



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

19.09.08

**Helse- og miljørisikovurdering av genmodifiserte mais
59122 fra Pioneer Hi-Bred International, Inc. og Mycogen
Seeds**

(EFSA/GMO/NL/2005/12)

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, Jihong Liu Clarke, Askild Holck, Helge Klungland, Casper Linnestad, Richard Meadow, Anne I. Myhr, Audun Nerland, Ingolf Nes, Kåre M. Nielsen, Hilde-Gunn Opsahl Sorteberg, Odd E. Stabbetorp, Vibeke Thrane og Rose Vikse

Koordinatorer fra sekretariatet: Arne Mikalsen og Merethe Aasmo Finne

SAMMENDRAG

Helse- og miljørisikovurderingen av den genmodifiserte herbicid- og insekttolerante maislinjen 59122 fra Pioneer Hi-Bred International, Inc. og Mycogen Seeds (EFSA/GMO/NL/2005/12) er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet. I forbindelse med slutføring av saksbehandling av søknad om godkjenning maislinjen til bruk i/som næringsmidler og fôrvarer i Norge, er Vitenskapskomiteen for mattrygghet blitt bedt av Direktoratet for naturforvaltning (DN) og Mattilsynet om å foreta en vitenskapelig risikovurdering av 59122 med hensyn på eventuelle effekter på helse og miljø.

Vurdering av den genmodifiserte maisen er basert på dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSAAs nettside GMO EFSAAnet. I tillegg er det benyttet informasjon fra uavhengige vitenskapelige publikasjoner i vurderingen. Maislinje 59122 er vurdert i henhold til tiltenkt bruk og i overensstemmelse med kravene i genteknologiloven, forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, forordning 1829/2003/EF, samt kravene i EUs utsettingsdirektiv 2001/18/EF med annekser. Videre er EFSAAs retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter (EFSA 2006) og Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) konsensusdokument for mais (OECD 2002) lagt til grunn for vurderingen. Den vitenskapelige vurderingen omfatter transformeringsprosessen, bruk av vektor og det transgene konstruktet, komparativ analyse av ernæringsmessig kvalitet, mineraler, kritiske toksiner, antinæringsstoffer, allergener og nye proteiner. Videre er agronomiske egenskaper, potensiale for utilsiktede effekter på fitness, genoverføring og effekter på ikke-målorganismer vurdert.

Maislinjen 59122 er fremkommet ved *Agrobacterium*-mediert transformasjon av planteceller fra hybridlinjen Hi-II. Maislinjen 59122 uttrykker en ny type *Bt*-toksin, som er resultat av introduksjon av to *cry*-gener (*cry34Ab1* og *cry35Ab1*) fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis*, stamme PS149B1. Proteinene virker sammen som et binært toksin, og gir plantene resistens mot angrep fra arter i slekten *Diabrotica*. I tillegg har maislinjen fått satt inn et *pat*-gen. Genet koder for enzymet fosfinotricin acetyltransferase (PAT), som acetylerer og inaktiverer glufosinat-ammonium, virkestoffet i fosfinotricin-herbicer av typen Finale. Produkter av 59122 markedsføres under handelsnavnet HerculexTM RW.

Analysene av ernæringsmessige viktige komponenter ble vurdert. Det ble bemerket at noen av de komponenter som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler analysert for mais ikke er utført. Det er funnet statistiske forskjeller for enkelte komponenter. De statistiske forskjellene for disse komponentene er ikke konsistente da forskjellene som er påvist i enkelte forsøksfelt, ikke er påvist i de andre forsøksfeltene. Faggruppen anser analysene for å være tilstrekkelige for en vurdering av 59122 til bruk som mat og fôr.

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 Cry34Ab1 og Cry35Ab1 kan ha adjuvanseffekter, dvs fremming av immunreaksjon mot andre stoffer

Faggruppen finner det vanskelig å vurdere om næringsmidler og fôrvarer fra maislinjen 59122 er mer allergifremkallende enn næringsmidler og fôrvarer fra umodifiserte maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner imidlertid faggruppen at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos næringsmidler og fôrvarer fra 59122, sett i forhold til umodifisert mais, med den informasjonen vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes.

Søknaden gjelder godkjenning av maislinjen 59122 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige 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 foreskrevne bruk av maislinjen 59122 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer eller på abiotisk miljø i Norge.

Samlet vurdering

Dersom en ser bort fra adjuvansproblematikken, mener flertallet av medlemmene i Faggruppe for genmodifiserte organismer at det er lite trolig at bruk av maislinjen 59122 vil medføre endret risiko for helse og miljø i forhold til annen mais. Faggruppen finner imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos 59122, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. FG3 kan derfor ikke vurdere helse- og miljørisiko av adjuvans. En samlet faggruppe påpeker kunnskapshull knyttet til adjuvans generelt og om Cry-proteinene i 59122 kan virke som adjuvant.

Dissens:

Ett av medlemmene, Anne Ingeborg Myhr, påpeker at det er kunnskapshull i dokumentasjonen som er vedlagt. Dette gjelder spesielt komponenter som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler analysert for mais ikke er utført. Videre viste 13 ukers fôringsforsøk med hann- og hunnrotter (5 grupper à 12 rotter/kjønn) små statistiske forskjeller i blodverdier for dyrene som er fôret med 59122 sammenlignet med de rottene som er fôret med de fire umodifiserte maissortene. Forskjellene ble funnet mht: antall reticulocytter, corpuscular hemoglobin, diameter på erytrocytter og antall trombocytter. Søker skriver videre at de observerte forskjellen ble kun funnet i hannrotter og at forskjellene er små. Myhr er enig at forskjellen er små og at det kan være andre årsaker enn fôret siden funne ble kun gjort hos hannrotter. Disse forandringer i blodverdier er relevant og burde ha vært undersøkt nærmere med hensyn på biologiske forandringer og toksisitet. Dette gjør at Myhr ikke er enig i faggruppens konklusjon, men ønsker i stedet her å vise til føre-var prinsippet.

