Sum døde i de ulike gruppene, med og uten avlivede dyr inkludert					
	Totalt ant. døde	P-verdi1	Hvorav avlivet	p-verdi2	Hvorav spontant døde	P-verdi3	Rotter totalt		Sum døde	Hvorav avlivet	Rotter totalt	% døde totalt	% spontane dødsfall
Kontroll	2		2		0		10	Kontroll	2	2	10	20	0
GMO 11 %	3	0,500	2	0,709	1	0,500	10	Sum GMO (11, 22, 33 %)	14	12	30	46,7	6,7
GMO 22 %	7	0,035	6	0,085	1	0,500	10						
GMO 33 %	4	0,314	4	0,314	0	1,000	10						
GMO 11 % + R	4	0,314	3	0,500	1	0,500	10	Sum GMO + R (11, 22, 33 %)	15	12	30	50	10
GMO 22 % + R	7	0,035	6	0,085	1	0,500	10						
GMO 33 % + R	4	0,314	3	0,500	1	0,500	10						
Roundup 1,1 x 10 ⁻⁸ % (RA)	5	0,175	5	0,175	0	1,000	10	Sum Roundup (RA, RB, RC)	14	14	30	46,7	0
Roundup 0,09 % (RB)	5	0,175	5	0,175	0	1,000	10						
Roundup 0,5 % (RC)	4	0,314	4	0,314	0	1,000	10						

Tabell 4. Antallet døde rotter av begge kjønn summert etter 600 dager i de ulike behandlingsgruppene og kontroll. Antallet avlivede dyr oppgitt og summert. Statistiske beregninger vha. Fishers eksakte test for 2x2 – tabeller er foretatt av Ad hoc-gruppen.

Behandling	Begge kjønn							Antall og prosentvis døde kontrolldyr vs. Sum døde i de ulike gruppene, med og uten avlivede dyr inkludert					
	Totalt ant. døde	P-verdi1	Hvorav avlivet	p-verdi2	Hvorav spontant døde	P-verdi3	Rotter totalt	Sum døde	Hvorav avlivet	Rotter totalt	% døde totalt	% spontane dødsfall	
Kontroll	5		2		3		20	Kontroll	5	2	20	25	15
GMO 11 %	8	0,250	3	0,500	5	0,347	20	Sum GMO (11, 22, 33 %)	21	14	60	35	11,7
GMO 22 %	8	0,250	6	0,118	2	0,829	20						
GMO 33 %	5	0,642	5	0,204	0	1,000	20						
GMO 11 % + R	8	0,250	4	0,331	4	0,500	20	Sum GMO + R (11, 22, 33 %)	27	16	60	45	18,3
GMO 22 % + R	12	0,027	9	0,015	3	0,669	20						
GMO 33 % + R	7	0,366	3	0,500	4	0,500	20						
Roundup 1,1 x 10 ⁻⁸ % (RA)	8	0,250	6	0,118	2	0,829	20	Sum Roundup (RA, RB, RC)	22	17	60	36,7	8,33
Roundup 0,09 % (RB)	9	0,160	7	0,064	2	0,829	20						
Roundup 0,5 % (RC)	5	0,642	4	0,331	1	0,947	20						

Forklaring/fotnote til p-verdiene i tabellene 2, 3 og 4:

Sammenligning av (forventet) andel døde i kontrollgruppa med (forventet) andel døde i aktuell behandlingsgruppe. P-verdi1 gjelder andel døde totalt, p-verdi2 gjelder andel døde ved avlaving og p-verdi3 gjelder andel spontant døde. P-verdiene er basert på Fishers eksakte test for 2x2 – tabeller, med ensidig alternativ hypotese (det vil si andel døde i behandlet gruppe er større enn andel døde i kontrollgruppa). Nullhypotesen er at andel døde i behandlet gruppe er lik andel døde i kontrollgruppa. Testen forutsetter at alle rottene innen hver enkelt av de to gruppene som sammenlignes har lik sannsynlighet for å dø (denne forutsetningen kan muligens diskuteres for p-verdiene i tabell 4, der begge kjønn er slått sammen). Testen er den samme som er brukt i ANSES, tabell 1 og 3 (ANSES opinion Request No. 2012-SA-0227). P-verdiene er ikke justert for å ta hensyn til multippel testing.

2 Tilleggsinformasjon og kommentarer gitt under høring og/eller i tilsvaret fra Séralini et al. til ANSES angående mangler og uklartheter

Etter at artikkelen ble publisert fikk Séralini et al. massiv kritikk fra flere hold, der det ble påpekt manglende informasjon i artikkelen, feil i forsøksoppsettet, feil bruk av statistikk etc. Forskergruppen svarte på kritikken i sitt møte med ANSES og videre i publikasjonen “Answers to critics: Why there is a long term toxicity due to NK603 Roundup-tolerant genetically modified maize and to a Roundup herbicide”, Food Chem Toxicol. 2012. Nedenfor er det gitt en oppsummering av denne tilleggsinformasjonen.

