

Δείκτες Ανθεκτικότητας σε Αντιβιοτικά στις Γενετικά Τροποποιημένες (ΓΤ) Φυτικές Ποικιλίες

- Τι είναι και γιατί χρησιμοποιούνται;
- Το ρυθμιστικό πλαίσιο για την αξιολόγηση της ασφάλειας των ΓΤ φυτικών ποικιλιών
- Αξιολόγηση κινδύνου των γονιδίων ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά στις ΓΤ φυτικές ποικιλίες.
- Υπάρχουν εναλλακτικές λύσεις; Μπορούν να απομακρυνθούν;

Η χρήση γονιδίων – δεικτών της ανθεκτικότητας σε συγκεκριμένα αντιβιοτικά κατά τη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων (ΓΤ) φυτών έχει προκαλέσει σημαντική αντίδραση της κοινής γνώμης. Αυτό το σύντομο άρθρο κάνει μια ανασκόπηση των γονιδίων – δεικτών ως προς το τι είναι και γιατί χρησιμοποιούνται, πώς ρυθμίζεται η ασφάλεια των ΓΤ φυτών και τις πιθανές εναλλακτικές λύσεις. Ο κύριος σκοπός είναι να προσφέρει μια ισορροπημένη ενημέρωση και να προωθήσει το δημόσιο διάλογο. Το άρθρο αυτό είναι αποτέλεσμα της συνεισφοράς επιστημόνων, βιομηχάνων, κυβερνητικών φορέων και οργανισμών κοινής ωφέλειας από όλη την Ευρώπη. Προορίζεται για την παροχή πληροφοριών και δεν αντιπροσωπεύει τις απόψεις ή την πολιτική της Ευρωπαϊκής Ομοσπονδίας Βιοτεχνολογίας ή οποιουδήποτε άλλου φορέα.

Εισαγωγή

Η συνδυασμένη χρήση των αντιβιοτικών και των γονιδίων ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά αποτελεί ένα σημαντικό εργαλείο της γενετικής μηχανικής γενικά και της βιοτεχνολογίας φυτών ειδικότερα. Στη γενετική μηχανική, ένας πρωτεύων στόχος είναι η αναγνώριση και επιλογή των κυττάρων εντός των οποίων έχει εισαχθεί ένα νέο γονίδιο. Τα γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά έχουν την ικανότητα να αδρανοποιούν επιλεκτικά ορισμένα αντιβιοτικά και κατά συνέπεια να προστατεύουν τα κύτταρα έναντι αυτών των αντιβιοτικών. Έτσι ένα γονίδιο ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό χρησιμοποιείται για να «μαρκάρι» ένα γονίδιο υπεύθυνο για κάποιο γνώρισμα ή χαρακτηριστικό που μας ενδιαφέρει. Πρακτικά, το γονίδιο για το αντιβιοτικό συνδέεται με το γονίδιο που μεταφέρει το γνώρισμα που μας ενδιαφέρει πριν από την εισαγωγή του στα κύτταρα-δέκτες είτε αυτά προέρχονται από βακτήρια είτε από ζύμες, από φυτά ή από ζώα. Στη συνέχεια τα κύτταρα αυτά επωάζονται παρουσία του αντιβιοτικού. Τα μόνα κύτταρα που πολλαπλασιάζονται κάτω από αυτές τις συνθήκες είναι εκείνα τα οποία έχουν ενσωματώσει το γονίδιο της ανθεκτικότητας στο αντιβιοτικό μαζί με το χαρακτηριστικό γνώρισμα που μας ενδιαφέρει.

Η αναγνώριση των «διαγονιδιακών κυττάρων» θα ήταν εξαιρετικά βαρετή, ίσως και αδύνατη, χωρίς αυτή τη διαδικασία επιλογής, καθόσον ένα μικρό μόνο κλάσμα του κυτταρικού πληθυσμού ενσωματώνει τα εισαγόμενα γονίδια (ένα για κάθε αρκετές χιλιάδες κυττάρων). Στη γενετική μηχανική, η διαδικασία επιλογής αποτελεί μία αναγκαιότητα και αυτός είναι ο λόγος που τα γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά

έχουν χρησιμοποιηθεί τόσο ευρέως και για αρκετά χρόνια σε πολλούς διαφορετικούς τομείς της βιοτεχνολογίας.

Οι πρόσφατες εγκρίσεις για την εμπορευματοποίηση ΓΤ ποικιλιών που περιέχουν δείκτες ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά έχουν προκαλέσει ανησυχία στην Ευρώπη σχετικά με τον κίνδυνο να εξαπλωθούν τα γονίδια ανθεκτικότητας σε ευαίσθητα μέχρι σήμερα μικρόβια και έτσι τα τελευταία να γίνουν ανθεκτικά στα χρησιμοποιούμενα αντιβιοτικά. Η ανησυχία του κοινού σχετικά με το θέμα αυτό έχει αυξηθεί πολύ και το ζήτημα τίγεται επανειλημμένα από τα μέσα μαζικής ενημέρωσης. Σαν αποτέλεσμα, οι κυβερνήσεις στην Ευρωπαϊκή Ένωση έχουν προτείνει «σταδιακή απόσυρση» των ποικιλιών που περιέχουν δείκτες ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά, αντίθετα από τις συστάσεις αρκετών εθνικών και Ευρωπαϊκών επιστημονικών επιτροπών.

Τι είναι και γιατί χρησιμοποιούνται;