NØKKELOORD

Mais, *Zea mays* L., genmodifisert maislinje 59122, EFSA/GMO/NL/2005/12, insektsresistens, herbicidtoleranse, PAT, Cry34Ab, Cry35Ab1, DAS-59122-7, helsemessig trygghet, helse, miljørisiko, forordning 1829/2003/EF

INNHALDSFORTEGNELSE

BIDRAGSYTERE	2
Vurdert av.....	2
SAMMENDRAG.....	3
NØKKELOD.....	4
INNHALDSFORTEGNELSE.....	5
BAKGRUNN	7
OPPDRAG FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING OG MATTILSYNET	7
RISIKOVURDERING	8
1. Innledning.....	8
1.1. Beskrivelse av egenskaper(er) og virkningsmekanismer	8
2. Molekylær karakterisering	8
2.1. Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon.....	8
2.2. Karakterisering av geninnsettingen/genkonstruksjonen.....	9
2.3. Informasjon vedrørende uttrykk av innsatte gener og åpne leserammer (ORF)	10
2.4. Nedarving og stabilitet av innsatt DNA	10
2.5. Delkonklusjon	10
3. Komparative analyser	11
3.1. Valg av komparator og forsøksdesign.....	11
3.2. Analyser av ernæringsmessige komponenter	11
3.3. Agonomiske egenskaper	12
3.4. Delkonklusjon	12
4. Dokumentasjon av toksisitet og allergenisitet.....	12
4.1. Toksisitet	12
4.2. Allergenisitet	13
4.3. Delkonklusjon	15
5. Miljørisikovurdering	15
5.1. Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen.....	15
5.2. Potensiale for genoverføring	16
5.3. Potensiale for samspill mellom GMP og målorganismer.....	17
5.4. Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer	17
5.5. Potensiale for samspill med abiotisk miljø og eventuelle effekter på biogeokjemiske prosesser	17
	5

5.6. Overvåking	17
5.7. Delkonklusjon	18
6. Vurdering av søkers dokumentasjon	18
KONKLUSJON	19
Samlet vurdering	19
REFERANSER	20
VEDLEGG	23

BAKGRUNN

Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet er blitt bedt av Direktoratet for naturforvaltning og Mattilsynet om å foreta en vitenskapelig vurdering av helse- og miljørisiko i forbindelse med nasjonal sluttbehandling av søknad om godkjenning av den genmodifiserte maislinjen 59122 fra Pioneer Hi-Bred International, Inc. og Mycogen Seeds (EFSA/GMO/NL/2005/12). 59122 er godkjent for omsetning i EU/EØS-området under forordning (EF) Nr. 1829/2003. Godkjenningen omfatter bruk av maislinjen til import og videreprosessering, og som næringsmidler og fôrvarer.

Søknad om markedsføring av den genmodifiserte maislinjen ble fremmet og anbefalt av nederlandske myndigheter i januar 2005. Etter en 90-dagers høringsperiode til EU/EØS-landene, leverte EUs vitenskapskomité (EFSA) sin uttalelse i mars 2007 (EFSA 2007). Endelig godkjenning av søknaden ble gitt 24. oktober 2007 (Kommisjonsbeslutning 2007/702/EC). Pioneer Hi-Bred/Mycogen Seeds har også søkt om godkjenning av maislinje 59122 for dyrking under forordning 1829/2003/EF (EFSA/GMO/NL/2005/23).

Utenfor EU/EØS-området er 59122 godkjent for alle bruksområder (inkludert dyrking) i USA, Canada og Japan (Agbios 2008). I tillegg er maislinjen godkjent for omsetning som mat/og/eller fôr i Australia, Korea, Filippinene og Mexico.

Faggruppe for genmodifiserte organismer har tidligere foretatt en vurdering av 59122 med hensyn på eventuelle helseeffekter ved bruk som mat og fôr (VKM 2005a).

OPPDRAK FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING OG MATTILSYNET

I forbindelse med slutføring av saksbehandling av søknad EFSA/GMO/NL/2005/12, genmodifisert maislinje 59122 fra Pioneer Hi-Bred International, Inc. og Mycogen Seeds, har Direktoratet for naturforvaltning og Mattilsynet i brev datert henholdsvis 28.4.2008 (ref.2005/8731 ART-BM-NVI) og 4.2.2008 (ref. 2008/13804) bedt Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å foreta en vitenskapelig risikovurdering av maislinjen med hensyn på eventuelle effekter på helse og miljø. Bakgrunnen for oppdraget er at Norge i forbindelse med implementering av EUs regelverk på genmodifisert mat og fôr, må ta endelig stilling til om søknaden skal innvilges også her i landet.

Faggruppe for genmodifiserte organismer skal vurdere søknaden om markedsføring av maislinjen til bruk i/som næringsmidler og fôrvarer under forordning 1829/2003/EF. Oppdraget omfatter forhold knyttet til miljørisiko som gjelder for alle land som omfattes av godkjenningen (EØS-området), og på 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, EFSA/GMO/NL/2005/12 (59122).

Unik kode: DAS-59122-7

Status i EU: Godkjent til import, prosessering, og som mat og fôr under forordning (EF) Nr. 1829/2003 i 2007.

RISIKOVURDERING

1. Innledning

Risikovurderingen av den transgene maislinjen 59122 er i hovedsak basert på dokumentasjon som er tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA-nett relatert til søknadene om godkjenning av maislinjene 59122 til mat og fôr (EFSA/GMO/NL/2005/12), og for alle bruksområder (EFSA/GMO/NL/2005/23) og 1507 x 59122 (EFSA/GMO/NL/2005/28). I tillegg er det benyttet uavhengige vitenskapelige publikasjoner med referee i vurderingen. Vurderingen er gjort i henhold til tiltenkt bruk, og i overensstemmelse med kravene i genteknologiloven, forskrift om konsekvensutredning etter genteknologiloven, forordning 1829/2003/EF, samt kravene i EUs utsettingsdirektiv 2001/18/EF med annekser.

Faggruppe for genmodifiserte organismer har på faggruppemøtet 2.2.2005 vedtatt å bruke 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 2006). 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. I henhold til Vitenskapskomiteen for mattrygghets uttalelse på møtet 23. april 2004 har Faggruppe for genmodifiserte organismer vedtatt at i de sakene hvor EFSA har kommet med sine uttalelser før Faggruppe for genmodifiserte organismer får sakene til behandling, skal søknadene behandles på samme måte som i EU-landene. EFSA's vurdering av maislinjen 59122 ble publisert 23. mars 2007 (EFSA 2007).

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

1.1. Beskrivelse av egenskaper(er) og virkningsmekanismer

Linje 59122 uttrykker en ny type *Bt*-toksin, som er resultat av introduksjon av to *cry*-gener (*cry34Ab1* og *cry35Ab1*) fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis*, stamme PS149B1. Proteinene virker sammen som et binært toksin og gir plantene resistens mot angrep fra arter i slekten *Diabrotica* som *D. virgifera virgifera* ('Western Corn Rootworm'), *D. barberi* ('Northern Corn Rootworm') og *D. undecimpunctata howardi* ('Southern Corn Rootworm'). *Cry34Ab1*-proteinene er den aktive komponenten, men for å oppnå maksimal beskyttelse er det nødvendig med tilstedeværelse av begge proteinene. En antar at *Cry34Ab1* bindes til spesifikke reseptorer på overflaten/membranen til insektets tarmceller, mens *Cry35Ab1* virker ved å danne porer i cellemembranene. Genkonstruksjonen består også av et *pat*-gen fra *Streptomyces viridochromogenes*. Genet koder for enzymet fosfinotricin acetyltransferase (PAT), som acetylerer og inaktiverer glufosinat-ammonium, virkestoffet i fosfinotricin-herbicerer av typen Finale. I følge søker er *pat*-genet benyttet som markør ved seleksjon av transformerte planter.