2.1 Begrunnelse for å holde tilbake primærdata

Primærresultatene som artikkelen bygger på er ikke publisert, noe som gjør det vanskelig for andre å vurdere resultatene statistisk. Forskningsgruppen til Séralini har sagt at data fra denne studien tilbakeholdes så lenge EFSA ikke offentliggjør rådata fra studiene som lå til grunn for godkjenning av NK603 for det europeiske markedet. Imidlertid har en begrenset del av primærdataene senere blitt gjort tilgjengelig for ANSES (se side 19).

2.2 Begrunnelse for hvorfor studien ikke følger OECDs retningslinjer

Séralini et al. påpeker at ingen regulatoriske myndigheter pr. i dag krever kroniske fôringsstudier av dyr i forbindelse med vurderinger av genmodifiserte planter og sprøytemidler. De valgte derfor å ta utgangspunkt i designet som er benyttet i artikkelen til Hammond et al. «Results of a 13 week safety assurance study with rats fed grain from glyphosate tolerant corn. Food Chem. Toxicol. 2004. 42, 1003 – 1014», som er basert på OECDs retningslinje 408 for test av subkronisk kjemikalietoksisitet. Studien er utført av Monsanto Company, produsenten av NK603 mais, og er et 13 ukers fôringsstudie med SD-rotter hvor dyrene fôres med NK603 mais behandlet med Roundup under dyrking. Séralini et al. hevder å ha forbedret designet til Hammond et al. ved å teste 3 doser istedenfor 2 over en 8 ganger lengre tidsperiode, og å utføre målinger av flere antall parametere.

2.3 Begrunnelse for valg av antall dyr

Forfatterne viser til at Hammond et al. 2004 ikke utfører målinger på flere enn 10 dyr pr. kjønn og gruppe, og at de derfor ikke så noen hensikt i å bruke flere enn 10 dyr pr. gruppe selv, selv ved forlengelse av studien fra 90 dager til to år. De henviser til OECDs retningslinje 453 for en kombinert toksisitets og karsinogenstudie, og bekrefter at de i begynnelsen ikke hadde planlagt å utføre en karsinogenitetsstudie.

2.4 Begrunnelse for å ikke bruke historiske kontrolldata (fra tilsvarende forsøk med samme rottetype)

Forfatterne begrunner dette med å ville unngå for stor variabilitet og spredning i dataene, noe de mener kunne ført til falske negative resultater. En av grunnene de oppgir er muligheten for at fôret til dyrene i historiske kontroller kan ha inneholdt GM-mais og/eller ukjente mengder av ulike sprøytemidler. Tilsvarende argument blir brukt til å begrunne hvorfor de valgte å

ikke inkludere en kontrollgruppe fôret helt uten mais; spredningen i dataene kunne potensielt skjule reelle effekter.

2.5 Begrunnelse for valg av rottelinje

Forfatterne påpeker at det ikke er oppgitt spesifiserte rottelinjer i OECDs retningslinjer 408, 452 eller 453. De forsvarer bruken av SD-rotter ved å argumentere for at en mindre følsom rottelinje ville være ufornuftig ettersom forsøket da ville miste sensitivitet. De henviser til OECDs 452, hvor det står skrevet at mus og rotter er foretrukne dyr nettopp på grunn av deres følsomhet for svulstdannelse, og at det samme argumentet kan brukes for ulike kroniske nyrelidelser. Videre påpeker forfatterne at spontane forekomster av nyrelidelser ikke ugyldiggjør valget av rottelinje, ettersom de i studien beskrev lidelsene kronologisk etter alder, antall og alvorlighet.

2.6 Tilleggsinformasjon om fôrsammensetning

Fôrene brukt i de ulike behandlingsgruppene er ikke detaljert beskrevet i publikasjonen, hverken i forhold til fôrmiddelsammensetning eller næringsstoffinnhold.

I tilsvaret til ANSES var alt fôr ifølge forfatterne næringsmessig balansert til å inneholde totalt 33 % mais ved å tilsette ikke-genmodifisert mais i fôret til gruppene med 11 % og 22 % GM-mais. GM-innhold i fôret ble beregnet ved qPCR. Analyser av kjemisk sammensetning av all mais ble angivelig utført, inkludert nivåer av mykotoksiner og glyfosatrester. Nivåer av aktuelle mykotoksiner ble målt til å være under gjeldende anbefalte grenser. Ingen opplysninger eller data om dette er nevnt i artikkelen.

2.7 Tilleggsinformasjon om bruken av sprøytemidler

De aktuelle maisavlingene skal ifølge forfatterne ha blitt sprøytet med Roundup Weather Max fire måneder før innhøsting. Tilsvarende behandling skal ha blitt foretatt med fungicider. Disse opplysningene er ikke nevnt i artikkelen.