Αντιβιοτικά και ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά στη φύση

Τα βακτήρια είναι μικρόβια τα οποία είναι παρόντα παντού στο περιβάλλον καθώς και στα φυτά και τα ζώα. Είμαστε μόνιμα εκτεθειμένοι σε αυτά, προσλαμβάνοντάς τα για παράδειγμα, μαζί με την τροφή μας. Τα μικρόβια που ζουν στον ίδιο χώρο με άλλα, συναγωνίζονται για τα θρεπτικά συστατικά και μερικά προκειμένου να επιβιώσουν έχουν εξελιχθεί φυσιολογικά έτσι ώστε να παράγουν αντιβιοτικά προκειμένου να εξολοθρεύσουν τους ανταγωνιστές τους. Τα αντιβιοτικά αναστέλλουν την ανάπτυξη ενός κυττάρου παρεμποδίζοντας ορισμένες από τις βασικές μεταβολικές λειτουργίες του. Επομένως τα βακτηριακά στελέχη τα οποία παράγουν ένα συγκεκριμένο αντιβιοτικό πρέπει να διαθέτουν μηχανισμό ανθεκτικότητας ο οποίος να αδρανοποιεί το αντιβιοτικό αυτό και έτσι να αποτρέπει τη δική του αυτοκαταστροφή. Στην εξελικτική κούρσα, στον αγώνα μεταξύ των μικροβίων, η παραγωγή νέων αντιβιοτικών αντιμετωπίζεται με την παραγωγή μηχανισμών ανθεκτικότητας τόσο από τον οργανισμό-παραγωγό όσο και από τον οργανισμό-στόχο. Στη φύση υπάρχει μια μεγάλη ποικιλία από αντιβιοτικά και από τα αντίστοιχα γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. Εντούτοις, τα βακτήρια-στόχοι αντί να αναπτύξουν το δικό τους μηχανισμό ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά, γενικά ενσωματώνουν τα γονίδια ανθεκτικότητας τα οποία υπάρχουν ήδη στη βακτηριακή δεξαμενή που τα περιβάλλει. Η διαδικασία αυτή διευκολύνεται από το γεγονός ότι τα βακτήρια είναι γενικά αρκετά «πρόθυμα» στο να ανταλλάσσουν μεταξύ τους γενετικό υλικό.

ΕΥΡΩΠΑΙΚΗ
ΟΜΟΣΠΟΝΔΙΑ
ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΟΜΑΔΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ
ΓΙΑ ΤΗ ΔΗΜΟΣΙΑ
ΑΝΤΙΛΗΨΗ ΓΙΑ ΤΗ
ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ



ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Για περισσότερες πληροφορίες όσον αφορά τα «Σύντομα Νέα» και άλλες δημοσιεύσεις και δραστηριότητες της Ευρωπαϊκής Ομοσπονδίας Βιοτεχνολογίας, της Ομάδας Εργασίας για τη Δημόσια Αντίληψη για τη Βιοτεχνολογία, επικοινωνήστε με:

Prof. Dr Richard Braun (Πρόεδρος)
Bio-Link
Postfach 208
CH-3000 Bern 11
Tel & fax: +41 31 8320000
Email: rdbraun@bluewin.ch

Dr David J Bennett (Γραμματέας)
Secretariat, EFB Task Group on Public
Perceptions of Biotechnology
Oude Delft 60
NL-2611 CD Delft
Tel: +31 15 212 7800
Fax: +31 15 212 7111
Email: david.bennett@efbpublic.org
<http://efbweb.org/ppb>

Δρ Γ. Σακελλάρης
Γραφείο Επικοινωνίας και Βιοηθικής
Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών
Βασ. Κωνσταντίνου 48, 11635 Αθήνα
Τηλ: 010 72 73 735, Fax: 010 72 73 758
Email: gsak@eie.gr

© Copyright EFB Ομάδα Εργασίας για τη Δημόσια Αντίληψη για τη Βιοτεχνολογία, 2001.

Αυτά τα Σύντομα Νέα προορίζονται για πληροφόρηση και δεν αντιπροσωπεύουν τις απόψεις ή την πολιτική της Ευρωπαϊκής Ομοσπονδίας Βιοτεχνολογίας ή άλλου φορέα. Αυτή η δημοσίευση μπορεί να αναπαράχθει μόνο για σκοπούς έρευνας ή μελέτης, με την υποχρέωση να αναφέρεται στον κάτοχο του copyright με αντίστοιχη σημείωση. Σε άλλη περίπτωση κανένα μέρος αυτής δε μπορεί να αναπαράχθει χωρίς την άδεια του κατόχου του copyright.

Η ομάδα εργασίας ευχαριστεί θερμά τη συνεχή υποστήριξη και χρηματοδότηση της Ευρωπαϊκής Επιτροπής, Γενική Διεύθυνση Έρευνας, για αυτή και άλλες εκδόσεις.



Σύντομα Νέα

10

Σεπτέμβριος 2001

μεταφρασμένο από την
πρωτότυπη αγγλική έκδοση

Η παρουσία ενός αντιβιοτικού παρέχει ένα πλεονέκτημα στο ανθεκτικό βακτήριο και έτσι κάτω από αυτές τις συνθήκες αυξάνεται και εξαπλώνεται η ανθεκτικότητα.

Η ανακάλυψη, στις αρχές του 20ου αιώνα, της αντιβιοτικής – έναντι παραγόντων που προκαλούν ασθένειες – δράσης, είχε πολύ μεγάλη επίπτωση στην ιατρική. Ωστόσο, τα αντιβιοτικά χρησιμοποιήθηκαν χωρίς κανένα σημαντικό περιορισμό. Η χρησιμοποίηση των αντιβιοτικών από τον άνθρωπο έχει αυξήσει δραματικά την παγκόσμια εξάπλωσή τους και κατά συνέπεια έχει ευνοήσει την εξάπλωση των ανθεκτικών μικροβίων. Η διευρυμένη χρήση αντιβιοτικών στην κλινική ιατρική και στην κτηνιατρική αποτελεί την κύρια αιτία για την αυξανόμενη ανθεκτικότητα των βακτηρίων σε αντιβιοτικά. Επιπρόσθετα, τα αντιβιοτικά έχουν χρησιμοποιηθεί και εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται ευρύτατα σαν πρόσθετα ζωοτροφών, γεγονός που έχει επιδράσει στην επιλογή ανθεκτικών βακτηρίων μέσα σε υγιή ζώα. Τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται επίσης ευρέως για τον ψεκασμό καλλιιεργειών φυτών, οπωροφόρων δένδρων, αμπελιών κλπ για την προστασία τους έναντι των παθογόνων μικροοργανισμών.

Σήμερα η ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά είναι τόσο πολύ εξαπλωμένη ώστε ορισμένα από τα αντιβιοτικά πρώτης γενιάς να μη χρησιμοποιούνται πλέον. Η ανθεκτικότητα σε πάρα πολλά αντιβιοτικά των παθογόνων στελεχών *Staphylococcus* και *Mycobacterium tuberculosis*, ιδιαίτερα μέσα στα νοσοκομεία, προκαλεί ιδιαίτερη ανησυχία στην ιατρική κοινότητα. Η ανησυχία για τη χρήση των δεικτών ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά σε συνδυασμό με την συνολική διαχείριση της χρησιμοποίησης των αντιβιοτικών εκφράζεται, για παράδειγμα, στο παρακάτω απόσπασμα από την ιστοσελίδα του Βελγίου για τη Βιοασφάλεια: «Ένα τέτοιο σενάριο διαστρεβλώνει τη συνολική εικόνα της κακής χρήσης των αντιβιοτικών, υπογραμμίζοντας μια πολύ μικρή πλευρά της όλης προβληματικής γύρω από τη διαχείριση της χρησιμοποίησης των αντιβιοτικών. Επιπλέον, αυτό το “μοντέρνο” σενάριο είναι σε τελική ανάλυση επικίνδυνο για των δημόσια υγεία επειδή προωθεί την εικόνα του δένδρου που κρύβει το δάσος, τουλάχιστον σε ότι αφορά την οπτική γωνία της κοινής γνώμης. Από την άλλη, είναι μάλλον ευκολότερο πολιτικά και τεχνικά να απαγορευτεί η χρήση των δεικτών ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά στα διαγονιδιακά φυτά στη βάση της αρχής της πρόληψης, παρά να ρυθμιστεί η αγορά ζωοτροφών και να ελεγχθούν οι μη συμβατικές γεωργικές πρακτικές της». (http://biosafety.ihe.be/ARGMO/GMO_Plants.html).

