



**Helse- og miljørisikovurdering  
genmodifisert maishybrid MON 863 x MON 810  
fra  
Monsanto Company**

**Uttalelse fra  
Faggruppe for genmodifiserte organismer  
Vitenskapskomiteen for mattrygghet**

**Norsk slutføring av søknad C/DE/02/9**

**2. oktober 2009**

ISBN: 978-82-8082-348-9

**VKM Report 2009: 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.

## **VURDERT AV**

### Faggruppe for genmodifiserte organismer:

Knut Berdal (leder), Thomas Bøhn, Askild Holck, Helge Klunland, Casper Linnestad, Richard Meadow, Anne I. Myhr, Audun Nerland, Ingolf Nes, Kåre M. Nielsen, Hilde-Gunn Opsahl Sorteberg, Odd E. Stabbetorp, Vibeke Thrane, Rose Vikse

### Koordinatorer fra sekretariatet:

Arne Mikalsen og Merethe Aasmo Finne

## SAMMENDRAG

Helse- og miljørisikovurderingen av den genmodifiserte insektsresistente maishybriden MON 863 x MON 810 fra Monsanto Company (C/DE/02/92) er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet. MON 863 x MON 810 ble godkjent for import og prosessering under EU-direktiv 2001/18/EF i 2006. I forbindelse med slutføring av saksbehandling av søknad om godkjenning maishybriden til import og prosessering i Norge, er Vitenskapskomiteen for mattrygghet bedt av Direktoratet for naturforvaltning (DN) å foreta en vitenskapelig risikovurdering av MON 863 x MON 810 med hensyn på eventuelle effekter på miljø. Faggruppe for genmodifiserte organismer vurderte helseaspekter knyttet til bruk av hybridlinjen som næringsmiddel og fôrvare i 2005 (VKM 2005a). Publisering av ny, oppdatert informasjon gjør at faggruppen har valgt å inkludere er revidert helse- og miljørisikovurdering av MON 863 x MON 810 i oppdraget.

Risikovurderingen av den genmodifiserte maisen er basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA.net. I tillegg er det benyttet informasjon fra andre vitenskapelige publikasjoner. Vurderingen er gjort i overensstemmelse med miljø- og helsekravene i genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, samt kravene i EU-forordning 1829/2003/EF og utsetningsdirektiv 2001/18/EF med annekser. Det presiseres at de deler av den norske konsekvensutredningsforskriften som vedrører bærekraft, samfunnsnytte og etikk ikke omfattes av VKMs mandat og er ikke vurdert. Videre er prinsippene i EFSA's retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter (EFSA 2006a) og Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) konsensusdokument for mais (OECD 2002) lagt til grunn for vurderingen.

Den vitenskapelige vurderingen omfatter benyttet transformeringsprosess, vektorer, transgene konstrukt, komparativ analyse av ernæringsmessig kvalitet, mineraler, vitaminer, fettsyresammensetning, antinæringsstoffer, aminosyrer, allergener og nye proteiner. Videre er agronomiske egenskaper, potensiale for utilsiktede effekter på fitness, genoverføring og effekter på ikke-målorganismer vurdert.

Maishybriden MON 863 x MON 810 er resultat av konvensjonell kryssing mellom foreldrelinjene MON 863 og MON 810. Foreldrelinje MON 863 er produsert ved biolistisk transformasjon av den innavlete maislinjen A634, og inneholder et modifisert *cry3Bb1*-gen fra jordbakterien *B. thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*. Cry3Bb1-proteinet som uttrykkes gir plantene toleranse mot angrep fra arter i billeslekten *Diabrotica*. Maislinjen inneholder også antibiotikaresistensmarkørgenet *npIII*, som uttrykker resistens mot aminoglykosider som kanamycin og neomycin. Foreldrelinje MON 810 inneholder genet *cry1Ab* fra bakterien *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-1. Genet koder for et  $\delta$ -endotoksin som gir resistens mot enkelte skadeinsekter i ordenen *Lepidoptera*, eksempelvis maispyralide (*Ostrinia nubilalis*) og enkelte arter i slekten *Sesamia*.

### Komparative analyser

Analysene av ernæringsmessige viktige komponenter er vurdert. Faggruppe for genmodifiserte organismer påpeker at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler analysert for mais. Dette gjelder analyser av vitamin A, vitamin C, vitamin B6, vitamin niacin, natrium og selen. Faggruppen understreker at konsensusdokumentet i størst mulig grad skal følges når det legges fram dokumentasjon på nivåene av næringsstoffer, antinæringsstoffer og metabolitter.

For de analyserte komponentene er det påvist signifikante forskjeller mellom maishybriden MON 863 x MON 810 og kontroll i enkeltparametere, men forskjellene er ikke konsistente over forsøkssteder. Verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppe for genmodifiserte organismer konkluderer med at de forskjellene som er påvist ikke har ernæringsmessig betydning.

*Faggruppen vektlegger at hoveddelen av maisforbruket i Norge er som dyrefôr, og at mais til humant konsum utgjør mindre enn 1 % av energiinntaket både for voksne og barn under ett år. Når det gjelder dyrefôr ansees det naturlige vitamininnholdet i mais å være uten betydning da all mais som benyttes som fôr vitaminberikes i henhold til Mattilsynets anbefalinger. Tilsvarende angis krav til ernæringsmessig sammensetning av kornbasert barnemat i vedlegg 1 i Forskrift om bearbejdet kornbasert barnemat og annen barnemat til spedbarn og småbarn (FOR 2002-10-18 nr 1185). Et gjennomsnittlig forbruk av mais i Norge vil bidra med en liten del av vitaminene niacin, B6 og vitamin C i kostholdet. Faggruppen vurderer derfor at eventuelt avvikende vitaminnivå i MON 863 x MON 810 har liten ernæringsmessig betydning.*

### **Toksisitet**

Flere studier viser at proteinene Cry 1Ab, Cry3Bb1 og NPTII ikke er akutt toksiske. Søker har utført fôringsforsøk på broiler og 13-ukers fôringsforsøk på rotter med MON 863 x MON 810. Disse studiene viser at fôr som inneholder mais ikke fører til påvisbare helseeffekter på forsøksdyrene. Søker har også utført et 90-dagers fôringsforsøk på rotter med foreldrelinjene MON 810 og MON 863, og konkluderer med at det ikke ble påvist helseeffekter på forsøksdyrene. Dataene fra studien av MON 863 er seinere re-analysert av flere forskningsgrupper, med ulike konklusjoner. Seralini *et al.* (2007) fant indikasjoner på doseavhengige effekter på vekst og toksiske effekter på lever og nyre, og hevder at MON 863 ikke kan sies å være et trygt produkt uten videre langtidsstudier. EFSA underkjenner imidlertid analysen på grunn av de statistiske metodene som er brukt, og hevder at resultatene fra Seralini-studiet ikke har biologisk relevans. Samme konklusjon er trukket av risikovurderingsorganer i sju EU-land. To land har støttet Seralini's konklusjoner.

*Et flertall av medlemmene i faggruppen konkluderer med at det på bakgrunn av disse forsøkene ikke er grunn til å anta at den genmodifiserte maisen er forskjellig med hensyn på toksisitet sammenlignet med umodifisert mais.*

*Mindretallet i faggruppen (T. Bøhn, A.I. Myhr, K.M. Nielsen, C. Linnestad) konkluderer med at det på bakgrunn av disse forsøkene knyttes usikkerhet til om den genmodifiserte maisen er forskjellig med hensyn på toksisitet sammenlignet med umodifisert mais.*

### **Allergenisitet**

Ingen av proteinene som blir uttrykt som følge av genmodifiseringen har likheter med kjente allergener eller egenskaper som tilsier at de er allergener. Det er imidlertid ikke vurdert om de uttrykte toksinene Cry3Bb1 og Cry1Ab1 kan ha adjuvanseffekt, d.v.s. fremming av immunreaksjon mot andre stoffer.

*Et flertall av medlemmene i Faggruppe for genmodifiserte organismer finner det ikke sannsynliggjort at Cry3Bb1 og Cry1Ab har egenskaper som fører til hemming av den toleransen som fordøyelsessystemets slimhinner har mot proteiner (adjuvanseffekt). På bakgrunn av at Cry3Bb1- og Cry1Ab- proteinene brytes ned i magesaft og at maten for øvrig inneholder en lang rekke stoffer som virker som adjuvanter, vurderes adjuvansproblemstillingen i forbindelse med MON 863 x MON 810 å være neglisjerbar.*

*Et mindretall av faggruppen (T. Bøhn, H. Klungland, C. Linnestad, A.I. Myhr, A.H. Nerland, K. Nielsen) finner det vanskelig å vurdere om næringsmidler og fôrvarer fra maishybriden MON 863 x MON 810 er mer allergifremkallende enn næringsmidler og fôrvarer fra umodifiserte maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, som viser at Cry-proteiner kan hemme den toleransen som fordøyelsessystemets slimhinner har mot proteiner, finner imidlertid medlemmene at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos MON 863 x MON 810 ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes.*

*En samlet faggruppe finner at mat- og fôrprodukter av MON 863 x MON 810, som ikke inneholder Cry-proteiner, eksempelvis oljebaserte produkter, ikke medfører endret risiko for helse i forhold til annen mais.*

### **Antibiotikaresistens**

Det innsatte *nptII*-genet koder for resistens mot enkelte aminoglykosider som benyttes i norsk landbruk (VKM 2005b). De tilgjengelige data viser at forekomsten av *nptII*-genet i patogene bakterier i Norge er lav. Kunnskap om forekomsten av *nptII*-genet i miljøet er imidlertid mangelfull.

*Flertallet i faggruppen konkluderer med at tilstedeværelse av nptII-gener i mat og fôr produsert fra den genmodifiserte maisen MON 863 x MON 810 ikke er en signifikant kilde til nptII-gener i bakterier som lever i menneskets og dyrs tarmsystem, sammenlignet med de nptII-genene som allerede er tilstede i bakteriepopulasjonen i tarmen.*

*Et mindretall i faggruppen (K. M. Nielsen, C. Linnestad, A. Myhr, T. Bøhn, O. Stabbetorp) påpeker store forskjeller i geografisk utbredelse av antibiotikaresistens i Europa, og at det mangler publisert dokumentasjon på forekomsten av nptII-genet i Norge. I fravær av vitenskaplig dokumentasjon, antas resistensgenforekomsten å være lav. Det påpekes at neomycin benyttes i norsk landbruk, og at et seleksjonstrykk på eventuelle sjeldne transformanter derfor ikke kan utelukkes. Antibiotikaene som genet gir resistens imot er nylig klassifisert av European Medicines Agency (EMA 2007) og WHO (2005) som "critically important". Manglende datagrunnlag gjør at mindretallet ikke ønsker å konkludere med hensyn på risiko knyttet til bruk av nptII-genet som antibiotikaresistensmarkør.*

### **Øvrig miljørisiko**

Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes til å være ubetydelig. Ved foreskrevne bruk av maislinjen MON 863 x MON 810 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer (med mulig unntak av patogene mikrober) eller på abiotisk miljø i Norge.

### **Samlet vurdering**

Faggruppe for genmodifiserte organismer påpeker at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument for mais anbefaler analysert. Det er funnet signifikante forskjeller mellom MON 863 x MON 810 og kontrollinjer for enkeltkomponenter, men faggruppen anser det for lite trolig at disse forskjellene har noen ernæringsmessig betydning.

Når det gjelder toksikologiske egenskaper mener et flertall i faggruppen at det ikke er grunn til å anta at den genmodifiserte maisen er forskjellig fra umodifisert mais. Et mindretall (T. Bøhn, A.I. Myhr, K.M. Nielsen, C. Linnestad) mener det er usikkerhet knyttet til disse egenskapene på bakgrunn av re-analyser av data fra Monsanto's forsøk med rotter føret med foreldrelinjen MON 863 som har munnet ut i ulike konklusjoner.

Ingen av proteinene som blir uttrykt som følge av genmodifiseringen har egenskaper som tilsier at de er allergener og faggruppen finner at mat- og fôrprodukter fra MON 863 x MON 810 som ikke inneholder Cry-proteiner, eksempelvis oljebaserte produkter, ikke medfører endret risiko for allergenitet i forhold til annen mais. Et flertall av faggruppen finner det ikke sannsynliggjort at Cry3Bb1-proteinet kan ha adjuvanseffekt. Fordi proteinet brytes ned i magesaft og på grunn av forekomsten av andre adjuvanter i mat, vurderer de adjuvansproblemstillingen i forbindelse med MON 863 mais å være neglisjerbar. På bakgrunn av studier i mus, som viser at Cry-proteiner kan hemme den toleransen som fordøyelsessystemets slimhinner har mot proteiner, mener et mindretall av faggruppen (A.H. Nerland, A.I. Myhr, T. Bøhn, C. Linnestad) at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos MON 863 x MON 810, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes.

Et flertall i faggruppen konkluderer med at *nptII*-gener i mat og fôr produsert fra den genmodifiserte maisen MON 863 x MON 810 ikke er en signifikant kilde til *nptII*-gener sett i forhold til de *nptII*-genene som allerede er tilstede i bakteriepopulasjonen i tarmen. Et mindretall (K.M. Nielsen, C. Linnestad, A. Myhr, T. Bøhn, O. Stabbetorp) påpeker store forskjeller i geografisk utbredelse av antibiotikaresistens i Europa, og i fravær av vitenskaplig dokumentasjon antar de at

resistensgenforekomsten i miljøet er lav. Videre påpeker de at neomycin benyttes i norsk landbruk, og at et seleksjonstrykk på eventuelle sjeldne transformanter derfor ikke kan utelukkes.

En samlet faggruppe finner det lite trolig at den omsøkte bruken av maislinjen MON 863 x MON 810 vil medføre endret risiko for miljø for øvrig i forhold til annen mais.

## **NØKKELOD**

Mais, *Zea mays* L., genmodifiserte maishybrid MON 863 x MON 810, C/DE/02/9, insektsresistens, Cry3Bb1, Cry1Ab, NPTII, helsemessig trygghet, helse, miljørisiko, direktiv 2001/18/EF

## FORKORTELSER OG ORDFORKLARINGER

Allel	Et bestemt gen kan foreligge i ulike varianter (alleler). Allelene kan være dominante (bestemmende for fenotypen) eller recessive (vikende).
ARMG	Antibiotikaresistensmarkørgen
Backcross (BC)	Tilbakekryssing. Kryssing mellom en hybridlinje (avkom fra to genetisk ulike foreldre) og en av foreldrelinjene, alternativt en genetisk ekvivalent organisme. Strategi i planteforedling for å overføre primært kvalitative karakterer, for eksempel sjukdomsresistens, til elitelinjer av både kryssbefruktede og selvpollinerte arter. Gjentatte tilbakekryssinger reduserer det genetiske bidraget, som uønskede alleler fra den andre donorplanten. BC <sub>1</sub> , BC <sub>2</sub> etc: betegnelse på 1. og 2. tilbakekryssingsgenerasjon, etc.
BLASTn	Algoritme som benyttes for homologisammenligning av nukleotidsekvenser
BLASTP	Algoritme som benyttes for homologisammenligning av aminosyresekvenser i proteiner
BLASTx	Algoritme som benyttes for oversetting fra kodende nukleotidsekvenser til aminosyresekvenser
bp	Basepar
<i>B.t.</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
Codex	FAO/WHO-organ som etablerer globale handelsstandarder for mat
Cry	Krystallproteiner fra jordbakterien <i>Bacillus thuringiensis</i>
Cry1Ab	δ-endotoksin isolert fra jordbakterien <i>Bacillus thuringiensis</i> subspecies <i>kurstaki</i> , som gir plantene resistens mot angrep fra arter i ordenen <i>Lepidoptera</i> (sommerfugler).
Cry3	En klasse av <i>B.t.</i> -krystallproteiner med effekt mot arter i ordenen <i>Coleoptera</i> (biller).
Dominant allel	Et allel som uttrykker same fenotype, uavhengig av om allelene i genparet er like (homozygot) eller ulike (heterozygot).
DN	Direktoratet for naturforvaltning
DNA	Deoxyribonukleinsyre (DNA)
EFSA	European Food Safety Authority
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EMBL	European Molecular Biology Laboratory, det europeiske forskningssenteret for molekylærbiologi
FAO	Food and Agriculture Organization, FN's organisasjon for ernæring og landbruk
FIFRA	US EPA Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act. USAs føderale lov om insektdrepende midler, soppdrepende midler og midler mot skadedyr
Fitness	Et individs relative evne til å føre sine gener/alleler videre til kommende generasjoner
GenBank	Database som inneholder nukleotidsekvenser, se NCBI. Per januar 2009 inneholder databasen mer enn 61 millioner sekvenser
GLP	Good Laboratory Practices, retningslinjer for godt laboratoriearbeid.
GMO	Genmodifisert organisme
GMP	Genmodifisert plante
Intron	Ikke-kodende områder i et eukaryot gen.
Locus	Spesifikk posisjon på kromosomet der et gen er lokalisert.
MALDITOF	Massespektrometrimetode for å måle molekylvekt til peptider.
<i>cry3A</i>	Gen fra <i>Bacillus thuringiensis</i> subspecies <i>tenebrionis</i> .
Cry3A	δ-endotoksin, som gir plantene resistens mot angrep fra bladbiller i slekten <i>Diabrotica</i> .
Mendelsk nedarving	Lovmessig nedarvingsmønster ved ulike typer kryssinger.
MT	Mattilsynet
NCBI	National Center for Biotechnology Information (NCBI) er en del av USAs National Library of Medicine (NLM), som er en gren av National Institutes of Health (NIH). NCBI's database huser genomsekvensdata i GenBank.

