



UTTALELSE OM SYNGENTA GENMODIFISERTE MAIS MIR604 (EFSA/GMO/UK/2005/11)

Vurdert og godkjent av Faggruppe for genmodifiserte organismer

DATO:16.12.05

SAMMENDRAG

Vurderingen av den genmodifiserte herbicidresistente og insektstolerante maislinjen MIR604 fra Syngenta er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet. Mattilsynet (MT) ber Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte maislinjen MIR604 til bruk i næringsmidler og fôrvarer.

Hybriden MIR604 er fremkommet ved genmodifisering av mais. Det kommersielle navnet til hybridene MIR604 på markedet i USA er Event MIR604. Hensikten med MIR604 er motstandsdyktighet mot enkelte insektsarter og toleranse overfor sukkerarten mannose.

Vurdering av den genmodifiserte maisen er basert på den dokumentasjonen som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA-net. Maisen MIR604 er vurdert i henhold til tiltenkt bruk og de prinsipper som er lagt til grunn i EFSA's retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter (EFSA 99, 2004) og Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) konsensusdokument for mais (OECD 2002). Den vitenskapelige vurderingen omfatter transformeringsprosessen, bruk av vektor og det transgene konstruktet, komparativ analyse av ernæringsmessig kvalitet, mineraler, kritiske toksiner, antinæringsstoffer, allergener og nye proteiner.

Analysene av ernæringsmessige viktige komponenter ble vurdert. Det er funnet statistiske forskjeller for enkelte komponenter. De statistiske forskjellene for disse komponentene er ikke konsistente da forskjellene som er påvist i enkelte forsøksfelt, ikke er påvist i de andre forsøksfeltene. Faggruppen anser analysene for å være tilstrekkelige for en vurdering av linje MIR604 til bruk som mat og fôr.

Maislinjen inneholder ikke antibiotikaresistensgener.

Informasjon vedrørende allergenisitet viser at for de parametre som er målt, har ikke de uttrykte proteinene likheter med kjente allergener eller egenskaper som tilsier at de er allergener. Det er imidlertid ikke vurdert om det uttrykte toksinet mCry3A kan ha adjuvanseffekter, det vil si øke utviklingen av allergisk respons mot andre proteiner.

Faggruppen finner det vanskelig å vurdere om næringsmidler og fôrvarer fra maisen MIR604 er mer allergifremkallende enn næringsmidler og fôrvarer fra umodifisert maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner Faggruppen imidlertid at

muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos næringsmidler og fôrvarer fra MIR604 i forhold til umodifisert mais med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Faggruppen mener at siden adjuvanseffekt av mCry3A ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes må det kreves av Syngenta å kommentere forsøkene som viser adjuvanseffekt av Cry1Ac i forhold til muligheten for adjuvanseffekt av mCry3A.

NØKKELORD

Genmodifisert mais, MIR604, insektsresistens, mannosetoleranse, PMI, mCry3A, helsemessig trygghet, helse.

BAKGRUNN

Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet er blitt bedt av Mattilsynet (MT) om en vitenskapelig risikovurdering av EFSA/GMO/UK/2005/11 genmodifisert mais (MIR604) til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Vurdering av den genmodifiserte maisen er basert på den dokumentasjonen som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA-net. MIR604 er vurdert i henhold til tiltenkt bruk og de prinsipper som er lagt til grunn i EFSA's dokument "Guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (EFSA 99, 2004). Ved vurdering av vesentlig likhet har Faggruppen lagt vekt på OECDs konsensus-dokument for mais (OECD 2002) og dens anbefaling av hvilke parametre som bør undersøkes.

I henhold til Vitenskapskomiteen for mattrygghets uttalelse på møtet i 23. april 2004 har Faggruppe for genmodifiserte organismer vedtatt at i de sakene hvor EFSA har kommet med sine uttalelser før Faggruppe for genmodifiserte organismer får sakene til behandling, skal søknadene behandles på samme måte som i EU-landene, dvs. ved en noe forenklet risikovurdering. Det vil imidlertid bli tatt hensyn til særnorske forhold der slike kan påvises.