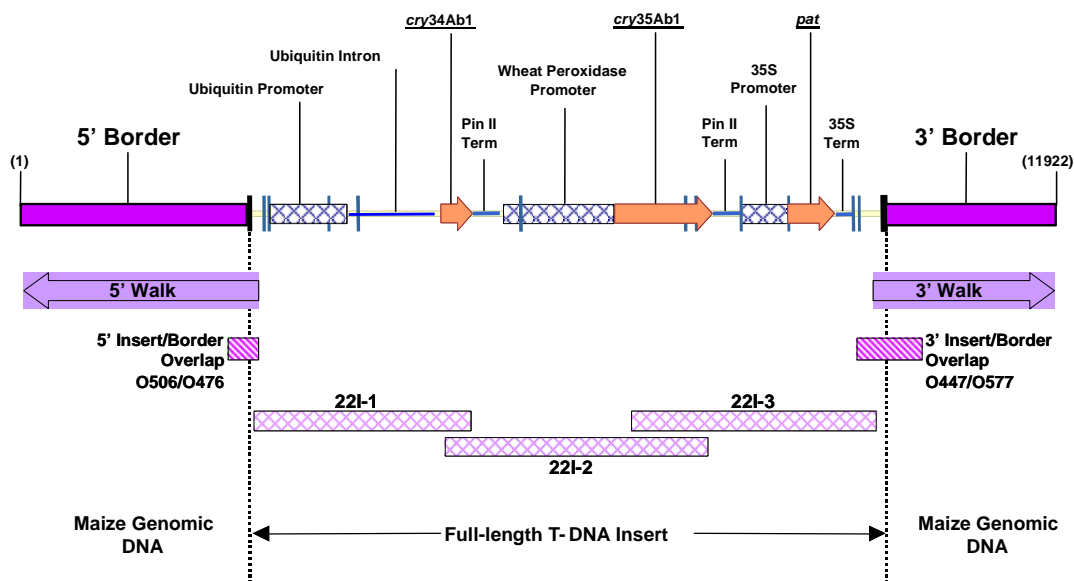
2. Molekylær karakterisering

2.1. Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon

Den genmodifiserte maislinjen 59122 uttrykker herbicid- og insekttoleranse ved at et lineært DNA fragment på 7390 basepar fra den binære vektoren PHP17662, ble overført til umodne maisceller med *Agrobacterium*-mediert transformasjon. DNA-fragmentet inneholder ikke antibiotikaresistensgen.

Det rekombinante DNA fragmentet inneholder følgende gener og DNA elementer (se figur 1):

- a) *ubi1ZM* promoter fra mais, omfatter 5'UTR og intron
- b) *cry34Ab1* gen fra *Bacillus thuringiensis* strain PS149B1. Genet er optimalisert for uttrykk i mais.
- c) *pinII* terminator, kommer fra potetproteinase inhibitor II genet.
- d) *ta* promoter fra hvete peroksidasegenet.
- e) *cry35Ab1* gen fra *Bacillus thuringiensis* strain PS149B1. Genet er optimalisert for uttrykk i mais.
- f) *pinII* terminator, kommer fra potetproteinase inhibitor II genet.
- g) *pat* gen et stammer fra jordbakterien *Streptomyces viridochromogenes*.
Pat gen uttrykker enzymet fosfinitricin acetyltransferase (PAT, phosphinothricin acetyl transferase) som har høy spesifisitet overfor fosfinitricin, som er den aktive komponenten i herbicider av glufosinat-typen. PAT inaktiverer fosfinitricin ved N-acetylering og beskytter derved planten i et fosfinitricinmiljø. Basesekvensene i gen et er endret slik at gen et kan uttrykkes i planter. PAT proteinets aminosyresekvens i planten er lik bakterieproteinets aminosyresekvens.
- h) CaMV 35S: Promoteren CaMV 35S og terminatoren CaMV 35S kommer fra blomkålmosaikk-virus. Promoteren styrer uttrykket av *pat*. Termineringen av uttrykket styres av 35S - Term.



Figur1: T-DNA-rekombinant fragmentet fra det binære PHP17662 plasmidet med genomiske flankesekvenser.

Figuren viser et genomisk DNA fragment på 11922 bp hvor T-DNA rekombinant fragment sitter. PCR-fragmentene 22I-1, 22I-2 og 22I-3 er T-DNA-fragmenter som er sekvensert. 5'Walk og 3'walk er sekvenserte genomiske områder på henholdsvis 2593 bp og 1986 bp.

2.2. Karakterisering av geninnsettingen/genkonstruksjonen

Southern blot- og sekvensanalyse viser at et nesten fullengde kopi av PHP17662 rekombinante DNA-fragment (7343 bp fra 7390 bp fragmentet) er satt inn i maisens genom. Det er kuttet bort 22 bp fra 5'- og 25 bp fra 3'-delen av DNA fragmentet. Et 11922 bp genomisk DNA-fragment fra mais DAS-59122-7 hvor det rekombinante DNA fragmentet ligger på, er sekvensert. Dette DNA-fragmentet inneholder alle genene (*pat*, *cry34Ab1* og *cry35Ab1*) og de respektive regulatoriske sekvensene. Det₉

er også funnet to base-endringer i fragmentets ikke-kodende område. Ingen av disse endringene påvirker fragmentets åpne leseramme. Det er sekvensert 2593 bp og 1986 bp henholdsvis fra 5'- og 3'-flankesekvenser. Det er funnet små områder med sekvenslikheter med f.eks. kromosomale sekvenser og forskjellige ESTer. Det største området er på 179 bp. Ingen av flankeområdene har likheter med kodende sekvenser for kjente proteiner.

2.3. Informasjon vedrørende uttrykk av innsatte gener og åpne leserammer (ORF)

Analyser av uttrykk av proteinene Cry34Ab1, Cry35Ab1 og PAT ble analysert vha ELISA. Det ble tatt prøver av plantemateriale fra 11 ulike forsøksfelt i Chile, USA og Canada i 2002/2003, og tre og seks forsøk i Europa i 2003 og 2004. Prøvene ble tatt på fire ulike utviklingsstadier. Cry34Ab1-, Cry35Ab1-proteinene ble påvist i blad, pollen, korn, rot, stilk og hel plante, mens PAT proteinet bare ble påvist i blad, rot, stilk og hel plante. Nivået av PAT-protein i korn og pollen var under deteksjonsgrensen.

Uttrykket av Cry34Ab1- og Cry35Ab1-proteiner varierte mellom ulike organer/vev i planten, og mellom forsøksfelt. I pollen var konsentrasjonen av Cry35Ab1 lav eller under deteksjonsgrensen, mens nivået av Cry34Ab1 varierte mellom 50 og 74 µg/g tørrvekt. I Europa ble uttrykket av Cry34Ab1 og Cry35Ab1 i korn målt til henholdsvis 61,8 ±16,5 og 2,34 ± 0,475 µg/g tørrvekt. Prøver fra feltforsøk i Chile og USA/Canada viste henholdsvis 36,4 ± 8,9 og 2,0 ± 0,7 µg/g tørrvekt. Variasjonen mellom prøver fra forsøksruter med og uten herbicidbehandling viste seg å være mindre enn variasjonen mellom forsøksfelt. Uttrykket av PAT-protein var generelt lavt i alle organer/vev der proteinet kunne påvises. Resultater fra prøver av hele planter viste konsentrasjoner på 0,0807 ± 0,0800 µg/g tørrvekt i de europeiske feltforsøkene.