Northern blot	Teknikk for overføring av RNA til en membran for videre studier av overførte RNA-sekvenser.
Nær-isogen linje	Linjer eller sorter som er genetisk identiske, med unntak av ett locus eller kromosomsegment.
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
ORF	Open Reading Frame (åpen leseramme)
PCR	Polymerase chain reaction. Polymerase kjedereaksjon. Metode for å lage mange kopier av en DNA-sekvens vha primere.
PDB	Protein Data Bank, database som inneholder eksperimentelt bestemte 3-dimensjonale strukturer av proteiner og nukleotider.
Promoter	En molekylærbiologisk promoter inneholder DNA-sekvenser som binder enzymet RNA polymerase. RNA polymerase fører til syntese av mRNA fra DNA, dvs. omskriving(transkribering) av DNA til mRNA.
Rekombinant DNA	-Kombinasjon av DNA sekvenser som normalt ikke opptrer sammen, dvs. DNA-fragmenter(gen, promoter, terminator etc.) fra flere forskjellige kilder (f.eks. bakterier, planter) som skjøtes sammen.
RNA	Rribonukleinsyre
SDS-PAGE	Natriumdodecylsulfat (SDS)-polyakrylamidelektroforese. Elektroforetisk metode for separasjon av proteiner
Southern blot	Teknikk for overføring av DNA til en membran for videre studier av overførte DNA-sekvenser.
T-DNA	DNA fra Ti-plasmidet i jordbakterien <i>Agrobacterium tumefaciens</i> . Ti-plasmidets T-DNA (Transfer-DNA), overføres fra bakterien og settes inn i plantecellenes kjernegenom. T-DNAet som overføres avgrenses av V (venstre) - og H (høyre)-flankesekvenser, og begrenser derfor delen av Ti-plasmidet som overføres og gjør at resten av vektoren ikke blir satt inn i plantekromosomene.
Terminator	En molekylærbiologisk terminator er en DNA-sekvens som fører til at RNA-polymerasen stopper opp, og avslutter transkripsjonen.
U.S. EPA	United States Environmental Protection Agency, USAs miljøvernmyndigheter.
Utviklingsstadier hos mais:	
	<u>Vegetative stadier</u>
	VE: oppspiring
	V1: 1. blad
	V2: 2. blad
	V(n): n'te blad
	VT: synlige hannblomsterstand (tassel)
	<u>Reproduktive stadier</u>
	R1: synlige hunnblomster
	R2: 'blister'
	R3: melkematning
	R4: deigmatning
	R5: dent
	R6: fysiologisk moden
Vektor	En molekylærbiologisk vektor (kloningsvektor) er et kunstig fremstilt DNA-molekyl som benyttes for å overføre genetisk materiale til en celle. De fire hovedtypene av vektorer er plasmider, bakteriofager og andre virus, kosmider og kunstige kromosomer.
Western-blot	Metode for overføring av proteiner til en membran.



## INNHOLDSFORTEGNELSE

BIDRAGSYTERE.....	2
Vurdert av .....	2
SAMMENDRAG .....	3
FORKORTELSER OG ORDFORKLARINGER .....	7
INNHOLDSFORTEGNELSE .....	9
BAKGRUNN .....	10
OPPDRAK FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING.....	10
RISIKOVURDERING .....	12
1. Innledning .....	12
1.1. Beskrivelse av egenskaper(er) og virkningsmekanismer.....	12
2. Molekylær karakterisering .....	12
2.1. Hybridproduksjon.....	12
2.2. Evaluering av foreldrelinjer.....	13
2.2. Hybriden MON 863 x MON 810.....	18
3. Komparative analyser .....	21
3.2. Analyser av ernæringsmessige komponenter .....	21
3.3. Agonomiske egenskaper.....	28
3.4. Delkonklusjon.....	28
4. Dokumentasjon av toksisitet og allergenisitet.....	29
4.1. Toksisitet .....	29
4.2. Allergenisitet .....	31
5. Miljørisikovurdering .....	35
5.1. Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen.....	35
5.2. Potensiale for genoverføring.....	35
5.3. Potensiale for samspill mellom GMP og målorganismer .....	36
5.4. Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer.....	37
5.5. Potensiale for samspill med abiotisk miljø og eventuelle effekter på biogeokjemiske prosesser .....	37
5.6. Overvåking .....	37
5.7. Delkonklusjon.....	38
6. Vurdering av søkers dokumentasjon.....	39
KONKLUSJON.....	40
REFERANSER.....	43
VEDLEGG .....	48

## BAKGRUNN

Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet er bedt av Direktoratet for naturforvaltning om å foreta en vitenskapelig vurdering av miljørisiko i forbindelse med nasjonal sluttbehandling av søknad om godkjenning av den genmodifiserte maislinjen MON 863 x MON 810 fra Monsanto Company (C/DE/02/09). I EU/EØS-området er MON 863 x MON 810 godkjent for import og videreføring under del C av direktiv 2001/18/EF.

Søknad om markedsføring av den genmodifiserte maislinjen under direktiv 2001/18/EF ble fremmet og anbefalt av tyske myndigheter i februar 2003. MON 863 x MON 810 ble opprinnelig søkt godkjent også til bruk i fôrvarer og tilsvarende annen mais, men bruksområdet ble endret under 2001/18/EC-prosesyren til bare å omfatte import og prosessering. Etter en 60-dagers høringsperiode til EU/EØS-landene, leverte EUs vitenskapskomité (EFSA) sin første uttalelse i saken 2. april 2004 (EFSA 2004a). Helse- og miljørisikovurderingen var primært basert på dokumentasjon knyttet til foreldrelinjene MON 863 og MON 810. På bakgrunn av dissens i EFSA ble det derfor etterspurt tilleggsinformasjon fra Monsanto relatert til hybridene, spesielt subkroniske fôringsstudier. Monsanto la frem tilleggsinformasjon i april 2005. EFSA publiserte sin nye vurdering 8. juni 2005 (EFSA 2005a), og endelig godkjenning av søknaden ble gitt 16. januar 2006 (Kommisjonsbeslutning 2006/47/EC).

MON 863 x MON 810 er i tillegg notifisert som eksisterende produkt under EU-forordning 1829/2003/EF, artikkel 8 og 20. Godkjenningen av maishybriden gikk ut i april 2007, og Monsanto har søkt om fornyet godkjenning fram til 2017. Dossieret til søknaden (EFSA-GMO-RX-MON 863 x MON 810), som omfatter prosesserte næringsmidler og fôrvarer, ble publisert på EFSAnet 5. juni 2008, og søknaden er nå under vurdering av EFSA. I Norge ble MON 863 x MON 810 innmeldt som prosessert fôrvarer under den nasjonale overgangsordningen for eksisterende GM-produkter 15. mars 2006 (jfr. fôrvarerforskriftens § 7a), og var tillatt å omsette på det norske markedet fram til 15. september 2008. Det er foreløpig uklart om overgangsordningen forlenges i påvente av innlemmelse av EUs rettsakter i EØS-avtalen. Notifiseringen gjelder fôrvarer både til landdyr og til oppdrettsfisk. ([http://www.mattilsynet.no/mattilsynet/multimedia/archive/00034/Tillatte\\_eksisterend\\_34512a.pdf](http://www.mattilsynet.no/mattilsynet/multimedia/archive/00034/Tillatte_eksisterend_34512a.pdf))

Monsanto har også søkt godkjenning av maishybriden til mat og fôr under forordning 1829/2003/EF (EFSA/GMO/DE/2004/03), og EFSA har publisert to vurderinger i forbindelse med søknaden (EFSA 2005b, EFSA 2006b).

Utenfor EU/EØS-området er MON 863 x MON 810 godkjent for alle bruksområder (inkludert dyrking) i Japan (Agbios 2009). I tillegg er maislinjen godkjent for omsetning som mat og/eller fôr i Korea, Mexico og Filippinene.

## OPPDRAK FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING

I forbindelse med slutføring av saksbehandling av søknad C/DE/02/9, genmodifisert maishybrid MON 863 x MON 810 fra Monsanto Company, har Direktoratet for naturforvaltning i brev datert 19.2.2009 bedt Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å foreta en vitenskapelig risikovurdering av maislinjen med hensyn på eventuelle effekter på miljø. EUs utsetningsdirektiv 2001/18/EF ble innlemmet i EØS-avtalen 28. september 2007, og Norge må ta endelig stilling til om søknaden skal innvilges også her i landet. Faggruppe for genmodifiserte organismer vurderte helseaspekter knyttet til bruk av hybridlinjen som næringsmiddel og fôrvarer i 2005 (VKM 2005a). Publisering av ny, oppdatert informasjon gjør at faggruppen har valgt å inkludere en revidert helse- og miljørisikovurdering av MON 863 x MON 810 i oppdraget. Begge foreldrelinjene er tidligere vurdert av faggruppen både med hensyn på effekter på miljø og helse (VKM 2006, 2007 a, b; 2008).

I henhold til oppdraget fra DN skal risikovurderingen utføres i tråd med helse- og miljøkravene i genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven. Videre skal EUs direktiv 2001/18/EF om utsetting i miljøet av genmodifiserte<sup>10</sup>

organismer legges til grunn for vurderingen. Oppdraget omfatter forhold knyttet til miljørisiko som gjelder for alle land som omfattes av godkjenningen (EØS-området), og miljørisiko som vil være spesielt viktige for Norge. Det skal også gis en samlet konklusjon om miljørisiko i tråd med kravene i forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, vedlegg 2C.

*Produktet som ønskes vurdert:*

Genmodifisert mais, linje MON 863 x MON 810 fra Monsanto Company

Unik kode: MON-ØØ863-5 x MON-ØØ81Ø-6

Notifikasjonsnummer i EU: C/DE/02/9

Status i EU: Godkjent for markedsføring under direktiv 2001/18/EF for import og videreprosessering i 2006. Innmeldt som eksisterende produkt under forordning 1829/2003/EF (art. 8 og 20) i 2004. Monsanto har levert søknad om fornyet godkjenning under forordning 1829/2003/EF, som er under behandling av EFSA.

# RISIKOVURDERING

## 1. Innledning

Helse- og miljørisikovurderingen av den genmodifiserte maishybriden MON 863 x MON 810 er i hovedsak basert på dokumentasjon som er tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA-net. I tillegg er det benyttet uavhengige vitenskapelige publikasjoner med referee i vurderingen. Vurderingen er gjort i henhold til tiltenkt bruk og i overensstemmelse med miljø- og helsekravene i genteknologiloven med forskrifter, først og fremst forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven. Videre er kravene i EUs forordning 1829/2003/EF og utsetningsdirektiv 2001/18/EF med annekser lagt til grunn for vurderingen.

I tråd med VKMs mandat presiseres det at vurderinger av etikk, bærekraft og samfunnsnytte i henhold til kravene i genteknologiloven og dens konsekvensutredningsforskrift ikke skal utføres av Faggruppe for genmodifiserte organismer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige helse- og miljøeffekter ved dyrking og prosessering utenfor EU/EØS-området.

Faggruppe for genmodifiserte organismer har vedtatt å benytte EFSA's retningslinjer som retningslinjer for vurdering av genmodifiserte planter. Prinsippene som er lagt til grunn for vurderingen er derfor hentet fra EFSA's dokument "Guidance document of the scientific panel on genetically modified organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (EFSA 2006b). Ved vurdering av vesentlig likhet har faggruppen lagt vekt på OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002), som gir anbefalinger over hvilke parametere som bør undersøkes.

Det er kun medlemmene i Faggruppe for GMO som har vurdert den genmodifiserte maisen.

### 1.1. Beskrivelse av egenskaper(er) og virkningsmekanismer

Foreldrelinjen MON 863 er produsert ved biolistisk transformasjon (partikkelakselerasjon) av kallusvev fra den innavlede maislinjen A634. Linjen har vært mye benyttet i produksjon av konvensjonelle hybridsorter i USA. Den innsatte genkonstruksjonen inneholder *cry3Bb1*-genet fra jordbakterien *B. thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*. Uttrykket av *cry*-genet kontrolleres av en modifisert utgave av *CaMV 35 S* promotoren (4-AS1) fra blomkålmosaikkvirus. *Cry3Bb1*-genet koder for et  $\delta$ -endotoksin, som gir plantene toleranse mot angrep fra arter i billeslekten *Diabrotica*. Maislinjen inneholder også antibiotikaresistensmarkørgenet *nptII* fra *E. coli*, under kontroll av promotoren *CaMV 35 S*. *NptII* koder for enzymet neomycin fosfotransferase II, og gir resistens mot aminoglykosidantibiotika som kanamycin og neomycin. Genet er introdusert som seleksjonsmarkør for identifikasjon av transformanter under regenerasjonen.

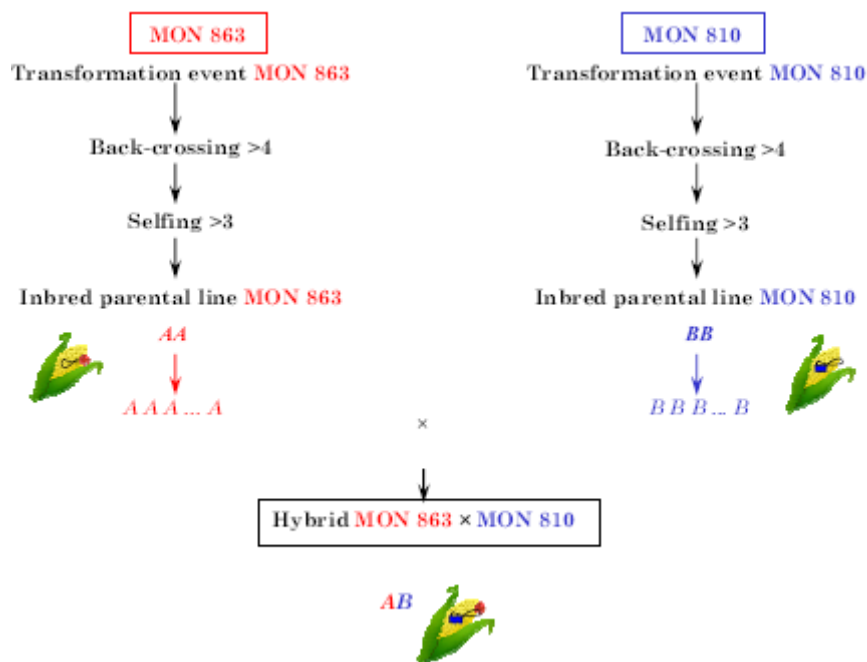
Foreldrelinjen MON 810 har fått innsatt det bakterielle genet *cryIAb*. Genet er isolert fra *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1. *CryIAb*-genet koder for  $\delta$ -endotoksiner som gir plantene toleranse mot enkelte arter i ordenen *Lepidoptera*, eksempelvis *Ostrinia nubilalis* (maispupalide) og arter i slekten *Sesamia* (natlflyfamilien, *Noctuidae*).

## 2. Molekylær karakterisering

### 2.1. Hybridproduksjon

Hybridforedling er den dominerende foredlingsstrategien i konvensjonell foredling og sortsutvikling i mais i dag. Metodikken innebærer utvikling av innavlede, tilnærmet homozygote foreldrelinjer, som så krysses for produksjon av F<sub>1</sub>-hybridfrø. Dette gir ensartede og produktive sorter (heterosiseffekt). Den

transgene hybriden MON 863 x MON 810 er dannet ved konvensjonell kryssing mellom maislinjene MON 863 og MON 810, se figur 1.



**Figur 1.** Kryssingsskjema for hybriden MON 863 x MON 810.

## 2.2. Evaluering av foreldrelinjer

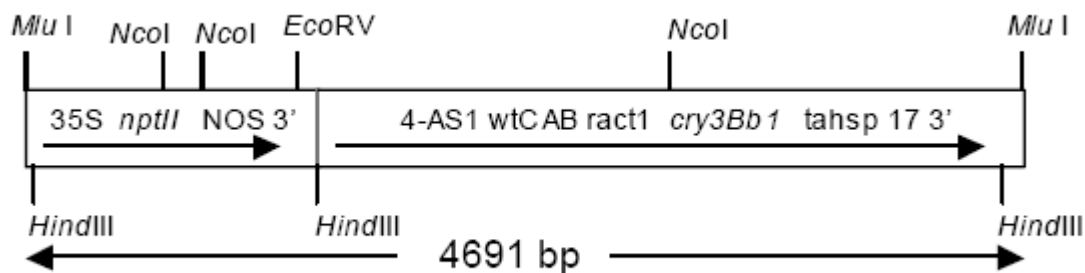
### 2.1.1. Foreldrelinje MON 863

#### *Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon*

MON 863 inneholder et rekombinant DNA-fragment på 4691 basepar fra PV-ZMIR13-plasmidet. DNA-fragmentet inkluderer to ekspresjonskassetter. Ekspresjonskassetene inneholder henholdsvis ett *cry3Bb1*-gen med regulatoriske områder og ett *nptII*-gen med regulatoriske områder (tabell 1, figur 1).

*Cry3Bb1*- og *nptII*-ekspresjonskassetene inneholder følgende DNA-elementer:

- CaMV *e35s* promotor,
- *nptII* åpen leseramme som koder for proteinet NPTII,
- trunkert *ble* (150 basepar) og *NOS* 3'-termineringsekvens for transkripsjon,
- *4ASI* 4 tandemkopier av ASI (modifisert 35s promotor),
- *wtCAB* 5'-mRNA-ledersekvens fra hvete, klorofyll a/b protein,
- *rac1* intron fra ris, aktin 1 gen,
- *cry3Bb1* ORF, som koder for Cry3Bb1-proteinet,
- *tahsp17* 3'-polyadeninsekvens fra hvete *hsp17.3* gen som avslutter ekspresjonen.



**Figur 2.** Illustrasjon av det rekombinante DNA-fragment i genomet til maislinjen MON 863.

**Tabell 1.** Genelementer fra plasmid PV-ZMIR13, som er satt inn i genomet til MON 863

Genetic Element	Size (kb)	Function
<b><i>cry3Bb1</i> gene cassette:</b>		
4-AS1	0.22	Promoter for the <i>cry3Bb1</i> gene in MON863 corn. The promoter consists of four tandem repeats of activating sequence-1 (AS1)(Lam and Chua 1990) and a single portion of the 35S promoter (Odell et al 1985) both derived from cauliflower mosaic virus (CaMV). AS1 is a 21 base pair element associated with the 35S promoter, which has been linked with high levels of protein expression in roots (Lam et al 1989).
wt CAB	0.06	The 5' non-translated leader sequence of the wheat chlorophyll a/b binding protein. This leader sequence facilitates mRNA translation (Lamppa et al 1985).
ract 1 intron	0.49	The first intron from the rice actin 1 gene, which enhances DNA transcription (McElroy et al 1990).
<i>cry3Bb1</i>	1.96	The coding sequence for the Cry3Bb1 variant protein produced in <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kumamotoensis</i> .
tahsp 17 3'	0.23	The 3' nontranslated region of the coding sequence for wheat heat shock protein 17.3, which ends transcription and directs polyadenylation (McElwain and Spiker 1989).
<b>Selectable marker:</b>		
35S	0.35	The 35S promoter from CaMV (Odell et al 1985).
<i>nptII</i>	0.97	Coding sequence for gene encoding the enzyme neomycin phosphotransferase II from <i>Escherichia coli</i> transposon Tn5 (Beck et al 1982). The DNA derived from <i>E. coli</i> also includes a 153 base pair segment of the bleomycin binding protein gene ( <i>ble</i> ). The fragment of <i>ble</i> is located 20 base pairs downstream of the <i>nptII</i> stop codon.
NOS 3'	0.26	The 3' nontranslated region of the nopaline synthase gene of <i>Agrobacterium tumefaciens</i> T-DNA, which ends transcription and directs mRNA polyadenylation (Bevan et al 1983).

#### *Karakterisering av geninnsettingen og det rekombinante DNA-fragmentet*

Det er foretatt en rekke undersøkelser av antall kopier av ekspresjonskassetten og antall insersjonssteder i genomet. Videre er det foretatt sekvensering av DNA oppstrøms og nedstrøms for innsettingsstedet (5'- og 3'-flankesekvenser). I tillegg er integriteten til ekspresjonskassetten i genomet, fravær av andre åpne leserammer enn de som er satt inn, og fravær av annet transformasjonsplasmid DNA i MON 863 vurdert.

