



UTTALELSE OM MONSANTOS GENMODIFISERTE MAIS MON863xMON810xNK603 (EFSA/GMO/BE/2004/07)

Vurdert og godkjent av Faggruppe for genmodifiserte organismer

DATO: 04.04.05

SAMMENDRAG

Vurderingen av den genmodifiserte herbicidresistente og insektstolerante maislinjen MON863xMON810xNK603 fra Monsanto er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet. I sitt brev datert 27.01.2005, ref. 05/1279 ART-BM-KW, ber Direktoratet for naturforvaltning (DN) Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte maislinjen MON863xMON810xNK603 til bruk i næringsmidler og fôrvarer.

Hybriden MON863xMON810xNK603 er fremkommet ved krysning mellom MON863, MON810 og NK603. Hensikten med MON863xMON810xNK603 er motstandsdyktighet mot enkelte insektsarter og sprøytemiddelet Roundup.

Vurdering av den genmodifiserte maisen er basert på den dokumentasjonen som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA.net. MON863xMON810xNK603 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 ble bemerket at noen av de komponenter som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler analysert for mais ikke er utført. 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 hybridene MON863xMON810xNK603 til bruk som mat og fôr.

Faggruppen konkluderer med at det er lite sannsynlig at eksponering for NPTII-proteinet i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais er helsemessig betenkelige.

Faggruppe for genmodifiserte organismer har i denne vurderingen av hybridene MON863xMON810xNK603 ikke vurdert om antibiotikaresistensgenet *nptII* fra maisfrø eller andre avledete matvarer kan overføres til mikroorganismer i tarmen.

En ad hoc-gruppe som består av medlemmer fra Faggruppe for genmodifiserte organismer og Faggruppe for smittestoffer og hygiene vil i løpet av våren 2005 lage en utredning om risiko for helse og miljø knyttet til bruk av antibiotikaresistensgener i genmodifiserte organismer.

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 de uttrykte toksinene Cry1Ab og Cry3Bb1 kan ha adjuvanseffekter.

Faggruppen finner det vanskelig å vurdere om næringsmidler og fôrvarer fra maisen MON863xMON810xNK603 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 MON863xMON810xNK603 i forhold til umodifisert mais med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Da mengde Cry1Ab og Cry3Bb1 i maiskorn henholdsvis kan være 0,67 og 42 µg/g fersk vekt, mener Faggruppen at det må kreves av Monsanto å kommentere forsøkene som viser adjuvanseffekt av det beslektede CryIAc.

NØKKELOD

Genmodifisert mais, MON863, NK603, MON810, MON863xMON810xNK603, insektsresistens, herbicidtoleranse, CP4 EPSPS, Cry3Bb1, Cry1Ab, NPTII, helsemessig trygghet, helse.

BAKGRUNN

Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet er blitt bedt av Direktoratet for naturforvaltning om en vitenskapelig risikovurdering av EFSA/GMO/BE/2004/07 genmodifisert mais (MON863xMON810xNK603) 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. MON863xMON810xNK603 er vurdert i henholdt 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 konsensusdokument for mais (OECD 2002) anbefalinger over hvilke parametre som bør undersøkes.

I henhold til Vitenskapskomiteen for mattrygghets uttalelse på møtet i 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 DIREKTORATET FOR NATURFORVALTNING

I sitt brev datert 27.01.2005, ref. 05/1279 ART-BM-KW, ber Direktoratet for naturforvaltning Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte maisen. Bruksområdet

som søknaden gjelder for er: import, prosessering, mat og fôr. Miljø- og fôraspektene er for MON863xMON810 og NK603 tidligere vurdert ut fra de opplysningene som er gitt under 2001/18/EC. En tilsvarende sort dokumentmengde er gitt for mat og er tidligere ikke vurdert i Norge da vi ikke har vært tilknyttet forordning 258/97 gjennom EØS-avtalen. Det fremgår av informasjonen på EFSA-nett at fôraspektet også skal vurderes ut fra de opplysningene som nå foreligger. Søknaden som DN har mottatt inneholder i sin helhet dokumentene som tidligere er mottatt under direktiv 2001/18/EC, og dokumentene som tilhører forordning 258/97 og som omhandler mataspektet. Til tross for at store deler av søknaden tidligere er vurdert, fremgår det av genteknologiloven at det alltid skal gjennomføres offentlig høring i saker som gjelder godkjenning av søknad om utsetting av genmodifiserte organismer.

Da ansvarsforholdet er delt mellom DN og Mattilsynet, ber DN VKM om at det (om mulig) tydelig fremgår i høringssvarene om innspillene angår mat/fôr eller om de angår miljø.