Western blot og påvisning med polyklonale antistoffer viser at både Cry34Ab1, Cry35Ab1 og PAT proteinene har de forventede molekylvektene. Cry35Ab1 forelå som dublett i Western-blot, med størrelse 44 kD og 40kD. Tilsvarende bånd ble påvist med bakterie-Cry35Ab1 protein. Årsaken oppgis å være at planteproteaser spalter av et C-terminalt fragment. Det er ingen indikasjoner på fusjonsproteiner.

Det er gjort studier for å påvise kodende sekvenser hos maislinjen 59122. Det ble ikke påvist åpne leserammer som kan føre til uttrykk av peptider som er større enn 100 aminosyrer.

2.4. Nedarving og stabilitet av innsatt DNA

Genetisk stabilitet av den innsatte genkonstruksjonen er vist ved spaltingsdata og Southern analyse fra fire ulike generasjoner (T1S1, T1S2, BC1 og BC2S1). Utgangslinjen Hi-II med eventen 59122 (T0) ble krysset med en innavlet, elitelinje PH098B for å danne F1- generasjonen. F1-plantene ble selvbestøvet for å produsere T1S- og T1S2- generasjonene. For å danne BC1-hybriden ble F1-plantene krysset og tilbakekrysset med en innavlet linje 05F, og til slutt krysset med nok en innavlet linje 581. BC2S1-generasjonen ble dannet ved at F1-planter ble krysset og tilbakekrysset to ganger med innavlet linje 581, og videre selvbestøvet. Analyser av avkom fra den spaltende BC2S1-generasjonen viste forventet mendelsk nedarving av herbicidtoleranse og uttrykk av Cry34Ab1. Analyser av uttrykk av Cry34/35Ab1 og PAT fra feltforsøk over 2 vekstsesonger i Europa og Nord- og Sør-Amerika indikerer fenotypisk stabilitet.

2.5. Delkonklusjon

Faggruppen har tidligere vurdert karakteriseringen av det rekombinante innskuddet, de fysiske, kjemiske og funksjonelle karakteriseringene av 59122 til å være tilstrekkelige (VKM 2005a).

3. Komparative analyser

3.1. Valg av komparator og forsøksdesign

Pioneer Hi-Bred Int./Mycogen Seeds opplyser om at det er foretatt registreringer av agronomiske karakterer og analyser av ernæringsmessige viktige komponenter av prøver fra maislinjen 59122 fra seks forsøksfelt i Chile vekstsesongen 2002/2003, og henholdsvis tre og to forsøksfelt i USA og Canada i 2003. På oppfordring fra EFSA har søker levert tilleggsdata fra felt på tre lokaliteter i Bulgaria i 2003 og 2004, og tre forsøk i Spania i 2004. Hvert forsøksfelt bestod av et fullstendig randomisert blokkdesign med 4 blokker. Det ble tatt ut fôrprøver og prøver av kornavling fra tre av blokkene på hvert forsøkssted. Som kontroll er det benyttet en umodifisert ikke-transgen, nær-isogen maislinje med samme genetisk bakgrunn som de genmodifiserte plantene. Enkelte av blokkene ble behandlet med herbicider med virkestoff glufosinat-ammonium.

3.2. Analyser av ernæringsmessige komponenter

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 ± 20 %.

Hovedkomponenter i maiskorn og andre plantedeler

Valget av analyseparametere er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument for mais, men det er ikke analysert for alle parametrene som er anbefalt i dokumentet (OECD 2002). Det ble analysert for protein, fett, aske, karbohydrater, ADF (acid detergent fibre), NDF (neutral detergent fibre), total fiber, kalorier, vann, aminosyrer, fettsyrer, fosfor, jern, kalium, kalsium, kobber, magnesium, mangan, natrium, sink, vitaminene beta-karoten, B1, B2, E, folinsyre, de sekundære metabolittene furfural, ferulsyre, inositol, raffinose og p-cumarinsyre, og anti-næringsstoffene fytinsyre og trypsinhemmer. Det er ikke analysert for vann, selen, niacin og vitamin B6. Analysene ble utført under god laboratoriepraksis (GLP).

For hovedkomponentene er det funnet signifikante forskjeller for parametrene protein, aske og karbohydrater. Analyser over hovedkomponenter i maisplanten viser at verdier for alle disse hovedkomponentene ligger innenfor typiske verdiområder for andre maissorter som er publisert.

Fettsyresammensetning i maiskorn

Fettsyresammensetningen for 59122 er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Det ble analysert for 22 fettsyrer. Målingene utført på 59122 viser statistiske forskjeller over flere forsøksfelter for palmitin, stearin, linolje og linolen. Statistiske analyser innen steder viser imidlertid bare signifikante forskjeller mellom 59122 og umodifisert maislinje for enkelte av forsøksfeltene. Forskjellene som er påviste er mindre enn 10 %, og verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Aminosyrer i maiskorn

Analyser av aminosyrer er gjort i henhold til OECDs konsensusdokument. Det er funnet statistiske forskjeller for aminosyrene arginin, histidin, isoleucin, leucin, fenylalanin, prolin, tryptofan, tyrosin og valin. Disse forskjellene er ikke konsistente for alle forsøksfeltene. Verdiene ligger innenfor 10 %, og for alle aminosyrene ligger verdiene innenfor de typiske verdiene som er rapportert i litteraturen.

Vitaminer

I henhold til OECDs konsensusdokument for mais bør følgende vitaminer undersøkes: A, B1, B2, B6, E, folat og niacin. Følgende vitaminer er ikke målt: Vit. B6 og niacin. Resultatene for vit. B1 viser for usprøytet 59122 store statistiske forskjeller (ca. 60 %) i forhold til sprøytet og kontroll fra feltforsøkene i USA og Canada. Det er ikke påvist statistiske forskjeller for vitamin B1 mellom usprøytet 59122 og kontroll for de to vekstsesongene i Chile. For de andre vitaminene er det påvist statistiske forskjeller innenfor enkelte forsøksfelte, men disse forskjellene er ikke konsistente for alle forsøksfeltene. Disse forskjellene ligger innfor 20 % over forsøksfeltene.

Mineraler

Med unntak for selen er mineralene som er målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Mais er en viktig selenkilde i dyrefôr (Watson 1987). Feltforsøk viser statistiske forskjeller for jern, kalsium, kobber, mangan og sink. Forskjellene er imidlertid små og ligger innenfor 10 %, og ligger også innenfor for typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Sekundære metabolitter og antiernæringsstoffer

Det er ikke funnet statistiske forskjeller for sekundære metabolitter og antiernæringskomponenter. Det er ikke målt for toksinene DIMBOA og MBOA.