Det konkluderes med at det er kun én kopi av ekspresjonskassetten i MON 863. Sammenlignende DNA-analyser mellom MON 863 og ikke-transgen hybridlinje MON 864 (A1 x A634) viser at bruttostørrelsen på det innsatte DNA-fragmentet er intakt. Det kan derfor ikke forventes endringer i ekspresjonen fra dette elementet.

#### *Informasjon vedr. uttrykk av introduserte gener, åpne leserammer (ORF)*

I henhold til dokumentasjon fra søker er nivået av uttrykk av Cry3Bb1-protein målt i prøver av hel plante, blad, røtter, og frø fra fire feltforsøk i USA vekstsesongen 1999. I tillegg ble konsentrasjon av Cry3Bb1 målt i hunnblomster (arrene) fra forsøk i USA og Argentina, mens toksinnivået i pollen ble målt i plantemateriale fra tre lokaliteter i Argentina. Nivået av Cry3Bb1-protein varierte mellom 10 og 81 µg/g råvekt, avhengig av utviklingsstadium og vevstype. Konsentrasjonen av proteinet i blad, hel plante og rotvev ble redusert utover i vekstsesongen, og var i gjennomsnitt 81 µg/g i unge blad, 70 µg/g i frø, 41 µg/g i røtter, 39 µg/g i hel plante og 62 µg/g i pollen.

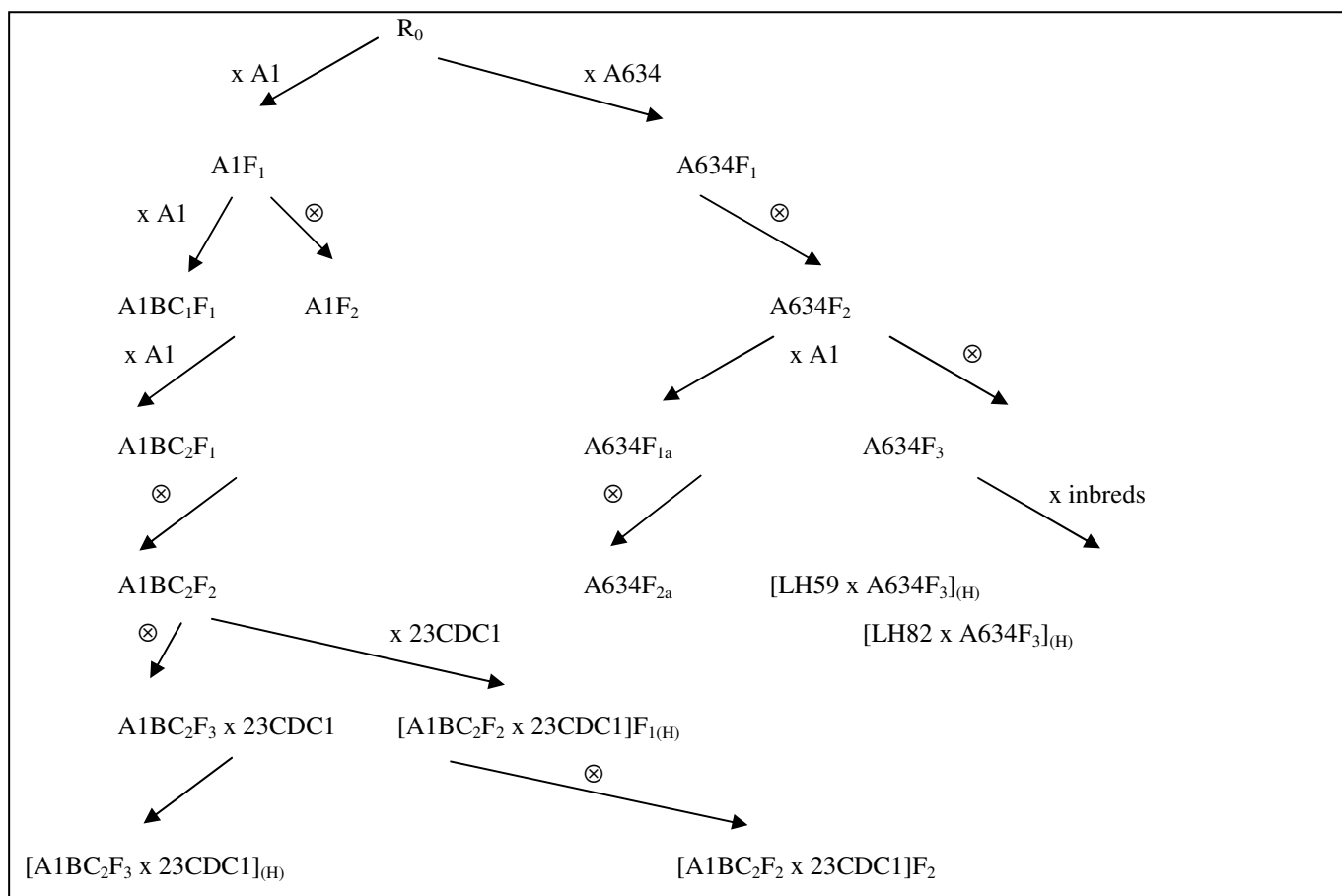
Uttrykk av NPTII ble målt i unge blad, hel plante og frø av MON 863, og varierte fra ikke detekterbar (< 0,076 µg/g) til 1,4 µg/g råvekt.

#### *Nedarving og stabilitet av innsatt DNA*

Monsanto viser til en rekke undersøkelser som dokumenterer at det rekombinante DNA-innskuddet er stabilt integrert i genomet, og stabilt nedarvet over generasjoner. Analyser av Southern blot viser stabilitet av det rekombinante innskuddet over 3 selvpollineringsgenerasjoner og 9 generasjoner fra kryssinger av R<sub>0</sub> x A1 and R<sub>0</sub> x A634 (figur 3). Videre er fenotypisk stabilitet demonstrert ved spaltingsdata fra tre kryssingsgenerasjoner og to generasjoner med selvbestøvning etter R<sub>0</sub> x A1. Segregeringsanalysene (Chi-kvadrat-analyser) viser forventet mendelsk nedarving av *cry3Bb1*-genet.

#### *Delkonklusjon*

Faggruppen har tidligere vurdert karakteriseringen av det rekombinante innskuddet, de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av MON 863 til å være tilfredsstillende (VKM 2006, 2008).



R<sub>0</sub> – originally transformed plant  
 ⊗ - self-pollinated

H - hybrid

**Figur 3.** Kryssingsskjema for genmodifisert maislinje MON 863.



## 2.1.2. Foreldrelinje MON 810

### *Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon*

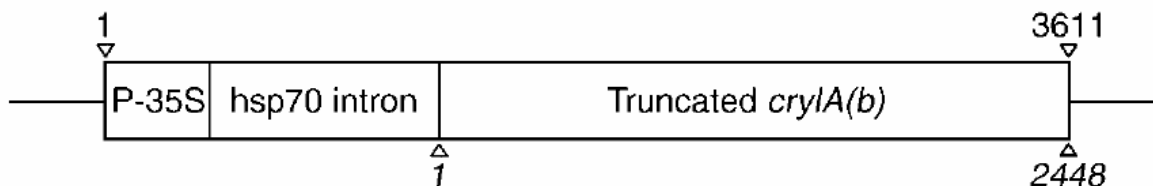
Cry1Ab-ekspressjonskassetten inneholder *e35s*-promoter fra blomkålmosaikkvirus (CaMV), intronet *hsp70* fra mais og et trunkert *cry1Ab*-gen, og finnes som én kopi i genomet. *Cry1Ab*-genet stammer fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis*. DNA-fragmentet, som stammer fra plasmidet PV-ZMBK07, ble overført til umodne maisceller med partikkelaksellerasjonsmetoden. DNA-fragmentet inneholder ikke antibiotikaresistensen. Transformanter ble selektert ved at de overlevde og vokste i nærvær av glyfosat.

### *Karakterisering av geninnsettingen/genkonstruksjonen*

Southern blot og PCR har blitt brukt for å karakterisere det rekombinante DNA-fragmentet i planten. Molekylærbiologisk karakterisering viser at det er satt inn bare en kopi av det rekombinant DNA-fragmentet i maisens genom. Dette fragmentet inneholder følgende gener og DNA elementer (se figur 4):

#### Cry1Ab ekspressjonskasset

- e35S* promoter med dobbel enhancer, fra blomkålmosaikkvirus(CaMV)
- Zmhsp 70* det første intronet i "heat shock" protein-70 genen for å øke transkripsjonen og dermed nivået av gentranskriptet, stammer fra mais
- Cry1Ab* gen som koder et syntetisk Cry1Ab- protein, fra *Bacillus thuringiensis*



**Figur 4.** Rekombinant DNA- fragment i maisens genom.

### *Karakterisering av geninnsettingen*

Monsanto har i forbindelse med nyere søknader av hybrider med MON 810, eksempelvis EFSA-RX-MON 863 x MON 810, lagt ved oppdatert dokumentasjon av molekylærbiologiske analyser for MON 810. Disse molekylærbiologiske analysene viser at det rekombinante fragmentet i planten inneholder et trunkert *cry1Ab* gen, en trunkert *e35S* promoter og et fullengde *hsp70*- intron (figur 4). Cry1Ab-proteinet som uttrykkes i maiskorn er undersøkt med Western-blot analyse og densitometri, SDS-PAGE, densitometri, trypsinbehandling av proteinet og Southern blot.

PCR- og sekvenseringsanalyser av det rekombinante DNA-fragmentet i MON 810 viser at fragmentet er på 3582 nukleotider (bp). Analysene viser at det trunkerte *cry1Ab*-genet er på 2448 bp og *e35S* promoteren er 307 bp, mens intronet *hsp70* er uendret. *Cry1Ab*-genet i plasmidet PV-ZMBK07 er ca. 3471 bp og *e35S* promoteren er 621 bp. Det er foretatt en rekke sekvenseringsanalyser av flankesekvensene til det rekombinante DNA fragmentet (Borovkov *et al.* (2001), Holck *et al.* (2002), Hernández *et al.* (2003), Scanlon *et al.* (2007)). Borovkov *et al.* (2001), Hernández *et al.* (2003) og Scanlon *et al.* (2007) har sekvensert henholdsvis ca. 606 bp, ca. 560 bp og ca. 1265 bp nedstrøms fra 3'-flanke-ende til det rekombinante DNA fragmentet. Det er ikke funnet sekvenser som har likheter med kjente maisgener. For sekvenseringsanalysene oppstrøms fra 5'-flankesekvenser henviser Monsanto til Borovkov *et al.* (2001) og Holck *et al.* (2002). Sekvensering og BLAST til maisgenomsekvenser støtter antagelsen om at det har skjedd en rekombinasjon mellom transgen og flankesekvensene i MON 810, som kan forklare hvorfor mye av plasmidvektor-DNAet er fjernet og en har fått satt sammen nye deler av maismorlinjens kromosomfragment etter genmodifiseringen av MON 810. Holck *et al.* har sekvensert 803 bp av flankesekvensene, og analysene viser at 17

flankesekvensene er genomisk DNA fra mais. Nyere karakterisering av det rekombinante DNA fragmentet i MON 810 og sekvenseringsanalyser av flankerende sekvenser er utført i 2007 (Scanlon *et al.* 2007).

#### *Informasjon vedrørende uttrykk av introduserte gener og åpne leserammer (ORF)*

Monsanto viser til at konsentrasjonen av Cry1Ab1-protein er målt i prøver av MON 810 dyrket i feltforsøk i USA og Europa i perioden 1994-1996. De nordamerikanske forsøkene var lokalisert på henholdsvis 6 og 5 steder vekstsesongene 1994 og 1994. I tillegg ble maislinjen testet i felt på henholdsvis 4 og 3 lokaliteter i Frankrike og Italia i 1995 og 1996. Det ble tatt prøver av blad, hel plante og frø. Proteinekspressjonen i frø ble målt til henholdsvis  $0,31 \pm 0,09$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 0,19 – 0,39),  $0,57 \pm 0,21$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 0,39 – 0,91),  $0,53 \pm 0,12$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 0,42 – 0,69) og  $0,41 \pm 0,06$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 0,35 – 0,46). I prøver av hel plante ble det målt konsentrasjoner av Cry1Ab på henholdsvis  $4,15 \pm 0,71$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 3,65 – 4,65),  $3,34 \pm 1,09$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 2,31 – 4,48),  $4,80 \pm 0,75$   $\mu\text{g/g}$  rå (variasjonsbredde = 4,11 – 5,56) og  $4,88 \pm 0,52$   $\mu\text{g/g}$  råvekt (variasjonsbredde = 4,32 – 5,34).

Teoretiske analyser av mulige polypeptider fra hver leseramme v.h.a. allergen (AD4 (5')/UPDATE2 (3'))-, toksin (TOXIN5(5') og Toxin4 (3'))- og peptid (ALLPEPTIDES (5' og 3'))-databaser er utført. Sekvenser som flankerer 5' viser, i henhold til Monsanto, ingen strukturelle likheter til allergener, toksiner og farmakologiske aktive proteiner. Imidlertid viser sekvenseringsanalyser utført av Holck *et al.* (2002) stor likhet til genklusteret  $\alpha$ -zein som sitter i maiskromosom 4. Det er ikke funnet andre sekvenser som har likheter med kjente maisgener. Resultatene fra disse teoretiske analysene viser at det er lite sannsynlig at det dersom noen av disse leserammene skulle bli transkribert vil resultere i polypeptider som medfører potensielle toksiske eller allergene konsekvenser. Sekvenser som flankerer 3' viser i henhold til Monsanto ingen strukturelle likheter til allergener, toksiner og farmakologiske aktive proteiner. Det er imidlertid funnet sekvenslikhet til proteinet importin  $\alpha$ . Monsanto hevder at om et kimært peptid dannes vil ikke dette være skadelig for mennesker eller dyr, fordi 90 dagers føringstudie på rotter viser ingen forskjeller mellom MON 810 og umodifisert mais.

#### *Nedarving og stabilitet av innsatt DNA*

Nedarving og stabilitet av den innsatte genkonstruksjonen er vist både via spaltingsdata og ved Southern analyse. Spaltingsdata fra 7 tilbakekryssinger av MON 810 til en av foreldrelinjene, og 6 tilbakekryssinger til en ubeslektet, innvlet linje er brukt til å evaluere genetisk stabilitet. Data som presenteres er i overensstemmelse med forventede spaltingstall. I følge søker viser også resultater fra Southern analyse at det innsatte transgenet er stabilt og sitter som i opprinnelig transformasjon på samme kromosom og i samme integreringssete i maisens genom.

#### *Delkonklusjon*

Faggruppen har tidligere vurdert de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av proteinene og funnet at informasjonen er tilstrekkelig (VKM 2007 a,b). Faggruppen konkluderer med at karakteriseringen av det rekombinante innskuddet i MON 810 er tilfredsstillende.

## **2.2. Hybriden MON 863 x MON 810**

#### *Molekylær karakterisering*

MON 863 x MON 810 er dannet ved konvensjonell kryssing mellom de transgene maislinjene MON 863 og MON 810. Det er foretatt Southern blot-analyse for å undersøke tilstedeværelse, antall kopier, samt størrelse og struktur av MON 863- og MON 810-ekspresjonskassetene i hybridene MON 863 x MON 810. Det er påvist én enkel kopi av henholdsvis MON 863- og MON 810-ekspresjonskassetene. Southern blot-analyser viser at MON 863 x MON 810 og de to foreldrelinjene har samme bruttostørrelse på de innsatte DNA-fragmentene, samt at de er intakte i hybridgenomet.

Monsanto hevder at det er liten sannsynlighet for molekylær gjensidig påvirkning mellom innskuddene fra MON 863 og MON 810 i hybridlinjen. Siden ekspresjonskassetene ligger på hvert 18

sitt kromosom i hybriden MON 863 x MON 810 er det derfor ikke nødvendig å foreta nye analyser av innskuddssteder, sekvensering av DNA oppstrøms og nedstrøms for innsetningsstedet, integriteten til ekspresjonskassetene, fravær av andre åpne leserammer enn de som er satt inn fra foreldrelinjene, eller fravær av annet transformasjonsplasmid-DNA i MON 863 x MON 810.

*Informasjon vedr. uttrykk av introduserte gener*

I henhold til Monsanto er det foretatt målinger av proteinuttrykk i prøver av plantemateriale fra feltforsøk i Argentina vekstsesongen 1999-2000. Forsøkene ble lagt ut på 4 ulike lokaliteter i form av fullstendig randomiserte blokkdesign med 4 gjentak. Ekspresjonen av Cry3Bb1-, Cry1Ab- og NPTII-proteinene ble målt i prøver fra unge blad, hel plante, korn, røtter og pollen på ulike utviklingsstadier. Målingene ble foretatt ved hjelp av Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Nivået av Cry3Bb1-protein varierte mellom 22,0 og 79,6 µg/g råvekt, avhengig av utviklingsstadium og vevstype (tabell 2). Den høyeste konsentrasjonen av proteinet ble målt i pollen, med et variasjonsområde mellom 65,1 og 96,5 µg/g råvekt. Uttrykket av Cry1Ab1-protein varierte fra ikke detekterbar (<0,08 µg/g råvekt) i pollen til 17,9 µg/g råvekt i unge blad (tabell 3). Gjennomsnittlige konsentrasjoner av Cry3Bb1-protein i hybridene var signifikant høyere enn nivået i foreldrelinjen MON 863 for alle undersøkte vev. Tilsvarende fant en at ekspresjonen av Cry1Ab i gjennomsnitt var høyere i blad, frø og hel plante av MON 863 x MON 810 sammenlignet med nivået i MON 810. I følge Monsanto er de observerte variasjonsområdene store, og de målte konsentrasjonene av både Cry3Bb1 og Cry1Ab innenfor normalt variasjonsområde for proteinekspresjon. I feltforsøk med foreldrelinjen MON 863 i USA i 1999 (søknad C/DE/02/9) varierte f.eks. uttrykket av Cry3Bb1 i unge blad mellom 65 og 93 µg/g råvekt.

**Tabell 2.** Konsentrasjon av Cry3Bb1-protein i prøver av unge blad, hel plante, korn, pollen og røtter på ulike utviklingsstadier fra MON 863 x MON 810 og foreldrelinjen MON 863.