Det er kun medlemmene i Faggruppen som har vurdert den genmodifiserte maisen.

OPPDRAK FRA MATTILSYNET

I sitt brev ber Mattilsynet Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte maisen. Bruksområdet som søknaden gjelder for er import, prosessering, næringsmidler og fôrvarer i henhold til EUs Forordning (EC) nr. 1829/2003, artiklene 3(1)(c) og 15(1)(c). Søknaden gjelder ikke for import og kultivering, og krever derfor ikke vurdering for miljørisiko i henhold til Direktiv 2001/18/EØF. Mattilsynet ber VKM om vurdering av helseaspekter ved disse produktene, og legge risikovurderingen inn på EFSA-net, og sende kopi av vurderingen til Mattilsynet.

Produktet som ønskes vurdert er:

Genmodifisert mais, EFSA/GMO/UK/2004/11 (MIR604). Unik kode er SYN-IR6Ø4-5.

Status i EU: Søknad under 1829/2003/EF. EFSA's frist for innspill er 16.12.05.

RISIKOVURDERING

Innledning

Den genmodifiserte maishybriden MIR604 ble vurdert ut fra ?s oppdrag. I henhold til Syngenta er søknaden kun for import og bruk som næringsmidler, fôrvarer og industrielle produkter, ikke for utsetting. Primærbruken av maiskorn i Norge i dag er til dyrefôr, men mais brukes også til industriell produksjon av etanol, maismel, popkorn, raffinert stivelse og søtningsprodukter.

Faggruppe for genmodifiserte organismer har på faggruppemøtet 02.02.05 vedtatt å bruke EFSAs retningslinjer som gruppens retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter. Prinsippene som er lagt til grunn for vurderingen, er derfor hentet fra EFSAs dokument "Guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (EFSA 99, 2004).

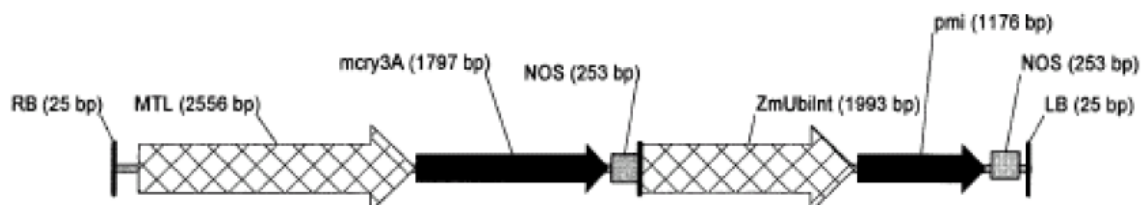
Faggruppe for genmodifiserte organismer vurderer søknaden om markedsføring av genmodifisert mais (EFSA/GMO/UK/2004/11) til bruk i næringsmidler og fôrvarer under forordning 1829/2003.

Bakgrunnsinformasjon

Beskrivelse av de innsatte genene:

Den genmodifiserte maislinjen MIR604 uttrykker insekts- og mannosetoleranse ved at et lineært DNA fragment fra plasmidet pZM26, ble overført til embryomaisceller med *Agrobacterium*-mediert transformasjon. DNA-fragmentet inneholder ikke antibiotika-resistensgen. Dette DNA fragmentet inneholder følgende gener og DNA elementer (se figur):

- MTL* promoter fra mais, fra et metallotionin-lik protein, hovedsakelig ekspresjon i røtter
- mCry3A* gen, en modifisert versjon fra *Bacillus thuringiensis*. Genet er optimalisert for uttrykk i mais.
- NOS* terminator, kommer fra *Agrobacterium*.
- ZmUbiIntron* – promoter fra mais polyubiquitin gen, inneholder genets første intron.
- PMI* gen fra bakterien *E. coli*. *PMI* gen uttrykker enzymet fosfomannose isomerase. Katalyserer isomerisering av mannose-6-fosfat til fruktose-6-fosfat. Enzymet er en seleksjonsmarkør.
- NOS* terminator, kommer fra *Agrobacterium*



Figur: Lineært DNA fragment fra plasmidet pZM26.