Οι δείκτες ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά σαν εργαλεία στη βιοτεχνολογία φυτών

Από τα μέσα της δεκαετίας του '80 οι μέθοδοι της σύγχρονης βιοτεχνολογίας αναπτύχθηκαν για να βελτιώσουν τις γεωργικές καλλιέργειες με την εισαγωγή γενετικού υλικού το οποίο θα προσδίδει ωφέλιμα χαρακτηριστικά.

Υπάρχουν δύο τύποι γονιδίων-δεικτών ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται στα διαγονιδιακά φυτά:

1 Γονίδια καθοδηγούμενα από βακτηριακούς υποκινητές. Τα γονίδια αυτά χρησιμοποιήθηκαν στα πρώτα βήματα της προσπάθειας συναρμολόγησης τμημάτων DNA που προορίζονταν για μεταφορά σε φυτικά κύτταρα. Ο σκοπός των γονιδίων αυτών ήταν να οδηγήσουν στον πολλαπλασιασμό των τμημάτων του κατασκευασμένου DNA στα βακτήρια – αποδέκτες. Το γονίδιο που παρέχει ανθεκτικότητα στην αμπικιλίνη ανήκει στην κατηγορία αυτή. Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά που περιέχουν τέτοια γονίδια ανήκουν στην πρώτη γενιά της τεχνολογίας, ενώ η σύγχρονη τεχνολογία

επιτρέπει την απομάκρυνση αυτών των γονιδίων πριν από την έναρξη της διαδικασίας μεταφοράς στο φυτό.

2 Γονίδια που επιτρέπουν την επιλογή εκείνων των φυτικών κυττάρων τα οποία έχουν προσλάβει το τμήμα του DNA που περιέχει την πληροφορία για το γνώρισμα ή το χαρακτηριστικό που μας ενδιαφέρει. Η εισαγωγή ενός γονιδίου σε ένα φυτικό κύτταρο είναι μια διαδικασία με πολύ μικρή απόδοση καθώς από τα πολλά εκατομμύρια κυττάρων που χρησιμοποιούνται, μόνο μερικές χιλιάδες κύτταρα προσλαμβάνουν το επιθυμητό γονίδιο. Η μεταφορά ενός γονιδίου δείκτη της ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά μαζί με το γονίδιο που μας ενδιαφέρει επιτρέπει την επιλογή πολύ λίγων κυττάρων καθώς τα κύτταρα αυτά τα οποία έχουν προσλάβει και τα δύο γονίδια θα επιβιώσουν και θα πολλαπλασιαστούν παρουσία του αντίστοιχου αντιβιοτικού μέσα στο θρεπτικό υλικό. Ένα γενετικά τροποποιημένο φυτό θα αναπτυχθεί πλέον από αυτά τα τροποποιημένα κύτταρα, ενώ ο δείκτης δε χρειάζεται πλέον.

Το χρονικό διάστημα που απαιτείται για την ανάπτυξη μιας γενετικά τροποποιημένης ποικιλίας με ένα νέο χαρακτηριστικό γνώρισμα συνήθως ξεπερνά τα 10 χρόνια. Θέματα που σχετίζονται με την ασφάλεια του προϊόντος εξετάζονται σε κάθε στάδιο της ανάπτυξής του. Η διαδικασία αυτή αρχίζει με την επιλογή των κατάλληλων πρωτεϊνών και γονιδίων που θα εισαχθούν στο φυτό, συνεχίζεται με πειράματα για την αξιολόγηση πιθανών επιπτώσεων στην ανθρώπινη υγεία από την κατανάλωση της ΓΤ ποικιλίας και στη συνέχεια με αρκετών χρόνων δοκιμασίες πεδίου με τη γενετικά τροποποιημένη ποικιλία για να αξιολογηθούν πιθανές επιπτώσεις στο περιβάλλον.

Οι δείκτες ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη των γενετικά τροποποιημένων ποικιλιών έχουν επιλεγεί από τους επιστήμονες ώστε να πληρούν διάφορα κριτήρια ασφάλειας. Σε αυτά περιλαμβάνονται η απαιτησιότητα των δεικτών να συναντώνται συχνά στη φύση σε μικροβιακούς πληθυσμούς (οι περισσότεροι έχουν απομονωθεί από κοινά βακτήρια που υπάρχουν στο ανθρώπινο έντερο) και να προσδίδουν στα βακτήρια ανθεκτικότητα σε μία μικρή γκάμα εξειδικευμένων αντιβιοτικών με περιορισμένη εφαρμογή στην ιατρική και την κτηνιατρική.