3.3. Agronomiske egenskaper

Søker opplyser om at det er foretatt registreringer av en rekke agronomiske og morfologiske karakterer knyttet til reproduksjon, spredning, vegetativ vekst, sjukdoms- og insektsresistens, samt toleranse mot ulike abiotiske stressfaktorer (tørke, vind, næringsmangel etc.). Fra de europeiske forsøkene presenterer Pioneer Hi-Bred Int./Mycogen Seeds resultater fra statistiske analyser innen steder og kombinerte analyser over steder for hver karakter. For feltforsøkene i Chile og USA/Canada er det kun vist gjennomsnittsverdier for de enkelte karakterene. Resultatene fra statistiske analyser over steder viser signifikante forskjeller på 5 % nivå mellom 59122 og den ikke transgene kontrollinjen for spireprosent, plantehøyde og kolbestørrelse i de europeiske forsøkene i 2004. Ingen av de påviste forskjellene var konsistente over steder og år. For de øvrige fenotypiske egenskapene ble det ikke funnet signifikante forskjeller.

3.4. Delkonklusjon

Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametere. Verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anser at de forskjellene som er påvist, ikke har noen ernæringsmessig betydning. Feltforsøk i Europa, samt Chile, USA og Canada viste ikke indikasjoner på uventede endringer i fenotypiske egenskaper.

4. Dokumentasjon av toksisitet og allergisitet

4.1. Toksisitet

Søknaden inneholder dokumentasjon på fôringsforsøk med renfremstilt PAT, Cry34Ab1 og Cry35Ab1. Fôringsforsøket med PAT er utført av Dow AgroSciences.

Akuttforsøk

Det er utført akuttstudie på mus med PAT-, Cry34Ab1- og Cry35Ab1-protein. Studiene er utført i henhold til EUs (EEC 1999), EPA-FIFRA (EPA-FIFRA 1989), Japan MAFF (Japan MAFF) og OECDs (OECD 1987) retningslinjer for "Good Laboratory Practice" (GLP). De tre proteinene er

fremstilt fra bakterier. Proteinene Cry34Ab1 (dose = 2700 mg/kg kroppsvekt) og Cry35Ab1 (dose = 1850 mg/kg kroppsvekt) er føret enten hver for seg eller i blanding. I blanding er mengde Cry34Ab1 482 mg/kg kroppsvekt og Cry35Ab1 1520 mg/kg kroppsvekt. PAT- dosen i forsøket er 5000 mg/kg kroppsvekt. Det er benyttet 5 mus i hver av studiene med Cry-proteinene, mens med Cry-proteinene i blanding er det benyttet 5 hann- og 5 hunnmus. Etter 14 dager er det ikke vist tegn på toksisk påvirkning i noen av forsøkene. Dyrene ble avlivet og det er ikke påvist organskader ved grov patologisk undersøkelse. Faggruppen finner disse studiene tilfredsstillende. Generelt, med unntak for allergene proteiner, er storparten av proteiner ikke akuttoksiske.

Fôringsforsøk på rotter

Det ble utført et 13 ukers fôringsforsøk med rotter, 10 grupper à 12 rotter. Gruppene bestod av 5 grupper av hunn- og 5 grupper hannrotter. Studien er gjort i henhold til GLP og US EPAs (US EPA 1998) og OECDs (OECD 1998) retningslinjer for sub-kroniske toksisitetstudier. Føret bestod av 35 % (vekt/vekt) maiskorn fra 59122, foreldrelinje (linje 091) og tre kommersielle maissorter. Det er utført analyser av en rekke organer, bl.a. mikroskopiske undersøkelser av vev fra organene. Det ble ikke påvist noen testrelaterte endringer i de undersøkte parametrene for organene. Det er funnet små, men statistiske signifikante, forskjeller i blodverdier for dyrene som var føret med 59122 sammenlignet med de rottene som var føret med foreldrelinjen For hannrotter gjaldt forskjellene hemoglobin-verdier, antall reticulocytter, diameter på erythrocytter og vekt av binyrene. For hunnrotter gjaldt forskjellene antall trombocytter og vekt av uterus. Ingen av forskjellene gikk igjen for begge kjønnene. Det ble heller ikke observert forskjeller med hensyn til relaterte parametre; for eksempel fant man ingen forskjell når det gjaldt koaguleringssevne for hunnrottene. Hvis man sammenlignet rottene føret med mais 59122 og rotter føret med de tre kommersielle maissortene kunne man ikke se de samme statistiske forskjellene. Tatt i betraktning de relativt små forskjellene som ble observert, og hvilke forandringer dette dreide seg om, så er det liten grunn til å tro at forskjellene skulle være relevante mht immunologiske forandringer. Søker kommenterer dette på en grei måte hvor det ble dratt den slutning at ingen av observasjonene er biologisk signifikant. Flertallet i faggruppen vurderer at det på bakgrunn av disse forsøkene ikke er grunn til å anta at den genmodifiserte maisen er forskjellig med hensyn på helse enn umodifisert mais.

Fôringsforsøk på broiler

Søknaden inneholder dokumentasjon fra et 42-dagers fôringsforsøk med broilere. Fôringsforsøket er ikke utført i henhold til GLP (FIFRA (EPA-FIFRA 1989; OECD 1998). Sekshundre dyr, fordelt på fem grupper à 120 dyr, 12 bur à 5 hunn + 5 hann, ble føret med henholdsvis mais fra 59122, foreldrelinje (linje 091) og tre kommersielle maissorter. Gjennomsnittlig mengde Cry34Ab1 og Cry35Ab1-protein i føret ble målt til henholdsvis 31,3 µg/g korn og 1,6 µg/g korn. Gjennomsnittlig inntak av Cry34Ab1 og Cry35Ab1 avhenger av fôringsfasene. Resultatene fra startfasen (0-21 dager) viser henholdsvis 13,0 – og 0,69 µg/g fôr, midtfasen (22-35 dager) henholdsvis 12,4 – og 0,76 µg/g fôr og for slutfasen henholdsvis 18,3 – og 1,0 µg/g fôr. I henhold til søker er det ikke påvist testrelaterte statistiske endringer i de parametrene som ble målt. Faggruppen konkluderer med at det på bakgrunn av disse forsøkene er ingen grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen er forskjellig fra umodifisert mais.