Karakterisering av geninnsettingen

Southern blot-, PCR- og sekvensanalyse viser at et nesten fullengde kopi av pZM26 rekombinante DNA-fragment er satt inn i maisens genom. Det er kuttet bort 44 bp fra 5'- og 43 bp fra 3'-delen av DNA fragmentet. Totalt er 8416 bp av T-DNAet satt inn i maisen. Det er også funnet tre nukleotidendringer i T-DNAet. En av endringene er i *MTL*-promoterens. De to andre er i den kodende delen av *pmi* gen. Disse endringene medfører to aminosyreendringer, valin i posisjon 61 er byttet ut med alanin (V61A) og glutamin i posisjon 210 med histidin (Q210H). Den første endringen er en konservativ endring, begge er alifatiske aminosyrer. Den andre endringen er substitusjonen av en syregruppe med en basisk gruppe. Disse endringene har ikke resultert i endringer i enzymets funksjon.

Western blot og påvisning med polyklonale antistoffer viser at både mCry3A og PMI proteinene har de forventede molekylvektene. mCry3A ble påvist i alt plantevev med unntak i pollen. I blad er de målte mengdene for mCry3A fra ca. 4 – 94 µg/g tørrvekt, i røtter ca. 7 – 62 µg/g tørrvekt, og i hel plante ca. 3 – 28 µg/g tørrvekt. Gjennomsnittsverdier i modne korn er fra ca. 0,8 – 2,0 µg/g tørrvekt. PMI ble påvist i lave mengder i de fleste vev. I blad er det for PMI målt fra ikke detekterbart – 2,1 µg/g tørrvekt, i røtter < 0,1 – ca. 1 µg/g tørrvekt, og i hel plante < 0,04 – 2 µg/g tørrvekt. Gjennomsnittsverdier i modne korn er < 0,07 – 0,5 µg/g tørrvekt. I pollen er mengden ca. 3,9 – 5,2 µg/g tørrvekt.

Påvisning av åpne leserammer (ORF)

Det er gjort studier for å påvise kodende sekvenser. Det er påvist seks mulige åpne leserammer både i 5'- og 3' flankerende områder. Det ble ikke påvist noen nye åpne leserammer.

Den genmodifiserte maisen ble tilbakekrysset flere ganger. Frø fra de fire tilbakekrysnings-generasjonene ble undersøkt. Blad fra alle generasjonene ble undersøkt for mCry3A og PMI. med Southern blot analyse. Analysene viser at det rekombinante DNA fragmentet er stabilt over fire generasjoner.

Analysen over stabiliteten av det innsatte rekombinante fragmentet synes å være tilstrekkelig.

Det konkluderes med at det er kun én kopi av ekspresjonskassetten i MIR604. Sammenlignende DNA-analyser mellom de forskjellige generasjonene fra hybridene MIR604 viser at bruttostørrelsen på det innsatte DNA-fragmentet er intakt. Det kan derfor ikke forventes endringer i ekspresjonen fra dette elementet.

Dokumentasjon av ”vesentlig likhet”

Analyse av ernæringsmessige viktige komponenter ble foretatt av to MIR604 hybrider og to kontrollhybrider fra 10 og 12 separate forsøksfelt i USA for 2002 og 2003. Som kontroll er det benyttet to umodifiserte kontrollhybrider som hevdes å ha samme genetisk bakgrunn som de genmodifiserte plantene. MIR604 og kontrollhybridene ble plantet i randomiserte blokkmønstre.