Vevstype	Prøvetidspunkt (antall dager etter plantning)	Gjennomsnittlige nivåer av Cry3Bb1-protein (µg/g t.v.)	
		MON 863 x MON 810	MON 863
Unge blad	18	46 (35,6-53,2)	30,0 (21,3-47,2)
Hel plante (fôr)	90	23,6 (6,7-39,7)	12,8 (<0,22-28,8)
Korn	117	61,1 (38,5-83,1)	43,7 (<0,096-84,1)
Pollen	60	79,6 (65,1-96,5)	60,4 (29,7-90,7)
Røtter (modne)	90	19,7 (6,0-41,7)	16,2 (<0,76-49,8)
Røtter (over sesong)	46	22,0 (N/A)	20,0 (N/A)

**Tabell 3.** Konsentrasjon av Cry1Ab-protein i prøver av unge blad, hel plante, korn og pollen fra MON 863 x MON 810 og foreldrelinjen MON 810.

Vevstype	Prøvetidspunkt (antall dager etter plantning)	Gjennomsnittlige nivåer av Cry1Ab-protein (µg/g t.v.)	
		MON 863 x MON 810	MON 810
Unge blad	18	17,9 (14,1-27,5)	13,0 (9,8-15,4)
Hel plante (fôr)	90	7,9 (3,9-11,9)	5,6 (3,0-8,2)
Korn	117	0,84 (0,63-1,2)	0,46 (0,24-0,77)
Pollen	60	<0,08 (<0,08)	<0,08 (<0,08-0,18)

Konsentrasjonen av NPTII-protein ble målt i unge blad, hel plante og frø, og varierte fra ikke detekterbar (<0,076 µg/g råvekt) i frø til gjennomsnittlig 1,6 µg/g råvekt i blad (tabell 4). Nivået av proteinproduktet i hybridene var i overensstemmelse med foreldrelinjen MON 863 for alle vevstyper som ble undersøkt.

**Tabell 4.** Konsentrasjon av NPTII-protein i prøver av unge blad, hel plante og korn fra MON 863 x MON 810 og foreldrelinjen MON 863.

Vevstype	Prøvetidspunkt (antall dager etter planting)	Gjennomsnittlige nivåer av NPTII-protein (µg/g t.v.)	
		MON 863 x MON 810	MON 863
Unge blad	18	1,6 (0,53-2,3)	1,06 (0,58-1,6)
Hel plante (fôr)	90	0,19 (0,13-0,27)	0,17 (<0,075-0,33)
Korn	117	<0,076 (<0,076)	<0,076 (<0,076)

#### Åpne leserammer

Det er ikke foretatt analyser av åpne leserammer, men søker henviser til undersøkelser av foreldrelinjene MON 863 og MON 810. Monsanto hevder at molekylære analyser av MON 863 x MON 810 viser at den strukturelle integriteten til de to innskuddene er konserverte, og at det derfor ikke er nødvendig å foreta analyser av flankerende sekvenser hos hybridene.

#### Nedarving og stabilitet av innsatt DNA

Molekylærbiologiske analyser av F<sub>1</sub>-hybridene viser at det er molekylær ekvivalens og identisk kopitall med de rekombinante DNA-innskuddene i de respektive foreldrelinjene. Søker konkluderer derfor med at det er svært sannsynlig de rekombinante innskuddene i hybridene er stabilt integrert i genomet. I henhold til dokumentasjonen fra Monsanto er hybridlinjen MON 863 x MON 810 ikke undersøkt med hensyn på fenotypisk stabilitet eller genetisk stabilitet over generasjoner. Søker henviser til at undersøkelser av MON 863 og MON 810 har vist at de rekombinante DNA-innskuddene i de respektive foreldrelinjene er stabilt integrerte i genomene, og nedarves stabilt over generasjoner. Ved konvensjonelle kryssinger mellom to slike transgene linjer forventes det ikke ustabilitet.

Videre vises det til at F<sub>2</sub>-generasjonen som høstes ikke skal inngå i videre foredlingsarbeid. Søker vurderer det derfor ikke nødvendig å undersøke stabilitet over generasjoner. I følge EFSA's retningslinjer vedrørende risikovurdering av GMP med stabile egenskaper (EFSA 2007), anbefales det at sammenligningen av de innsatte genkonstruksjonene i foreldrelinjene og den transgene hybridene foretas på representative materialer for det som skal benyttes i den kommersielle produksjonen, dvs. inngår i mat/førkjeden og/eller settes ut i miljøet.

#### Delkonklusjon

Hybridene MON 863 x MON 810 er dannet ved konvensjonell kryssing mellom de transgene maislinjene MON 863 og MON 810. Southern-analyser indikerer at de innsatte strukturene nedarves stabilt, og at antall, struktur og organisering av disse genkonstruksjonene er ekvivalent med de som finnes i foreldrelinjene. Flere kommentarer?

Nivåene av Cry3Bb1- og Cry1Ab-proteiner både i vegetativt vev og frø er signifikant høyere i hybridene sammenlignet med konsentrasjonen av proteinene i de respektive foreldrelinjene. Faggruppen konkluderer med at nivåene er innenfor normalt variasjonsområde for foreldrelinjene.

### 3. Komparative analyser

#### 3.1. Valg av komparator og forsøksdesign

I følge dokumentasjon fra Monsanto knyttet til søknad om godkjenning av MON 863 x MON 810 under forordning 1829/2003/EF (EFSA/GMO/UK/2004/01) og søknad om fornyet godkjenning (EFSA-GMO-RX-MON 863 x MON 810) fra 2008, er ernæringsmessige viktige komponenter undersøkt i feltforsøk i Argentina. Feltforsøkene ble lagt ut på fire lokaliteter i sentrale dyrkingsområder for mais i vekstsesongen 1999/2000. Hvert forsøksfelt bestod av et fullstendig randomisert blokkdesign med fire gjentak. Forsøkene inkluderte fire umodifiserte, kommersielle referansesorter på hver lokalitet, til sammen 16 sorter. Den ikke-transgene hybridlinjen MON846 (A1 x A634) ble benyttet som kontroll. I tillegg til feltforsøkene fra Argentina er analyser fra nordamerikanske og europeiske feltforsøk inkludert i vurderingen.

I følge søkers dokumentasjon skal det være foretatt registreringer av agronomiske karakter i feltforsøk med MON 863 x MON 810 i USA. Dette er imidlertid ikke dokumentert verken i dossieret til søknadene eller andre vedlegg.

##### *Statistiske analyser*

I Nordisk ministerråds rapport "Safety Assessment of Novel Food Plants: Chemical Analytical Approaches to the Determination of Substantial Equivalence" (TemaNord 1998), anbefales det at tilstrekkelig antall prøver må analyseres for å få adekvat sensitivitet for statistisk analyse. Spredning i enkeltparametere skal være sammenlignbare for genetisk modifisert plante og umodifisert plante. I rapporten er det anbefalt at spredningen i enkeltverdier bør ligge innenfor  $\pm 20\%$ . Faggruppe for genmodifiserte organismer bruker denne anbefalingen som grunnlag for vurdering av forsøksresultatene.

#### 3.2. Analyser av ernæringsmessige komponenter

##### 3.2.1. Hovedkomponenter i maiskorn og andre plantedeler

Analysene av ernæringsmessige komponenter som medfølger dokumentasjonen er utført i 1999/2000, før OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002) ble publisert. Monsanto hevder i vedlagt dokumentasjon fra 2008 (EFSA-GMO-RX-MON 863 x MON 810) at valg av analyseparametere er utført i henhold til internasjonale standarder og OECDs konsensusdokument.

I henhold til søkers dokumentasjon er fôrfraksjonen analysert for innhold av aske, vann, fett, protein, ADF (acid detergent fiber), NDF (neutral detergent fiber), karbohydrater, kalsium og fosfor. I prøver av frø er følgende parametere analysert: protein, fett, aske, vann, karbohydrater, ADF, NDF, total fiber, aminosyrer, fettsyrer (C16-C22), fosfor, jern, kalium, kalsium, kobber, magnesium, mangan, sink, vitaminene B1 (tiamin), B2 (riboflavin), totalmengde vitamin E og folinsyre (vitamin B9), antinæringsstoffene trypsinhemmer og fytinsyre, samt de sekundære metabolittene furfural, cumarsyre, inositol, raffinose og ferulsyre. Analysene ble utførte under god laboratoriepraksis (GLP) (US EPA 40 CFR PART 160).

##### 3.2.2. Analyser av fôrfraksjon

Kombinerte analyser over lokaliteter viser ingen statistiske signifikante forskjeller mellom hybridene og umodifisert kontroll for de analyserte komponentene. Komponentene som ble analysert var aske, vann, fett, protein, ADF (acid detergent fibre), NDF (neutral detergent fibre) og karbohydrater. OECDs konsensusdokument for mais anbefaler at det også skal måles for innhold av kalsium og fosfor i fôrfraksjonen. Det er funnet statistiske signifikante forskjeller for NDF-fiber (NDF= neutral detergent fibre) i de argentinske feltforsøkene. For de øvrige analyserte komponentene er det ikke funnet statistiske signifikante forskjeller. For samtlige komponenter ligger verdiene innenfor typiske21

verdier som er rapportert i litteraturen, samt toleranseintervallene for Monsanto referansesorter som inngikk i studien (tabell 5).

**Tabell 5.** Analyser av ernæringsrelaterte komponenter i fôrfraksjonen.

Vevstype/ Komponent	MON 863 x MON 810		Kontroll		Ref. sorter	Litt. verdier	Hist. var.
	Gj.snitt	Var.omr.	Gj. snitt	Var.omr.	99 % tol.int.		
<i>Fiber</i>							
ADF (% t.v.)	26,28	21,70- 37,31	27,22	22,83- 30,32	15,09- 34,96	18,32- 40,99	21,4- 29,2
NDF (% t.v.)	40,31*	34,48- 53,24	43,20	39,15- 47,21	24,59- 55,98	26,37- 54,45	39,9- 46,6
<i>Hoved- komponenter</i>							
Aske (% t.v.)	6,41	5,36-9,44	6,32	4,88-8,23	2,33-7,70	2,00-6,60	2,9-5,1
Karbohydrat. (% t.v.)	83,23	81,27- 84,90	82,61	81,09- 84,68	78,37- 91,73	83,16- 91,55	84,6- 89,1
Total fett (% t.v.)	1,88	0,82-2,82	1,56	0,71-2,37	0-4,49	0,35-3,62	1,4-2,1
Vann (% t.v.)	74,58	72,00- 78,40	74,13	70,20- 77,70	56,69- 87,10	55,30- 75,30	68,7- 73,5
Protein (% t.v.)	8,48*	7,59-9,77	9,52	8,35-10,60	0,22- 15,79	5,11- 10,27	4,8-8,4

### 3.2.3. Analyser av maiskorn

#### *Analyse av fiber, aske, fett, karbohydrater, protein og vann*

Det er ikke funnet statistiske signifikant forskjeller for de analyserte ernæringsrelaterte komponentene (tabell 6). Verdiene for samtlige parametere ligger innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen, og toleranseintervallene for Monsanto referansesorter som inngikk i studien.

**Tabell 6.** Analyser av fiber, aske, fett, karbohydrater og vann i maisfrø.

	MON 863 x MON 810		Kontroll		Ref. sorter		
Vevstype/ Komponent	Gj.snitt	Var.omr.	Gj. snitt	Var.omr.	99 % tol.int.	Litt. verdier	Hist. var.
<i>Fiber</i>							
ADF (% t.v.)	3,08	2,19- 4,08	3,25	2,58-4,44	1,35-5,75	3,3-4,3	3,1-5,3
NDF (% t.v.)	10,52	8,48- 13,14	11,60	8,49-18,12	4,35- 17,20	8,3-11,9	9,6-15,3
<i>Hoved- komponenter</i>							
Aske (% t.v.)	1,49	1,31-1,64	1,51	1,32-1,80	0,97-1,76	1,1-3,9	1,2-1,8
Karbohydrat. (% t.v.)	84,41	81,62- 86,06	84,49	83,84- 85,92	77,60- 92,24	NA	81,7-86,3
Total fett (% t.v.)	3,77	3,27- 4,42	3,60	2,83- 3,94	1,26-6,25	3,1-5,7 2,9-6,1	2,4-4,2
Vann (% t.v.)	12,88	11,40- 16,30	12,73	11,60- 15,30	0-20,94	7,23	9,4-15,8
Protein (% t.v.)	10,32	8,70- 12,66	10,40	9,30- 10,92	3,37- 16,57	6,0-12,0 9,7-16,1	9,0-13,6

#### *Fettsyresammensetning i maiskorn*

Fettsyresammensetningen er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Søkers dokumentasjon inneholder analyser av 8 ulike fettsyrer (C16 – C22). Kombinerte analyser over lokaliteter viser statistisk signifikante forskjeller mellom hybridene og kontroll for palmitin-, stearin-, linolje- og linolensyre (tabell 7). For alle fettsyrene som er målt ligger imidlertid nivåene innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen, og toleranseintervallene for Monsanto's referansesorter som inngikk i studien (tabell 7).

#### *Aminosyrer i maiskorn*

Aminosyreinnholdet er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Både essensielle og ikke-essensielle aminosyrer ble analysert. I henhold til søker viser statistiske analyser over lokaliteter ingen statistisk signifikante forskjeller mellom hybridene og kontroll for de analyserte aminosyrene (tabell 7). For de aminosyrene som er målt ligger mengdene innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen, og toleranseintervallene for Monsanto's referansesorter som inngikk i studien.

#### *Vitaminer*

OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002) er ikke fulgt når det gjelder vitaminanalyser. Søker dokumentasjon mangler analyser av vitaminene A, C, B6 og niacin.

Med unntak for vitamin E, er det ikke funnet statistisk signifikante forskjeller mellom hybridene og kontroll for de vitaminene som er undersøkt (tabell 9). Når det gjelder vitaminene B1 og B2 mengdene innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen (og toleranseintervallene for Monsanto's referansesorter som inngikk i studien).

**Tabell 7.** Analyser av fettsyrer i maisfrø.

Vevstype/ Komponent	MON 863 x MON 810		Kontroll		Ref. sorter	Litt. verdier	Hist. var.
	Gj.snitt	Var.omr.	Gj. snitt	Var.omr.	99 % tol.int.		
<i>Fettsyrer (% av total)</i>							
16:0 Palmitinsyre	10,57*	10,01- 11,35	11,68	11,35- 12,06	5,63- 17,42	7-19	9,9-12,0
18:0 Stearinsyre	1,92*	1,73- 2,04	1,76	1,64- 1,91	0,80- 2,44	1-3	1,4-2,2
18:1 Oljesyre	21,53	20,91- 22,36	22,03	21,20- 22,92	18,41- 31,88	20-46	20,6-27,5
18:2 Linoljesyre	64,26*	62,56- 65,44	62,58	61,41- 63,36	49-72- 69,67	35-70	55,9-66,1
18:3 Linolensyre	1,01*	0,93- 1,09	1,19	1,15- 1,23	0,76- 1,58	0,8-2	0,8-1,1
20:0 Arakidonsyre	0,34	0,32- 0,37	0,35	0,32- 0,39	0,16- 0,60	0,1-2	0,3-0,5
20:1 Gadolensyre	0,24	0,22- 0,29	0,25	0,24- 0,27	0,19- 0,39	NA	0,2-0,3
22:0 Behensyre	0,13	0,064- 0,17	0,15	0,086- 0,17	0,054- 0,28	NA	0,1-0,3

#### *Mineraler*

Mineraler er ikke målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Det er analysert for innhold av mineralene fosfor, jern, kalium, kalsium, kobber, magnesium, mangan, og sink, mens analyser av natrium og selen mangler. Det er funnet statistisk signifikante forskjeller mellom hybridene og kontroll mht innhold av kobber, jern, kalium og sink (tabell 10). Verdiene for samtlige mineraler ligger imidlertid innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen og de toleranseintervallene som er målt med grunnlag i maissorter fra Monsanto.

#### *Sekundære metabolitter og antiernæringskomponenter*

Sekundære metabolitter og antiernæringsstoffer er målt i henholdt til OECDs konsensusdokument for mais. Konsentrasjonen av furfural var lavere enn påvisningsgrensen. Med unntak for raffinose viser kombinerte analyser over lokaliteter ingen statistisk signifikante forskjeller mellom hybridene og kontroll for de analyserte parametrene (tabell 11). For samtlige komponenter ligger verdiene innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen, og toleranseintervallene for Monsanto's referansesorter som inngikk i studien.