2.8 Tilleggsinformasjon om objektivitet ved håndtering og prøvetaking av dyr, avliving etc.

I sitt tilsvaret til ANSES skriver Séralini et al. at de tok hensyn til GLP-protokoll (Good Laboratory Practice), men at de endret studiens design ved å legge til nye analyser underveis og dermed ikke kunne etterfølge kravene til GLP. Stabilitet av bruksløsninger og innhold av fôrkontaminanter skal ha blitt beregnet av godkjente laboratorier.

Ifølge forfatterne var dyrene merket med elektroniske brikker slik at patologiske vurderinger foregikk blindt og uavhengig av behandling. Tilsvarende var blod og urinprøver kodet slik at de biokjemiske analysene også ble utført blindt. Dyrene skal ha blitt tett oppfulgt av godkjente veterinærer, og all avlivning skal ha blitt utført blindt og kun ut i fra hensyn til dyrevelferd. Statistikk ble beregnet for kodede grupper. Prøvetaking for måling av hormonnivåer ble gjort om morgenen.

2.9 Begrunnelse for utradisjonell statistikk

Séralini et al. bruker den statistiske metoden OPLS-DA på biokjemiske data. I det svaret de gir i «Answers to critics» side 6 og 7 beskriver de til en viss grad metoden, i tillegg til det som beskrives i selve artikkelen, avsnitt 2.6. De angir at metoden er ny (moderne), at den er multivariabel på den måten at den tar hensyn til korrelerte variabler og takler datamaterialer med antall variabler større enn antall observasjoner, og at den ikke er en metode for å sammenligne forventede verdier i ulike grupper.

2.10 Begrunnelse for selektiv fremstilling av data med stor betydning tillagt dødelighet og svulstutvikling

Forfatterne argumenterer for at det er begrenset plass for hva som kan presenteres i en artikkel, at de har gjort et utvalg de mener er dekkende for deres funn, og at øvrige data vil bli presentert i fremtidige artikler. Forfatterne innrømmer at det er begrensninger i dataene knyttet til dødelighet og forekomsten av svulster, og at statistiske beregninger ikke underbygger konklusjonene deres. Samtidig mener de at bruk av statistikk heller ikke kan brukes til å hevde det motsatte, og at det samlet sett på bakgrunn av resultatene er belegg for deres konklusjoner.

3 VKMs kommentarer til artikkelen

3.1 Eksperimentelt design

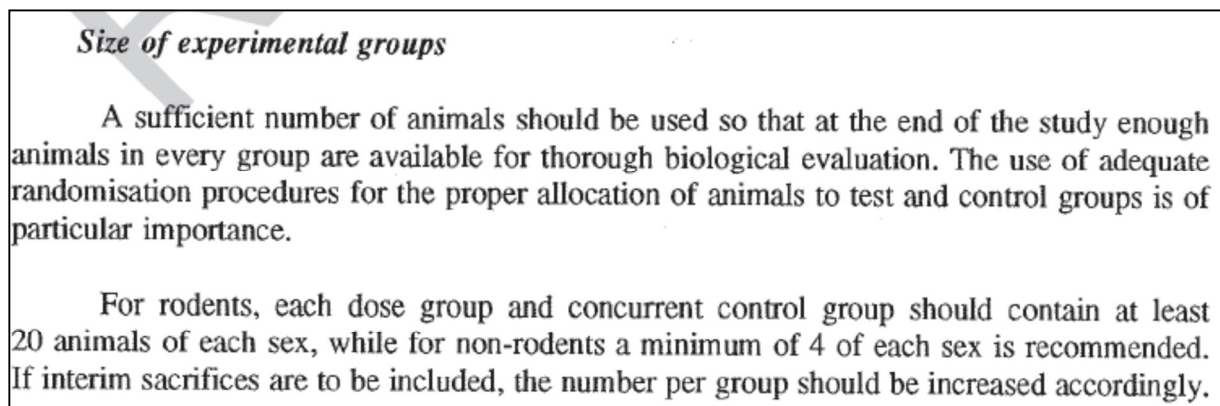
OECDs retningslinjer 408 og 453 er veiledende for henholdsvis en subkronisk toksisitetsstudie (90 dager) og en kombinert kronisk toksisitets- og karsinogenitetsstudie (to år). I henhold til OECD 453 skal en to års studie gjennomføres med minimum 50 dyr av hvert kjønn pr. gruppe, dvs. 100 dyr pr. testgruppe og minst tre testgrupper i tillegg til en kontrollgruppe. I tillegg skal det gjennomføres en pilotstudie for å belyse kronisk toksisitet med 20 dyr av hvert kjønn pr. gruppe, dvs. 40 dyr pr. testgruppe og en høydose testgruppe i tillegg til en kontrollgruppe.

Séralini et al. har kun benyttet 200 rotter totalt: 100 hunner og 100 hanner; 10 hanner og 10 hunner til hver av de 10 behandlingsgruppene, og mer eller mindre bare forlenget et 90 dagers subkronisk toksisitetsforsøk til et to års karsinogenitetsforsøk. Dette er ikke akseptabelt og en hovedinnvending mot det publiserte arbeidet.