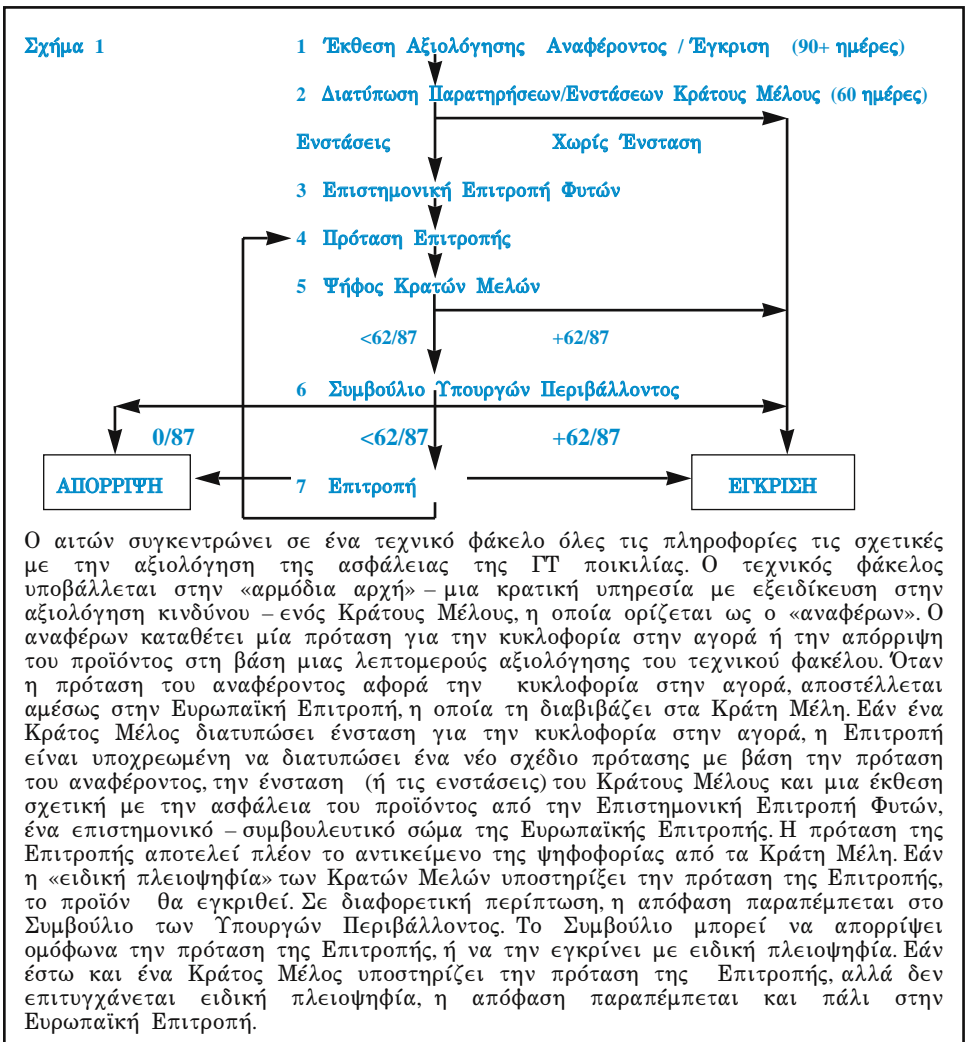
Ο πλέον διαδεδομένος δείκτης ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά, που χρησιμοποιείται για την επιλογή τροποποιημένων φυτικών κυττάρων είναι το γονίδιο *nrII*, το οποίο ονομάζεται επίσης και *aph(3')-II*, και το οποίο παρουσιάζει ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά νεομυκίνη και καναμυκίνη. Το γονίδιο αυτό είναι παρόν στα δέκα από τα δεκατέσσερα ΓΤ φυτά τα οποία περιέχουν δείκτη ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά και τα οποία έχουν υποβληθεί για έγκριση κυκλοφορίας στην Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ). Για παράδειγμα, έχει χρησιμοποιηθεί στην τομάτα με το χαρακτηριστικό γνώρισμα καθυστέρησης της ωρίμανσης, και στις ανθεκτικές στα ζιζανιοκτόνα και με προστασία από τα έντομα ποικιλίες αραβόσιτου και βάμβακος. Η επιλογή της χρήσης αυτού του γονιδίου-δείκτη ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά στηρίχθηκε στο γεγονός ότι τα αντιβιοτικά νεομυκίνη και καναμυκίνη δεν είναι σημαντικά στην ιατρική και στο ότι, κατά μέσο όρο, το 20-40% των βακτηρίων που υπάρχουν φυσιολογικά στο πεπτικό σύστημα του ανθρώπου και των ζώων είναι ήδη ανθεκτικά στην καναμυκίνη. Τα ανθεκτικά σε καναμυκίνη/νεομυκίνη βακτήρια είναι ευρέως διαδεδομένα στη φύση, με το ποσοστό τους να εξαρτάται από την πηγή από την οποία απομονώνονται και με το μέγιστο επίπεδο να συναντάται στα περιττώματα των χοίρων.

Ρυθμιστικό πλαίσιο και ρυθμιστικές αποφάσεις στις ΗΠΑ και την ΕΕ

Πριν κυκλοφορήσει στην αγορά της Ευρωπαϊκής Ένωσης μια γενετικά τροποποιημένη ποικιλία θα πρέπει να δοθούν αρκετές εγκρίσεις σύμφωνα με τις εθνικές και την Ευρωπαϊκή νομοθεσία. Τα δύο σημαντικότερα νομοθετήματα σχετικά με την εμπορευματοποίηση είναι η Οδηγία 90/220/ΕΟΚ για την απελευθέρωση στο περιβάλλον και την κυκλοφορία στην αγορά Γενετικά Τροποποιημένων Οργανισμών (ΓΤΟ) και ο Κανονισμός 258/97 για τα Νέα Τρόφιμα και τα Νέα Συστατικά Τροφίμων. Η βασική διαδικασία για τη λήψη απόφασης με βάση και τα δύο νομοθετήματα είναι παρόμοια. Η διαδικασία λήψης απόφασης για τις ΓΤ ποικιλίες σύμφωνα με την Οδηγία 90/220/ΕΟΚ περιγράφεται στο Σχήμα 1.

