



**Helse- og miljørisikovurdering av
genmodifisert mais MON 863 fra Monsanto Company
(C/DE/02/9)**

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

28.11.08

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, Rose Vikse

Koordinatorer fra sekretariatet:

Arne Mikalsen og Merethe Aasmo Finne

SAMMENDRAG

Helse- og miljøvurderingen av den genmodifiserte insektsresistente maislinjen MON 863 fra Monsanto Company (C/DE/02/92) er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer i Vitenskapskomiteen for mattrygghet. I forbindelse med slutføring av saksbehandling av søknad om godkjenning maislinjen til bruk som annen mais i Norge, er Vitenskapskomiteen for mattrygghet bedt av Direktoratet for naturforvaltning (DN) å foreta en vitenskapelig risikovurdering av MON 863 med hensyn på eventuelle effekter på miljø. Publisering av ny, oppdatert informasjon gjør at faggruppen også har valgt å inkludere helseaspekter knyttet til maislinjen i vurderingen. MON 863 ble, etter oppdrag fra DN og Mattilsynet, vurdert av Faggruppe for genmodifiserte organismer i 2006.

MON 863 er godkjent i EU til import, videreforedling og fôr under direktiv 2001/18/EF, og til bruk som næringsmiddel under forordning 258/97/EF. 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. MON 863 er vurdert i henhold til tiltenkt bruk i EU/EØS-området og faggruppen har derfor ikke vurdert mulige helse- og miljøeffekter knyttet til dyrking av maislinjen. 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-forordningene 258/97/EF og 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 er vurdert av VKM. Videre er prinsippene i EFSA's 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 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.

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 *nptII*, som uttrykker resistens mot aminoglykosider som kanamycin og neomycin.

Komparative analyser

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

Det er funnet statistisk signifikante forskjeller for enkelte komponenter, men disse forskjellene er ikke konsistente over forsøksfelt. Verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger imidlertid innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Faggruppen vektlegger at hoveddelen av maisforbruket i Norge er som dyrefôr, og at mais til human 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 et eventuelt avvikende vitaminnivå i MON863 har liten ernæringsmessig betydning i Norge.

Undersøkelsene av agronomiske karakterer viser små eller ingen signifikante forskjeller mellom testlinjer og kontroll.

Toksisitet

Flere studier viser at proteinene Cry3Bb1 og NPTII ikke er akutt toksiske. Søker har utført et 90 dagers foringsforsøk med MON 863 på rotter, og konkluderer med at det ikke ble påvist helseeffekter på forsøksdyrene. Dataene fra denne studien 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.

Allergenitet

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 det uttrykte toksinet Cry3Bb1 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 har egenskaper som fører til hemming av den toleransen som fordøyelsessystemets slimhinner har mot proteiner (adjuvanseffekt). På bakgrunn av at Cry3Bb1-proteinet 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 til å være neglisjerbar.

Et mindretall av faggruppen (A.H. Nerland, T. Bøhn, A.I. Myhr, C. Linnestad, H. Klungland) finner det vanskelig å vurdere om næringsmidler og fôrvarer fra maislinjen MON 863 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 ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes.

En samlet faggruppe finner at mat- og fôrprodukter fra MON 863, 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 2005). 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 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

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 foreskrevet bruk av maislinjen MON 863 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 MON863 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 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 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, 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 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 bruk av maislinjen MON 863 vil medføre endret risiko for miljø for øvrig i forhold til annen mais.

NØKKELORD

Mais, *Zea mays* L., genmodifisert linje MON 863, C/DE/02/9, insektsresistens, Cry3Bb1, NPTII, helsemessig trygghet, helse, miljørisiko, direktiv 2001/18/EF, forordning 258/97/EF

INNHOLDSFORTEGNELSE

BIDRAGSYTERE	2
Vurdert av	2
SAMMENDRAG	3
INNHOLDSFORTEGNELSE	6
BAKGRUNN	8
OPPDRAK FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING	8
RISIKOVURDERING	10
1. Innledning	10
1.1. Beskrivelse av egenskaper(er) og virkningsmekanismer	10
2. Molekylær karakterisering	10
2.1. Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon	10
2.2. Karakterisering av geninnsettingen og det rekombinante DNA-fragmentet	11
2.3. Informasjon vedr. uttrykk av introduserte gener, åpne leserammer (ORF)	11
2.4. Nedarving og stabilitet av innsatt DNA	12
2.5. Delkonklusjon	12
3. Komparative analyser	13
3.2. Analyser av ernæringsmessige komponenter	13
3.3. Agonomiske egenskaper	14
3.4. Delkonklusjon	15
4. Dokumentasjon av toksisitet og allergenisitet	15
4.1. Toksisitet	15
4.2. Allergenisitet	16
5. Miljøriskovurdering	19
5.1. Potensiale for utilsiktede effekter på fitness relatert til genmodifiseringen	19
5.2. Potensiale for genoverføring	19
5.3. Potensiale for samspill mellom GMP og målorganismer	20
5.4. Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer	21
5.5. Potensiale for samspill med abiotisk miljø og eventuelle effekter på biogeokjemiske prosesser	21
5.6. Overvåking	21
5.7. Delkonklusjon	22
6. Vurdering av søkers dokumentasjon	22
KONKLUSJON	23
	6

REFERANSER	26
VEDLEGG	30

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 fra Monsanto Company (C/DE/02/09). I EU/EØS-området er MON 863 godkjent for import, videreforedling, og fôr under del C av direktiv 2001/18/EF, og til bruk som næringsmiddel og næringsmiddelingsredienser under Novel Foodsforordningen (EF) Nr. 258/97.