Studien preges av at det er et for lavt antall dyr pr. behandlingsgruppe i tillegg til et for lavt antall kontrolldyr. Det er derfor stor risiko for at de rapporterte forskjellene i antall dyr som døde og utviklet svulster, nyrelidelser og andre patologiske forandringer kun reflekterer tilfeldigheter og normal variasjon. Den valgte rottelinjen er også kjent for å ha stor hyppighet for spontan utvikling av flere av de undersøkte forandringene, som for eksempel svulstdannelse, noe som ytterligere gjør det nødvendig med et relativt stort antall dyr pr. gruppe. OECDs 453 sier at det innledningsvis (fase 1, kronisk toksisitet), ikke nødvendigvis er behov for flere enn 10 dyr pr. gruppe, ettersom dataene senere vil bli supplert fra karsinogenitetsstudien (fase 2). Séralini et al. sier de i utgangspunktet ikke planla en karsinogenitetsstudie og derfor heller ikke tok hensyn til at minimum antall dyr skulle vært 50 pr. gruppe da studien gikk inn i fase 2.

Det er bemerkelsesverdig at Séralini et al. i denne studien kun har brukt 10 dyr av hvert kjønn pr. gruppe og samtidig går så langt i å forsvare sine resultater, også ved bruk av statistikk. I deres tidligere publikasjoner (Vendômois et al. 2009, Séralini et al. 2007), har de selv gått til kraftig angrep på 90 dagers forsøk utført med opptil dobbelt så mange dyr, hvor de har kritisert studiene for å bruke for få dyr, og for dårlige statistiske metoder. Det er også forunderlig at Séralini et al. skriver at de i utgangspunktet ikke hadde tenkt å teste for karsinogenitet av NK603, men at dette ble endret underveis i studien. I artikkelen til Vendômois et al. (2009) diskuterer de mulige karsinogene effekter og nødvendigheten av lengre føringstudier (to år), bruk av minst tre dyrearter, og gjerne fler-generasjonsstudier for å avdekke mulige akutte og kroniske effekter av genmodifisert mais.

I tilsvaret fra Séralini et al. (9. nov 2012) skriver de at 1981-utgaven av OECDs retningslinje 452 (kronisk toksisitetstesting av kjemikalier), fortsatt var gjeldende ved oppstart av studien i 2008. Dette brukes som argument for at biokjemiske målinger kun ble utført for gruppestørrelser på 10 dyr pr. kjønn. OECDs retningslinje 452 forutsetter imidlertid at det i hver gruppe er minimum 20 rotter pr. kjønn (Figur 1), og dette er også presisert i 1981-utgaven. Videre hevdes det i tilsvaret at de har gjennomført studien ved å bruke en kombinasjon av OECDs retningslinjer 408 og 453. De sammenlikner studien med designet beskrevet i Hammond et al. 2004 og hevder å ha forbedret sin studie i forhold til denne. Hammond et al. brukte imidlertid 400 dyr fordelt på 10 grupper, dvs 20 dyr pr. kjønn i hver gruppe, altså dobbelt så mange dyr. Kun når det gjelder de biokjemiske målingene (12 hematologiske parametere og 17 serum parametere) har Hammond et al. målt på 10 dyr pr. gruppe. Alle andre parametere ble målt på samtlige dyr. Med andre ord er Séralini et al. sin begrunnelse for valg av antall dyr heller ikke i tråd med Hammond et al.



Figur 1.) Utdrag fra OECDs retningslinje 452, 1981-utgave.

3.2 Valg av rottelinje

Sprague Dawley er en rottelinje med en dokumentert høy insidens av spontane lidelser som svulster (41.2 % rapportert av Thompson et al. 1961; 45 % av Prejean et al. 1973; 71 % av Brix et al. 2005) og nyrelidelser (alders- og kjønnsavhengig opp til 78 %; Peter et al. 1986). Hyppigheten av spontane lidelser er også vist å variere i stor grad for SD-rotter fra ulike leverandører (Mac Kenzie & Garner 1973). Forekomst av spontane svulster har blitt beskrevet i detalj i Schardein et al. (1968). Studiene, som ble utført på et stort antall rotter, viste at 6 av ca. 3000 rotter utviklet spontane svulster innen 90 dager. 10 av 700 rotter utviklet svulster ved 3 - 6 måneder og 20 av 400 ved 6 - 9 måneder. Sammenlagt over 18 måneder hadde 49 % av

hannrottene og 70 % av hunnrottene utviklet svulster; sistnevnte i vesentlig grad på grunn av et stort antall svulster i jur-kjertlene.

Kombinert med et lavt antall dyr per forsøksgruppe blir risikoen for at resultatene presentert i artikkelen til Séralini et al. kun reflekterer tilfeldige variasjoner meget stor.