Η διαμάχη γύρω από την ασφάλεια των δεικτών ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά στην ΕΕ άρχισε το 1996 κατά την έγκριση του αραβόσιτου της Novartis, του CG176, το οποίο περιέχει ένα γονίδιο ανθεκτικότητας στην αμπικιλίνη. Στο Ηνωμένο Βασίλειο (ΗΒ), η Συμβουλευτική Επιτροπή για τα Νέα Τρόφιμα και τις Νέες Διαδικασίες (ACNFP) έπαιξε κυρίαρχο ρόλο στην υποστήριξη επιχειρημάτων εναντίον της έγκρισης του προϊόντος αυτού επειδή το γονίδιο, όταν εκφράζεται σε βακτήρια, παρέχει ανθεκτικότητα στο σημαντικό για την κλινική ιατρική αντιβιοτικό αμπικιλίνη. Με βάση τις ανησυχίες που εκφράστηκαν στο ΗΒ, η πρόταση της Επιτροπής για την κυκλοφορία αυτού του προϊόντος δεν απέσπασε την ειδική πλειοψηφία των Κρατών Μελών και στο επίπεδο του Συμβουλίου των Υπουργών Περιβάλλοντος. Καθώς τα Κράτη Μέλη απέτυχαν να πάρουν μία απόφαση, η Επιτροπή ενέκρινε την κυκλοφορία του προϊόντος μετά από επιπρόσθετες αξιολογήσεις από τρεις Επιστημονικές Επιτροπές της Ευρωπαϊκής Επιτροπής. Κάθε μία από τις τρεις αυτές Επιστημονικές Επιτροπές κατέληξε στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχει κανένας σημαντικός λόγος ανησυχίας από την κυκλοφορία του προϊόντος για κανένα από τους τομείς τροφίμων, ζωοτροφών και περιβάλλοντος. Η Γαλλική κυβέρνηση ενέκρινε την καλλιέργεια του προϊόντος με τον όρο της παρακολούθησης της αυξημένης αντίστασης στα έντομα και της πιθανής μεταφοράς του γονιδίου ανθεκτικότητας στην αμπικιλίνη σε άλλους μικροοργανισμούς. Οι προσπάθειες παρακολούθησης απέτυχαν μέχρι τώρα καθώς η ανθεκτικότητα στην αμπικιλίνη συναντάται σε πάνω από το 10% των βακτηρίων στο περιβάλλον και ένα γονίδιο το οποίο θα μπορούσε υποθετικά να μεταφερθεί από τον ΓΤ αραβόσιτο σε ένα βακτήριο στο περιβάλλον δε μπορεί να διακριθεί από το γονίδιο το οποίο υπάρχει ήδη ευρύτατα διαδεδομένο στον βακτηριακό πληθυσμό. Εξαιτίας της μη αποδοχής από την αγορά των ΓΤ ποικιλιών, ο ΓΤ αραβόσιτος δεν καλλιιεργήθηκε σε περισσότερα από 500 εκτάρια στη Γαλλία.

Ρυθμιστικές αποφάσεις που βασίζονται στην Οδηγία 90/220/ΕΟΚ – η οποία θα αντικατασταθεί τον Οκτώβριο του 2002 από την Οδηγία 2001/18/ΕΕ – έχουν εγκρίνει την κυκλοφορία μιας ΓΤ ποικιλίας αραβόσιτου η οποία περιέχει τον *nrII* δείκτη ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικό. Τέσσερις άλλες πιο πρόσφατες αιτήσεις που επίσης περιείχαν το *nrII* δε συγκέντρωσαν την απαιτούμενη ειδική πλειοψηφία και από τότε τρεις αποφάσεις έχουν αναβληθεί. Τα Κράτη Μέλη και η Επιτροπή θα εξασφαλίσουν ότι οι ΓΤΟ οι οποίοι περιέχουν γονίδια που εκφράζουν ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται κλινική ιατρική και η κτηνιατρική, θα υποβληθούν σε ιδιαίτερη εξέταση κατά την διαδικασία αξιολόγησης του περιβαλλοντικού κινδύνου, με την προοπτική να ταυτοποιηθούν και να αποσυρθούν σταδιακά οι δείκτες ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά των ΓΤΟ οι



οποίοι μπορεί να έχουν αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου και στο περιβάλλον. Τα γονίδια δεικτών με κλινικό ενδιαφέρον θα αποσυρθούν σταδιακά μέχρι το 2005.

Αξιολόγηση της ασφάλειας των γενετικά τροποποιημένων ποικιλιών με ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά

Η αξιολόγηση της ασφάλειας των ποικιλιών που περιέχουν δείκτες ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά έχει διερευνηθεί εκτεταμένα από εμπειρογνώμονες διεθνώς αναγνωρισμένων επιστημονικών φορέων και επιστημονικών επιτροπών στην Ευρωπαϊκή Ένωση και από κυβερνητικούς εμπειρογνώμονες από άλλες χώρες μεταξύ των οποίων τον Καναδά, την Ιαπωνία, την Ελβετία και τις Ηνωμένες Πολιτείες. Οι εμπειρογνώμονες αξιολόγησαν την ασφάλεια των ποικιλιών που περιέχουν το γονίδιο *nrII* που δίνει ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά καναμικίνη και νεομικίνη, το γονίδιο *aad* που δίνει ανθεκτικότητα στη στρεπτομικίνη και σπεκτινομικίνη και το γονίδιο *bla* που δίνει ανθεκτικότητα στην αμπικιλίνη. Συμπερασματικά ανέφεραν ότι ο κίνδυνος μεταφοράς γονιδίων από τις διαγονιδιακές ποικιλίες που περιέχουν αυτά τα γονίδια στο μικροβιακό πληθυσμό είναι αμελητέος και, αν συμβεί, δε θα επηρεάσει την ήδη μεγάλη συχνότητα ύπαρξης ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά των μικροβιακών πληθυσμών. Η Επιστημονική Επιτροπή των Φυτών της Ευρωπαϊκής Επιτροπής έκανε μία γνωμοδότηση για την ασφάλεια του προϊόντος αραβόσιτου Β1 με προστασία από τα έντομα που περιέχει το γονίδιο *prII*:

Τα συμπεράσματά τους βασίζονται στις ακόλουθες παρατηρήσεις:

1 Οι δείκτες με ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται στη

βιοτεχνολογία φυτών έχουν ληφθεί από βακτήρια που υπάρχουν στη φύση. Το γονίδιο *nrII* ειδικότερα έχει απομονωθεί από βακτήρια του ανθρώπινου εντέρου. Οι δείκτες που υπάρχουν στα εγκεκριμένα προϊόντα είναι ήδη διαδεδομένοι γιατί υπάρχουν αποτελεσματικοί φυσικοί μηχανισμοί μεταφοράς για να μεταφέρουν τα γονίδια μεταξύ των βακτηριακών κυττάρων. Η διαδικασία αυτή προσφέρει πλεονεκτήματα στα βακτήρια. Κάποιοι μικροβιακοί πληθυσμοί μπορούν γι' αυτό το λόγο να δράσουν σε δεξαμενές για κάποια γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά τα οποία έτσι εξαπλώνονται γρήγορα σε απόκριση στις συνθήκες επιλογής.

2 Τα αντιβιοτικά που απενεργοποιούνται από το *nrII*, η καναμικίνη και η νεομικίνη χρησιμοποιούνται σπάνια στη θεραπευτική αγωγή ανθρώπων γιατί έχουν αντικατασταθεί από λιγότερο τοξικά αντιβιοτικά με μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα.