Produktet som ønskes vurdert, er:

Genmodifisert mais, EFSA/GMO/BE/2004/07 (MON863xMON810xNK603). Unik kode er MON-ØØ863-5 x MON-ØØ81Ø-6 x MON-ØØ6Ø3-6.

Status i EU: Søknad under 1829/2003/EF. EFSA's frist for innspill er 14.04.05

Ønsket svarfrist til Direktoratet for naturforvaltning er 01.04.05

RISIKOVURDERING

Innledning

Den genmodifiserte maishybriden MON863xMON810xNK603 ble vurdert ut fra Direktoratet for naturforvaltnings oppdrag. I henhold til Monsanto 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 søttningsprodukter.

Faggruppe for genmodifiserte organismer har på faggruppemøtet 02.02.05 vedtatt å bruke EFSA's retningslinjer som gruppens retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter. Prinsippene som er lagt til grunn for vurderingen, er derfor hentet fra EFSA's 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/BE/2004/07) til bruk i næringsmidler og fôrvarer under forordning 1829/2003.

Bakgrunnsinformasjon

Beskrivelse av de innsatte genene

MON810 (foreldrelinje):

Cry1Ab-ekspresjonskassetten inneholder *e35s*-promoter fra blomkålmosaikkvirus(CaMV), intronet *hsp70* fra mais og et trunkert *cry1Ab*-gen og finnes i én kopi i genomet.

NK603 (foreldrelinje):

Den genmodifiserte maislinjen NK603 uttrykker glyfosattoleranse pga. bakterieenzymet 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfatsyntetase, som uttrykkes av *cp4-epsps*-genet. Enzymet omdanner fosfoenolpyruvat og sikimat-3-fosfat til 5-enolpyruvylsikimat-3-fosfat, som er en viktig metabolitt i syntesen av aromatiske aminosyrer. Alle planter og mikroorganismer inneholder dette enzymet, noe som dyr ikke gjør. De må dermed få aromatiske aminosyrer fra føden. *Cp4-epsps*-genet fra bakterien *Agrobacterium* stamme CP4 ble klonet inn i plasmidet PV-ZMGT32. Det rekombinante DNA-fragmentet på 6706 basepar fra PV-ZMGT32-plasmidet inneholder to ekspresjonskassetter med et enkelt *cp4-epsps*-gen i hver kassett. Den første kassetten inneholder en aktinpromoter og et intron (*r-act P+I*) fra ris, et optimalisert kloroplast overføringspeptid (CTP2), og en nopalinsyntase 3'-ende terminatorsekvens (*NOS3'*). Den andre ekspresjonskassetten inneholder en *e35s*-promoter, et *ZmHSP70*-intron, *cp4-epsps*-genet og en nopalinsyntase 3'-ende terminatorsekvens (*NOS3'*). DNA-fragmentet ble overført til embryomaisceller med partikkelaksellerasjonsmetoden. DNA-fragmentet inneholder ikke antibiotika-resistensgen. Transformanter ble selektert ved at de overlevde og vokste i nærvær av glyfosat. Southern blot og PCR har blitt brukt for å karakterisere det rekombinante DNA-fragmentet i planten. De molekylærbiologiske karakteriseringen viser at det er satt inn et rekombinant DNA-fragment i NK603 åkermais. Dette fragmentet inneholder:

- a) en fullstendig *r-act I*, *OTP*, *cp4-epsps* og *NOS3'* kassett
- b) en forkortet *cp4-epsps*-kassett som består av fullengde *r-act P+I*, *OTP*, og 2 bp-avkortet *cp4-epsps*-gen, der en av nukleotidringene er en stille mutasjon, og den andre fører til en aminosyreendring i posisjon 214, fra leucin til prolin. Proteinene som dannes kalles CP4 EPSPS L214P
- c) 217 baser ekstra er satt inn i 3'-enden av fragmentet. De ekstra basene omfatter en polylinkersekvens, og de første 167 bp av risaktinpromoterens. Dette innskuddet har ingen promoteraktivitet.

Molekylærbiologisk analyser viser at det rekombinante fragmentet i planten inneholder de samme gener og genelementer som er på det tilsvarende fragmentet i bakterien. Genene på det rekombinante DNA-fragmentet i NK603 åkermais uttrykker EPSPS-protein som er identisk (med unntak av én aminosyre) med proteinet som uttrykkes i bakterien.