**Tabell 8.** Analyser av aminosyrer i maisfrø.

Vevstype/ Komponent	MON 863 x MON 810		Kontroll		Ref. sorter	Litt. verdier	Hist. var.
	Gj.snitt	Var.omr.	Gj. snitt	Var.omr.	99 % tol.int.		
<i>Aminosyrer (% av total)</i>							
Alanin	7,77	7,53-8,08	7,84	7,46-8,06	7,09-8,31	6,4-9,9	7,2-8,8
Arginin	4,26	3,60-4,84	4,24	3,49-5,33	3,00-5,75	2,9-5,9	3,5-5,0
Asparginsyre	6,59	6,20-7,09	6,60	6,30-6,99	5,60-7,68	5,8-7,2	6,3-7,5
Cystin	2,09	1,83-2,30	2,20	1,98-2,30	1,31-3,02	1,2-1,6	1,8-2,7
Glutaminsyre	19,25	18,70- 19,81	19,21	18,61- 19,77	15,91- 22,38	12,4-19,6	18,6-22,8
Glycin	3,68	3,46-3,98	3,71	3,58-3,89	2,29-5,26	2,6-4,7	3,2-4,2
Histidin	2,98	2,84-3,10	2,99	2,79-3,21	2,22-3,71	2,0-2,8	2,8-3,4
Isoleucin	3,71	3,49-3,85	3,71	3,55-3,88	3,18-4,13	2,6-4,0	3,2-4,3
Leucin	13,08	12,54- 13,58	12,99	12,59- 13,44	9,76- 16,17	7,8-15,2	12,0-15,8
Lysin	2,90	2,56-3,26	2,93	2,68-3,21	1,79-4,28	2,0-3,8	2,6-3,5
Metionin	1,98	1,70-2,34	2,08	1,89-2,38	1,03-3,01	1,0-2,1	1,3-2,6
Fenylalanin	5,10	4,97-5,19	5,02	4,92-5,15	4,25-5,75	2,9-5,7	4,9-6,1
Prolin	9,46	8,71- 10,60	9,68	9,17- 10,56	8,47- 10,48	6,6-10,3	8,7-10,1
Serin	4,93	4,65-5,27	4,92	4,56-5,29	4,11-5,52	4,2-5,5	4,9-6,0
Treonin	3,29	2,91-3,63	3,31	2,87-3,61	2,87-3,99	2,9-3,9	3,3-4,2
Tryptofan	0,56	0,42-0,65	0,58	0,51-0,66	0,23-0,94	0,5-1,2	0,4-1,0
Tyrosin	3,35	2,33-3,65	3,00	1,93-3,66	2,38-4,19	2,9-4,7	3,7-4,3
Valin	5,01	4,74-5,17	4,98	4,77-5,16	4,49-5,47	2,1-5,2	4,2-5,3

**Tabell 9.** Analyser av vitaminer i maisfrø.

Vevstype/ Komponent	MON 863 x MON 810		Kontroll		Ref. sorter	Litt. verdier	Hist. var.
	Gj.snitt	Var.omr.	Gj. snitt	Var.omr.	99 % tol.int.		
<i>Vitamin</i>							
Folsyre (% t.v.)	0,71	0,61-0,92	0,68	0,59-0,75			
Vitamin B1 (mg/100 g t.v.)	0,25	0,22-0,30	0,27	0,23-0,33		0,3-0,86	NA
Vitamin B2 (µg/g t.v.)	1,24	0,96-1,57	1,27	0,91-1,74		0,25-5,6	NA
Vitamin E (mg/g t.v.)	0,0097*	0,0076- 0,012	0,0080	0,0060- 0,011	0-0,028	0,017- 0,047	0,008- 0,015

**Tabell 10.** Analyser av mineraler i maisfrø.

Vevstype/ Komponent	MON 863 x MON 810		Kontroll		Ref. sorter		
	Gj. snitt	Var.omr.	Gj. snitt	Var.omr.	99 % tol.int.	Litt. verdier	Hist. var.
<i>Mineraler</i>							
Kalsium (% t.v.)	0,0041	0,0027- 0,0049	0,0044	0,0033- 0,0055	0,0016- 0,0090	0,01-0,1	0,003- 0,006
Kopper (mg/kg t.v.)	1,98*	1,70- 2,26	2,82	2,32- 3,22	0-3,91	0,9-10	NA
Jern (mg/kg t.v.)	22,61*	18,35- 27,15	25,33	22,84- 27,19	2,49- 37,25	1-100	NA
Magnesium (% t.v.)	0,13	0,11- 0,16	0,13	0,12- 0,14	0,074- 0,17	0,09-1,0	NA
Mangan (mg/kg t.v.)	7,69	5,55- 10,38	7,58	6,04- 9,05	0,90- 11,97	0,7-54	NA
Fosfor (% t.v.)	0,34	0,25- 0,41	0,36	0,31- 0,39	0,25-0,39	0,26-0,75	0,288- 0,363
Kalium (% t.v.)	0,41*	0,33- 0,46	0,43	0,41- 0,46	0,23-0,52	0,32-0,72	NA
Sink (mg/kg t.v.)	25,75*	22,07- 31,31	28,13	24,38- 31,63	6,10- 40,05	12-30	NA

**Tabell 11.** Analyser av sekundære metabolitter og antinæringskomponenter i maisfrø.

Vevstype/ Komponent	MON 863 x MON 810		Kontroll		Ref. sorter	Litt. verdier	Hist. var.
	Gj. snitt	Var.omr.	Gj. snitt	Var.omr.	99 % tol.int.		
<i>Antinærings- komponenter</i>							
Fytinsyre (% t.v.)	0,65	0,36-0,86	0,60	0,42-0,76	0,36-0,97	To 0,9 %	NA
Trypsin- inhibitor	3,62	2,73-4,84	3,83	2,19-5,05	0-6,98	NA	NA
<i>Sekundære metabolitter</i>							
Ferulsyre (% t.v.)	0,24	0,18-0,29	0,23	0,19-0,27	0,17-0,28	NA	0,17-0,27
Inositolsyre (µg/g t.v.)	1520,57	1135,07- 1762,63	1494,18	1244,34- 1704,55			
Raffinose (% t.v.)	0,15*	0,12-0,19	0,11	0,091-0,13	0-0,35	0,028- 0,074	
p- kumarinsyre (% t.v.)	0,022	0,017- 0,025	0,020	0,016- 0,026	0,0022- 0,037	NA	0,011- 0,030

### 3.2.4. Vurdering av manglende vitaminanalyser for norsk kosthold

Søker har ikke utført analyser av vitaminene A, C, B6 og niacin. Ved vurdering av ernæringsmessige viktige komponenter har faggruppen lagt vekt på OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002), som gir anbefalinger over hvilke parametere som bør undersøkes. I OECDs konsensusdokument oppgis det variasjonsområde (lav og høy mengde) for innhold av vitaminer i både fôrmais, sukkermais og popkorn, basert på analyseresultatene fra et stort antall maisprøver.

#### *Vurdering av vitamin A*

For en voksen person i Norge vil et gjennomsnittlig inntak av maisprodukter (mel, stivelse, blandingsprodukter, sukkermais) bidra med fra ca. 0,2 (lav mengde) til 1 % (høy mengde) av anbefalt daglig inntak for vitamin A. Ved et inntak lik 97,5 persentilen vil mais bidra med fra 0,4 (lav mengde) til 1,45 % (høy mengde) av anbefalt daglig inntak av vitamin A. For ungdom (13 år) vil daglig inntak av hermetisk mais og popkorn dekke ca. 0,1 % (gjennomsnitt, lav mengde) til 4,1 % (97,5 % persentil) av daglig anbefaling for vitamin A (Vikse 2008, upublisert).

#### *Vurdering av vitamin B6*

For en voksen person i Norge vil et gjennomsnittlig inntak av maisprodukter (mel, stivelse, blandingsprodukter, sukkermais) bidra med fra ca. 1,2 (lav mengde) til 3,6 % (høy mengde) av anbefalt daglig inntak for vitamin B6. Ved et inntak lik 97,5 persentilen vil mais bidra med fra 1,7 (lav mengde) til 6,0 % (høy mengde) av anbefalt daglig inntak av vitamin B6. For ungdom (13 år) vil daglig inntak av hermetisk mais og popkorn dekke ca. 0,6 % (gjennomsnittsinntak) til 10,8 % (97,5 % persentil) av daglig anbefaling for vitamin B6 (Vikse 2008, upublisert).

### *Vurdering av niacin*

For niacin vil et gjennomsnittlig inntak av mais bidra med ca 0,5 % til 2,5 % av daglig anbefalt inntak. Et inntak av mais lik 97,5 % persentilen vil dekke fra 1,7 % til 5,0 % av den daglige anbefalingen for niacin ved henholdsvis lav og høy vitaminmengde i maisen (Vikse 2008, upublisert).

### *Vitamin C*

Fôrmais inneholder ikke vitamin C. Et gjennomsnittlig inntak av sukkermais vil dekke fra 0,3 til 0,5 % av anbefalt daglig inntak av vitamin C, og et inntak av mais lik 97,5 % persentilen vil dekke fra 1,5 til 2,6 % av daglig anbefaling (Vikse 2008, upublisert).

Et gjennomsnittlig forbruk av mais i Norge vil bidra med en liten del av vitaminene A, niacin, B6 og C i kostholdet. Et høyt forbruk av popkorn hos ungdom vil dekke ca 10 % av daglig anbefaling for vitamin B6. Faggruppen vurderer at eventuelt avvikende vitaminnivå i MON 863 x MON 810 har liten ernæringsmessig betydning. FG3 påpeker imidlertid at OECDs konsensusdokument bør følges.

## **3.3. Agronomiske egenskaper**

I følge søker er det foretatt registreringer av en rekke agronomiske og morfologiske karakterer knyttet til reproduksjon, spredning, vegetativ vekst og resistens mot sjukdommer og skadedyr. Monsanto har imidlertid ikke presentert data fra disse forsøkene, men konkluderer med at det er agronomisk ekvivalens mellom hybridlinjen MON 863 x MON 810 og konvensjonelle sorter. Det vises også til at det har vært foretatt vurderinger av fenotypiske og agronomiske karakterer i foreldrelinjene MON 863 og MON 810 i felt på en rekke lokaliteter. Det har også vært kommersiell produksjon av MON 863 og MON 810 siden henholdsvis 2003 og 1998, uten at det er påvist ikke-tilsiktete effekter på disse karakterene.

## **3.4. Delkonklusjon**

Analysene av ernæringsmessige viktige komponenter er vurdert. Faggruppe for genmodifiserte organismer påpeker at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler analysert for mais. Dette gjelder analyser av vitamin A, vitamin C, vitamin B6, vitamin niacin, natrium og selen. Faggruppen understreker imidlertid at konsensusdokumentet i størst mulig grad skal følges når det legges fram dokumentasjon på nivåene av næringsstoffer, antinæringsstoffer og metabolitter.

Et gjennomsnittlig forbruk av mais i Norge vil bidra med en liten del av vitaminene A, niacin, B6 og vitamin C i kostholdet. Et høyt forbruk av popkorn hos ungdom vil dekke ca. 10 % av daglig anbefaling for vitamin B6. Faggruppen vektlegger at hoveddelen av maisforbruket i Norge er som dyrefôr, og at mais til humant konsum utgjør mindre enn 1 % av energiinntaket både for voksne og barn under ett år. Når det gjelder dyrefôr ansees det naturlige vitamininnholdet i mais å være uten betydning da all mais som benyttes som fôr vitaminberikes i henhold til Mattilsynets anbefalinger. Tilsvarende angis krav til ernæringsmessig sammensetning av kornbasert barnemat i vedlegg 1 i Forskrift om bearbeidet kornbasert barnemat og annen barnemat til spedbarn og småbarn (FOR 2002-10-18 nr 1185). Faggruppen vurderer derfor at eventuelt avvikende vitaminnivå i MON 863 x MON 810 har liten ernæringsmessig betydning.

For de analyserte komponentene er det påvist signifikante forskjeller mellom maishybriden MON 863 x MON 810 og kontroll i enkeltparametere, men forskjellene er ikke konsistente over forsøkssteder. Verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppe for genmodifiserte organismer konkluderer med at de forskjellene som er påvist ikke har ernæringsmessig betydning.

I følge søkers dokumentasjon viser feltforsøk med MON 863 x MON 810 ingen signifikante forskjeller mellom hybridlinje og kontroll med hensyn på agronomiske egenskaper. Data fra disse studiene er imidlertid ikke vedlagt søknaden.

## 4. Dokumentasjon av toksisitet og allergenisitet

### 4.1. Toksisitet

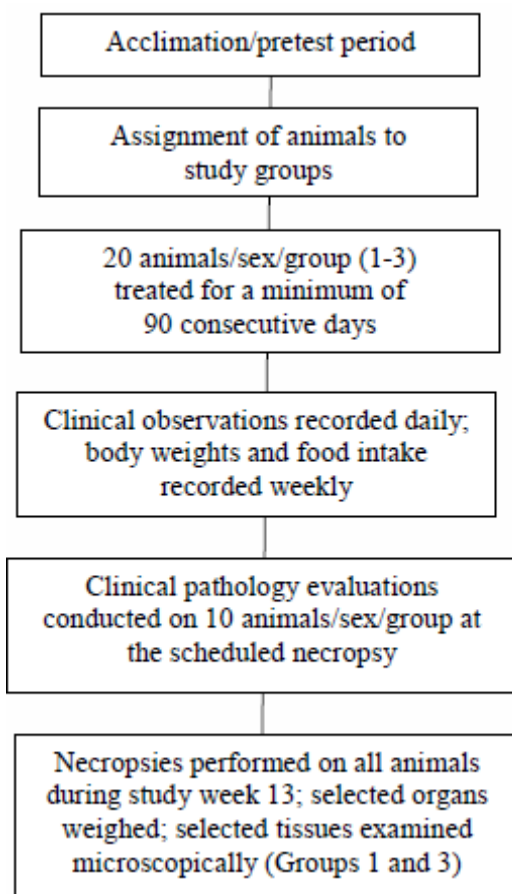
Søknaden EFSA-GMO-RX-MON 863 x MON 810 inneholder ikke dokumentasjon på fôringsforsøk med renfremstilt NTPII-, Cry1Ab- og Cry3Bb1-protein. Søker henviser til tidligere studier utført i søknadene for omsetting av MON 863 x MON 810, MON 863 og MON 810 (referert VKM 2005a, 2006, 2007a, 2008) Studiene dokumentert i disse søknadene viser at proteinene Cry 1Ab, Cry3Bb1 og NPTII ikke er akutt toksiske. Søker har tidligere utført fôringsforsøk på broiler og 13-ukers fôringsforsøk på rotter med MON 863 x MON 810. Disse studiene viser, i henhold til søker, at fôr som inneholder denne maisen ikke fører til påvisbare helseeffekter på forsøksdyrene.

#### *Fôringsforsøk på rotter*

Søker henvisert i søknaden EFSA-GMO-RX-MON 863 x MON 810 til 13-ukers fôringsforsøk utført på rotter med MON 863 x MON 810, MON 863 og MON 810. VKM har tidligere vurdert fôringsforsøk med MON 863 og MON 810 (VKM 2006, 2007a, 2008), men ikke med MON 863 x MON 810. Dette fordi denne dokumentasjonen ikke var tilgjengelig i 2004. Etter henvendelse fra EFSA's GMO Panel i 2004 har søker utført 13-ukers fôringsforsøk på rotter. Resultater fra forsøket ble mottatt av EFSA i april 2005, og vurdert av EFSA's GMO Panel samme år (EFSA 2005c).

Fôringsforsøket ble utført med hann- og hunnrotter (stamme Sprague Dawley CrI:CD(SD)IGS BR), 3 grupper á 20 rotter/kjønn. Studien er utført i henhold til prinsippene til OECD guideline reference 408 (1998): Repeated dose 90 day oral toxicity study in rodents og U.S. EPA FIFRA (40 CFR part 160) Good Laboratory Practice Standards.

Rottene var 7 uker gamle ved starten av fôringsforsøket. Gjennomsnittlig vekt ble oppgitt til  $190 \pm 12$  gram for hanner og  $168 \pm 10$  gram for hunner. Fôret bestod av henholdsvis 11 og 33 % vekt/vekt maisfrø fra MON 863 x MON 810 og 33 % fra den nær-isogene maislinjen DKC46-26. Fôret ble undersøkt for en rekke komponenter som mineraler, tungmetaller, mykotoksiner (aflatoksiner, fusariumtoksiner m.fl.), organoklorider (36 stk) og organofosfater (31 stk). Fôranalyser viser at innholdet av ernæringsmessige komponenter, sekundære plantemetabolitter, antinæringsstoffer og mineraler var sammenlignbare for de ulike fôrgruppene. Det ble påvist lave konsentrasjoner av fumonisiner (ca. 3 ng/g maisfrø) i alt maisfrø. Konsentrasjonene av mykotoksinene var lavere enn det som antas å kunne påvirke dyrs helse. Det ble ikke påvist organoklorider og -fosfater.



**Figur 5.** Forsøksdesign - fôringsforsøk på rotter.

Det ble foretatt makroskopiske og mikroskopiske undersøkelser av organer, klinisk patologisk undersøkelser, kjemisk og hematologisk undersøkelse av blod fra 10 dyr i hver gruppe (figur 5).

For hunnrotter ble det i uke 1 til 2, 5 til 6, 9 til 10 og 10 til 11 påvist statistisk signifikante forskjeller i ukentlig fôrinntak med fôr som innholdt 11 % maisfrø, men ikke hos dyrene som ble fôret med 33 % mais. For hunnrotter ble det ikke funnet signifikante forskjeller i ukentlig fôrinntak de andre ukene. Hos hannrotter ble det ikke påvist statistisk signifikante forskjeller i fôrinntak.

Det ble det ikke påvist signifikante forskjeller de fleste klinisk-kjemiske parametre som ble undersøkt. Det ble imidlertid funnet redusert gjennomsnittlig mengde erytrocythemoglobin (MCHC) hos hanndyr som ble fôret med henholdsvis 11 % og 33 % maisfrø sammenlignet med kontroll. MCHC-mengdene var lik i begge gruppene, slik at det ikke er påvist dose-responsforhold. Det ble heller ikke påvist endringer i hematokrit, antall røde blodlegemer og andre indikatorer for røde blodlegemer. Hos hunnrotter ble det funnet statistisk signifikante forskjeller for absolutte og relative vekt for tyroidea/paratyroidea (11 % og 33 % maisfrø) og gjennomsnittlig nyrevekt relativt til kroppsvekt (33 % maisfrø). De statistiske forskjellene som ble påvist for tyroidea/paratyroidea var små og ble av søker betraktet som effekter av beskjæring av organene. Forskjellene i relativ nyrevekt til kroppsvekt ble ikke betraktet som toksikologisk relevant siden det ikke er påvist forskjeller i gjennomsnittlig nyrevekt og nyrevekt relativt til hjernevekt. Andre ikke statistiske signifikante forskjeller som ble påvist, har søker kommentert som toksikologisk ikke relevante. Dette fordi forskjellene kun er påvist i en enkelt fôrgruppe og ikke i den andre fôrgruppen.

#### *Fôringsforsøk på broilere*

Søker henvisert i søknaden EFSA-GMO-RX-MON 863 x MON 810 til 42-dagers fôringsforsøk utført på broiler med korn fra genmodifisert og umodifisert mais. VKM har tidligere vurdert dette forsøket i forbindelse med en helserisikovurdering av forelderlinjen MON 863 (VKM 2008).

#### **4.1.1. Delkonklusjon**

Flere studier viser at proteinene Cry 1Ab, Cry3Bb1 og NPTII ikke er akutt toksiske. Søker har utført fôringsforsøk på broiler og 13-ukers fôringsforsøk på rotter med MON 863 x MON 810. Disse studiene viser at fôr som inneholder mais ikke fører til påvisbare helseeffekter på forsøksdyrene. Søker har også utført et 90-dagers fôringsforsøk på rotter med foreldrelinjene MON 810 og MON 863, og konkluderer med at det ikke ble påvist helseeffekter på forsøksdyrene. Dataene fra studien av MON 863 er seinere re-analysert av flere forskningsgrupper, med ulike konklusjoner. Seralini *et al.* (2007) fant indikasjoner på doseavhengige effekter på vekst og toksiske effekter på lever og nyre, og hevder at MON 863 ikke kan sies å være et trygt produkt uten videre langtidsstudier. EFSA underkjenner imidlertid analysen på grunn av de statistiske metodene som er brukt, og hevder at resultatene fra Seralini-studiet ikke har biologisk relevans. Samme konklusjon er trukket av risikovurderingsorganer i sju EU-land. To land har støttet Seralini's konklusjoner.

Et flertall av medlemmene i faggruppen konkluderer med at det på bakgrunn av disse forsøkene ikke er grunn til å anta at den genmodifiserte maisen er forskjellig med hensyn på toksisitet sammenlignet med umodifisert mais.

Mindretallet i faggruppen (T. Bøhn, A.I. Myhr, K.M. Nielsen, C. Linnestad) konkluderer med at det på bakgrunn av disse forsøkene knyttes usikkerhet til om den genmodifiserte maisen er forskjellig med hensyn på toksisitet sammenlignet med umodifisert mais.