I sitt tilsvarende til ANSES henviser Séralinis gruppe til OECDs 452, hvor det står skrevet at mus og rotter er foretrukne dyr nettopp på grunn av deres følsomhet for svulstdannelser, og de mener det samme argumentet kan brukes for ulike kroniske nyrelidelser. Det Séralinis gruppe ikke nevner er at det i OECDs retningslinjer implisitt påpekes at det alltid skal tas høyde for at man har et tilstrekkelig antall dyr i hver gruppe tilpasset studien. Det vil si, at for Harlan Sprague Dawley rotter må gruppestørrelsene økes betraktelig i studier med mer enn 90 dagers varighet, grunnet dyrenes anlegg for spontane lidelser som svulstdannelse og nefropatier. Dette har Séralini et al. fullstendig ignorert å etterfølge eller nevne i artikkel og uttalelser.

Når det gjelder mulige mekanismer for økt svulstinduksjon som Séralini et al. spekulerer i, har vi valgt å ikke gå inn i den, siden forsøket ikke er av en slik art at en kan si at økningen er reell. Vi ønsker imidlertid å påpeke at mye tyder på at kaffesyre faktisk er et gnager-mutagen og karsinogen, i motsetning til hva Séralini et al. foreslår, nemlig en mulig beskyttende effekt av kaffesyre mot kreft (vår ref. Handbook of Pesticide Toxicology, 2001, Second Edition (R. Krieger, ed.), San Diego, CA: Academic Press, pp. 799-843).

3.3 Presentasjon av data

Forfatterne skriver at ikke alle data kan presenteres i én rapport og at de derfor kun rapporterer det de selv mener er mest relevant.

Presentasjonen av dataene virker generelt mangelfull og er ustrukturert, både når det gjelder tekst, tabeller og figurer. Figurer og tabeller fungerer kun som en visuell presentasjon av et utvalg av resultatdata, noe som kan virke villedende.

Det er for eksempel lite nyttig informasjon å hente fra Fig. 5 og Tabell 3. Hver parameter burde her vært presentert som gjennomsnittsverdi med et variasjonsmål for hver forsøksgruppe for å kunne vurdere dataenes relevans. Uten dette er det ikke mulig å vurdere om verdiene ligger innenfor eller utenfor den normale spredningen (fysiologisk bredde) for hver parameter. Séralini et al. rapporterer at leveren var det mest belastede organet hos hanndyrene og de viser noen bilder av fokale patologiske endringer, ved hjelp av både lys- og elektronmikroskop. Fokale leverendringer, også nekroser, er vanlige funn hos de fleste dyr og omfanget kan variere også hos friske dyr. Forfatterne støtter sin påstand om høyere insidens av slike endringer hos forsøksgruppene (2,5-5,5 ganger høyere) sammenlignet med kontroll med høyere hepatisk gamma GT-aktivitet (“opptil 5,4 ganger”) og høyere cytokrom P450-aktivitet (Cyp1A1, - 1A2, - 3A4, - 2C9 (“opptil 5,7 ganger”)), uten å vise dataene. Det er ikke mulig å vurdere dette uten et gjennomsnitt med variasjonsmål for hver forsøksgruppe.

3.4 Valg av Roundup-konsentrasjoner i drikkevannet til forsøksdyrene

Dose 1). 50 ng/L av glyfosat (0,1 ppb av Roundup): Ifølge ANSES rapport om Séralinis artikkel, er dette en konsentrasjon som tilsvarer det man kan påvise i franske

drikkevannskilder, men bare i svært begrenset omfang (kun 0,2 % av testede kilder hadde målbare verdier av glyfosat, disse lå alle under 100 ng/L).

Dose 2). 400 mg/kg av glyfosat: Maksimum tillatte restmengde glyfosat i sukkermais i Europa er 0,1 mg/kg, så den forventede eksponeringen i befolkningen vil ligge langt under den testede dosen på 400 mg/kg.

Dose 3). 2,25 g/L av glyfosat (5 g/L av Roundup): Dosen er i samme størrelsesorden som normalt blir brukt under sprøyting i Frankrike (7 g/L), men eksponering av arbeiderne som sprøyter vil hovedsakelig være via hud og til dels luftveiene, og ikke oralt slik studien av Séralini et al. reflekterer.

Koformulanten i Roundup GT PLUS bindes sterkt til jord og det er lite sannsynlig at denne vil lekke til grunnvann (ref. ANSES rapporten). Nedbrytningsprodukter av denne koformulanten er hovedsakelig C14-fettsyrer, som for eksempel myristinsyre. Fettsyrer (C7-C20) er generelt betraktet som lite toksiske.