4.2. Allergenitet

PAT-proteinet

Aminosyresekvensen til de fleste viktige allergener, deriblant matallergener, er kjent. De viktige IgE-bindingsepitopene, dvs. aminosyresekvenser på 5-7 aminosyrer der IgE binder seg, er kartlagt for mange allergener. Det er utført *in silico* søk for aminosyresekvenshomologi for PAT-proteinet til aminosyresekvenser i databaser som inneholder aminosyresekvenser til kjente allergener og toksiner. Analysene er gjort i henhold til FAO/WHO sine retningslinjer (FAO/WHO 2001). Kriterier som er benyttet er oppdeling i overlappende blokker på 8 aminosyrer. Det ble ikke funnet sekvenshomologi til epitoper til kjente allergener. Det er også foretatt undersøkelser for potensielle O- og N-glykosyleringssteder siden disse ofte finnes i allergener. Det ble ikke funnet potensielle glykosyleringssteder i PAT-proteinet.

Bt-proteiner

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

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 ukjent om Cry1Ac-proteinet som er benyttet i disse studiene, tilsvarende Cry34Ab1 og Cry35Ab1-toksinene som den transgene maislinjen lager. Det er vist at domene II fra Cry1Ab og Cry1Ac genererer ulik immunologisk respons i kanin (Vazquez-Padron *et al.* 1998). I en annen studie er det vist at Cry1Ac hadde utpreget mucosal adjuvanseffekt ved å potensere IgM-, IgG- og IgA-responsen mot hepatittvirusantigen og bovint serumalbumin som ble gitt med sondeføring samtidig med Cry1Ac (Vazquez *et al.* 1999). Produksjonen av IgE-antistoff, som er knyttet til allergisk reaksjon, ble ikke målt. Også i tidligere studier (Prasad & Shetna 1975) er det påvist adjuvanseffekt av krystallprotein fra *Bacillus thuringiensis*. Adjuvanseffekten av Cry1Ac er bekreftet i to senere publikasjoner med henholdsvis pneumokokk-antigen (Moreno-Fierros *et al.* 2003) og amøbe-lysate (Rojas-Hernández *et al.* 2004). Adjuvanseffekten av Cry1Ac ble funnet å være like sterk som adjuvanseffekten av koleratoksin (Vazquez-Padron *et al.* 1999), som er et mye brukt slimhinneadjuvans i eksperimentelle studier av vaksinasjon og av allergi, og som regnes for å være det sterkeste slimhinneadjuvans vi kjenner. (Se FG3s innspill til EFSA-nett, Vedlegg 1, og EFSA's GMO Panel sitt svar, Vedlegg 2).

Det gjennomsnittlige forbruket av mais i Europa er i følge søker 8,8 g/person/dag, mens for eksempel i Afrika er forbruket 106,2 g/person/dag (GEMS/FOOD 2003). Spesielle målgrupper, som barn, kan ha et langt større inntak av mais enn det beregnede gjennomsnittlige inntaket i Europa. I Frankrike er det rapporterte inntaket for store porsjoner, 97,5 persentil, for barn under 6 år 8,3 g/kg kroppsvekt/dag og for voksne 4,17 g/kg kroppsvekt/dag (FAO/WHO 2003). I henhold til Pioneer Hi-Bred er mengde Cry34Ab1 og Cry35Ab1 i maiskorn henholdsvis 41,9 µg/g - og 1,66 µg/g tørrvekt korn. Teoretiske beregninger fra faggruppen viser at dersom alt maisinntak i Europa kommer fra 59122 vil dette medføre et inntak for voksne på 380 µg Cry-protein/person/dag. Teoretiske beregninger fra faggruppen viser at for barn som spiser store porsjoner blir inntaket 350 µg Cry-protein/kg kroppsvekt/dag og for voksne 180 µg/kg kroppsvekt/dag. De totale mengdene for henholdsvis barn og voksne blir da 6200 µg/barn/dag og 10800 µg/person/dag (Se Fg3s innspill til EFSA-nett, Vedlegg 1, og EFSA's GMO Panel sitt svar, Vedlegg 2). De mengder Cry1Ac som ga mucosal adjuvanseffekt ved sondeføring av mus var fra 0,1 µg til 100 µg (Vazquez *et al.* 1999). De adjuvansdoser som brukes for immunisering av mus og mennesker i andre sammenhenger er ofte av samme størrelsesorden, det vil si om lag samme dose brukes til mus og menneske. Det er mulig at Cry34Ab1 og Cry35Ab1 som benyttes i 59122 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 Cry34Ab1 og Cry35Ab1 har tilsvarende adjuvanseffekt som det beslektede Cry1Ac-proteinet er rapportert å ha, vil dette teoretisk kunne føre til økt utvikling av allergi mot matvarer spist sammen med maisen, foruten mot maisen selv. Matallergi mot mais er lite vanlig i Norge, men er et problem i noen områder, bl.a. Nord-Italia. Man ville vente at adjuvanseffekten kom til syne først og fremst som økt forekomst av allergi mot de matvarene der matallergi fra før er vanligst. IgE ble ikke målt i de refererte studiene av adjuvanseffekt av Cry1Ac-proteinet.

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

4.3. Delkonklusjon

Faggruppen finner det ut fra tilgjengelige data vanskelig å vurdere om korn fra 59122 er mer allergifremkallende enn umodifiserte maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner imidlertid faggruppen at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos 59122 med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Etter faggruppens mening kan det ikke utelukkes at slike effekter kan oppstå ved inntak av maisprodukter som inneholder aktivt Cry34Ab1- og Cry35Ab1-protein, dvs om Cry34Ab1- og Cry35Ab1-proteinene kan føre til økt allergiutvikling mot andre komponenter i mat som spises samtidig. Adjuvanseffekter er tidligere ikke trukket inn i risikovurdering av mat, men på bakgrunn av det økte fokus på matallergi er denne problemstillingen aktualisert.

5. Miljørisikovurdering

Maislinjen 59122 uttrykker en ny type *Bt*-toksin, som er resultat av introduksjon av de to genene *cry34Ab1* og *cry35Ab1* fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis*, stamme PS149B1. Proteinene virker sammen som et binært toksin og gir plantene resistens mot angrep fra arter i slekten *Diabrotica* som *D. virgifera virgifera* ('Western Corn Rootworm'), *D. barberi* ('Northern Corn Rootworm') og *D. undecimpunctata howardi* ('Southern Corn Rootworm'). Cry34Ab1-proteinene er den aktive komponenten, men for å oppnå maksimal beskyttelse er det nødvendig med tilstedeværelse av begge proteinene. En antar at Cry34Ab1 bindes til spesifikke reseptorer på overflaten/membranen til insektets tarmceller, mens Cry35Ab1 virker ved å danne porer i cellemembranene. Genkonstruksjonen består også av et *pat*-gen fra *Streptomyces viridochromogenes*. Genet koder for enzymet fosfinotricin acetyltransferase (PAT), som acetylerer og inaktiverer glufosinat-ammonium, virkestoffet i fosfinotricin-herbicerer av typen Finale

Pioneer Hi-Bred/Mycogen Seeds' søknad om godkjenning av hybridlinjen 59122 under forordning 1829/2003/EF omfatter bruksområdene næringsmidler, fôrvarer, import og prosessering. Søknaden gjelder ikke dyrking. Miljørisikovurderingen 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.