Hovedkomponenter i maiskorn og andre plantedeler:

Valget av analyseparametre er gjort i henhold til OECDs (OECD 2002) konsensusdokument for mais, og det er analysert for alle parametrene som er anbefalt i OECD dokumentet. Det ble analysert for protein, fett, aske, karbohydrater, ADF (acid detergent fibre), NDF (neutral

detergent fibre), total fiber, vann, aminosyrer, fettsyrer, kobber, jern, kalium, kalsium, kromat, magnesium, mangan, selen, sink, flere vitaminer, flere sekundære metabolitter og anti-næringsstoffene fytinsyre, inositol, trypsinhemmer, raffinose og fytosteroler. Analysene ble utført under god laboratoriepraksis (GLP).

Det er funnet statistiske forskjeller i mengde protein, vann og karbohydrater, men de signifikante forskjellene er mindre enn 10 %.

Fettsyresammensetning i maiskorn:

Fettsyresammensetningen for MIR604 er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Det ble analysert for 5 fettsyrer. Det er funnet statistiske forskjeller i mengde oljesyre mellom flere forsøksfelt, men verdiene mellom forsøksfeltene er ikke konsistente, og det er også funnet en høy grad av inkonsistens mellom de forskjellige hybridene innenfor feltene. Forskjellene er mindre enn 10 %, og verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Aminosyrer i maiskorn:

Analyser av aminosyrer er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument. Det er målt for 18 aminosyrer. Det er funnet flere statistiske forskjeller for vekstsesongen 2003, men disse forskjellene ble ikke påvist for vekstsesongen 2002. Forskjellene som ble målt er fra 1 - 10 %, og for alle aminosyrene ligger verdiene innenfor de typiske verdiene som er rapportert i litteraturen.

Vitaminer:

Vitaminer som i henhold til OECDs konsensusdokument for mais bør undersøkes for er A, B1, B2, B6, E, folat og niacin. Det er ikke målt for vitamin A, men for provitaminene beta-karoten og kryptoxantin. Det er også målt for alfa-, beta-, delta- og gammatokoferol. Det er funnet statistiske forskjeller for flere vitaminer, men disse er ikke konsistente. Kun for gammatokoferol er det observert forskjeller for begge de parede hybridene for vekstsesongen 2003. Gjennomsnittet er på 9-18 %. Verdiene er innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen.

Mineraler:

Mineralene som er målt er i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Mais er en viktig selenkilde i dyrefôr (Watson 1987). Det er også målt for mangan og krom. Det er påvist statistiske forskjeller for kalsium, sink og kalium. For kalsium er forskjellene funnet i kun ett av de seks forsøksfelt. Forskjellene i mengde sink ble bare påvist i vekstsesongen 2003. For kalium er det funnet statistiske forskjeller i forhold til kontroll på ca. 9-10 % for vekstsesongen 2003.

Faggruppen finner at forskjellene er små og ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Sekundære metabolitter og antiernæringskomponenter:

Det er analysert for fenolsyrene ferul- og p-koumarinsyre, furfural, fytinsyre, inositol, proteasehemmeren trypsinhemmer og for raffinose. Det er funnet statistiske forskjeller for inositol, ferul- og p-koumarinsyre, men forskjellene er mindre enn 14 %, og verdiene ligger innen for typiske verdier som er rapportert i litteraturen. Det er ikke målt for toksinene DIMBOA og MBOA.

Fytosteroler:

Det er målt for fytosterolene campesterol, beta-sitosterol og stigmasterol. Små, men statistiske forskjeller er funnet for campesterol og stigmasterol. Disse verdiene er lavere enn 20 %. OECDs dokument har ikke med analyser av steroler. Det er begrenset med historiske data, og faggruppen kan derfor ikke vurdere om de mengdene som er påvist er innenfor typiske verdier for mais.

Konklusjon:

Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametre. Verdiene for de enkelte analyserte komponentene, med unntak av fytosteroler, ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anser at de forskjellene som er påvist, ikke har noen helsemessig betydning.

Dokumentasjon av toksisitet og allegenisitet

Toksisitet:

Søknaden inneholder dokumentasjon på akutt fôringsforsøk med renfremstilt PMI og mCry3A fra bakterier.