Ved revers transkriptase-PCR (RT-PCR) ble det påvist et transkripsjonsprodukt som startet inne i det rekombinante fragmentet. Transkripsjonen gikk gjennom NOS-terminatoren og inn i maisgenomets flankerende 3'-område. To eller flere mRNA-molekyler ble dannet, ett på 1,4 kb (antatt å være *cp4-epsps* L214P-transkriptet) og et større som er større enn 1,4 kb (antatt gjennomlesning av NOS). RT-PCR viste at kun en svært liten del av det store fragmentet inneholdt *cp4-epsps*-sekvens. Dette transkriptet kunne ikke påvises med Northern blot. Transkriptet på 1,4 kb ble påvist med Northern blot.

Flankerende sekvenser til det rekombinante DNA-fragmentet i planten er analysert, 300 bp oppstrøms og 500 bp nedstrøms. Sammenlignende analyse med foreldrelinjen LH82xB73 viste at de flankerende sekvensene til NK603s DNA-fragment stammer fra foreldrelinjen.

Faggruppen mener at karakteriseringen av det rekombinante innskuddet i NK603 er tilfredsstillende.

Strukturell og funksjonell likhet mellom CP4 EPSPS og CP4 EPSPS L214P er undersøkt med røntgenkristallanalyse, variabel løkkestruktur i proteinet som inneholder det nye prolinet, og

domenet som inneholder det nye prolinet. Disse analysene viser at CP4 EPSPS L214P-proteinet er strukturelt lik CP4 EPSPS proteinet. Analyse av enzymatisk aktivitet viser ingen forskjell mellom de to proteinene. Fordøyelighetstest viste også at begge proteinene fordøyes like raskt i simulert mage- og tarmsaft.

Mengde CP4-EPSPS i korn er anslått til 0,01 % av den totale proteinmengden.

Krysning over seks generasjoner og tre selvpollineringsgenerasjon viser at det rekombinante EPSPS-fragmentet er stabilt inkorporert i maisgenomet.

MON863(foreldrelinje):

Cry3Bb1-ekspresjonskassetten inneholder følgende DNA-elementer: CaMV *e35s* promoter, *nptII ORF* åpen leseramme som koder for proteinet NPTII, trunkert *ble* og *NOS 3'* termineringsekvens for transkripsjon, *4ASI* 4 tandemkopier av ASI (modifisert *35s* promoter), *wtCAB 5'*mRNA ledersekvens fra hvete, *rac1* intron fra ris, *cry3Bb1 ORF*, som koder for Cry3Bb1-proteinet, *tahsp17 3'*-polyadeninsekvens fra hvete *hsp17.3* gen som avslutter ekspresjonen.

Det er foretatt en rekke undersøkelser på hvor mange kopier av ekspresjonskassetten, antall insersjonssteder i genomet, sekvensering av DNA oppstrøms og nedstrøms for innsetningsstedet, integriteten til ekspresjonskassetten i genomet, fravær av andre åpne leserammer enn de som er satt inn og fravær av annet transformasjonsplasmid DNA i MON863.

Det konkluderes med at det er kun én kopi av ekspresjonskassetten i MON863. Sammenlignende DNA-analyser mellom hybridene MON863 og foreldrelinjen viser at bruttostørrelsen på det innsatte DNA-fragmentet er intakt. Det kan derfor ikke forventes endringer i ekspresjonen fra dette elementet.

MON863xMON810xNK603:

MON863xMON810xNK603 er dannet ved konvensjonell kryssing mellom MON863 og NK603.

Det er foretatt Southern blot-analyse for å undersøke tilstedeværelsen og antall kopier av MON863-, MON810- og NK603-ekspresjonskassetten i MON863xMON810xNK603. Det er påvist en enkel kopi av henholdsvis MON863-, MON810- og NK603-ekspresjonskassetten.

Monsanto hevder at andre molekylærbiologiske analyser ikke er nødvendig fordi det er liten sannsynlighet for molekylær gjensidig påvirkning mellom innskuddene fra MON863, MON810 og NK603 i MON863xMON810xNK603 fordi de tre ekspresjonskassetten ligger på hvert sitt kromosom.

Det konkluderes med at det er kun én kopi av ekspresjonskassetten fra henholdsvis NK603, MON810 og MON863. Sammenlignende Southern blot-analyser mellom hybridene MON863xMON810xNK603 og de tre foreldrelinjene viser at bruttostørrelsen på de innsatte DNA-fragmentene er intakte. Det kan derfor ikke forventes endringer i ekspresjonen fra disse elementene.