Søknad om markedsføring av den genmodifiserte maislinjen under direktiv 2001/18/EF ble fremmet og anbefalt av tyske myndigheter i februar 2003. Etter en 60-dagers høringsperiode til EU/EØS-landene, leverte EUs vitenskapskomité (EFSA) sin uttalelse i april 2004 (EFSA 2004a). Endelig godkjenning av søknaden ble gitt 8. august 2005 (Kommisjonsbeslutning 2005/608/EC). Søknaden om godkjenning av MON 863 som næringsmiddel og næringsmiddelingsrediens under forordning 258/97/EF ble vurdert av EFSA i 2003-2004 (EFSA 2004b), og endelig godkjenning av søknaden ble gitt 13. januar 2006 (Kommisjonsbeslutning 2006/68/EC).

Maislinjen er videre notifisert som eksisterende produkt under forordning 1829/2003/EF, artikkel 8 og 20. Godkjenningen av MON 863 gikk ut i april 2007, og Monsanto har søkt om fornyet godkjenning fram til 2017. Dossieret til søknaden (EFSA-GMO-RX-MON 863), som omfatter prosesserte næringsmidler og fôrvarer, ble publisert på EFSAnet 5. juni 2008. I Norge ble MON 863 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)

Utenfor EU/EØS-området er MON 863 godkjent for alle bruksområder (inkludert dyrking) i USA og Canada (Agbios 2008). I tillegg er maislinjen godkjent for omsetning som mat og/eller fôr i Australia, Kina, Japan, Korea, Mexico, Filippinene og Taiwan.

OPPDRAK FRA DIREKTORATET FOR NATURFORVALTING

I forbindelse med slutføring av saksbehandling av søknad C/DE/02/9, genmodifisert maislinje MON 863 fra Monsanto Company, har Direktoratet for naturforvaltning i brev datert 28.5.2008 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. MON 863 ble etter oppdrag fra DN og Mattilsynet vurdert av Faggruppe for genmodifiserte organismer i 2006. Publisering av ny, oppdatert informasjon gjør at faggruppen har valgt å inkludere helseaspekter knyttet til maislinjen i vurderingen

Faggruppe for GMO skal vurdere søknaden om markedsføring av maislinjen til import, prosessering og fôr under direktiv 2001/18/EF og næringsmidler under forordning 258/97/EF. 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 fra Monsanto Company

Unik kode: MON-ØØ863-5

Notifikasjonsnummer i EU: C/DE/02/9

Status i EU: Godkjent for markedsføring under direktiv 2001/18/EF i 2005 og under Novel Foods-forordningen Nr. 258/97/EF 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. Søknaden er lagt ut på EFSA-net med frist 5. september for innspill og kommentarer fra medlemslandene.

RISIKOVURDERING

1. Innledning

Risikovurderingen av maislinjen MON 863 er i hovedsak basert på dokumentasjon som er tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA-net, samt uavhengige vitenskapelige publikasjoner med referee. 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 258/97/EF og direktiv 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 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.

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

1.1. Beskrivelse av egenskaper(er) og virkningsmekanismer

MON 863 er produsert ved biolistisk transformasjon (partikkelakselerasjon) av kallusvev fra den innavlete 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 δ -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.

2. Molekylær karakterisering

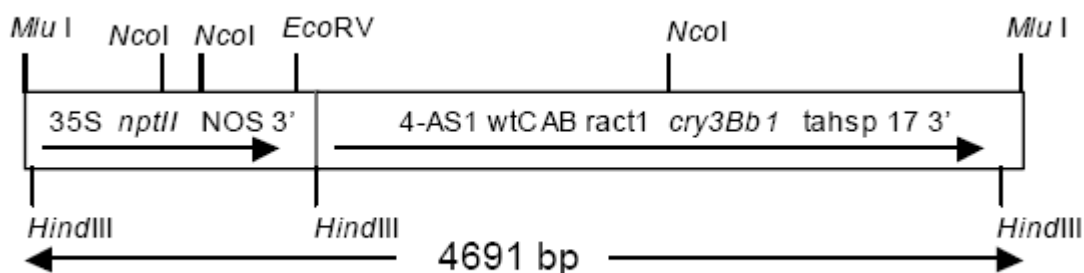
2.1. Transformasjonssystem og vektorkonstruksjon

MON833 inneholder et rekombinant DNA-fragment på 4691 basepar fra PV-ZMIR13-plasmidet som inneholder to ekspresjonskassetter. Den ene inneholder ett *cry3Bb1*-gen med regulatoriske områder og den andre ett *nptII* gen med regulatoriske områder.