#### **4.2. Allergenitet**

##### *Bt-proteiner*

Flesteparten av *Bt*-plantevernmidler inneholder krystalltoksiner (protoksin) og levende sporer fra *Bt*-bakterien (EHC 1999). Laboratoriestudier med pattedyr indikerer ingen potensielle allergiske reaksjoner mot *Bacillus thuringiensis* eller dets komponenter, innbefattet delta ( $\delta$ )-endotoksinet i krystallproteinene (EHC 1999). Etter vel 50 års bruk av plantevernmidler med *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* er det med ett unntak, ingen bekreftede rapporter over øyeblikkelige eller forsinkede allergiske reaksjoner. Dette til tross for betydelig human oral-, dermal- og inhalasjonseksponering (EHC 1999). Helseundersøkelse av en liten gruppe gårdsarbeidere (48 arbeidere) som brukte *Bt*-plantevernmidler viste ved hudtesting statistisk signifikant reaksjon mot *Bt*-sporeekstrakter i forhold til lav- og medium *Bt*-eksponeringsgrupper (Bernstein *et al.* 1999). Lav- og medium-eksponeringsgruppene var ikke i direkte kontakt med *Bt*-plantevernmidler. Positiv hudtest mot *Bt* pro- $\delta$ -endotoksiner ble også påvist hos to arbeidere i gruppen som brukte *Bt*-plantevernmidler (Bernstein *et al.* 1999).

##### *Adjuvans (fremming av immunreaksjon mot andre stoffer)*

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 ikke kjent om Cry1Ac-proteinet som er benyttet i disse studiene, tilsvarer Cry3Bb1-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 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-lysat (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.

I en senere studie av Guimaraes *et al.* (2008) undersøkte man adjuvans-effekter av Cry1Ab i forbindelse med allergisk sensibilisering overfor peanøttekstrakt (PE). Koleratoksin (CT) som er en kjent Th2 adjuvant, ble benyttet for sammenligning. I disse forsøkene ble det ikke induert spesifikk IgE ved bruk av Cry1Ab som adjuvant, mens induksjon av spesifikk IgE ble påvist ved bruk av CT som adjuvant. Imidlertid viste den samme undersøkelsen at når PE ble gitt sammen med Cry1Ab så medførte dette at når musene på et senere tidspunkt ble provosert med PE så økte produksjon av leukotriener (CTC4 og CTE4) i bronkiene umiddelbart. I tillegg ble det 36 timer etter provokasjonen målt økt produksjon av Th2- og Th17 cytokiner og økt influks av neutrofiler og eosinofiler. Det ble dermed konkludert med at Cry1Ab har en adjuvant effekt i forhold til allergi.

Det gjennomsnittlige inntaket av maismel, sukkermais og popkorn i Europa er beregnet av Dow AgroSciences i søknaden MON 89034 x 1507 x MON 88017 x 59122 (EFSA/GMO/CZ/2008/62) (tabell 12). Det kroniske inntaket av disse matvarene i Europa er beregnet som g/person/dag, mens 97,5 persentilen for ”akutt inntaket” på verdensbasis er beregnet som g/kg kroppsvekt/dag.

Spesielle målgrupper, som barn, har et større inntak av mais enn det beregnede gjennomsnittlige inntaket på verdensbasis (tabell 12). I henhold til tabellen er det estimerte inntaket for store porsjoner, 97,5 persentil, for barn under 6 år for henholdsvis maismel, sukkermais og popkorn 3,16, 11,52 og 3,33 g/kg kroppsvekt/dag, og for den generell befolkningen er inntaket henholdsvis 2,04, 7,16 og 3,33 g/kg kroppsvekt/dag. De estimerte inntaksmengdene for 97,5 persentilen kommer fra ulike geografiske områder, som Frankrike, Australia, Thailand og Japan. I henhold til Syngenta kan maksimum mengde Cry1Ab + Cry3Bb1 i maiskorn være ca. 62 µg/g tørrvekt korn. Dersom høyeste inntaksmengde (97,5 persentilen) av mais kommer fra MON 863 x MON 810, vil inntaket av maismel, sukkermais og popkorn for henholdsvis barn og voksne utgjøre ca. 196, 714 og 207 µg Cry-protein/kg kroppsvekt/dag, og 126, 444 og 207 µg/kg kroppsvekt/dag. De totale mengdene Cry-proteiner fra henholdsvis maismel, sukkermais og popcorn blir for barn med kroppsvekt 21 kg 4100, 15000 og 4350 µg/barn/dag, og for voksne med kroppsvekt 60 kg 7560, 26600 og 12400 µg/person/dag. For de estimerte inntaksmengdene av Cry-protein som er presentert her er det ikke tatt hensyn til eventuelle nedbrytning av proteinene ved prosessering. De mengder Cry1Ac som ga mucosal adjuvanseffekt ved sondeføring av mus var fra 0,1 µg til 100 µg per mus (Vazquez *et al.* 1999).

**Tabell 12.** Estimerer over maisinntak fra GEMS/Food Programme

	DAGLIG INNTAK (g/person/dag)			HØYT INNTAK (g/kg kroppsvekt/dag)	
	Gjennomsnittlig inntak per capita i EU			Høyest 97,5 persentil	
Cluster-diett (region)	Cluster B (Sør-Europa)	Cluster E (Sentral-Europa)	Cluster F (Nord-Europa)	Generell befolkning	Barn ≤ 6 år
Maismel	15,4	14,7	2,0	2,04	3,16
Sukkermais	2,0	6,5	7,2	7,16	11,52
Popkorn	0,2	0,1	0,1	3,33	3,33
Totalt	17,6	21,3	9,3	NA	NA

Kilde: Dow AgroSciences, søknad EFSA/GMO/CZ/2008/62.



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 (ca. 10 µg) brukes til mus og menneske. Det er mulig at Cry1Ab- og Cry3Bb1-toksinene som benyttes i MON 863 x MON 810 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.

Et realistisk inntak av Cry-protein vil være vesentlig lavere enn de mengdene som er angitt ovenfor. Mais er en bulkvare hvor flere typer mais fra mange åkre samles i felles siloer før videre prosessering. Man vil således aldri spise 100 % MON 863 x MON 810 -mais. Med unntak for sukkermais spiser vi stort sett prosessert mais hvor, i mange tilfeller, proteinene er helt eller delvis degradert eller er fjernet. Søker oppgir at Cry1Ab- og Cry3Bb1-proteinene brytes raskt ned i magesaft. Eksponering av tarmepitel for Cry1Ab - og Cry3Bb1 proteinet forventes dermed å være marginal.

Cry proteinene er ikke varmemestabile. Konsentrasjonen av Cry1Ab ble redusert med 90 % i maisgrøt som ble holdt ved 75 °C i 3 min. Proteinene kunne ikke påvises etter steking av tortillas ved 190 °C i 10 s (de Luis *et al.*, 2009). Dette innebærer igjen at eksponering av tarmepitel for Cry proteiner vil være marginal.

Adjuvanseffekt og induksjon av IgE er ikke undersøkt verken for Cry1Ab eller Cry3Bb1. Det finnes lite litteratur på området omkring betydning av adjuvanter for induksjon av IgE-mediert allergisk respons. Den foreliggende litteratur tyder i flere tilfeller på at betydningen er liten. I en musemodell for allergiutvikling mot lupin ga bruk av koleratoksin (CT) økt immunrespons for andre immunoglobulin klasser, men ingen IgE respons. Forfatterne antyder at IgE respons er mer avhengig av indre egenskaper ved allergenene og ikke CT-adjuvans (Foss *et al.* 2006). I en lignende rottemodell viste CT også kun en begrenset effekt på utvikling av peanøttallergi (de Jonge *et al.* 2007). De Jonge *et al.* viste også at det var krevende å klare å indusere allergi i rottene. Rotter som gikk på streng diett i 3 generasjoner ga IgE-respons, mens rotter som gikk på allergenfri diett i én generasjon ga ikke IgE respons etter indusering. Disse forsøkene indikerer en begrenset betydning av adjuvans for utvikling av IgE mediert allergi. Utvikling av matallergi skyldes et komplekst samspill av faktorer bla genetisk predisposisjon, alder ved introduksjon av allergenet, amming, sammensetning av ernæring, sammensetning av tarmfloraen og infeksjonsstatus i mage-tarm systemet (van Wijk & Knippels 2007).

Maten vi spiser inneholder en lang rekke stoffer som virker som adjuvanter (Berin & Schreffler 2008). Eksempler på disse stoffene er glukaner og lectiner som er vanlige i alt plantemateriale, samt proteinaser og chitin, en hovedbestanddel i cellevegg hos sopp. Det kan derfor reises tvil om tilstedeværelsen av små mengder av et adjuvant protein vil bidra til noen økt risiko for induksjon av IgE-dannelse. Det anføres i tillegg at Cry-proteinene har en 50 år lang historie med trygg bruk. Det er tillatt å sprøyte mais med *Bt* helt frem til høsting, men nivået av *Bt*-toksin vil være langt lavere i produktene.

### 4.3. Delkonklusjon

Et flertall av medlemmene i Faggruppe for genmodifiserte organismer finner det ikke sannsynliggjort at Cry3Bb1 og Cry1Ab har egenskaper som fører til hemming av den toleransen som fordøyelsessystemets slimhinner har mot proteiner (adjuvanseffekt). På bakgrunn av at Cry3Bb1- og Cry1Ab- proteinene brytes ned i magesaft og at maten for øvrig inneholder en lang rekke stoffer som virker som adjuvanter, vurderes adjuvansproblemstillingen i forbindelse med MON 863 x MON 810 å være neglisjerbar.

Et mindretall av faggruppen (T. Bøhn, H. Klungland, C. Linnestad, A.I. Myhr, A.H. Nerland, K. Nielsen) finner det vanskelig å vurdere om næringsmidler og fôrvarer fra maishybriden MON 863 x MON 810 er mer allergifremkallende enn næringsmidler og fôrvarer fra umodifiserte maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, som viser at Cry-proteiner kan hemme den toleransen som fordøyelsessystemets slimhinner har mot proteiner, finner imidlertid medlemmene at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos MON 863 x MON 810 ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes.

En samlet faggruppe finner at mat- og fôrprodukter MON 863 x MON 810, som ikke inneholder Cry-proteiner, eksempelvis oljebaserte produkter, ikke medfører endret risiko for helse i forhold til annen mais.

## 5. Miljørisikovurdering

Søknaden fra Monsanto vedrørende godkjenning av maislinjen MON 863 x MON 810 under EUs utsetningsdirektiv 2001/18/EF omfatter bruksområdene import og prosessering, og gjelder ikke dyrking eller bruk som mat og fôr. Miljørisikovurderingen av de transgene maislinjene er derfor avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering til mat, fôr og ulike industrielle formål. Siden faggruppen også har inkludert en revidert helserisikovurdering av MON 863 x MON 810 til bruk som mat og fôr i oppdraget, er indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr føret med genmodifisert mais, også vurdert.

### 5.1. Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen

Mais er en ettårig kulturplante som har gjennomgått langvarig og systematisk foredling. Planten krever omfattende kultiveringstiltak, og er generelt ikke i stand til spredning og overlevelse utenfor dyrket mark. Frøene er ubeskyttet, sitter godt festet til kolben, omsluttet av modifiserte blad. Planten er uten evne til naturlig frøspredning, og eventuell frøspredning er derfor primært knyttet til høsting, transport og prosessering.

Maisfrø stiller store krav til spiretemperatur og har ingen frøkvile. Frøplantene er svært sensitive for lave temperaturer. Under våre dyrkingsforhold er det derfor små muligheter for oppspiring og vekst av eventuelle spillfrø. I milde vintre i sørlige områder av Europa kan maisfrø overleve og spire påfølgende vekstsesong, men arten er ikke persistent og etablerer ikke ugraspopulasjoner (Hallauer 2000).

Enkeltplanter av mais finnes av og til forvillet på avfallsplasser, vegkanter og annen brakkmark, men arten etablerer ikke populasjoner utenfor dyrkingsområder (Lid & Lid 2005). Til tross for omfattende dyrking av mais over mange år i Europa er det ikke påvist noen risiko knyttet til spredning, etablering og invasjon av naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder. Det er ingen stedegne eller introduserte viltvoksende arter i den europeiske flora som mais kan hybridisere med (OECD 2003).

Spredning av mais til andre habitater i Europa er hovedsakelig begrenset av dårlig konkurransevne, manglende frøkvile, mottagelighet for sykdom og liten toleranse for lave temperaturer. Det er ikke påvist forskjeller mellom den insektresistente maislinjen og konvensjonelle sorter med tilsvarende genetisk bakgrunn for disse karakterene, og det er ikke grunn til å anta at de introduserte egenskapene hos MON 863 x MON 810 vil medføre økt fitness utenfor dyrkingsmiljø i forhold til konvensjonelle maissorter.

### 5.2. Potensiale for genoverføring

En forutsetning for genspredning er tilgjengelige veier for overføring av genetisk materiale, enten via horisontal genoverføring av DNA, eller vertikal genflyt i form av frøspredning og krysspollinering. Eksponering av mikroorganismer for rekombinant DNA skjer under nedbryting av plantemateriale på dyrket mark og/eller pollen i åkrer og omkringliggende arealer. Rekombinant DNA er også en komponent i en rekke mat- og fôrprodukter, som er avledet av plantemateriale fra den transgene sorten. Dette medfører at mikroorganismer i fordøyelseskanalen hos mennesker og dyr kan eksponeres for rekombinant DNA. Siden mais ikke har viltvoksende populasjoner eller nærstående arter utenfor dyrking i Europa, vil vertikal genoverføring være knyttet til krysspollinering med konvensjonelle og eventuelle økologiske sorter.

#### 5.2.1. Horisontal genoverføring

Data fra tilgjengelige eksperimentelle studier viser at genoverføring fra transgene planter til bakterier etter all sannsynlighet inntreffer svært sjelden under naturlige forhold, og at denne overføringen<sup>35</sup>

forutsetter sekvenshomologi mellom overført DNA og bakterien (EFSA 2004c, 2009; VKM 2005b).

Ut fra dagens vitenskapelige innsikt med hensyn til barrierer for genoverføring mellom ubeslektede arter og flere års forskning for om mulig å framprovosere tilfeldig overføring av genetisk materiale fra planter til mikroorganismer er det lite som tyder på at transgenene i MON 863 x MON 810 skal kunne overføres til andre enn naturens kryssingspartnere ved detekterbare frekvenser i laboratoriestudier. Det er gjort forsøk som ser på stabilitet og opptak av DNA fra tarmkanalen hvor mus er oralt tilført M13 DNA. Det tilførte DNAet var sporbart i avføring opp til syv timer etter fôring. Svært små mengder av M13 DNA (< 0,1 %) kunne spores i blodbanene i en periode på maksimum 24 timer, mens M13 DNA ble funnet i opptil 24 timer i lever og milt (Schubbert *et al.* 1994). Ved oralt inntak av genmodifisert soya er det vist at DNA er mer stabilt i tarmen hos personer med utlagt tarm sammenlignet med kontrollgruppen (Netherwood *et al.* 2004). I kontrollgruppen ble det ikke påvist GM DNA i feces. Nielsen *et al.* (2000) og De Vries & Wackernagel (2002) har undersøkt persistens av DNA og opptak av GM DNA i jord. I disse laboratorieforsøkene ble det påvist svært små mengder DNA som var overført fra planter til bakterier. Forutsetningen for at dette kunne skje var sekvenshomologi mellom plantetransgenet og mottagerbakterien. I hvilken grad det forekommer tilfeldig sekvenshomologi mellom plantetransgener og naturlig forekommende bakterier er usikkert, men siden de fleste transgenene inneholder rekombinerte DNA-sekvenser fra jordbakterier kan dette ikke utelukkes (Bensasson *et al.* 2004)

Ved mangel på seleksjonspress i fordøyelseskanal og/eller miljøet, er sannsynligheten for at horisontal genoverføring av transgener vil gi selektive fordeler eller økt fitness på mikroorganismer svært liten (Nielsen 2003, Pettersen *et al.*, 2005). Kunnskap om forekomsten av *nptII*-genet i miljøet er imidlertid mangelfull. De tilgjengelige data viser at forekomsten av *nptII*-genet i patogene bakterier i Norge er lav. Imidlertid benyttes aminoglykosidet neomycin, som *nptII*-genet gir resistens mot, i veterinærmedisin i Norge. Et seleksjonstrykk på bakterietransformanter kan derfor ikke utelukkes. Det er usannsynlig at gener fra MON 863 x MON 810 vil etableres stabilt i genomet til mikroorganismer i miljøet eller i fordøyelseskanalen hos mennesker eller dyr uten et seleksjonstrykk. Ut fra tilgjengelig kunnskap er det ikke grunn til å forvente at det vil skje frekvente eller påvisbare horisontale genoverføringer av DNA-materiale fra MON 863 x MON 810. Det er imidlertid knyttet store metodologiske utfordringer ved en slik påvisning slik at det er usikkert om manglende deteksjon er grunnet fravær av overføring, manglende metodologisk verktøy for påvisning eller feil tidshorisont for prøvetaking (Heinemann & Traavik 2004; Nielsen & Townsend 2004). Antibiotikaene som *nptII* gir resistens imot er nylig klassifisert av European Medicines Agency (EMA 2007) og WHO (2005) som ”critically important” og ”cannot be classified as of no or minor therapeutic relevance”.

### 5.2.2. Vertikal genoverføring

Potensialet for krysspollinering mellom MON 863 x MON 810 og konvensjonelt foredlete maissorter vil avhenge av omfanget av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport, håndtering og prosessering. Det er imidlertid lite sannsynlig at sporadiske enkeltplanter vil spre signifikante mengder pollen til konvensjonelle dyrkingsfelt. Dyrkingsomfanget av mais i Norge er dessuten svært begrenset. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes derfor til å være ubetydelig.

Insektresistens vil ikke representere noen økt sannsynlighet for spredning av mais i Europa. Overlevelse hos mais er i hovedsak begrenset av dårlig konkurransevne, manglende frøkvile, mottagelighet for soppsjukdommer og liten frosttoleranse. Som for konvensjonelle sorter er det ingenting som tilsier at eventuelle spillplanter vil overleve til neste vekstsesong eller etablere uønskede populasjoner.

### 5.3. Potensiale for samspill mellom GMP og målorganismer

Maislinjen MON 863 x MON 810 er transformert med *cry3Bb1*- og *cry1Ab*-genene fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis*, henholdsvis subsp. *kumamotoensis* og subsp. *kurstaki*. *Cry3Bb1*-proteinet gir plantene resistens mot angrep fra skadegjørere i billeslekten *Diabrotica*, eksempelvis *D. virgifera*

*virgifera* ('Western Corn Rootworm'), *D. barberi* ('Northern Corn Rootworm') og *D. undecimpunctata howardi* ('Southern Corn Rootworm'). *D. virgifera virgifera* er det eneste målinsektet for MON 863 som er påvist i Europa (Crop Protection Compendium 2007). Det har ikke vært rapportert om funn av *D. virgifera virgifera* i Norge (<http://www.faunaeur.org/distribution.php>). Cry1Ab-proteinet i MON 810 gir plantene resistens mot angrep fra enkelte arter i ordenen *Lepidoptera*, eksempelvis *Ostrinia nubilalis* (maispnyalide) og *Sesamia* ssp. I Norge er det registrert enkeltfunn av maispnyalide i Vestfold, Telemark og Agder (<http://nhm.uio.no/norlep/>), men arten er ikke rapportert som skadegjører (Meadow 2007). Det er ikke gjort observasjoner av *Sesamia*-arter i Norge.