3.5 Innholdet av mais i det testede fôret kontra gjennomsnittlig inntak via kosthold for den voksne befolkningen

Alt fôr var i følge forfatterne næringsmessig balansert til å inneholde totalt 33 % mais ved å tilsette ikke-genmodifisert mais i fôret til gruppene med 11 % og 22 % GM-mais med eller uten Roundup. Dette er normalt for denne typen studier, hvor man ønsker å teste en så høy konsentrasjon som mulig av det gitte stoffet. Det er derimot viktig å huske at dette tilsvarer et ca. 10-15 ganger høyere inntak av mais i kosten enn det som er gjennomsnittet for den voksne befolkningen i Europa (kilde: EFSA PRIMo, 2007, beregnet for sukkermais). Inntaket vil variere avhengig av typen av maisprodukt, noe som gjør det vanskelig å estimere det reelle inntaket.

3.6 Statistikk

Hensikten med en statistisk analyse er å skille de systematiske variasjonene fra de tilfeldige og naturlige. I Séralini et al. sitt arbeid framgår det ikke at de har hatt en slik tilnærming. Artikkelen er i hovedsak en beskrivende studie. Det vil si at den beskriver funnene gjort i de dataene forfatterne har samlet inn. I de fleste utsagnene om forskjeller etc. relateres ikke disse til om de er statistisk signifikante eller ikke. Det tas tilsynelatende ikke hensyn til variasjon og usikkerhet i dataene på en god måte. Relatert til denne studien betyr det for eksempel at når ulike behandlingsgrupper skal sammenlignes og kunne påstås å være statistisk signifikant forskjellige, så må forskjellene/variasjonene mellom gruppene være «påfallende store» sammenlignet med forskjellene/variasjonene innad i gruppene. Slike utsagn om denne typen statistisk signifikans bygger nesten alltid på en underliggende, og på forhånd spesifisert, statistisk modell. En tilfredsstillende beskrivelse av statistisk modell er ikke gitt i artikkelen. Det som står i artikkelens avsnitt om statistisk analyse er generelt og lite dekkende for denne studien.

Séralini et al. beskriver statistikken de har benyttet på de biokjemiske resultatene som moderne, at den er multivariabel og tar hensyn til korrelerte variabler.

Metoden (OPLS-DA), slik Séralini et al. bruker den, går kort fortalt ut på å finne en lineær kombinasjon av de biokjemiske variablene (X-variablene i metoden) som best (best i en viss

forstand, definert og spesifikt for denne og liknende metoder) separerer (diskriminerer) de aktuelle behandlingsgruppene (Y-variabelen i metoden). Som en del av resultatene fra metoden anslås også den innbyrdes betydningen av de enkelte biokjemiske variablenes bidrag til separasjonen (se figur 5A i Séralini et al.).

Séralini et al. sier at rottene er randomisert til de ulike behandlingsgruppene (200 rotter totalt: 100 hunner og 100 hanner; 10 hanner og 10 hunner velges tilfeldig til hver av de 10 behandlingsgruppene). Verdier for en rekke responsvariabler observeres så for alle rottene i alle behandlingsgruppene. Det er noe forunderlig at de analyserer de biokjemiske variablene som om de er «X-variablene» (avsnitt 2.6 i artikkelen) og behandlingsgruppene som «Y-variabelen». På denne måten utfører de en slags retrospektiv analyse som til dels besvarer spørsmål om hva som kan ha hendt, mens de egentlig burde besvare spørsmålet «hva ville hende om?» (dersom en tilfeldig rotte gis en av de 10 behandlingene), altså en slags prospektiv analyse. Det ville vært mer naturlig å se på de 10 behandlingsgruppene som «X-variablene» (forklaringsvariablene) og de biokjemiske variablene etc. som «Y-variablene» (responsvariablene, hvis variasjon/forskjeller skal forsøkes forklart med at verdiene på forklaringsvariablene/behandlingsgruppene er forskjellige). En mye brukt klasse av statistiske modeller som kunne vært brukt til å analysere denne typen relasjoner, er ulike varianter av lineære modeller, herunder (multivariabel) variansanalyse.

Det ble benyttet 10 behandlingsgrupper med separate analyser av hanner og hunner, hvilket betyr at det var 10 rotter i hver behandlingsgruppe som ble sammenlignet. Det begrensede antallet med dyr gjør at styrken på eventuelle brukte statistiske tester blir meget lav. Et annet aspekt er at det i hvert bur ble brukt to rotter, og det er uklart hvorvidt det ble tatt hensyn til eventuelle korrelasjoner/avhengigheter mellom observasjoner fra rottene i samme bur ettersom dette ikke er beskrevet. Dersom slike hensyn ikke er tatt, at de har behandlet de 10 observasjonene innen samme behandlingsgruppe som ukorrelerte og noen av dem i virkeligheten er korrelerte, vil det bety at forfatterne i realiteten har mindre informasjon i dataene enn de har grunnlag for. Eventuelle avhengigheter mellom observasjoner som det ikke tas hensyn til, vil på mange måter ha samme konsekvens som om antall observasjoner er færre enn det én faktisk har. Når antall observasjoner (antall rotter) allerede i utgangspunktet er lavt, er dette med på å svekke holdbarheten til arbeidet ytterligere.