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-protein,
- *tahsp17* 3'-polyadeninsekvens fra hvete *hsp17.3* gen som avslutter ekspresjonen.



Figur 1.

2.2. Karakterisering av geninnsettingen og det rekombinante DNA-fragmentet

Det er foretatt en rekke undersøkelser av hvor mange kopier av ekspresjonskassetten, antall insersjonssteder i genomet, sekvensering av DNA oppstrøms og nedstrøms for innsettingsstedet (5'- og 3'-flankesekvenser), 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.

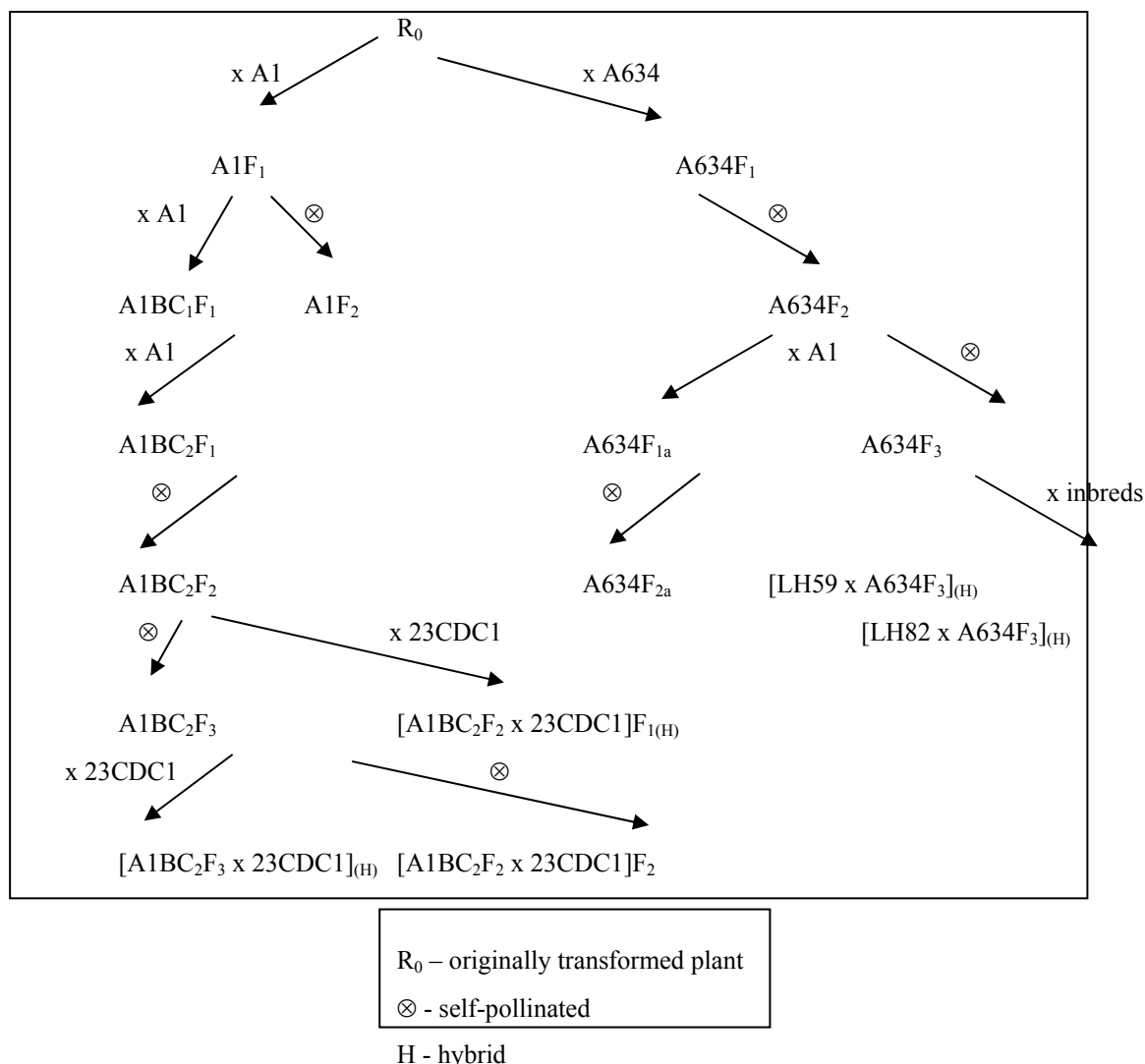
Det konkluderes med at det er kun én kopi av ekspresjonskassetten i MON 863. Sammenlignende DNA analyser mellom MON 863 og foreldrelinjen viser at bruttostørrelsen på det innsatte DNA-fragmentet er intakt. Det kan derfor ikke forventes endringer i ekspresjonen fra dette elementet.