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, har ingen frøkvile og 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 og 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 sjukdom 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 det ikke grunn til å anta at den introduserte egenskapen hos 59122 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 forutsetter sekvenshomologi mellom overført DNA og bakterien (EFSA 2004; VKM 2005 b).

Ut fra dagens vitenskapelig innsikt mht barrierer for genoverføring mellom ubeslektede arter og flere års forskning for om mulig å framprovosere tilfeldig overføring av genetisk materiale fra planter til mikroorganismer, dyr eller mennesker gjennom inntak eller eksponering, er det ingenting som tyder på at transgenene i 59122 skal kunne overføres til andre enn naturens kryssingspartnere dvs. annen dyrket mais i Europa. Det er blant annet 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 og Wackernagel (2002) har undersøkt persistens av DNA og opptak av GM DNA i jord. I disse laboratorieforsøkene ble det detektert svært små mengder DNA som var overført fra planter til bakterier. Forutsetningen for at dette kunne skje var sekvenshomologi mellom plantetransgenet og mottagerbakterien.

Med bakgrunn i opprinnelse og karakter/egenskaper av de innsatte genene og mangel på seleksjonspress i fordøyelseskanal og/eller miljøet, er sannsynligheten for at horisontal genoverføring vil gi selektive fordeler eller økt fitness på mikroorganismer svært liten (Nielsen 2003). Det er derfor usannsynlig at gener fra 59122 vil etableres stabilt i genomet til mikroorganismer i miljøet eller i fordøyelseskanalen hos mennesker eller dyr. Ut fra tilgjengelig kunnskap er det ikke grunn til å forvente at det vil skje horisontal genoverføring av DNA-materiale fra 59122.

5.2.2. Vertikal genoverføring

Potensialet for krysspollinering mellom 59122 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.

Herbicidtoleranse og insektresistens vil ikke representere noen selektiv fordel 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 59122 er transformert med genene *cry34Ab1* og *cry35Ab1* fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis*. Proteinene virker sammen som et binært toksin, og 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'). Målorganismene for denne transformasjonen er ikke påvist i Norge (<http://www.faunaeur.org/distribution.php>).

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.

5.4. Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer

Sporadiske spillplanter av 59122 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 føret med genmodifisert mais vil mesteparten av Cry- og PAT-proteinene denatureres av enzymaktivitet (proteaser) i fordøyelseskanalen, og mikrobielle prosesser vil føre til en ytterligere nedbryting av proteinet i gjødsla. Dette medfører at svært lite Cry- og PAT-proteiner blir spredt med husdyrgjødsel på dyrket mark, som igjen minimerer faren for eksponering av potensielt sensitive ikke-målorganismer. Spredning av Cry-toksinet og PAT-proteiner 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 59122 vil eksponeringsnivået av Cry-proteinet være svært lavt, og ikke medføre signifikante effekter på abiotisk miljø og biokjemiske prosesser.

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 17

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 EFSA/GMO/NL/2005/12 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 denne eventen.

Tatt i betraktning tiltenkt bruksområde for 59122 anser Faggruppe for genmodifiserte organismer at det ikke er behov for å iverksette særskilt program for overvåking av maishybriden.

5.7. Delkonklusjon

Søknaden gjelder godkjenning av maislinjen 59122 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer, 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 fôret 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 59122 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer eller på abiotisk miljø i Norge.

6. Vurdering av søkers dokumentasjon

Adjuvans er ikke en del av internasjonale retningslinjer for risikovurdering av mattrygghet. Forskningsfeltet på adjuvans i mat er generelt lite eller ubetydelig. Adjuvanseffekt er tidligere ikke trukket inn i risikovurdering av mat, men på bakgrunn av det økte fokus på matallergi som problem og den påviste sterke adjuvanseffekten av Cry1Ac på antistoffproduksjon i dyremodeller, mener Faggruppe for genmodifiserte organismer at det ikke kan utelukkes at påviste adjuvanseffekter av Cry1Ac kan oppstå ved inntak av maisprodukter som inneholder aktivt Cry34Ab1- og Cry35Ab1-protein, altså at Cry34Ab1- og Cry35Ab1-proteinene kan føre til økt allergiutvikling mot andre komponenter i mat som spises samtidig.

KONKLUSJON

Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametere, men verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppe for genmodifiserte organismer anser det for lite trolig at disse forskjellene har noen helsemessig konsekvens, og konkluderer med at det ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen 59122 er forskjellig fra umodifisert mais.

Flere studier viser at proteinene Cry34Ab1, Cry35Ab1 og PAT ikke er akutt toksiske. Pioneer HiBred/Mycogen Seeds har utført sub-kroniske studier på rotter og kyllinger med 59122. Faggruppen konkluderer med at det er lite sannsynlig at eksponering for Cry34Ab1-, Cry35Ab1- og PAT - proteiner i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais, er helsemessig betenkelig, vurdert etter tradisjonelle kriterier.

På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, som viser at Cry-proteiner kan hemme den toleransen som fordøyelsessystemets slimhinner har mot proteiner (adjuvanseffekt), finner faggruppen at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos 59122, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes.

Faggruppen finner imidlertid at mat- og fôr produkter fra denne maisen som ikke inneholder Cry-proteiner, ikke medfører endret risiko for helse i forhold til annen mais.

Søknaden gjelder godkjenning av maislinjen 59122 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor ikke vurdert mulige 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 foreskrevne bruk av 59122 antas det ikke å være risiko for negative effekter på målorganismer, ikke-målorganismer eller på abiotisk miljø i Norge.

Samlet vurdering

Dersom en ser bort fra adjuvansproblematikken, mener flertallet av medlemmene i Faggruppe for genmodifiserte organismer at det er lite trolig at bruk av maislinjen 59122 vil medføre endret risiko for helse og miljø i forhold til annen mais. Faggruppen finner imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos 59122 ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. FG3 kan derfor ikke vurdere helserisiko av adjuvans. En samlet faggruppe påpeker kunnskapshull knyttet til adjuvans generelt og om Cry-proteinene i 59122 kan virke som adjuvant.

Dissens:

Ett av medlemmene, Anne Ingeborg Myhr, påpeker at det er kunnskapshull i dokumentasjonen som er vedlagt. Dette gjelder spesielt komponenter som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler analysert for mais ikke er utført. Videre viste 13 ukers fôringsforsøk med hann- og hunnrotter (5 grupper à 12 rotter/kjønn) små statistiske forskjeller i blodverdier for dyrene som er føret med 59122 sammenlignet med de rottene som er føret med de fire umodifiserte maissortene. Forskjellene ble funnet mht: antall reticulocytter, corpuscular hemoglobin, diameter på erytrocytter og antall trombocytter. Søker skriver videre at de observerte forskjellen ble kun funnet i hannrotter og at forskjellene er små. Myhr er enig at forskjellen er små og at det kan være andre årsaker enn føret siden funne ble kun gjort hos hannrotter. Disse forandringer i blodverdier er relevant og burde ha vært undersøkt nærmere med hensyn på biologiske forandringer og toksisitet. Dette gjør at Myhr ikke er enig i faggruppens konklusjon, men ønsker i stedet her å vise til føre-var prinsippet.