Dokumentasjon av ”vesentlig likhet”

Analyser av sammensetning i maiskorn fra maislinjene NK603, MON863, MON810 og MON863 xMON810xNK603

Analyse av ernæringsmessige viktige komponenter ble foretatt av NK603, MON863, MON810 og MON863xMON810xNK603 fra fire forsøksfelt i Argentina. Som kontroll er det benyttet en kontrollhybrid (DKC-46-26) og tretten kommersielt tilgjengelige referansemajssorter. NK603 ble ekskludert fra et felt og kontrollhybrid DKC46-26 fra tre felt på grunn av urenheter (trait impurities). Åtte analyseprøver, henholdsvis to fra DKC46-26, en fra 37P73 (referanse) og fem fra Dorado (referanse) ble analysert, men ekskludert fra statistisk analyse p.g.a. urenheter eller utilstrekkelig mengde prøvemateriale. MON863xMON810xNK603, MON863, MON810, NK603, kontrollhybrid og kommersiell mais ble plantet i randomiserte blokk mønstre. Alle blokker med herbicidtolerante planter ble sprøytet med Roundup UltraMAX. For vurdering av MON 863, MON810 og NK603 henviser Monsanto også til forsøk utført i USA og Europa. Dokumentasjonen av slike analyser finnes i de respektive søknadene, men er ikke lagt ved denne søknaden.

Hovedkomponenter i maiskorn og andre plantedeler:

For MON863, MON810, NK603 og MON863xMON810xNK603 er valget av analyseparametere gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for mais, med unntak av enkelte komponenter som vist nedenfor. Det er foretatt forskjellige analyser av hovedkomponenter for fôr og korn. For fôr ble det analysert for aske, fett, protein, vann, ADF, NDF, kalsium og fosfat. For korn ble det analysert for protein, fett, aske, karbohydrater, ADF (acid detergent fibre), NDF (neutral detergent fibre), total fiber, kalorier, vann, aminosyrer, fettsyrer, jern, kalium, kalsium, magnesium, mangan, sink, vitaminene B1, B2, B6, E, niacin, folinsyre, de sekundære metabolittene furfural, ferulsyre og p-kumarinsyre, og anti-næringsstoffene fytinsyre og raffinose. Analysene ble utført under god laboratoriepraksis (GLP). Monsanto har for MON863 og NK603 ikke foretatt sammenlignende statistiske analyser med MON863xMON810xNK603.

For hovedkomponentene protein, fett, aske, karbohydrater, ADF, NDF, total fiber, kalorier, og vann er det funnet statistiske forskjeller for vann og karbohydrater i alle argentinske feltforsøk. Analyser viser at verdier for disse to hovedkomponentene ligger innenfor typiske verdiområder for andre maissorter som er publisert.

Fettsyresammensetning i maiskorn:

Fettsyresammensetningen for MON863, MON810, NK603 og MON863xMON810xNK603 er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Det ble analysert for 22 fettsyrer. Av disse ble 13 ekskludert fra statistisk analyse fordi mengdene var lavere enn deteksjonsgrensene. De argentinske målingene utført på MON863xMON810xNK603 viser statistiske forskjeller over alle forsøksfeltene for seks fettsyrer. Forskjellene er mindre enn 10 %, og verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Aminosyrer i maiskorn:

Både essensielle og ikke-essensielle aminosyrer ble analysert. De argentinske målingene utført på MON863xMON810xNK603 viser statistiske forskjeller for alle forsøksfeltene for en

aminosyre. Verdien ligger innenfor 6 %, og for alle aminosyrene ligger verdiene innenfor de typiske verdiene som er rapportert i litteraturen.

Vitaminer:

Vitaminer som det i henhold til OECDs konsensusdokument for mais bør undersøkes for, er A, B1, B2, B6, C, E, folat og niacin. Følgende vitaminer er ikke målt: Vit. A og vit. C i feltforsøkene fra Argentina. Resultatene for folat og niacin viser for MON863xMON810xNK603 til dels store statistiske forskjeller innenfor enkelte forsøksfelter, men disse forskjellene er ikke konsistente for alle forsøksfeltene. Det er funnet statistisk forskjell for niacin når alle forsøksfeltene er tatt med i de statistiske analysene.

Mineraler:

Med unntak for selen er mineralene som er målt, i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. I alle de argentinske feltforsøkene er det viste statistisk forskjell for magnesium mellom kontroll (DKC46-26) og MON863xMON810xNK603. Forskjellen ligger imidlertid innenfor 5 % og innenfor for typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Det er ikke funnet statistiske forskjeller for andre mineraler mellom kontroll, referanse-maissorter og MON863xMON810xNK603.

Sekundære metabolitter og antiernæringsstoffer:

Det er ikke funnet statistiske forskjeller for sekundære metabolitter og antiernæringsstoffer i de argentinske feltforsøkene. Det er ikke målt for toksinene DIMBOA og MBOA.