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

Søker opplyser om at nivået av uttrykk av Cry3Bb1-protein ble 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.

2.4. Nedarving og stabilitet av innsatt DNA



Figur 2. Kryssingsskjema for genmodifisert maislinje MON 863

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 R₀ x A1 and R₀ x A634 (figur 2). Videre er fenotypisk stabilitet demonstrert ved spaltingsdata fra tre kryssingsgenerasjoner og to generasjoner med selvbestøvning etter R₀ x A1. Segregeringsanalysene (Chi-kvadrat-analyser) viser forventet mendelsk nedarving av *cry3Bb1*-genet.

2.5. 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).

3. Komparative analyser

3.1. Valg av komparator og forsøksdesign

I følge dokumentasjon fra Monsanto er det foretatt analyser av ernæringsmessige viktige komponenter av prøver fra maislinjen MON 863 fra forsøksfelt i USA og Argentina. Feltforsøkene i USA ble lagt ut på fire lokaliteter i sentrale dyrkingsområder for mais (Iowa, Illinois og Nebraska) vekstsesongen 1999. Hvert forsøksfelt bestod av et fullstendig randomisert blokkdesign med fire gjentak. Fire umodifiserte, kommersielle maissorter ble benyttet som referansmateriale i to av forsøkene, mens de to resterende feltene inkluderte fem sorter, totalt 18 referansesorter. I tillegg ble den ikke-transgene hybridlinjen MON846 (A1 x A634) benyttet som kontroll.

MON 863 har også vært testet i fire forsøksfelt i Argentina vekstsesongen 1999-2000. Forsøkene inkluderte fire konvensjonelle, kommersielle referansesorter på hver lokalitet, til sammen 16 sorter. Også her ble testlinje, komparator og referansesorter plantet i et fullstendig randomisert blokkdesign med fire gjentak.

Registreringer av agronomiske karakter ble foretatt i feltforsøk i Iowa, Illinois og Nebraska i 2000. I disse forsøkene ble det benyttet 6 ulike testhybridlinjer av MON 863. Tre av hybridlinjene (H-1, H-2, H-3) ble utviklet ved at positive og negative isolinjer av MON 863, produsert fra gjentatte selvbestøvninger av heterozygote MON 863-planter, ble krysset med en annen innavlet linje for sammenligning av agronomisk ekvivalens. Hybridene ble testet i randomiserte split-plot-forsøk med 4 gjentak i multiple feltforsøk. Hybridene H-4, H-5 og H-6 ble dannet ved at MON 863 ble krysset med ei kommersiell innavlet linje, etterfulgt av gjentatte tilbakekryssinger til samme linje og selvbestøvning gjennom flere generasjoner. Resulterende homozygote MON 863-planter ble så krysset med ulike ikke-transgene innavlete linjer for å danne nye hybrider. Linjene ble så testet i balanserte latinske kvadrat med 2 gjentak per lokalitet, sammen med sine respektive ikke-transgene foreldrehybrider. Antall teststeder varierer for hver hybridlinje som er vurdert. Det er utført Students t-tester for å sammenligne middelerverdier for transgen- og kontrollhybrid for de enkelte parametere over forsøkssteder.

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

Hovedkomponenter i maiskorn og andre plantedeler

OECDs konsensusdokument for mais er ikke fulgt med hensyn på valg av analyseparametre for maislinjene MON 863 og MON846. Det ble foretatt ulike analyser av hovedkomponenter i prøver av fôr og korn. Når det gjelder fôr-komponenten ble det analysert for innhold av aske, fett, karbohydrater, protein, vann, ADF (acid detergent fibre) og NDF (neutral detergent fibre). Tilsvarende ble det analysert for parametrene protein, fett, aske, karbohydrater, ADF, NDF, vann, aminosyrer, fettsyrer, fosfat, jern, kalium, kalsium, kobber, magnesium, mangan, sink, vitamin E og anti-næringsstoffene fytinsyre og trypsinhemmer i korn. I tillegg ble det analysert for innhold av vitaminene B1, B2 og folinsyre, samt de sekundære metabolittene raffinose, inositol og p-coumarinsyre i prøver av maiskorn fra Argentina-feltene. Analysene ble utført under god laboratoriepraksis (GLP).

Det ble ikke funnet statistisk signifikante forskjeller for hovedkomponentene protein, fett, aske, karbohydrater, ADF, NDF og vann. Analysene viste at verdiene for samtlige hovedkomponenter ligger innenfor typiske verdiområder for andre maissorter som er publisert i litteraturen.

Fettsyresammensetning i maiskorn

Fettsyresammensetningen for MON 863 ble målt i henhold til OECDs konsensusdokument for mais. Det ble analysert for innhold av 8 ulike fettsyrer. De argentinske målingene viser signifikante forskjeller for fire fettsyrer. Forskjellene er mindre enn $\pm 10\%$, og verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Det ble ikke påvist statistisk signifikante forskjeller i prøvene fra USA.