3 Δεν υπάρχει γνωστός μηχανισμός για τη μεταφορά γονιδίων από φυτικά κύτταρα σε βακτήρια. Η μεταφορά γονιδίων σε μικροοργανισμούς του εδάφους θα μπορούσε θεωρητικά να συμβεί στα χρώαφια που καλλιεργούνται γενετικά τροποποιημένες ποικιλίες. Εν τούτοις, τέτοια φαινόμενα δεν έχουν ακόμα αποκαλυφθεί. Τόσο το βακτηριακό όσο και το φυτικό DNA έχει δείχθει ότι παραμένουν σταθερά στο χώμα για εβδομάδες ή μήνες δεσμευόμενο στην επιφάνεια των σωματιδίων του χώματος. Άρα η διαθεσιμότητα σε εύρος χρόνου του φυτικού DNA - ένας σημαντικός παράγοντας για τον προσδιορισμό της πιθανότητας της μεταφοράς γονιδίων - είναι πιθανό να είναι μεγαλύτερη στο

χώμα παρά στο έντερο. Εν τούτοις ενώ κάποια βακτήρια έχουν την ικανότητα να λαμβάνουν αυθόρμητα ελεύθερο DNA, θα πρέπει να ξεπεραστούν πολυάριθμα εμπόδια πριν ακεραία γονίδια από ένα φυτό μπορέσουν να ληφθούν από το φυσικό περιβάλλον και καταφέρουν να είναι λειτουργικά και διατηρήσιμα σε βακτήρια. Ένα τέτοιο γεγονός δεν έχει δείχθει ποτέ ότι συμβαίνει κάτω από φυσικές συνθήκες. Ακόμα και αν η μεταφορά γινόταν σε μία πολύ χαμηλή συχνότητα, αυτό δε θα αύξανε σημαντικά τον αριθμό των βακτηρίων που έχουν ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικά και υπάρχουν ήδη στη φύση.

4 Ο ρυθμός της μεταφοράς DNA μεταξύ των βακτηρίων κάτω από τις βέλτιστες συνθήκες στη φύση βρίσκεται στην περιοχή του 10^{-2} με 10^{-3} . Η εκτιμώμενη συχνότητα μεταφοράς του γονιδίου-δείκτη *prII* από τα διαγονιδιακά φυτά σε βακτήρια κάτω από τις βέλτιστες συνθήκες είναι 10^{-17} και άρα θεωρείται ότι είναι ασήμαντη. Το γονίδιο *nrII* αντιστοιχεί σε μόνο 0,0004% του συνολικού γονιδιώματος του αραβόσιτου και θα συναγωνιστεί με το υπόλοιπο DNA για πρόσληψη του από το βακτήριο. Η διαθεσιμότητα ελεύθερου DNA, προερχόμενου από γενετικά τροποποιημένο φυτό, στο στομάχι ή τη γαστρεντερική οδό είναι ακόμα πιο περιορισμένη εξαιτίας της ταχείας πέψης από το παγκρεατικό υγρό και το όξινο σάλιο. Η συμμετοχή του γονιδίου *nrII* από τα διαγονιδιακά φυτά στη συνολική δεξαμενή των βακτηρίων με ανθεκτικότητα στην καναμικίνη φαίνεται να είναι ακόμα πιο ασήμαντη όταν συγκριθεί με τη μεγάλη δεξαμενή γονιδίων που παρέχουν ανθεκτικότητα στην καναμικίνη και που ήδη υπάρχει στα βακτήρια και το υψηλό επίπεδο μεταφοράς γονιδίων που σταθερά συμβαίνει στους μικροβιακούς πληθυσμούς. Άρα ένα βακτήριο είναι αρκετές τάξεις μεγέθους πιο πιθανό να πάρει ένα γονίδιο ανθεκτικότητας από ένα άλλο βακτήριο παρά από το DNA μιας γενετικά τροποποιημένης ποικιλίας.

5 Οι δείκτες ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά προσφέρουν ανθεκτικότητα μόνο απέναντι σε συγκεκριμένα αντιβιοτικά. Οι δείκτες ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά δεν έχουν σαν αποτέλεσμα την παραγωγή αντιβιοτικών. Άρα δεν υπάρχουν αντιβιοτικά στα τρόφιμα που προέρχονται από φυτά που παράγονται με τη χρήση βιοτεχνολογίας.

Υπάρχουν εναλλακτικές λύσεις στους δείκτες ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά και αυτοί μπορούν να απομακρυνθούν;

Εναλλακτικές λύσεις στους δείκτες ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά

Οι εναλλακτικοί δείκτες επιλογής για τα φυτά χωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Κάποιοι δείκτες προσφέρουν ανθεκτικότητα σε κάποιες άλλες, εκτός από τα αντιβιοτικά, χημικές ουσίες που σκοτώνουν τα φυτικά κύτταρα, πχ ζιζανιοκτόνα ή θανατηφόρες συγκεντρώσεις των αμινοξέων λυσίνη και θρεονίνη. Το ένζυμο που προσφέρει ανθεκτικότητα σε υψηλές συγκεντρώσεις λυσίνης και θρεονίνης μπορεί να εμπλακεί στη βιοσύνθεση αμινοξέων και αν εκφραστεί σε υψηλά επίπεδα να προκαλέσει ανώμαλη ανάπτυξη των φυτών. Επομένως, τα σχετικά γονίδια δεν είναι κατάλληλα σε συστήματα δεικτών. Η παρουσία των δεικτών ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα μπορεί να είναι ανεπιθύμητη. Εδώ και χρόνια το glyphosate είναι το πιο αποτελεσματικό ζιζανιοκτόνο για τον έλεγχο του σπόρου της πατάτας σε περιοχές με εύκρατο κλίμα και ήπιους χειμώνες, άρα οι ανθεκτικές στο glyphosate πατάτες δε θα ήταν κατάλληλες γι' αυτές τις περιοχές. Επιπλέον, τα φυτά που

περιέχουν δείκτες ανθεκτικότητας στα ζιζανιοκτόνα και τα οποία δεν είναι εγγεγραμμένα σαν ποικιλίες ανθεκτικές στα ζιζανιοκτόνα μπορεί να οδηγήσουν σε κακή χρήση των ζιζανιοκτόνων.