Akuttstudie:

Det er utført akutt studie på mus med PMI og mCry3A protein. Studiene er utført i henhold til EUs (EEC 1992), EPAs (EPA 1998a) og OECDs (OECD 1987) retningslinjer for oral akuttoksisitetsstudier. De to proteinene er fremstilt fra bakterier. mCry3A i mengde på 2377 mg/kg kroppsvekt og PMI i mengde 3080 mg/kg kroppsvekt er fôret ved sondefôring til mus. Det er benyttet 5 hann- og hunnmus i studiet med Cry-proteinet og 7 hann- og 6 hunnmus i studiet med PMI. Hjerne, lever, nyrer og milt ble veid og utvalgt vev ble tatt ut for histopatologiske studier. Det er ikke vist tegn på toksisk påvirkning i noen av forsøkene etter 14 dager. Dyrene ble avlivet og det er ikke påvist organskader ved grov patologisk undersøkelse. Det var heller ikke påvist testrelaterte endringer i kroppsvekt, förinntak, organvekt og makro- og mikroskopisk patologi. Faggruppen finner disse studiene tilfredsstillende. Generelt, med unntak for allergene proteiner, er proteiner ikke akuttoksiske.

Fôringsforsøk på rotter:

Det ble utført et 13 ukers fôringsforsøk med hann- og hunnrotter, 4 grupper à 12 rotter/kjønn. Studien er gjort i henhold til EPAs (EPA 1998b) og OECDs (OECD 1998) retningslinjer for sub-kroniske toksisitetsstudier. Fôret bestod av 10 % og 41,5 % (vekt/vekt) maiskorn fra MIR604 og foreldrelinje (MIR604 negativ isolinje). Det er ikke angitt om det er undersøkt for

mengde Cry-toksin i kornet/melet som benyttes i fôringsforsøket. Undersøkelser og kliniske observasjoner av dyrene samt analyser av forskjellige parametere er utført er i henhold til EPAs og OECDs retningslinjer. Det ble påvist testrelaterte endringer i justert kroppsvekt for hannrotter som ble fôret med 10 % genmodifisert MIR604. Maksimum effekt var uke 12 med 9 % lavere justert kroppsvekt. Ved avslutning av forsøket, uke 14, er gjennomsnittsvektene for -GM og +GM henholdsvis $559.2 \pm 46,6$ gram og $511,3 \pm 56,2$ gram. Disse endringene kan skyldes et lavere fôrintak i +GM gruppen sammenlignet med -GM (kontrollgruppen). Fôrintaket var statistisk lavere i ukene 3, 6, 7, og 13. Hunnrotter som ble fôret med 10 % genmodifisert MIR604 har en noe høyere gjennomsnittlig justert kroppsvekt enn kontrollgruppen. Hannrotter som ble fôret med 41,5 % genmodifisert MIR604 viser ingen statistiske endringer i kroppsvekt i forhold til kontrollgruppen. Ved avslutning av forsøket, uke 14, er gjennomsnittsvektene for -GM og +GM henholdsvis $565.7 \pm 49,0$ gram og $558,3 \pm 53,3$ gram). Fôrintaket var noe lavere i ukene 1, 2, 3, 5 og 6 i denne gruppen i forhold til kontroll. Hunnrotter som ble fôret med 41,5 % genmodifisert mais hadde i løpet av fôringsperioden en noe lavere justert kroppsvekt, maksimum 5 % i uke 6, i forhold til kontrollgruppen. Det er funnet små statistiske forskjeller i blodverdier for dyrene som er fôret med genmodifisert MIR604 sammenlignet med de rottene som er fôret med umodifiserte mais. Det er ikke funnet statistiske endringer i andre organer og andre analyserte måleparametere.

Faggruppen konkluderer med på bakgrunn av disse forsøkene at det er ingen grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen er forskjellig fra umodifisert mais.