Aminosyrer i maiskorn

Både essensielle og ikke-essensielle aminosyrer ble analysert, totalt 18 aminosyrer. De argentinske målingene viser signifikante forskjeller for en aminosyre, mens det ble påvist statistiske forskjeller for tre aminosyrer i de nordamerikanske forsøkene. Verdiene ligger innenfor $\pm 10\%$, 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 analyseres: A, B1, B2, B6, C, E, folat og niacin. I følge dokumentasjonen fra søker er ikke innholdet av vit. A, vit. B6, niacin og vit. C målt i prøvene fra de argentinske feltforsøkene. Det ble ikke funnet statistisk signifikante forskjeller for de vitaminene som ble analyserte. Når det gjelder prøvene fra feltforsøkene i USA er det kun målt for innhold av vitamin E. Det ble funnet signifikante forskjeller mellom testlinje og komparator, men verdiene ligger innenfor typiske verdier som er rapportert i litteraturen. I henhold til Mattilsynets anbefalinger skal alt dyrefôr vitaminberikes. 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). Det anses derfor at mangel på dokumentasjon om innholdet av vit. A, vit. B6, niacin og vit. C ikke har betydning for vitamininnholdet i fôr og kornbasert barnemat.

Mineraler

Med unntak av natrium og selen har søker målt konsentrasjoner av samtlige mineraler som er anbefalt i OECDs konsensusdokument for mais. I de argentinske feltforsøk ble det påvist signifikant forskjell mellom kontroll og MON 863 for innhold av kobber. Forskjellen er 23 %, men verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Det ble ikke funnet signifikante forskjeller for andre mineraler mellom kontroll og MON 863.

Sekundære metabolitter og antiernæringskomponenter

Dokumentasjonen fra søker viser signifikante forskjeller mellom kontroll og MON 863 for innhold av fytinsyre både i de amerikanske og argentinske prøvene. Forskjellene er fra 10 til 26 %. For prøvene i USA er fytinsyreinnholdet i kontroll-linjen lavere enn MON 863, mens for prøvene i Argentina er innholdet i kontroll høyere enn MON 863. Innhold av toksinene DIMBOA og MBOA er ikke analysert. Faggruppen anser at de statistiske forskjellene som er funnet sannsynligvis skyldes tilfeldigheter og ikke genmodifisering. Verdiene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

3.3. Agronomiske egenskaper

Det ble foretatt registreringer av en rekke agronomiske og morfologiske karakterer knyttet til reproduksjon, spredning, vegetativ vekst og resistens mot sjukdommer og skadedyr. Resultatene fra 64 parvise t-tester viser 9 signifikante forskjeller mellom MON 863-hybridene og deres respektive kontrollinjer. Forskjellen var bl.a. relatert til endringer i kolbelengde, plantehøyde, og tørrstoffinnhold. Monsanto konkluderer imidlertid med at forskjellene er små, ikke konsistente over steder eller testlinje, og at de er av begrenset agronomisk relevans. Det vises også til at det har vært kommersiell produksjon av MON 863 og avkomstlinjer i USA siden 1998 uten at det er påvist ikke-tilsiktete effekter på disse karakterene.

3.4. Delkonklusjon

Faggruppe for genmodifiserte organismer påpeker at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument (OECD 2002) anbefaler for mais. Faggruppen understreker at konsensusdokumentet i størst mulig grad skal følges når det legges fram dokumentasjon på nivåene av næringsstoffer, antinæringsstoffer og metabolitter.

Det er funnet statistisk signifikante forskjeller for enkelte komponenter, men disse forskjellene er ikke konsistente over forsøksfelt. Verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger imidlertid innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

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 MON863 har liten ernæringsmessig betydning.

Undersøkelsene av agronomiske karakterer viser små eller ingen signifikante forskjeller mellom testlinjer og kontroll.

4. Dokumentasjon av toksisitet og allergisitet

4.1. Toksisitet

Søknaden inneholder dokumentasjon på fôringsforsøk med renfremstilt NPTII- og Cry3Bb1-protein, samt fôring med korn fra genmodifisert og umodifisert mais.

Akutforsøk

Det er utført akuttstudie på mus med NPTII - og Cry3Bb1 protein. Studiene er utført i henhold til EUs (EEC 1992), EPAs (EPA 1982) og OECDs retningslinjer nr. 401 for oral akuttoksisitetsstudier (OECD 1987). De to proteinene er fremstilt fra bakterier. Proteinene Cry3Bb1 (doser = 0, 400, 1100 og 3200 mg/kg kroppsvekt) og NPTII (doser = 0, 100, 1000 og 5000 mg/kg kroppsvekt) ble gitt som engangsdose til henholdsvis fire og tre grupper à 10 mus/kjønn/gruppe. Som proteinkontroll ble bovint serumalbumin (2700 mg/kg kroppsvekt) gitt som engangsdose til to grupper à 10 mus/kjønn/gruppe. Etter 14 dager ble det ikke påvist tegn på toksisk påvirkning i noen av forsøkene. Etter avlaving ble det heller ikke funnet organskader ved grov-patologisk undersøkelse. Faggruppen finner disse studiene tilfredsstillende. Generelt, med unntak for allergen- og biotoksiske proteiner, er proteiner ikke akuttoksiske.