Άλλα εναλλακτικά συστήματα δεικτών βασίζονται στην ανάπτυξη των φυτικών κυττάρων παρουσία κάποιων ασυνήθιστων θρεπτικών ουσιών, στις οποίες περιλαμβάνονται η κυτοκίνη, τα γλυκοκορτινοειδή, η ξυλόζη ή η μαννόζη και οι οποίες δεν επιτρέπουν στα μη τροποποιημένα φυτικά κύτταρα να αναπτυχθούν. Για παράδειγμα, συνήθως τα φυτικά κύτταρα δε χρησιμοποιούν μαννόζη σαν πηγή σακχάρων. Η εισαγωγή ενός γονιδίου που επιτρέπει στη μαννόζη να μεταβολίζεται στα φυτικά κύτταρα και η ακόλουθη καλλιέργεια αυτών των κυττάρων σε υλικό καλλιέργειας που περιέχει μαννόζη σαν τη μοναδική πηγή σακχάρων θα επιτρέψει την ανάπτυξη μόνο αυτών των κυττάρων τα οποία έχουν προσλάβει το γονίδιο.

Όταν αυτά τα συστήματα, τα οποία βρίσκονται ακόμα στη φάση ανάπτυξης, δουλέψουν αξιόπιστα σε μεγάλη κλίμακα, σε μία ευρεία περιοχή περιβαλλοντικών συνθηκών, θα πρέπει να διεξαχθεί η αξιολόγηση των κινδύνων για να εκτιμηθεί την πιθανή οικολογική επίδραση των φυτών που μπορεί να μεγαλώσουν σε ένα νέο υπόστρωμα, την επίδραση στο συνολικό μεταβολισμό των φυτών και τις συνέπειες στη διαίτα των ανθρώπων ή των ζώων από τα αυξημένα επίπεδα μεταβολιτών σε αυτές τις ποικιλίες τα οποία μπορεί να μην υπάρχουν στα συμβατικά ανάλογά τους.

Απομάκρυνση των Δεικτών

Δεν είναι δυνατό να απομακρυνθούν τα γονίδια-δείκτες από τη στιγμή που θα ενσωματωθούν σε ένα φυτικό γονιδίωμα εκτός αν κάποιος ειδικός μηχανισμός απομάκρυνσης ενσωματωθεί μαζί με το γονίδιο-δείκτη και το γονίδιο που μας ενδιαφέρει τη στιγμή της τροποποίησης. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, είναι δυνατόν να αποφευχθεί η εισαγωγή στα φυτικά κύτταρα γονιδίων-δεικτών ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά τα οποία χρησιμοποιούνται μόνο για τη «συναρμολόγηση» και τον πολλαπλασιασμό των «κατασκευασμάτων» DNA στα βακτήρια και άρα δεν είναι απαραίτητα κατά το στάδιο τροποποίησης του φυτού.

Η απομάκρυνση πριν την εμπορευματοποίηση των γονιδίων-δεικτών τα οποία καθοδηγούνται από φυτικούς υποκινητές και χρησιμοποιούνται για την επιλογή των φυτικών κυττάρων έχει γίνει ο στόχος τόσο των καταναλωτών όσο και της βιομηχανίας. Διεξάγεται εκτεταμένη έρευνα με αυτό το σκοπό τόσο από τη βιομηχανία όσο και από ακαδημαϊκά ιδρύματα. Ανάμεσα στις τεχνολογίες που δοκιμάζονται είναι:

- 1 Η χρήση μεγανουκλεασών (πχ. το σύστημα Cre/lox). Πρόκειται για ένζυμα τα οποία μπορούν εξειδικευμένα να αναγνωρίζουν μακριές αλληλουχίες DNA. Αυτές οι αλληλουχίες αναγνώρισης εισάγονται και από τις δύο πλευρές των γονιδίων-δεικτών ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά που θα εισαχθούν στο φυτικό κύτταρο. Όταν τα τροποποιημένα κύτταρα ελεγχθούν με το αντίστοιχο αντιβιοτικό, η μεγανουκλεάση εισάγεται επίσης στο φυτικό κύτταρο και θα επιτρέψει την αποκοπή του γονιδίου-δείκτη ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. Η τεχνολογία αυτή έχει αποδειχθεί ότι είναι πολύ αποτελεσματική σε κάποια φυτά αλλά δύσκολη στο χειρισμό σε άλλα, πιθανά επειδή η μεγανουκλεάση αναγνωρίζει σημεία υδρόλυσης στο ίδιο το φυτικό γονιδίωμα.
- 2 Η παρουσία ομόλογων αλληλουχιών DNA και στις δύο πλευρές του γονιδίου-δείκτη ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά μπορεί να

επιτρέψει τον τυχαίο ανασυνδυασμό και την απομάκρυνση του γονιδίου. Η διαδικασία αυτή του ομόλογου ανασυνδυασμού συμβαίνει σε χαμηλή συχνότητα και μπορεί να εξειδικευτεί ανά φυτό.

- 3 Είναι πιθανό να εισαχθούν το χαρακτηριστικό που μας ενδιαφέρει και το γονίδιο-δείκτης ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά σε διαφορετικά «κατασκευάσματα» DNA. Ακολουθώντας την τροποποίηση κάθε μόριο ενσωματώνεται σε ένα διαφορετικό χρωμόσωμα. Σε αυτήν την περίπτωση, στην επόμενη γενιά είναι δυνατόν να βρεθεί το χαρακτηριστικό που ενδιαφέρει απομονωμένο από το γονίδιο-δείκτη. Η συχνότητα ενσωμάτωσης σε διαφορετικά χρωμοσώματα μπορεί να είναι αρκετά χαμηλή συγκρινόμενη με την ενσωμάτωση στην ίδια θέση. Οι παράγοντες που υπεισέρχονται στη ρύθμιση αυτών των συχνοτήτων δεν έχουν κατανοηθεί ακόμα.

Εκτεταμένη προσπάθεια επενδύεται από τους ερευνητές για την ανάπτυξη αυτών των τεχνολογιών. Κάποια προϊόντα που χρησιμοποιούν τη μία ή την άλλη από αυτές τις στρατηγικές βρίσκονται ήδη καθ'οδόν. Ωστόσο σήμερα καμία από αυτές τις τεχνολογίες δε μπορεί να εφαρμοστεί σε βάση ρουτίνας για όλες τις ποικιλίες. Η ανάπτυξη αυτών των τεχνολογιών πιθανά θα περιοριστεί στην αρχή στα εργαστήρια που έχουν γερή υποδομή. Τα εργαστήρια αυτά θα πρέπει να είναι ικανά να αντέξουν το οικονομικό κόστος της ανάπτυξης ενός μεγαλύτερου αριθμού σειρών διαγονιδιακών φυτών που περιέχουν τα γονίδια-δείκτες στα αντιβιοτικά από αυτές που χρειάζονται για τη σάρωση που θα ακολουθήσει για την απομάκρυνση των γονιδίων-δεικτών.