Konklusjon

Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametre. Verdiene for de enkelte analyserte komponentene 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 ikke dokumentasjon på fôringsforsøk med renfremstilt NTPII-, Cry3Bb1 og CP4 EPSPE-proteiner. Monsanto hevder at siden dokumentasjon over disse fôringsforsøkene finnes i andre av Monsanto's søknader som for eksempel NK603, MON863xMON810 og GA11, er det ikke nødvendig å inkludere denne dokumentasjonen i denne søknaden.

Fôringsforsøk på broiler:

Søknaden inneholder dokumentasjon fra 42-dagers fôringsforsøk på broilere, 800 dyr, fordelt i åtte grupper som ble fôret med henholdsvis mais fra MON863xMON810xNK603, MON863xNK603, en tradisjonell kontroll og fem referansemassorter. Fôringsforsøket med MON863xNK603 vil bli vurdert i en egen uttalelse. Det ble påvist testrelaterte endringer i de

parametrene som ble målt, men hovedparten av endringene var mellom referansemaisene. For de fleste målte parametrene var det ingen statistiske forskjeller ved fôring med maiskorn fra MON863xMON810xNK603, tradisjonell kontroll og en av referansegruppene. Faggruppen konkluderer med at det ingen grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen er forskjellig fra umodifisert mais.

Monsanto hevder at det ikke er nødvendig å foreta subkroniske fôringforsøk med korn fra MON863xMON810xNK603 fordi slike forsøkene er utført med henholdsvis MON863, MON810 og NK603. Monsanto's begrunnelse er bl.a. at ved konvensjonell avl mellom MON863, MON810 og NK603 vil de introduserte egenskapene i maisene arves av MON863xMON810xNK603. Det kombinerte uttrykket av CP4 EPSPS, NPTII, Cry1Ab og Cry3Bb1 i hybridene vil ikke endre på disse proteinenes egenskaper, og at de er like helsemessige trygge som i foreldrelinjene.

Allergenisitet:

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 oral-, dermal- og inhalasjonseksponering. Laboratoriestudier med pattedyr indikerer heller ingen potensielle allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* eller dets 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-proteinet 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 (Vazquez-Padron *et al.* 2000b). Det er ukjent om Cry1Ac-proteinet som er benyttet i disse studiene, tilsvarer Cry1Ab- og Cry3Bb1-toksinene 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 sondefôring 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 (Vazquez-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 er mulig at Cry1Ab og Cry3Bb1 som benyttes i MON863xMON810xNK603, 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 Cry1Ab og Cry3Bb1 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 har vært dyrket og konsumert siden 1996.

Konklusjon:

Faggruppen finner det ut fra tilgjengelige data vanskelig å vurdere om korn fra MON863xMON810xNK603 er mer allergifremkallende enn umodifisert maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner Faggruppen imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos MON863xMON810xNK603 med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Da mengde Cry1Ab og Cry3Bb1 i maiskorn henholdsvis kan være 0,67 og 48 µg/g fersk vekt, mener Faggruppen at det må kreves av Monsanto å kommentere forsøkene som viser adjuvanseffekt av Cry1Ac.

KONKLUSJON

Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametere, 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 ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen MON863xMON810xNK603 er forskjellig fra umodifisert mais.

Flere studier viser at proteinene CP4 EPSPS, Cry1Ab, Cry3Bb1 og NPTII ikke er akutt toksiske. Monsanto har utført og henviser til sub-kroniske studier på rotter føret med maiskorn fra MON863, MON810 og NK603. Disse studiene viser at fôr som inneholder mais fra disse hybridene, ikke fører til påvisbare helseeffekter på dyrene. Imidlertid er ikke disse studiene dokumentert i denne søknaden. Monsanto har ikke utført sub-kroniske studier på rotter med MON863xMON810xNK603. Faggruppen konkluderer med at det er lite sannsynlig at eksponering for CP4 EPSPS- og NPTII-proteinene i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais, er helsemessig betenkelige.

Faggruppen mener det må kreves av Monsanto 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 aktivt Cry1Ab- og Cry3Bb1-protein.

VURDERT AV

Faggruppe for genmodifiserte organismer:

Ingolf Nes, Knut Berdal, Grethe Foss, Casper Linnestad, Martinus Løvik, Audun Nerland.

Koordinator fra sekretariatet: Arne Mikalsen

REFERANSER

- 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, Geneva 1999
- EPA, 2003. Event MON863 *Bt* Cry3Bb1 Corn Biopesticide Registration Action Document.
- 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, 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.