Tabell 2 i artikkelen inneholder noen enkle rådata fra studien. Tallene i parentes («number of rats reached») kan brukes til å sammenligne hyppigheten av (sannsynligheten for) ulike kjennetegn (for eksempel jursvulster hos hunner) i de 10 behandlingsgruppene. Om en utfører noen enkle, statistiske tester (basert på de mest elementære statistiske modeller for å sammenligne binomiske sannsynligheter), som tar hensyn til variasjon og usikkerhet, på disse dataene, blir det svært få (om noen) statistisk signifikante forskjeller, ikke minst om en justerer for at det da utføres mange hypotesetester på de samme dataene (multippel sammenligning). En slik justering bør gjøres, men er ikke rapportert i artikkelen. Figur 1 i Séralini et al. inneholder rådata for dødelighet. Disse er gjengitt og til en viss grad analysert statistisk her i tabell 2, 3 og 4 foran. Det er blant annet vanskelig for leseren å vurdere kriteriene forfatterne har brukt for å ta avgjørelsen om å avlive dyrene. Det er heller ikke beskrevet type lidelse for de tilfellene der avliving ble foretatt. Derfor er det hensiktsmessig å vurdere antall spontane dødsfall per forsøksgruppe, slik det er fremstilt av ad hoc-gruppen i tabell 2-4 i denne rapporten. Da fremkommer det at det kun var mindre forskjeller mellom forsøksgruppene og kontrollgruppen mht. spontane dødsfall.

Ut i fra det langt større antallet dyr som er fordelt på de ulike behandlingsgruppene, sammenlignet med det begrensede antallet dyr i kontrollgruppen, vil man forvente ved ren statistisk tilfeldighet en betydelig økt sjanse for å finne det største antall rotter med kreft i en eller annen av behandlingsgruppene. Dette fremstilles derimot indirekte i artikkelen som en mulig effekt av fôr som inneholder NK603 og/eller Roundup.

Den største statistisk relaterte innvendingen mot studien er det lave antallet dyr i hver gruppe og at resultatene kun presenteres som fra en databeskrivende studie uten god statistisk metode. En vitenskapelig studie skal være basert på en klar problemstilling og undersøkes ved hjelp av en relevant statistisk modell på et egnet datamateriale.

Som allerede nevnt har ikke primærdataene fra denne studien blitt publisert, og VKM har dermed ikke hatt mulighet til å gjøre konkrete statistiske analyser på dem. Imidlertid er en del av primærdataene blitt gjort tilgjengelig for ANSES, som har utført statistiske analyser. ANSES sine resultater viser at det i de tilfellene hvor det er statistiske forskjeller på tallmaterialet, så mangler biologisk koherens, og at det fortsatt mangler informasjon fra Séralini et al. til å kunne gi en definitiv uttalelse. Konklusjonen til ekspertene som utførte de statistiske analysene for ANSES var, ut i fra hva de kunne teste, at fortolkningene i artikkelen ikke var tilstrekkelig forankret i resultatdataene.

Det er allment akseptert at statistikk og beregning av statistisk signifikans har stor innvirkning på tolkningen av eksperimentelle data, og for utforming av eventuelle nye studier/eksperimenter. Finner man statistisk signifikante forskjeller oppfattes dette generelt som en styrking av ens hypoteser, forutsatt god planlegging og eksperimentelt design. Tilsvarende vil mangel på signifikante forskjeller oppfattes svekkende for ens hypoteser. Argumentet til Séralini et al., at statistiske beregninger ikke kan brukes mot slutningene de trekker fra dataene, kan med andre ord anses som en subjektiv og uvitenskapelig basert oppfatning.

4 Konklusjon

I den aktuelle artikkelen av Séralini et al. er det flere forhold som gjør det vanskelig å knytte relevans til resultatene som blir presentert. Foringsforsøket tilfredsstillt hverken krav til godt eksperimentelt design eller rapportering av data og er ikke egnet til å underbygge konklusjonene eller påstandene fremmet i artikkelen. Framstillingen av resultatene med figurer (bilder) er gjort på en måte som lett kan forlede leserne. I sitt tilsvar har forfatterne innrømmet at hensikten med artikkelen først og fremst var å stille spørsmål ved dagens tester brukt til å vurdere eventuelle helsemessige skadevirkninger av GMO.

VKMs faggruppe for GMO konkluderer med at endringene Séralini et al. mener å ha påvist hos rottene i studien, ikke gir grunnlag for å hevde at fôring med maislinjen NK603 og/eller Roundup har påført dyrene helseskade. Konklusjonen er gitt på bakgrunn av gjennomgang av Séralini et al. sin artikkel og påfølgende dokumentasjon og bakgrunnsmateriale angitt innledningsvis, og er avgrenset til de organer og biologiske parametere hvor Séralini et al. mener å ha påvist helseskade som følge av maislinjen med og uten Roundup.