REFERANSER

- Agbios (2008). Agbios GM Database. Information on GM Approved Products.
<http://www.agbios.com/dbase.php>
- Codex (2003). Report of the third session of the Codex ad hoc intergovernmental task force on foods derived from biotechnology Codex Alimentarius Commission Alinorm 03/34: Joint FAO/WHO Food Standard Programme, Codex Alimentarius Commission, Twenty-Fifth Session, Rome, Italy, June 30 – July 5, 2003. Appendix III, Guideline for the conduct of food safety assessment of foods derived from recombinant- DNA plants, and Appendix IV, Annex of the assessment of possible allergenicity, pp 47-60.
- 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.
- EFSA (2004). 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
- EFSA (2006). *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
- EFSA (2007). Opinion of the Scientific Panel on genetically modified organisms [GMO] on an application (Reference EFSA-GMO-NL-2005-12) for the placing on the market of insect-resistant genetically modified maize 59122, for food and feed uses, import and processing under Regulation (EC) No 1829/2003, from Pioneer Hi-Bred International, Inc. and Mycogen Seeds, c/o Dow Agrosiences LLC. *The EFSA Journal*, **470**, 1-25.
- 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.
- 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>
- 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
- Hallauer, A.R. (2000). Potential for outcrossing and weediness of genetically modified insect protected corn. APHIS-USDA.
- Japan MAFF. Japan Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Good laboratory Practice Standards for Toxicological Studies on Agricultural Chemicals.
- 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, 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. (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.
- 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 (1998)
- OECD (2002). Consensus Document on Compositional Consideration for New Varieties of Maize (*Zea Mays*): Key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Secondary Plant Metabolites, No. 6, Series on Safety of Novel Foods and Feeds.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- US EPA (1998) U.S. EPA Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.3100, 90-Day Oral Toxicity in Rodents (1998)
- 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 *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.
- VKM (2005a) *Risikovurdering av genmodifisert maislinje 59122 (EFSA/GMO/UK/2004/01). Uttalelse fra Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet.* 05/324-endelig. 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.

VEDLEGG

*Vedlegg 1.
FG3 innspill til EFSA-net.*

http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/gmo_ov_op12_annexg_en,3.pdf

Innspill til EFSA-net 2/12-05

HI-BREDS/MYCOGEN SEEDS MAIS 59122 EFSA-GMO-NL-2005-12

COMMENTS OR OBJECTIONS TO THE PLACING ON THE MARKET OF A GMO UNDER REGULATION 1829/2003

7.7 Anticipated intake/extant of use

The GMO Panel of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety does not share the applicant view on average maize consumption data, and the calculation of theoretical maximum daily intake for Cry34Ab1 and Cry35Ab1. According to GEMS/Food data (2003) large portion values for individuals identified as 97.5 percentile consumers of the commodity among eaters only, the consumption of both the general population and children are much larger than the applicant calculated daily intake of maize. The applicant must make a worst case calculated dietary intake based on these consumption data of GEMS/Food.

7.9 Allergenicity

7.9.2 Assessment of allergenicity of the whole GM plant or crop

Scientific studies, also very recent ones, have shown that the Cry1Ac protein is a potent systemic and mucosal adjuvant, which is an enhancer of immune responses. The GMO Panel of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety find it difficult, based on the available data, to assess whether kernels from maize 59122 may cause more allergenic reactions than food and feed from unmodified kernels. As the different Cry proteins are closely related, and in view of the experimental studies in mice, the GMO Panel finds that the likelihood of an increase in allergenic activity due to Cry34Ab1 and Cry35Ab1 proteins in food and feed from maize 59122 cannot be excluded. Thus, the Panel's view is that as the adjuvant effect of Cry34Ab1 and Cry35Ab1 with reasonable certainty cannot be excluded, the applicant in relation to a possible adjuvant effect of Cry34Ab1 and Cry35Ab1 must comment upon the mouse studies showing humoral antibody response of Cry1A proteins. Further, although the Cry34Ab1 and Cry35Ab1 protein is rapidly degraded in gastric fluid after oral uptake, there is also the possibility that the protein can enter the respiratory tract after exposure to e.g. mill dust. Finally, rapid degradation is no absolute guarantee against allergenicity or adjuvanticity.

References

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Vedlegg 2. Svar fra EFSA's GMO Panel om adjuvans

http://www.efsa.europa.eu/EFSA/Scientific_Opinion/gmo_ov_op12_annexa_en.3.pdf

7.7.

See section 4.2.1 of the opinion:

A dietary exposure assessment assuming that 100% of consumed maize is derived from maize 59122 was carried out. Based on an average maize consumption for the European population of 8.8 g/person/day (Food Balance Sheet compiled by FAO), the applicant calculated a theoretical daily intake for adult European consumers of 60 kg bodyweight. This would correspond to 0.0062 mg/kg bw/day and 0.00024 mg/kg bw/day for the CRY34Ab1 and CRY35Ab1 proteins respectively. It refers to the mean CRY34Ab1 and CRY35Ab1 expression levels in maize 59122 grains presented above. With regards to PAT protein which is expressed at a very low level, the daily intake would be negligible.

See also section 4.2.3.2.d of the opinion, where the worst case scenario is addressed:

The high-dose level selected for this study was based on a 1000-fold margin of exposure over a worst case scenario for human consumption of the CRY34Ab1 and CRY35Ab1 proteins expressed in maize 59122 grains. The average expression of the CRY34Ab1 and CRY35Ab1 proteins in maize 59122 kernels was ca. 41.9 µg/g tissue dry weight for the CRY34Ab1 protein and 1.66 µg/g tissue dry weight for the CRY35Ab1 protein. Assuming that 100% of consumed maize (i.e. highest global level of consumption estimated at 4.7 g maize/kg bw/day by the applicant who refers to WHO GEMS Cluster Diet Data) is derived from maize 59122 and that there is no degradation of the CRY34Ab1 and CRY35Ab1 proteins by food and feed processing, worst case daily human exposure to the CRY34Ab1 and CRY35Ab1 proteins would be 0.197 and 0.0078 mg/kg bw/day, respectively. The doses administered in the 28 day study correspond to 10, 100 and 1 000 times this anticipated maximum exposure of humans in the low dose, intermediate dose and high dose group, respectively.

7.9.2

The panel already delivered an opinion on the immunogenicity and adjuvanticity of cry proteins and concluded that the publications quoted by the Norway Competent Authority did not raise concerns on any allergenic potential of those proteins; With regards to the allergenicity of the whole plant, Maize is not considered a major allergenic food. Therefore a possible over expression of any endogenous protein, which is not a common allergen, in maize 59122 due to unintended effect of the genetic modification would be unlikely to alter the allergenicity of the whole plant.