Fôringsforsøk på broiler:

Søknaden inneholder dokumentasjon fra 49-dagers fôringsforsøk på broilere, 900 dyr, fordelt i seks grupper à 150 dyr, 36 bur à 25 hunn eller hann, som ble fôret med henholdsvis mais fra MIR604, foreldrelinje (MIR604 negativ) og en kommersiell maissort fra Nord-Carolina, NC 2003. Gjennomsnittlig mengde mCry3A-protein i fôret er $0,23 \pm 0,035$ µg/g tørrvekt korn. Startfôr innholdt $0,04 \pm 0,005$ µg toksin/g tørrvekt, "midtfase" fôr $0,06 \pm 0,005$ µg/g tørrvekt og slutfase fôr $0,08 \pm 0,013$ µg/g tørrvekt. I henhold til søker er det ikke påvist testrelaterte statistiske endringer i de parametrene som ble målt. Faggruppen konkluderer med at det på bakgrunn av disse forsøkene er ingen grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen er forskjellig fra umodifisert mais.

Allergenitet:

Bt-proteiner

Til tross for vel 50 års bruk av B.t.k. som sprøytemiddel er det ingen bekreftede rapporter over øyeblikkelige eller forsinkede allergiske reaksjoner til tross for betydelig human eksponering via munn, hud og luftveier. Laboratoriestudier med pattedyr indikerer heller ingen potensielle allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* eller dens komponenter innbefattet delta-endotoksinet i krystallproteinene. Allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* har vært rapportert, men disse har ikke vært tilskrevet krystallproteinene.

Det har ikke vært utført immunologiske studier med de transgene produktene. Det er vist at Cry1Ac-proteinene binder seg til musetarmoverflaten og induserer immunologiske reaksjoner mot seg selv og mot proteiner gitt samtidig (Vazquez-Padron *et al.* 2000a, Vazquez *et al.* 1999, Moreno-Fierros *et al.* 2003, Rojas-Hernández *et al.* 2004). Immunologisk kartlegging

av systemisk og mucosal immunreaksjon på Cry1Ac har videre påvist at mus lager både systemisk IgM, IgG og sekretorisk IgA etter intraperitoneal og intragastrisk immunisering (Vazques-Padron *et al.* 2000b). Det er ukjent om Cry1Ac-proteinet som er benyttet i disse studiene, tilsvarer Cry1F-toksinet som den transgene maislinjen lager. Det er vist at domene II fra Cry1Ab og Cry1Ac genererer ulik immunologisk respons i kanin (Vazquez-Padron *et al.* 1998). I en annen studie er det vist at Cry1Ac hadde utpreget mucosal adjuvanseffekt ved å potensere IgM-, IgG- og IgA-responsen mot hepatittvirusantigen og bovint serumalbumin som ble gitt med sondeføring samtidig med Cry1Ac (Vazquez *et al.* 1999). Produksjonen av IgE-antistoff, som er knyttet til allergisk reaksjon, ble ikke målt. Også i tidligere studier (Prasad & Shetna 1975) er det påvist adjuvanseffekt av krystallprotein fra *Bacillus thuringiensis*. Adjuvanseffekten av Cry1Ac er bekreftet i to senere publikasjoner med henholdsvis pneumokokk-antigen (Moreno-Fierros *et al.* 2003) og amøbe-lysate (Rojas-Hernández *et al.* 2004). Adjuvanseffekten av Cry1Ac ble funnet å være like sterk som adjuvanseffekten av koleratoksin (Vazques-Padron *et al.* 1999), som er et mye brukt slimhinneadjuvans i eksperimentelle studier av vaksinasjon og av allergi, og som regnes for å være det sterkeste slimhinneadjuvans vi kjenner.