Fôringsforsøk på rotter

Det ble utført et 13 ukers fôringsforsøk på 6 ukers gamle hann- og hunnrotter, 10 grupper à 20 rotter/kjønn. Studien er gjort i henhold til OECDs retningslinjer nr. 408, sub-kroniske toksisitetsstudier (OECD 1998). Fôret bestod av 11 % og 33 % (vekt/vekt) maiskorn fra MON 863 og foreldrelinjen, og 33 % maiskorn (vekt/vekt) fra seks kommersielle maissorter. Monsanto analyser viser ingen testrelaterte endringer i organene for de undersøkte parametrene.

Hammond *et al.* (2006) har publisert en vitenskapelig artikkel med analyse av datasettet. Rapporten inneholder litt færre detaljer enn den originale fra Monsanto. Originaldataene fra Monsanto (2002) ble re-analysert og publisert av Seralini *et al.* (2007). Re-analysen indikerte toksiske effekter på lever og nyre. Seralini *et al.* (2007) påviste forskjeller mellom hanner og hunner og studiet antyder 15

redusert evne til detoksifisering i hannene. I parametre som viste signifikante forskjeller mellom hanner gitt GM- og kontrollfôr, økte antall parametre som var forskjellige fra 5 til 11 i gruppene fôret henholdsvis 11 % og 33 % MON 863 mais. Det var også flere parametre hvor verdiene for GM var signifikant forskjellige både fra kontroll og fra gjennomsnittet av alle de seks referansesortene: en forskjell på 11 % og fire for 33 % dietten (Seralini *et al.* 2007). Seralini *et al.* konkluderer at MON 863 ikke er et trygt produkt uten videre langtidsstudier og nye analyser. EFSA (2007) har som en del av en omfattende gjennomgang av Monsanto's 13 ukers fôringsforsøk fått utført ytterligere 2 sett statistiske analyser av 90-dagers rotteforsøket (2007). I tillegg har AFSSA (Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Aliments of France) utført statistiske beregninger av vektøkning og matinntak. EFSA's GMO panel har innhentet uttalelser fra medlemslandene i EU (EFSA review, appendix 1). GMO-panelet konkluderer med at det ikke er noen forskjell i gjennomsnittsvekt og sluttvekt mellom rottene som ble gitt henholdsvis MON 863-mais og foreldrelinjen. Det ble påvist noen forskjeller i vekst i løpet av testperioden, men forskjellene var under 4 % og skyldes sannsynligvis svingninger i matinntak. EFSA's GMO-panel hevder videre at Seralini *et al.* har brukt statistiske metoder med feilaktige antagelser og at konklusjonene deres som viser toksiske effekter på lever og nyre derfor ikke har biologisk relevans. En annen kritikk av Seralinis artikkel er også publisert av Doull *et al.* (2007). Doull tilbakeviser i artikkelen Seralinis funn pga manglende dose-respons sammenhenger, manglende sammenheng over tid, manglende sammenheng mellom forskjellige funn og manglende forekomst i begge kjønn.

Monsanto har videre utført tretten ukers fôringsforsøk med hybridene MON 863 x NK603, MON863 x MON810 og MON863 x MON810 x NK603. Resultatene fra disse forsøkene er presentert i tabell 1, vedlegg.

4.1.1. Delkonklusjon

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.

Fôringsforsøk på broiler

Søknaden inneholder dokumentasjon fra 42-dagers fôringsforsøk på broilere, 800 dyr, fordelt på åtte grupper. Forsøksdyrene ble fôret med MON 863, en tradisjonell kontroll og seks referansemaissorter. Det ble ikke påvist statistisk signifikante endringer i de parametrene som ble målt. Faggruppen konkluderer med at det ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen er forskjellig fra umodifisert mais.

4.2. Allergenitet

Bt-proteiner

Til tross for vel 50 års bruk av plantevernmidler med *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* er det ingen bekreftede rapporter over øyeblikkelige eller forsinkede allergiske reaksjoner til tross for betydelig human oral-, dermal- og inhalasjonseksposering (EHC 1999). Flesteparten av *Bt*-plantevernmidler inneholder krystalltoksin (protoksin) og levende sporer fra *Bt*-bakterien (EHC 1999). Laboratoriestudier med pattedyr indikerer heller ingen potensielle allergiske reaksjoner mot *B. thuringiensis* eller dets komponenter innbefattet delta-endotoksinet i krystallproteinene.