Tatt i betraktning tiltenkt bruksområde for maislinjen, vil miljøeksponeringen være begrenset til sporadiske enkeltplanter fra frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Nivået av eksponering av *Bt*-toksin for eventuelle målorganismer vil derfor være svært lav, og ikke ha noen økologisk betydning i Norge.

#### **5.4. Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer**

Sporadiske spillplanter av MON 863 x MON 810 med opphav i utilsiktet frøspredning under ulike omsetningsledd antas ikke å medføre risiko for ikke-målorganismer.

Når det gjelder indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr fôret med genmodifisert mais vil mesteparten av Cry-proteinene denatureres av enzymaktivitet (proteaser) i fordøyelseskanaalen, og mikrobielle prosesser vil føre til en ytterligere nedbryting av proteinet i gjødsla. Dette medfører at svært lite Cry-proteiner blir spredt med husdyrgjødsel på dyrket mark, noe som igjen minimerer faren for eksponering av potensielt sensitive ikke-målorganismer. Spredning av Cry-toksinet via gjødsel antas derfor ikke å gi signifikante miljøeffekter.

#### **5.5. Potensiale for samspill med abiotisk miljø og eventuelle effekter på biogeokjemiske prosesser**

Ved foreskrevet bruk av maislinjen MON 863 x MON 810 vil eksponeringsnivået av Cry-proteinet være svært lavt, og ikke medføre signifikante effekter på abiotisk miljø og biokjemiske prosesser i Norge.

#### **5.6. Overvåking**

I følge direktiv 2001/18/EF, annekse VII, er formålet med overvåkingsplanen å bekrefte at alle antagelser i miljørisikovurderingen som gjelder forekomst og omfang av potensielle skadevirkninger av den genmodifiserte organismen, eller bruken av den er korrekt. Videre skal den identifisere forekomsten av skadevirkninger på menneskers helse eller miljøet som skyldes den genmodifiserte organismen eller bruken av den, og som ikke ble forutsett i miljørisikovurderingen.

Overvåking er relatert til risikohåndtering og en totalvurdering av overvåkingsplanen er derfor utenfor VKMs mandat. I henhold til oppdrag fra DN skal imidlertid VKM diskutere behovet for særskilt overvåking. Dette gjelder både i de tilfeller hvor søker ikke har foreslått særskilt overvåking og i de tilfeller hvor søkers risikovurdering avdekker behov for en spesiell overvåkingsplan. I sistnevnte tilfelle skal VKM gi en vurdering av kvaliteten på søkers overvåkingsplan, om denne er egnet til å avdekke så vel umiddelbare og direkte virkninger som forsinkede og indirekte virkninger påvist i miljørisikovurderingen. VKM skal ikke vurdere innretningen av den generelle overvåkingen.

Notifiseringen C/DE/02/09 omfatter ikke dyrking, og potensiell miljøeksponering av den transgene maislinjen er derfor avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering til mat, fôr og industrielle formål. I tillegg vil indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr fôret med genmodifisert mais representere en mulig kilde til uønsket genspredning. Miljørisikovurderingen som er presentert av søker identifiserer ingen endret risiko for miljø i

forhold til annen mais. Monsanto har derfor ikke utarbeidet spesifikke strategier for risikohandtering eller en særskilt plan for overvåking av MON 863 x MON 810.

Tatt i betraktning tiltenkt bruksområde for MON 863 anser Faggruppe for GMO at det ikke er behov for å iverksette særskilt program for overvåking av maislinjen.

## 5.7. Delkonklusjon

Søknaden gjelder godkjenning av maislinjen MON 863 x MON 810 for import og prosessering, og omfatter ikke dyrking. Med bakgrunn i tiltenkt bruksområde er miljørisikovurderingen avgrenset til mulige effekter av utilsiktet frøspredning i forbindelse med transport og prosessering, samt indirekte eksponering gjennom gjødsel fra husdyr føret med genmodifisert mais.

Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes til å være ubetydelig. Ved foreskrevne bruk av maislinjen MON 863 x MON 810 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer (med unntak av patogene mikrober) eller på abiotisk miljø i Norge.

De tilgjengelige data viser at forekomsten av *nptII*-genet i patogene bakterier i Norge er lav. Kunnskap om forekomsten av *nptII*-genet i miljøet er imidlertid mangelfull. Den veterinære bruken i Europa, inkludert i Norge, av aminoglykosider, som kanamycin og neomycin, er slik at disse kan gi selektive betingelser for bakterietransformanter som har tatt opp ARMG.

Flertallet i faggruppen konkluderer med bakgrunn i rapportene (EFSA 2004c, 2009; VKM 2005c) at bidraget av *nptII*-genet fra mat og fôr produsert fra MON 863 x MON 810 ikke er en signifikant kilde til resistensgener i bakterier som lever i tarmen til mennesker og dyr som spiser mat og fôr fra MON 863. Det bemerkes at neomycin benyttes i norsk veterinærmedisin i behandling av enteritt hos gris. Forbruket i 2006 av neomycin var 29 kg virkestoff, mens det totale forbruket av antibiotika til landdyr i Norge var på ca 6,5 tonn virkestoff (NORM/NORM-VET 2006).

Det er kunnskapshull knyttet til forekomsten av *nptII*-genet i Norge og Europa. Den store geografiske forskjellen i resistensmønster i Europa er ikke vurdert i dette tilfelle. Kanamycin/neomycin-resistens i Norge er beskrevet hos blant annet *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* og *Staphylococcus intermedius* fra svin, svinefaeces, kalkunfaeces, storfekjøtt, hund og hundefaeces. Forekomsten av resistente isolater varierer mellom 1 til 10 % (Normvet rapportene 2004-2007). Hvilke resistensgener som forårsaker resistensen er ikke beskrevet.

Et mindretall i faggruppen (K.M. Nielsen, C. Linnestad, A. Myhr, T. Bøhn, O. Stabbetorp) påpeker store forskjeller i geografisk utbredelse av antibiotikaresistens i Europa, og at det mangler publisert dokumentasjon som viser forekomsten av *nptII*-genet i Norge. I fravær av vitenskaplig dokumentasjon antas resistensgenforekomsten å være lav. Videre påpekes det at neomycin benyttes i norsk landbruk, og at et seleksjonstrykk på eventuelle sjeldne transformanter derfor ikke kan utelukkes. Antibiotikaene som genet gir resistens imot er nylig klassifisert av European Medicines Agency (EMA 2007) og WHO (2005) som "critically important". Manglende datagrunnlag gjør at mindretallet ikke ønsker å konkludere med hensyn på risiko knyttet til bruk av *nptII*-genet som ARMG

## **6. Vurdering av søkers dokumentasjon**

Faggruppe for genmodifiserte organismer konkluderer at søkers dokumentasjon tilstrekkelig til å kunne foreta en helse- og miljøvurdering av maislinjen MON 863 x MON 810. Det påpekes imidlertid at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler analysert for mais. Dette gjelder analyser av vitamin A, vitamin C, vitamin B6, vitamin niacin, natrium og selen. Faggruppen understreker at konsensusdokumentet i størst mulig grad skal følges når det legges fram dokumentasjon på nivåene av næringsstoffer, antinæringsstoffer og metabolitter.

I følge søkers dokumentasjon skal det være foretatt registreringer av agronomiske karakter i feltforsøk med MON 863 x MON 810 i USA. Dette er imidlertid ikke dokumentert verken i dossieret til søknadene eller andre vedlegg.

## KONKLUSJON

Analysen av ernæringsmessige komponenter er ikke utført i tråd med OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002). Dette gjelder analyser av vitamin A, vitamin C, vitamin B6, vitamin niacin, natrium og selen. Faggruppen understreker at konsensusdokumentet i størst mulig grad skal følges når det legges fram dokumentasjon på nivåene av næringsstoffer, antinæringsstoffer og metabolitter. Faggruppe for genmodifiserte organismer konkluderer likevel med at søkers dokumentasjon tilstrekkelig til å foreta helse- og miljøvurderinger av maishybriden.

For de analyserte komponentene er det påvist signifikante forskjeller mellom maishybriden MON 863 x MON 810 og kontroll i enkeltparametere, men forskjellene er ikke konsistente over forsøkssteder. Verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppe for genmodifiserte organismer konkluderer med at de forskjellene som er påvist ikke har ernæringsmessig betydning.

Faggruppen vektlegger at hoveddelen av maisforbruket i Norge er som dyrefôr, og at mais til humant konsum utgjør mindre enn 1 % av energiinntaket både for voksne og barn under ett år. Når det gjelder dyrefôr ansees det naturlige vitamininnholdet i mais å være uten betydning da all mais som benyttes som fôr vitaminberikes i henhold til Mattilsynets anbefalinger. Tilsvarende angis krav til ernæringsmessig sammensetning av kornbasert barnemat i vedlegg 1 i Forskrift om bearbeidet kornbasert barnemat og annen barnemat til spedbarn og småbarn (FOR 2002-10-18 nr 1185). Et gjennomsnittlig forbruk av mais i Norge vil bidra med en liten del av vitaminene niacin, B6 og vitamin C i kostholdet. Faggruppen vurderer derfor at eventuelt avvikende vitaminnivå i MON 863 x MON 810 har liten ernæringsmessig betydning.

Flere studier viser at proteinene Cry 1Ab, Cry3Bb1 og NPTII ikke er akutt toksiske. Søker har utført fôringsforsøk på broiler og 13-ukers fôringsforsøk på rotter med MON 863 x MON 810. Disse studiene viser at fôr som inneholder mais ikke fører til påvisbare helseeffekter på forsøksdyrene. Søker har også utført et 90-dagers fôringsforsøk på rotter med foreldrelinjene MON 810 og MON 863, og konkluderer med at det ikke ble påvist helseeffekter på forsøksdyrene. Dataene fra studien av MON 863 er seinere re-analysert av flere forskningsgrupper, med ulike konklusjoner. Seralini *et al.* (2007) fant indikasjoner på doseavhengige effekter på vekst og toksiske effekter på lever og nyre, og hevder at MON 863 ikke kan sies å være et trygt produkt uten videre langtidsstudier. EFSA underkjenner imidlertid analysen på grunn av de statistiske metodene som er brukt, og hevder at resultatene fra Seralini-studiet ikke har biologisk relevans. Samme konklusjon er trukket av risikovurderingsorganer i sju EU-land. To land har støttet Seralini's konklusjoner.

Et flertall av medlemmene i faggruppen konkluderer med at det på bakgrunn av disse forsøkene ikke er grunn til å anta at den genmodifiserte maisen er forskjellig med hensyn på toksisitet sammenlignet med umodifisert mais.

Mindretallet i faggruppen (T. Bøhn, A.I. Myhr, K.M. Nielsen, C. Linnestad) konkluderer med at det på bakgrunn av disse forsøkene knyttes usikkerhet til om den genmodifiserte maisen er forskjellig med hensyn på toksisitet sammenlignet med umodifisert mais.

Ingen av proteinene som blir uttrykt som følge av genmodifiseringen har likheter med kjente allergener eller egenskaper som tilsier at de er allergener. Det er imidlertid ikke vurdert om de uttrykte toksinene Cry3Bb1 og Cry1Ab1 kan ha adjuvanseffekt, d.v.s. fremming av immunreaksjon mot andre stoffer.

Et flertall av medlemmene i Faggruppe for genmodifiserte organismer finner det ikke sannsynliggjort at Cry3Bb1 og Cry1Ab har egenskaper som fører til hemming av den toleransen som fordøyelsessystemets slimhinner har mot proteiner (adjuvanseffekt). På bakgrunn av at Cry3Bb1-



og Cry1Ab- proteinene brytes ned i magesaft og at maten for øvrig inneholder en lang rekke stoffer som virker som adjuvanter, vurderes adjuvansproblemstillingen i forbindelse med MON 863 x MON 810 å være neglisjerbar.

Et mindretall av faggruppen (T. Bøhn, H. Klungland, C. Linnestad, A.I. Myhr, A.H. Nerland, K. Nielsen) finner det vanskelig å vurdere om næringsmidler og fôrvarer fra maishybriden MON 863 x MON 810 er mer allergifremkallende enn næringsmidler og fôrvarer fra umodifiserte maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, som viser at Cry-proteiner kan hemme den toleransen som fordøyelsessystemets slimhinner har mot proteiner, finner imidlertid medlemmene at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos MON 863 x MON 810 ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes.

En samlet faggruppe finner at mat- og fôrprodukter fra MON 863 x MON 810, som ikke inneholder Cry-proteiner, eksempelvis oljebaserte produkter, ikke medfører endret risiko for helse i forhold til annen mais.

Det innsatte *nptII*-genet koder for resistens mot enkelte aminoglykosider som benyttes i norsk landbruk (VKM 2005b). De tilgjengelige data viser at forekomsten av *nptII*-genet i patogene bakterier i Norge er lav. Kunnskap om forekomsten av *nptII*-genet i miljøet er imidlertid mangelfull.

Flertallet i faggruppen konkluderer med at tilstedeværelse av *nptII*-gener i mat og fôr produsert fra den genmodifiserte maisen MON 863 x MON 810 ikke er en signifikant kilde til *nptII*-gener i bakterier som lever i menneskets og dyrs tarmsystem, sammenlignet med de *nptII*-genene som allerede er tilstede i bakteriepopulasjonen i tarmen.

Et mindretall i faggruppen (K. M. Nielsen, C. Linnestad, A. Myhr, T. Bøhn, O. Stabbetorp) påpeker store forskjeller i geografisk utbredelse av antibiotikaresistens i Europa, og at det mangler publisert dokumentasjon på forekomsten av *nptII*-genet i Norge ". I fravær av vitenskaplig dokumentasjon, antas resistensgenforekomsten å være lav. Det påpekes at neomycin benyttes i norsk landbruk, og at et seleksjonstrykk på eventuelle sjeldne transformanter derfor ikke kan utelukkes. Antibiotikaene som genet gir resistens imot er nylig klassifisert av European Medicines Agency (EMA 2007) og WHO (2005) som "critically important". Manglende datagrunnlag gjør at mindretallet ikke ønsker å konkludere med hensyn på risiko knyttet til bruk av *nptII*-genet som ARMG

Søknaden gjelder godkjenning av maislinjen MON 863 x MON 810 for import og videreprosessering. I tillegg har faggruppen vurdert bruk av maishybriden som næringsmiddel og fôrvarer. Faggruppen har imidlertid ikke vurdert mulige helse- og miljøeffekter knyttet til dyrking av maislinjen. Det er ingen indikasjoner på økt sannsynlighet for spredning, etablering og invasjon av maislinjen i naturlige habitater eller andre arealer utenfor jordbruksområder som resultat av frøspill i forbindelse med transport og prosessering. Risiko for utkryssing med dyrkede sorter vurderes til å være ubetydelig. Ved foreskrevet bruk av maislinjen MON 863 x MON 810 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer (med mulig unntak av patogene mikrober) eller på abiotisk miljø i Norge.

### Samlet vurdering

Faggruppe for genmodifiserte organismer påpeker at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument for mais anbefaler analysert. Det er funnet signifikante forskjeller mellom MON 863 x MON 810 og kontrollinjer for enkeltkomponenter, men faggruppen anser det for lite trolig at disse forskjellene har noen ernæringsmessig betydning.

Når det gjelder toksikologiske egenskaper mener et flertall i faggruppen at det ikke er grunn til å anta at den genmodifiserte maisen er forskjellig fra umodifisert mais. Et mindretall (T. Bøhn, A.I. Myhr, K.M. Nielsen, C. Linnestad) mener det er usikkerhet knyttet til disse egenskapene på bakgrunn av re-analyser av data fra Monsanto's forsøk med rotter fôret med foreldrelinjen MON 863 som har munnet ut i ulike konklusjoner.

Ingen av proteinene som blir uttrykt som følge av genmodifiseringen har egenskaper som tilsier at de er allergener og faggruppen finner at mat- og fôrprodukter fra MON 863 x MON 810 som ikke inneholder Cry-proteiner, eksempelvis oljebaserte produkter, ikke medfører endret risiko for allergenitet i forhold til annen mais. Et flertall av faggruppen finner det ikke sannsynliggjort at Cry3Bb1-proteinet kan ha adjuvanseffekt. Fordi proteinet brytes ned i magesaft og på grunn av forekomsten av andre adjuvanter i mat, vurderer de adjuvansproblemstillingen i forbindelse med MON 863 mais å være neglisjerbar. På bakgrunn av studier i mus, som viser at Cry-proteiner kan hemme den toleransen som fordøyelsessystemets slimhinner har mot proteiner, mener et mindretall av faggruppen (A.H. Nerland, A.I. Myhr, T. Bøhn, C. Linnestad) at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos MON 863 x MON 810, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes.

Et flertall i faggruppen konkluderer med at *nptII*-gener i mat og fôr produsert fra den genmodifiserte maisen MON 863 x MON 810 ikke er en signifikant kilde til *nptII*-gener sett i forhold til de *nptII*-genene som allerede er tilstede i bakteriepopulasjonen i tarmen. Et mindretall (K.M. Nielsen, C. Linnestad, A. Myhr, T. Bøhn, O. Stabbetorp) påpeker store forskjeller i geografisk utbredelse av antibiotikaresistens i Europa, og i fravær av vitenskaplig dokumentasjon antar de at resistensgenforekomsten i miljøet er lav. Videre påpeker de at neomycin benyttes i norsk landbruk, og at et seleksjonstrykk på eventuelle sjeldne transformanter derfor ikke kan utelukkes.

En samlet faggruppe finner det lite trolig at den omsøkte bruken av maislinjen MON 863 x MON 810 vil medføre endret risiko for miljø for øvrig i forhold til annen mais.