Det gjennomsnittlige forbruket av mais i Europa i følge søker er 8,8 g/person/dag, mens for eksempel i Afrika er forbruket 106,2 g/person/dag (GEMS/FOOD 2003). Spesielle målgrupper, som barn, kan ha et langt større inntak av mais enn det beregnede gjennomsnittlige inntaket i Europa. I Frankrike er det rapporterte inntaket for store porsjoner, 97,5 persentil, for barn under 6 år 8,3 g/kg kroppsvekt/dag og for voksne 4,17 g/kg kroppsvekt/dag (FAO/WHO 2003). I henhold til Syngenta er mengde mCry3A i maiskorn 0,8 - 2,0 µg/g tørrvekt korn. Dersom en legger til grunn den toksinmengden i korn (ca. 0,2 µg/g tørrvekt korn) som ble benyttet i føringforsøk med broilere, viser teoretiske beregninger fra faggruppe for genmodifiserte organismer at dersom maismel inneholder ca 0,2 µg toksin/g maismel vil inntaket for barn som spiser store porsjoner bli 1,6 µg Cry-protein/kg kroppsvekt/dag (dvs. ca. 27 µg/barn) og for voksne 0,8 µg/kg kroppsvekt/dag (dvs. ca. 48 µg/person). De mengder Cry1Ac som ga mucosal adjuvanseffekt ved sondeføring av mus var fra 0,1 µg til 100 µg (Vazquez *et al.* 1999). De adjuvansdoser som brukes for immunisering av mus og mennesker i andre sammenhenger er ofte av samme størrelsesorden, det vil si om lag samme dose brukes til mus og menneske. Det er mulig at mCry3A som benyttes i MIR604 kan ha tilsvarende effekter som vist for det beslektede Cry1Ac-proteinet, som induserer immunologiske reaksjoner mot seg selv og økt reaksjon mot proteiner gitt samtidig. Dersom mCry3A har tilsvarende adjuvanseffekt som det beslektede Cry1Ac-proteinet er rapportert å ha, vil dette teoretisk kunne føre til økt utvikling av allergi mot matvarer spist sammen med maisen, foruten mot maisen selv. Matallergi mot mais er lite vanlig i Norge, men er et problem i noen områder, bl.a. Nord-Italia. Man ville vente at adjuvanseffekten kom til syne først og fremst som økt forekomst av allergi mot de matvarene der matallergi fra før er vanligst. IgE ble ikke målt i de refererte studiene av adjuvanseffekt av Cry1Ac-proteinet.

Uventede effekter av å sette inn nye gener kan opptre og kan føre til endret uttrykk av endogene proteiner. Det er imidlertid ikke påvist at slike effekter har skjedd med MON810 som inneholder Cry1Ab proteinet. MON810 har vært dyrket og konsumert siden 1996.

Konklusjon:

Faggruppen finner det ut fra tilgjengelige data vanskelig å vurdere om korn fra MIR604 er mer allergifremkallende enn umodifisert maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner Faggruppen imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet til MIR604 med den informasjon vi har tilgang til, ikke med

rimelig sikkerhet kan utelukkes. Faggruppen mener at siden adjuvanseffekt av mCry3A ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes, må det kreves av Syngenta å kommentere forsøkene som viser adjuvanseffekt av Cry1Ac i forhold til muligheten for adjuvanseffekt av mCry3A.

KONKLUSJON

Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametre, men verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anser at disse forskjellene ikke har noen helsemessig signifikans. Faggruppen konkluderer derfor med at det på bakgrunn av den tilgjengelige informasjonen ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen MIR604 er forskjellig fra umodifisert mais.

Studier viser at proteinene mCry3A og PMI ikke er akutt toksiske. Syngenta har utført sub-kroniske studier på rotter og kyllinger med MIR604. Faggruppen konkluderer med at det er lite sannsynlig at eksponering for PMI-proteinet i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais, er helsemessig betenkelige.

Faggruppen mener det må kreves av Syngenta å kommentere de forsøk som gjort der det er påvist adjuvanseffekter av Cry1Ac og om slike effekter kan oppstå ved inntak av maisprodukter som inneholder det aktive mCry3A proteinet.