Adjuvans (fremming av immunreaksjon mot andre stoffer)

Det har ikke vært utført immunologiske studier med de transgene produktene. Det er vist at Cry1Ac-proteinene binder seg til musetarmoverflaten og induserer immunologiske reaksjoner mot seg selv og

mot proteiner gitt samtidig (Vazquez-Padron *et al.* 2000a, Vazquez *et al.* 1999, Moreno-Fierros *et al.* 2003, Rojas-Hernández *et al.* 2004). Immunologisk kartlegging av systemisk og mucosal immunreaksjon på Cry1Ac har videre påvist at mus lager både systemisk IgM, IgG og sekretorisk IgA etter intraperitoneal og intragastrisk immunisering (Vazques-Padron *et al.* 2000b). Det er ukjent om Cry1Ac-proteinet som er benyttet i disse studiene, tilsvarer 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 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-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.

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 2001). I henhold til Monsanto Company kan mengde Cry3Bb1 i maiskorn være mer enn 90 µg/g tørrvekt korn. Teoretiske beregninger fra faggruppen viser at dersom alt maisinntak i Europa kommer fra MON 863 vil dette kunne medføre et inntak for voksne på mer enn 800 µg Cry-protein/person/dag. Teoretiske beregninger fra faggruppen viser at for barn som spiser store porsjoner blir inntaket 750 µg Cry-protein/kg kroppsvekt/dag og for voksne 370 µg/kg kroppsvekt/dag. De totale mengdene for henholdsvis barn og voksne blir da 13000 µg/barn/dag og 22000 µg/person/dag. De mengder Cry1Ac som ga mucosal adjuvanseffekt ved sondeføring av mus var fra 0,1 µg til 100 µg (Vazquez *et al.* 1999).

Et realistisk Cry3Bb1-inntak 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-mais. Vi spiser stort sett prosessert mais som i mange tilfeller helt eller delvis degraderer eller fjerner proteiner. Søker oppgir at Cry3Bb1 brytes så godt som fullstendig ned i magesaft i løpet av 15 sekunder. Ut fra aminosyresekvensen til Cry3Bb1 vil en også forvente høy trypsinfølsomhet. Eksponering av tarmepitel for Cry3Bb1-protein forventes dermed være marginal.

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 Cry3Bb1 som benyttes i MON 863 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 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 andre områder, bl.a. Nord-Italia. Man ville forvente 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.

Det er imidlertid ikke sannsynliggjort at Cry3Bb1-proteinet virker som adjuvant. Cry3Bb1 og Cry1Ac er proteiner med vidt forskjellige størrelse og aminosyresekvens. Proteinene viser kun 33 % sekvenslikhet i de overlappende områdene. 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 immunoglobulinklasser, 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.* 2006). Peanøttallergiartikkelen viste også at det var krevende å klare å indusere allergi i rottene. Røtter som gikk på streng diett i 3 generasjoner ga IgE respons, mens røtter 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.

Maten vi spiser inneholder 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, 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 lang historie med trygg bruk. Det er tillatt å sprøyte mais med *Bt* helt frem til høsting.

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

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

Et mindretall av faggruppen (A.H. Nerland, T. Bøhn, A.I. Myhr, C. Linnestad, H. Klungland) finner det vanskelig å vurdere om næringsmidler og fôrvarer fra maislinjen MON 863 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 disse medlemmene at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos MON 863 med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Mindretallet mener at det kan ikke utelukkes at slike effekter kan oppstå ved inntak av maisprodukter som inneholder aktivt Cry3Bb1-protein, d.v.s. om Cry3Bb1-proteinet 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 økt fokus på matallergi er denne problemstillingen aktualisert.

5. Miljørisikovurdering

Søknaden fra Monsanto vedrørende godkjenning av maislinjen MON 863 under EUs utsettingsdirektiv 2001/18/EF og Novel Foodsforordningen 258/97/EF omfatter bruksområdene fôrvarer, næringsmidler, import og prosessering, men gjelder ikke dyrking. 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. 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 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 stedeegne 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 ikke grunn til å anta at den introduserte egenskapen hos MON 863 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 2004c; VKM 2005).

Ut fra dagens vitenskapelig 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 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 *nptIII*-genet i miljøet er imidlertid mangelfull. De tilgjengelige data viser at forekomsten av *nptIII*-genet i patogene bakterier i Norge er lav. Imidlertid benyttes aminoglykosidet neomycin, som *nptIII*-genet gir resistens mot, i veterinærmedisin i Norge. Et seleksjonstrykk på bakterietransformanter kan derfor ikke utelukkes. Det er usannsynlig at gener fra MON 863 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. 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 *nptIII* gir resistens imot er nylig klassifisert av European Medicines Agency (EMA 2007) og WHO (2005) som ”critically important bacteria” og ”cannot be classified as of no or minor therapeutic relevance”.

5.2.2. Vertikal genoverføring

Potensialet for krysspollinering mellom MON 863 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 selektiv fordel og 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 er transformert med genet *cry3Bb1* fra jordbakterien *Bacillus thuringiensis* subsp. *kumamotoensis*. 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’).

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 i Norge.

5.4. Potensiale for samspill mellom GMP og ikke-målorganismer

Sporadiske spillplanter av MON 863 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-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-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 foreskrevne bruk av maislinjen MON 863 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 føret 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 risikohåndtering eller en særskilt plan for overvåking av MON 863.