## REFERANSER

- Agbios (2009). Agbios GM Database. Information on GM Approved Products.  
<http://www.agbios.com/dbase.php>
- Bensasson, D., Boore, J. L. & Nielsen, K. M. (2004). Genes without frontiers. *Heredity*, **92**, 483-489.
- Berin, M.C. & Schreffler, W.G. (2008). T<sub>H</sub>2 adjuvants: Implications for food allergy. *J. Allerg. Clin. Immunol.*, **121**, 1311-1320.
- Bernstein, I.L., Bernstein, J.A., Miller, M., Tierzieva, S., David I. Bernstein, D.I., Zana Lummus, Z., Selgrade, M.J.K., Doerfler, D.L. & Seligy, V.L. (1999) Immune Responses in Farm Workers after Exposure to Bacillus Thuringiensis Pesticides. *Environ. Health Perspect.* **107**(7), 575-582.
- Borovkov, I.G., Jennings, J.C. & Lirette, R.P. (2001). Amended report for MSL16776: Confirmation of the genomic DNA sequence flanking the 5' and 3' ends of the insert in YieldGard corn event MON 810. *Monsanto Technical Report MSL 17074*.
- de Jonge, J. D., Knippels, L.M.J., Ezendam, J., Odink, J. Penninks, A. H. & van Loveren, H. (2007) The importance of dietary control in the development of a peanut allergy model in Brown Norway rats *Methods*, **41**, 99-111.
- de Luis, R., Lavilla, M., Sanchez, L., Calvo, M. & Perez, M. D. (2009). Immunochemical detection of Cry1A(b) protein in model processed foods made with transgenic maize. *European Food Research Technology* DOI 10.1007/s00217-009-1021-4.
- de Vries, J. & Wackernagel, W. (2002). Integration of foreign DNA during natural transformation of *Acinetobacter* sp. by homology-facilitated illegitimate recombination. *The Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, **99**, 2094-2099.
- EEC (European Economic Community) (1992). Methods for the determination of toxicity. Part B.26 (sub-chronic oral toxicity test: 90-day repeated oral dose using rodent species) as specified by the European Economic Communities, Directive 92/32/EEC.
- EFSA (2004a). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (Reference C/DE/02/9) for the placing on the market of insect-protected genetically modified maize MON 863 and MON 863 x MON 810, for import and processing under Part C of Directive 2001/18/EC from Monsanto. *The EFSA Journal*, **49**, 1-25.
- EFSA (2004b). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the safety of foods and food ingredients derived from insect-protected genetically modified maize MON 863 and MON 863 x MON 810, for which a request for placing on the market was submitted under Article 4 of the Novel Food Regulation (EC) No 258/97 by Monsanto.
- EFSA (2004c). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. *The EFSA Journal*, **48**, 1-18. [http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo\\_opinions/384.html](http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_opinions/384.html)
- EFSA (2005a). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on a request from the Commission related to the Notification (reference C/DE/02/9) for the placing on the

- market of insect-protected genetically modified maize MON 863 x MON 810, for import and processing, under Part C of Directive 2001/18/EC from Monsanto. *The EFSA Journal*, **251**, 1-22.
- EFSA (2005b). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-DE-2004-03) for the placing on the market of insect-protected genetically modified maize MON863 x MON 810, for food and feed use, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto. *The EFSA Journal*, **252**, 1-23.  
[http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Scientific Opinion/gmo\\_opinion\\_ej252\\_mon863x810\\_2\\_en1.pdf?ssbinary=true](http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Scientific%20Opinion/gmo_opinion_ej252_mon863x810_2_en1.pdf?ssbinary=true)
- EFSA (2005c). Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on an application (Reference EFSA-GMO-DE-2004-03) for the placing on the market of insect-protected genetically modified maize MON 863 x MON 810, for food and feed use, under Regulation (EC) No 1829/2003 from Monsanto1. *The EFSA Journal*, **252**: 1-23.  
<http://www.efsa.europa.eu/cs/ContentServer?charset=utf-8&pagename=efsaSearch&st=EFSA-Q-2004-112>
- EFSA (2006a). *Guidance document of the scientific panel on genetically organisms for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed*. 100 p.  
[http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo\\_guidance/660.html](http://www.efsa.europa.eu/en/science/gmo/gmo_guidance/660.html)
- EFSA (2006b). Opinion of the European Food Safety Authority in accordance with Articles 6 and 18 of Regulation (EC) No 1829/2003 on application EFSA-GMO-DE-2004-03. Application for the placing on the market of insect-protected genetically modified maize MON863 x MON 810 for food and feed uses from Monsanto. 4 s.
- EFSA (2007). Statement of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the analysis of data from a 90-day rat feeding study with MON 863 maize. European Food Safety Authority (EFSA). Adopted 25 June 2007. <http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science>
- EFSA (2009). Use of Antibiotic Resistance Genes as Marker Genes in Genetically Modified Plants. Scientific Opinion of the Panel on Genetically Modified Organisms (GMO) and the Panel on Biologically Hazards (BIOHAZ). *The EFSA Journal*, **1034**: 1-82.
- EHC (1999) *Bacillus thuringiensis*. Environmental Health Criteria Monograph 217, International Programme on Chemical Safety, World Health Organization, Geneva, 1999.
- EPA (1982). Three-generation reproduction study in rats (modified to a 2-generation study). Microfiche No. OTS 0206655. Document ID 878214777.
- EPA-FIFRA (1989). US Environmental Protection Agency, Title 40 CFR, Part 160-Federal Insecticide, Fungicide and Rodenticide Act (FIFRA); Good Laboratory Practice Standards, Final Rule.
- EMA (2007). European Medicines Agency – Committee for medicinal products for veterinary use and committee for medicinal products for human use (2007). *Presence of the antibiotic resistance marker gene nptII in plant for food and feed uses*. EMA/CVMP756937/2007, 22 Feb. 2007.
- FAO/WHO (2001). *Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology.  
<ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/allergygm.pdf>
- Foss, N., Duranti, M., Magni, C. & Frøkiær, H. (2006). Assessment of Lupin Allergenicity in the

- Cholera Toxin Model: Induction of IgE Response Depends on the Intrinsic Properties of the Conglutins and Matrix Effects. *Int Arch Allergy Immunol*, **141**, 141-150 (DOI: 10.1159/000094716)
- 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.
- Guimaraes, V. D., Drumare, M. F., Ah-Leung, S., Lereclus, D., Bernard, H., Creminon, C., Wal, J. M. & Adel-Patient, K. (2008). Comparative study of the adjuvanticity of Bacillus thuringiensis Cry1Ab protein and cholera toxin on allergic sensitisation and elicitation to peanut. *Food and Agricultural Immunology*, **19**, DOI 10.1080/09540100802495651|PII 09540100906477739
- Hallauer, A.R. (2000). Potential for outcrossing and weediness of genetically modified insect protected corn. APHIS-USDA.
- Hammond, B., Lemen, J., Dudek, R., Ward, D., Jiang, C., Nemeth, M. & Burns, J. (2006). Results of a 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn rootworm-protected corn. *Food and Chemical Toxicology*, **44**, 147-160.
- Heinemann, J.A. & Traavik, T. (2004). Problems in monitoring horizontal gene transfer in field trials of transgenic plants. *Nature Biotechnology*, **22**: 1105-1109.
- Hernández, M., Pla, M., Esteve, T., Prat, S., Puigdomènech, P. & Ferrando, A. (2003). A specific real-time quantitative PCR detection system for event MON 810 in maize YieldGard® based on the 3'-transgene integration sequence. *Transgenic Research*, **12**, 179-189.
- Holck, A., Va, M., Didierjean, L. & Rudi, K. (2002) 5'-Nuclease PCR for quantitative event-specific detection of the genetically modified MON 810 MaisGard maize. *Eur Food Res Technol* **214**, 449–453.
- Lid, J. & Lid, D.T. (2005). Norsk flora. Det Norske Samlaget, Oslo. 7. utgave. ISBN: 82-521-6029-8. 1230 s.
- Moreno-Fierros, L., Ruiz-Medina, E.J., 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.
- Netherwood, T., Martín-Orúe, S.M., O'Donnell, A.G., Gockling, S., Graham, J., Mathers, J.C & Gilbert HJ. (2004). Assessing the survival of transgenic plant DNA in the human gastrointestinal tract. *Nature Biotechnology*, **22**, 204-209.
- Nielsen, K.M. (2003). An assessment of factors affecting the likelihood of horizontal transfer of recombinant plant DNA to bacterial recipients in the soil and rhizosphere. *Collection of Biosafety Reviews*, **1**, 96-149.
- Nielsen, K.M, van Elsas, J.D. & Smalla, K. (2000). Transformation of Acinetobacter sp. 13(pFG4deltanptII) with transgenic plant DNA in soil microcosms and effects of kanamycin on selection of transformants. *Applied Environmental Microbiology*, **66**, 1237-42.
- Nielsen, K. M. & Townsend, J. P. (2004). Monitoring and modeling horizontal gene transfer. *Nature Biotechnology*, **22**, 1110-1114. See also correspondence vol 22, 1349-1350.

- NORM/NORM-VET (2006). *Usage of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Norway*. Tromsø/Oslo 2007. ISSN: 1502-2307. <http://www.vetinst.no>
- OECD (1987). OECD (408). Repeated dose 90-day oral toxicity study in rodents. Guideline 408, adopted 21.09.1998. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.
- OECD (1997). OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice AND Compliance Monitoring, Number 1. OECD Principles on Good Laboratory Practice (revised 1997) ENV/MC/CHEM(98)17.
- OECD (1998). OECD Guideline for the Testing of Chemicals Section 4: Health Effects, Number 408.
- 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.
- OECD (2003). Consensus Document on the biology of *Zea mays* subsp. *Mays* (Maize). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology (ENV/JM/MONO) No. 27:1-49.
- Pettersen, A. K. Primicero, R., Bøhn, T. & Nielsen, K. M. (2005). Modelling suggest frequency estimates are not informative for predicting the long-term effect of horizontal gene transfer in bacteria. *Environmental Biosafety Research*, **4**, 222-233.
- Prasad, S.S.S.V. & Shethna, Y.I. (1975). Enhancement of immune response by the proteinaceous crystal of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **62**, 517-521.
- Rojas-Hernández, S., Rodríguez-Monroy, M.A., López-Revilla, R., Reséndiz-Albor, A.A. & Moreno-Fierros, L. (2004). Intranasal coadministration of the Cry1Ac protoxin with amoebal lysates increases protection against *Naegleria fowleri* meningoencephalitis. *Infection and Immunity*, **72**, 4368-4375.
- Scanlon, N.K. & Jennings, J.C. (2004). Confirmation of the absence of T-NOS in MON 810 by Southern blot analysis. *Monsanto Technical Report MSL 19224*.
- Scanlon, N.K., Masucci, J.D. & Jennings, J.C. (2007) Amended report for MSL 18784: additional southern blot and sequencing analysis of YieldGard cornborer corn MON 810. *Monsanto Technical Report, MSL 0020709*.
- Schubbert, G.W., Lettmann, C. & Doerfler, W. (1994). Ingested foreign (phage M13) DNA survives transiently in the gastrointestinal tract and enters the bloodstream of mice. *Molecular & General Genetics*, **242**:495-504.
- Seralini, G. E., Cellier, D. & de Vendomois, J. S. (2007). New analysis of a rat feeding study with a genetically modified maize reveals signs of hepatorenal toxicity. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **52**, 596-602.
- TemaNord (1998). *Safety Assessment of Novel Food Plants: Chemical Analytical Approaches to the Determination of Substantial Equivalence*. TemaNord 1998:591. ISBN 92-893-0263-1.
- van Wijk, F. & Knippels, L. (2007) Initiating mechanisms of food allergy: oral tolerance versus allergic sensitization,. *Biomed. Pharmacother.*, **61**, 8–20.
- Vazquez-Padron, R.I., Martinez-Gil, AF., Ayra-Pardo, C., Gonzalez-Cabrera, J., Prieto-Samsonov, D.L. & de la Riva, G.A. (1998). Biochemical characterization of the third domain from<sub>46</sub>

- Bacillus thuringiensis Cry1A toxins. *Biochemistry & Molecular Biology International*, **45**, 1011-20.
- Vazquez, R.I., Moreno-Fierros, L., Neri-Bazan, L., De La Riva, G.A. & Lopez-Revilla, R. (1999). *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protoxin is a potent systemic and mucosal adjuvant. *Scandinavian Journal of Immunology*, **49**, 578-84.
- Vazquez-Padron, R.I., Gonzales-Cabrera, J., Garcia-Tovar, C., Neri-Bazan, L., Lopez-Revilla, R., Hernandez, M., Moreno-Fierro, L. & de la Riva, G.A. (2000a). Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* sp. kurstaki HD73 binds to surface proteins in the mouse small intestine. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **271**, 54-8.
- Vazquez-Padron, R.I., Moreno-Fierros, L., Neri-Bazan, L., Martinez-Gil, A.F., de-la-Riva, G.A. & 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.
- Vikse, R. (2008). Betydning av mais i kostholdet i Norge. 9 s. Upublisert.
- VKM (2005a). *Helserisikovurdering av genmodifisert mais MON 863 x MON 810 (EFSA/GMO/DE/2004/3) etter forordning EC/1829/2003. Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet.* (04/311). Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
- VKM (2005b). *Report from an Ad Hoc Group appointed by the Norwegian Scientific Panel on Genetically Modified Organisms and Panel on Biological Hazards – An assessment on potentially long-term health effects caused by antibiotic resistance marker genes in genetically modified organisms based on antibiotic usage and resistance patterns in Norway.* Opinion 05/302-1-final. Norwegian Scientific Committee for Food Safety, Oslo, Norway. 62 p.
- VKM (2006). *Uttalelse om Monsanto's genmodifiserte mais MON 863 (C/DE/02/9). Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet.* (05/325). Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
- VKM (2007a). *Helserisikovurdering av genmodifisert maislinje MON 810 (C/DE/02/9). Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet.* (07/320). Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
- VKM (2007b). *Miljøriskovurdering av genmodifisert maislinje MON 810 (C/DE/02/9). Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet.* (06/312). Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
- VKM (2008). *Helse- og miljøriskovurdering av genmodifisert maislinje MON 863 fra Monsanto Company (C/DE/02/9). Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet.* (08/328). Vitenskapskomiteen for mattrygghet, Oslo, Norge.
- Warman, P.R. & Havard, K.A. (1998). Yield, vitamin and mineral contents of organically and conventionally grown potatoes and sweet corn. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **68(3)**: 207–216.
- WHO (2005). World Health Organisation. *Critically important antimicrobial agents for human medicine for risk management strategies of non-human use.* Report of a WHO working group consultation, 15-18 Feb. 2005, Canberra, Australia.

## VEDLEGG

Tabell 1. Kortfattet oversikt over resultater fra 13 ukers fôringsforsøk på rotter med MON 863 og 3 kryssninger med MON 863.

Resultater Mais	6.1 Korn- karakt.	6.2 Analyse av fôr	6.3 Kliniske observ. og overlevelse	6.4 Kroppsv	6.5 Fôr-inntak	6.6 Klinisk patologi			6.7 Anatomisk patologi		
						6.6.1 Hematologi	6.6.2 Serum kjemi	6.6.3 Urinanalyse	6.7.1 Makroskopiske undersøkelser	6.7.2 Organvekt	6.7.3 Mikroskop. undersøkelse
<b>MON 863</b>  <b>Rapport MSL 18175</b>	OK	Sammen- setning, pesticide mycotox etc.  OK	3 hanndyr døde, en i hver fôrgruppe  2 hunndyr døde uke 5 etter blodtaking  Ingen test- rel observ  OK	Ingen stat. signif. Endringe r (EFSA)	Ingen stat. signif. endring.	<u>EFSA</u> : Stat forskjeller påvist ligger innenfor forventet tilfeldighet Ikke konsistente over tidsperioden, gjelder hele 6.6	<u>EFSA</u> : Stat forskjell som er påvist innenfor forventet tilfeldigh.	<u>EFSA</u> : Stat forskjeller som er påvist ligger innenfor forventet tilfeldighet	Stat forskjeller som er påvist ligger innenfor forventet tilfeldigh.	Stat forskjeller som er påvist ligger innenfor forventet tilfeldighet	En ♀-rotte stat. fors nyre, tubul, mineralis, <u>Ellers</u> : Stat forskjel innen forv. tilfeldighet
<b>MON 863 x NK603</b>  <b>Rapport WIL- 50288</b>	OK	Sammen- setning, pesticide mycktox etc.  OK	Alle dyr overlevde.  Enkelte dyr- røde ører pga metall- klemme Ingen test- rel observ	Ingen stat. signif. endringer	Stat. signif. ↑ 33 % 863/603 inntak: ♂ uke 0/1, 3/4, 7/8, 11/12; ♀ 3/4, 8/9 → ikke tox relatert tilfeldig	11 % 863/603 ♂: Stat. sign. ↓ gj.sn. rødeblod.tall ↑ gj.sn. MCH uke 13; ikke tox relatert, tilfeldig	11 % 863/603  ♀: Stat. sign ↑ gj.sn urea N uke 13, Ikke tox relatert	Ingen stat. signif. endringer	Ingen stat. signif. endringer	11 % 863/603 ♂: Stat. sign. ↓ gj.sn. hjerte vekt og hjerte/hjerne ratio mot kont. Ikke hjerte relativt til kroppsvekt. Ikke doserelatert	Ingen stat. signifikante endringer



Resultater Mais	6.1 Korn- karakt.	6.2 Analyse av før	6.3 Kliniske observ. og overlevelse	6.4 Kroppsv ekt	6.5 Fôr- inntak	6.6 Klinisk patologi			6.7 Anatomisk patologi		
						6.6.1 Hematologi	6.6.2 Serum kjemi	6.6.3 Urinalyse	6.7.1 Makroskopiske undersøkelser	6.7.2 Organvekt	6.7.3 Mikroskop. undersøk.
MON 863 x MON 810  Rapport WIL- 50289	OK	Sammen- setning, pesticide mycotox etc.  OK	Alle dyr overlevde.  Ikke merket med metall klemme  Ingen test- rel kliniske observ.	Ingen stat. signif. endringer	Stat. signif. ↑ 33 % 863/810 inntak: ♀ uke 5/6, 9/10, 10/11; 11 % 863/810 ♀ uke 1/2 → ikke tox relatert	11 % og 33 % 863/810 ♂: Stat. sign. ↓ gj.sn. MCHC; ikke dose relatert Basofile ↑ i 11 % ♂	Ingen stat. signif. endringer	Ingen stat. signif. endringer	Ingen stat. signif. endringer	11 % og 33 % 863/810 ♀: Stat. sign. ↓ gj.sn. absolutt og relativ vekt av thyro + parathyro relativt til kroppsvekt. Ikke doserelatert. ♀ nyrevekt rel til kroppsvekt ↓ i 33 % gruppen	Ingen stat. signifikante endringer
MON 863 x MON 810 x NK603  Rapport WIL- 50287	OK	Sammen- setning, pesticid, mycotox etc.  OK	Alle dyr overlevde.  Røde ører pga metall- klemme, flest i kontroll gruppen Ingen test- rel observ.	Ingen stat. signif. endringer	Ingen stat. signif. endring.	11 % 863/810/ 603/k  ♀: Stat. sign ↑ absolutt neutrofil tall, ikke dose relatert	Ingen stat. signif. endringer	11 % og 33 % 863/810 ♂: Stat. sign. ↓ total urin volum. 3 kontrolldyr har svært høyt volum	Ingen stat. signif. endringer	11 % 863/810/603 ♂: Stat. sign. ↑ gj.sn. absolutt bitestikkelvekt mot kontroll. Ikke doserelatert	Ingen stat. signifikante endringer