Τροποποίηση των ρυθμιστικών στοιχείων των γονιδίων-δεικτών

Η ανησυχία για τα γονίδια-δείκτες ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά είναι κυρίως για τη μεταφορά και την έκφρασή τους σε βακτηριακά κύτταρα και ως εκ τούτου θα μπορούσε να έχει αναπτυχθεί μία τεχνολογία που θα προλάβαινε την έκφραση αυτή. Ήδη τα γονίδια που χρησιμοποιούνται για επιλογή στα φυτά ελέγχονται από αλληλουχίες φυτικών υποκινητών που κάνουν απίθανη την έκφρασή τους στα βακτήρια. Η εισαγωγή μιας αλληλουχίας ιντρονίου στο γονίδιο-δείκτη θα περιορίζε την έκφρασή του στα φυτικά κύτταρα και θα προλάβαινε οριστικά την έκφρασή του σε βακτήρια. Τα ιντρόνια είναι αλληλουχίες DNA οι οποίες διακόπτουν φυσικά τις αλληλουχίες που κωδικοποιούνται στα ζωικά και τα φυτικά κύτταρα. Αυτά είναι εφοδιασμένα με μηχανισμούς που επιτρέπουν την απομάκρυνσή τους κατά τη διαδικασία της μεταγραφής ενώ τα βακτήρια δεν είναι εφοδιασμένα να κάνουν το ίδιο πράγμα και άρα θα ήταν ανίκανα να διαβάσουν ένα γονίδιο που περιέχει ιντρόνια.

Τα γονίδια-δείκτες ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά όπως το γονίδιο *hprtII* που παρέχει ανθεκτικότητα έναντι στην καναμικίνη είναι πολύ καλά μελετημένα σε όλα τα σχετικά θέματα όπως η λειτουργία τους, οι βιοχημικές τους ιδιότητες και η επικράτησή τους στη βακτηριακή κοινότητα. Η ασφάλειά τους έχει εξεταστεί και αξιολογηθεί καλά. Κάτω από αυτές τις συνθήκες, το να επιτευχθεί το ίδιο επίπεδο εμπιστοσύνης που υπάρχει για το *hprtII* και με άλλα συστήματα επιλογής είναι κάτι δύσκολο και μακρινό. Οποιοσδήποτε ανησυχίες απομένουν σε σχέση με αυτά τα γονίδια θα μπορούσαν να αρθούν με την προσθήκη ενός ιντρονίου.

Συμπεράσματα

Οι επιστήμονες συμφωνούν ότι η κύρια αιτία για την εξάπλωση της ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά είναι η εκτεταμένη χρήση των αντιβιοτικών στην ιατρική και την κτηνιατρική. Η δημόσια ανησυχία για τη χρήση των ΓΤ ποικιλιών με δείκτες ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά είναι, εν τούτοις, ευρέως διαδεδομένη ειδικά από τότε που τα μέσα ενημέρωσης ασχολούνται κατ'επανάληψη με αυτό. Αρκετές κυβερνήσεις στην Ευρωπαϊκή Ένωση έχουν συστήσει τη σταδιακή απόσυρση των ΓΤ ποικιλιών που περιέχουν ποιοιοσδήποτε δείκτες ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά. Εν τούτοις, ο κίνδυνος διακτύβωσης της αποτελεσματικότητας των αντιβιοτικών θεωρείται ότι είναι εξαιρετικά μικρός. Οι περισσότερες εναλλακτικές λύσεις βρίσκονται ακόμα στη φάση ανάπτυξης τους, δεν είναι ευρέως διαθέσιμες και μπορεί να εφαρμόζονται δύσκολα σε μία λιγότερο ανεπτυγμένη χώρα.

Ακόμα και αν οι δείκτες ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά ή άλλοι δείκτες δεν έχει αποδειχθεί ότι είναι επιβλαβείς, όπως συμβαίνει γενικά, θα ήταν προτιμότερο μακροπρόθεσμα οι διαγονιδιακές ποικιλίες να μετέφεραν μόνο αυτά τα γονίδια που είναι απαραίτητα για την απόδοση της ποικιλίας και όχι τους δείκτες επιλογής.

Σε απόκριση στις ανησυχίες του κοινού και με την επέκταση του αριθμού των διαθέσιμων εργαλείων στη Μοριακή Βιολογία φυτών, ερευνώνται εναλλακτικοί δείκτες και συστήματα απομάκρυνσης δεικτών. Επειδή ο χρόνος για την ανάπτυξη εναλλακτικών μεθόδων ποικίλλει μεταξύ των διαφορετικών ποικιλιών, θα είναι απαραίτητο να γίνει μία σταδιακή μετάβαση σε τέτοιες τεχνολογίες. Θα είναι επίσης κρίσιμο να διεξαχθούν αξιολογήσεις ασφάλειας στα νέα συστήματα πριν χρησιμοποιηθούν σε προϊόντα που θα εμπορευματοποιηθούν. Η αντικατάσταση της τεχνολογίας που κάνει χρήση γονιδίων-δεικτών ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά όπως το *hprtII* θα είναι επιθυμητή όταν οι νέες τεχνολογίες έχουν επιβεβαιωθεί τουλάχιστον στον ίδιο βαθμό επιστημονικής γνώσης και εμπιστοσύνης σε σχέση με τη χρήση του γονιδίου *hprtII* και των προϊόντων που το περιέχουν.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Opinion of the scientific committee on plants regarding the submission for placing on the market of genetically modified insect resistant lines notified by the Pioneer Genetic SARL Company, 1998. (http://Europa.eu.int/comm/dg24/health/sc/scp/out10_en.html)
- Zentral Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS, Germany), Stellungnahme der ZKBS zur Biologischen Sicherheit von Antibiotika-Resistenzgenen im Genom gentechnisch veränderter Pflanzen <http://yellow-fever.rki.de/GENTEC/ZKBS/ZKBS-HTML/ALLGSTELL/99/ANTIBIOTIKA.HTM&1>
- WHO Food Safety Unit. *Health aspects of marker genes in genetically modified plants*, 1993. Report of a WHO Workshop.
- OECD, Environment Directorate Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on chemicals. *Working group on harmonization of regulatory oversight in biotechnology, Draft response to the G8. 2000*
- FAO/WHO *Safety aspects of genetically modified food of plant origin*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology. 2000.
- Nordic Working Group on Food Toxicology and Risk Assessment. S. Kärenlampi. *Health effects of marker genes in genetically engineered food plants*. 1996. TemaNord 1996: 530. Department of Biochemistry and Biotechnology, University of Kuopio, P.O. Box 1627, FIN-70211 Kuopio, Finland