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 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 foreskrevet bruk av maislinjen MON 863 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; VKM 2005) at bidraget av *nptII*-genet fra mat og fôr produsert fra MON 863 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

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 økt fokus på matallergi som problem og den påviste sterke adjuvanseffekten av Cry1Ac på antistoffproduksjon i dyremodeller, mener faggruppen det ikke kan utelukkes at påvist adjuvanseffekter av Cry1Ac kan oppstå ved inntak av maisprodukter som inneholder aktivt Cry3Bb1-protein, altså at Cry3Bb1- proteinet kan føre til økt allergiutvikling mot andre komponenter i mat som spises samtidig.

Faggruppen påpeker også at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument for mais anbefaler undersøkt.

KONKLUSJON

Faggruppe for genmodifiserte organismer påpeker at det mangler analyser av flere av de sentrale komponentene som OECDs konsensusdokument for mais anbefaler analysert. Faggruppen understreker at konsensusdokumentet i størst mulig grad skal følges når det legges fram dokumentasjon på nivåene av næringsstoffer, antinæringsstoffer og metabolitter.

Det er funnet statistisk signifikante forskjeller i enkeltparametere, men verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

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 MON863 har liten ernæringsmessig betydning.

Flere studier viser at proteinene Cry3Bb1 og NPTII ikke er akutt toksiske. Monsanto har utført, og henviser til, sub-kroniske studier på rotter fôret med maiskorn fra MON 863. Disse studiene viser at fôr som inneholder mais ikke fører til påvisbare helseeffekter på forsøksdyrene. Dataene fra denne studien har i ettertid vært re-analysert av flere forskningsgrupper, med ulike konklusjoner. Analysen fra Seralini *et al.* (2007) indikerte dose-relaterte effekter på vekst og toksiske effekter på lever og nyre. Det ble påvist forskjeller mellom hanner og hunner og studiet antyder redusert evne til detoksifisering i hannene. Seralini *et al.* hevder at MON 863 ikke er et trygt produkt uten videre langtidsstudier. Dette blir tilbakevist av Doull *et al.* (2007) pga manglende dose-responsammenhenger, manglende sammenheng over tid, ulike funn og manglende forekomst i begge kjønn. EFSA underkjenner også Seralini *et als* analyse 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.

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 det uttrykte toksinet Cry3Bb1 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 har egenskaper som fører til hemming av den toleransen som fordøyelsessystemets slimhinner har mot proteiner (adjuvanseffekt). På bakgrunn av at Cry3Bb1-proteinet 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 til å være neglisjerbar.

Et mindretall av faggruppen (A.H. Nerland, T. Bøhn, A.I. Myhr, C. Linnestad, H. Klungland) finner det vanskelig å vurdere om næringsmidler og fôrvarer fra maislinjen MON 863 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 toleransen²³

som fordøyelsessystemets slimhinner har mot proteiner, finner imidlertid disse medlemmene at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos MON 863 ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes.

En samlet faggruppe finner at mat- og fôrprodukter fra MON 863, 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 2005). 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 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 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.

Søknaden gjelder godkjenning av maislinjen MON 863 for import, prosessering og til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Faggruppen har derfor 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 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 MON863 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 forsøk med rotter føret med 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 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.²⁴

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, H. Klungland) at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos MON 863, 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 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 bruk av maislinjen MON 863 vil medføre endret risiko for miljø for øvrig i forhold til annen mais.

REFERANSER

- Agbios (2008). 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_H2 adjuvants: Implications for food allergy. *J. Allerg. Clin. Immunol.*, **121**, 1311-1320.
- 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 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.
- Doull, J., Gaylor, D., Greim, H.A., Lovell, D.P., Lynch, B. & Munro, I.C. (2007). Report of an Expert Panel on the reanalysis by Seralini et al. (2007) of a 90-day study conducted by Monsanto in support of the safety of a genetically modified corn variety (MON 863). *Food and Chemical Toxicology*, **45**, 2073-2085.
- 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. *The EFSA Journal*, **50**, 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
- 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). 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>
- 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.
- EMEA (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*. EMEA/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/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
- 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.
- 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.
- 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., and 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.
- 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.
- 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.
- VKM (2005). *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.

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 Urinalyse	6.7.1 Makroskopiske undersøkelser	6.7.2 Organvekt	6.7.3 Mikroskop. undersøkelse
MON863 Rapport MSL 18175	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
MON 863 x NK603 Rapport WIL- 50288	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 Urinanalyse	6.7.1 Makroskopiske undersøkelser	6.7.2 Organvekt	6.7.3 Mikroskop. undersøk.
MON863 x MON810 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 relativt vekt av thyro + parathyro relativt til kroppsvekt. Ikke doserelatert. ♀ nyrevelt rel til kroppsvekt ↓ i 33 % gruppen	Ingen stat. signifikante endringer
MON863 x MON810 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