VURDERT AV

Faggruppe for genmodifiserte organismer:

Ingolf Nes, Knut Berdal, Grethe Foss, Sonja Klemsdal, Casper Linnestad, Martinus Løvik, Audun Nerland og Vibeke Thrane.

Koordinator fra sekretariatet: Arne Mikalsen

REFERANSER

EEC 1992. EEC Methods Number B.1 Acute Toxicity (Oral).

EFSA 99, 2004. "Guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed".

EHC, 1999. Environmental Health Criteria 217. *Bacillus thuringiensis*. WHO, Geneve 1999

EPA 1998a. EPA Health Effects Test Guidelines; OPPTS 870.1100.

EPA 1998b. U.S. EPA Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.3100, 90-Day Oral Toxicity in Rodents (1998).

FAO/WHO 2003. Acute hazard exposure assessment for pesticide residues in food.

http://www.who.int/foodsafety/chem/acute_data/en/

GEMS/FOOD 2003. GEMS/Food regional diets: regional per capita consumption of raw and semi-processed agricultural commodities / prepared by the Global Environment Monitoring System/Food Contamination Monitoring and Assessment Programme (GEMS/Food). -- Rev. ed. FAO/WHO 2003, ISBN 92 4 159108 0

Moreno-Fierros L, Ruiz-Medina EJ, Esquivel R, López-Revilla R, Piña-Cruz S., 2003. Intranasal Cry1Ac protoxin is an effective mucosal and systemic carrier and adjuvant of *Streptococcus pneumoniae* polysaccharides in mice. *Scand J Immunol.*, 57: 45-55.

OECD 1987. OECD Guidelines No. 401 Acute Oral Toxicity

OECD 1998. OECD Guideline for the Testing of Chemicals Section 4: Health Effects, Number 408 (1998)

OECD 2002. Consensus Document on Compositional Consideration for New Varieties of Maize (*Zea Mays*): Key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Secondary Plant Metabolites, No. 6, Series on Safety of Novel Foods and Feeds.

Prasad S.S.S.V. & Shethna, Y.I., 1975. Enhancement of immune response by the proteinaceous crystal of *Bacillus thuringiensis* var *thuringiensis*. *Biochem Biophys Res Commun.*, 62: 517-521.

Rojas-Hernández S, Rodríguez-Monroy MA, López-Revilla R, Reséndiz-Albor AA, Moreno-Fierros L., 2004. Intranasal coadministration of the Cry1Ac protoxin with amoebal lysates increases protection against *Naegleria fowleri* meningoencephalitis. *Infect Immun.*, 72:4368-4375

Vazquez-Padron RI. Martinez-Gil AF. Ayra-Pardo C. Gonzalez-Cabrera J. Prieto-Samsonov DL. de la Riva GA., 1998. Biochemical characterization of the third domain from *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxins. *Biochem Mol Biol Int.*, 45(5):1011-20.

Vazquez RI. Moreno-Fierros L. Neri-Bazan L. De La Riva GA. Lopez-Revilla R., 1999. *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protoxin is a potent systemic and mucosal adjuvant. *Scand J Immunol.*, 49: 578-84.

Vazquez-Padron RI. Gonzales-Cabrera J. Garcia-Tovar C. Neri-Bazan L. Lopez-Revilla R. Hernandez M. Moreno-Fierro L. de la Riva GA., 2000a. Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* sp. *kurstaki* HD73 binds to surface proteins in the mouse small intestine. *Biochem Biophys Res Commun.*, 271:54-8.

Vazquez-Padron RI. Moreno-Fierros L. Neri-Bazan L. Martinez-Gil AF. de-la-Riva GA. Lopez-Revilla R., 2000b. Characterization of the mucosal and systemic immune response induced by Cry1Ac protein from *Bacillus thuringiensis* HD 73 in mice. *Braz J Med Biol Res.*, 33: 147-55.

Watson, S.A. (1987) Structure and Composition. In: Corn. Chemistry and Technology. S. A. Watson and P. E. Ranstead (eds). American Association of Cereal Chemists, Minnesota.