VKMs faggruppe for GMO finner derfor ikke grunnlag for å revurdere VKMs tidligere konklusjon i helserisikovurderingen av den genmodifiserte maisen NK603.

VKMs vurdering av artikkelen til Séralini et al. støtter dermed i likhet med andre land som har vurdert artikkelen (f.eks. Belgia, Danmark, Frankrike, Tyskland, Italia og Nederland) opp under EFSA's endelige vurdering av artikkelen, publisert på EFSA sin hjemmeside 28. november i år (EFSA Journal 2012;10(11):2986 [10 pp.]. doi:10.2903/j.efsa.2012.2986).

Sluttkommentar

EFSA's retningslinjer forbedres stadig, og det er for tiden en stor pågående diskusjon sentralt i EU om hvorvidt fôringsstudier skal inngå som en obligatorisk del i søknadsdokumentasjonen fra industrien, og ikke bare vurderes i hvert enkelt tilfelle slik det er i dag. En del av diskusjonen berører den vitenskapelige verdien av fôringsstudier på hel mat kontra dyrevelferd, ettersom et slikt påbud vil øke bruken av forsøksdyr betraktelig. Mye av kritikken rettet mot regulatoriske myndigheter er at alle analyser inkludert dyrestudier utføres av industrien/søker selv eller at de har gitt private laboratorier i oppdrag å utføre analysene for dem. For å ivareta EU-medlemslandenes og forbrukernes interesser, og å beslutte en best mulig og uavhengig avgjørelse har EU finansiert et uavhengig prosjekt kalt GMO Risk Assessment and Communication of Evidence (GRACE), <http://www.grace-fp7.eu/>. GRACE-prosjektet har blant annet som mål å vurdere betydningen av dyrestudier i risikovurderinger av GMO og samtidig vurdere alternative metoder.

Referanser

ANSES (2012) Opinion of the French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety concerning an analysis of the study by Séralini et al. (2012) “Long term toxicity of a ROUNDUP herbicide and a ROUNDUP-tolerant genetically modified maize”. ANSES (2012) er publisert i EFSA (2012) Annex 1.

Brix AE, Nyska A, Haseman JK, Sells DM, Jokinen MP, Walker NJ. (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.

EFSA (2012) Annex 1: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/2986.htm>

Hammond B, Dudekb R, Lemena J, Nemetha M. (2004) Results of a 13 week safety assurance study with rats fed grain from glyphosate tolerant corn. *Food Chem. Toxicol.* 42; 1003-1014.

Handbook of Pesticide Toxicology, Second Edition (R. Krieger, ed.), San Diego, CA: Academic Press, 2001, pp. 799-843

Mac Kenzie WF, Garner, FM. (1973) Comparison of Neoplasms in Six Sources of Rats. *J Natl Cancer Inst.* 50; 1243-1257.

OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4. Health Effects 408, 452, 453: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-4-health-effects_20745788

Peter CP, Burek JD, van Zwieten MJ. (1986) Spontaneous nephropathies in rats. *Toxicol Pathol* 14(1); 91–100.

Prejean JD, Peckham JC, Casey AE, Griswold DP, Weisburger EK, Weisburger JH. (1973) Spontaneous Tumors in Sprague-Dawley Rats and Swiss Mice. *Cancer Res.* 33; 2768-2773.

Schardein JL, Fitzgerald JE, Kaump DH. (1968) Spontaneous tumors in Holtzman-source rats of various ages. *Pathol Vet.* 5; 238-252.

Séralini G-E, Clair E, Mesnage R, Gress S, Defarge N, Malatesta M, Hennequin D, de Vendomois JS. (2012). Long term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Food Chem Toxicol.* 50; 4221-4231.

Séralini G-E, Mesnage R, Defarge N, Gress S, Hennequin D, Clair E, Malatesta M, de Vendômois JS (2012) Answer to critics. Why there is a long term toxicity due to NK603 Roundup-tolerant genetically modified maize and to a Roundup herbicide. *Food Chem. Toxicol.* 50; doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2012.11.007>

Séralini G-E, Cellier D, de Vendomois JS. (2007) New analysis of a rat feeding study with a genetically modified maize reveals signs of hepatorenal toxicity. *Arch Environ Contam Toxicol.* 52; 596–602.

de Vendômois JS, Roullier F, Cellier D, Seralini GE. (2009) A Comparison of the effects of three GM corn varieties on mammalian health. *Int J Biol Sci.* 5; 706-726.

Thompson SW, Huseby RA, Fox MA, Davis CL, Hunt RD. (1961) Spontaneous Tumors in the Sprague-Dawley Rat. *J Natl Cancer Inst.* 27; 1037-1057.

VKM (2010) «Vurdering av ny publikasjon om mulige helseeffekter av genmodifisert glyfosattolerant maislinje NK603 og de insekts-resistente maislinjene MON 810 og MON 863»: <http://www.vkm.no/dav/6e78e52d33.pdf>