



UTTALELSE OM MONSANTOS GENMODIFISERTE MAIS MON810

Vurdert og godkjent av Faggruppe for genmodifiserte organismer

DATO: 30.01.07

SAMMENDRAG

Vurderingen av den genmodifiserte herbicidresistente og insektstolerante maislinjen MON810 fra Monsanto er utført av Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet. Vitenskapskomiteen for mattrygghet er bedt av Mattilsynet om å vurdere den genmodifiserte maislinjen MON810 til bruk i næringsmidler og fôrvarer.

Hybriden MON810 er fremkommet ved innsetting av deler av genet *cry1Ab* og dets regulatoriske gener ved bioteknologiske metoder. Hensikten med MON810 er motstandsdyktighet mot enkelte insektsarter.

Vurdering av den genmodifiserte maisen er basert på dokumentasjon henholdsvis fra Nasjonalt folkehelseinstitutt, dokumentasjonen er fra 1996, og fra EFSA under søknaden om godkjenning av maisen NK603xMON810 (EFSA/GMO/UK/2004/1). Informasjon om NK603xMON810 er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA.net. MON810 er vurdert i henhold til tiltenkt bruk og de prinsipper som er lagt til grunn i EFSA's retningslinjer for risikovurdering av genmodifiserte planter (EFSA 99, 2004) og Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) konsensusdokument for mais (OECD 2002). Den vitenskapelige vurderingen omfatter transformeringsprosessen, bruk av vektor og det transgene konstruktet, komparativ analyse av ernæringsmessig kvalitet, mineraler, kritiske toksiner, antinæringsstoffer, allergener og nye proteiner.

Analysene av ernæringsmessige viktige komponenter ble vurdert. Det ble bemerket at flere 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.

Informasjon vedrørende allergenisitet viser at for de parametre som er målt, har ikke de uttrykte proteinene likheter med kjente allergener eller egenskaper som tilsier at de er allergener. Det er imidlertid ikke vurdert om det uttrykte toksinet Cry1Ab kan ha adjuvanseffekter.

Faggruppen finner det vanskelig å vurdere om næringsmidler og fôrvarer fra maisen MON810 er mer allergifremkallende enn næringsmidler og fôrvarer fra umodifisert

maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner Faggruppen imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos næringsmidler og fôrvarer fra MON810 i forhold til umodifisert mais med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Da mengde Cry1Ab i maiskorn kan være mer enn 1,1 µg/g fersk vekt, mener Faggruppen at det må kreves av Monsanto å kommentere forsøkene som viser adjuvanseffekt av det beslektede Cry1Ac.

NØKKELOD

Genmodifisert mais, MON810, insektsresistens, Cry1Ab, helsemessig trygghet, helse.

BAKGRUNN

Faggruppe for genmodifiserte organismer under Vitenskapskomiteen for mattrygghet er blitt bedt av Mattilsynet om en vitenskapelig risikovurdering av genmodifisert mais MON810 til bruk i næringsmidler og fôrvarer. Vurdering av den genmodifiserte maisen er basert på den dokumentasjon som er gjort tilgjengelig på EFSA's nettside GMO EFSA-net under søknaden om godkjenning av NK603xMON810 (EFSA/GMO/UK/2004/1) og fra Nasjonalt folkehelseinstitutt. MON810 er vurdert i henhold til tiltenkt bruk og de prinsipper som er lagt til grunn i EFSA's dokument "Guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed" (EFSA 99, 2004). Ved vurdering av vesentlig likhet har Faggruppen lagt vekt på OECDs konsensusdokument for mais (OECD 2002), som gir anbefalinger over hvilke parametre 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, dvs. ved en noe forenklet risikovurdering. Det vil imidlertid bli tatt hensyn til særnorske forhold der slike kan påvises.

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

OPPDRAK FRA MATTILSYNET

I møte 17. desember 2006 i Helse- og omsorgsdepartementet ba Mattilsynet Vitenskapskomiteen for mattrygghet om å vurdere den genmodifiserte maisen. Bruksområdet som søknaden gjelder for er: import, prosessering, mat og fôr. Linje MON810 (C/F/95/12/02) er i 1996 søkt markedsført under direktiv 90/220/EC. Notifiseringen C/F/95/12/02 ble i 1996 vurdert av Nasjonalt folkehelseinstitutt i forhold til risiko for allergi, effekter ved direkte håndtering, bruk som næringsmiddel og miljømessige forhold av helsemessig betydning.

MON810 er godkjent i EU for import, prosessering og bruk som mat og fôr under direktiv 2001/18/EF og direktiv 90/220/EC, samt innmeldt under direktiv 1829/2003/EC som eksisterende produkt. Godkjenningen for MON810 i EU omfatter også dyrking. MON810 er foreløpig ikke godkjent for omsetning i Norge.

Produktet som ønskes vurdert, er:

Genmodifisert mais MON810. Unik kode er MON-ØØ81Ø-6.

Status i EU: Godkjent for markedsføring under 90/220/EF i 1998, 2001/18/EC og innmeldt som eksisterende produkt under 1829/2003/EC.

Ønsket svarfrist til Mattilsynet er 09.02.07.

RISIKOVURDERING

Innledning

Den genmodifiserte maishybriden MON810 ble vurdert ut fra Mattilsynets oppdrag. I henhold til Monsanto er søknaden kun for import og bruk som næringsmidler, fôrvarer og industrielle produkter, ikke for utsetting. Primærbruken av maiskorn i Norge i dag er til dyrefôr, men mais brukes også til industriell produksjon av etanol, maismel, popkorn, raffinert stivelse og søttningsprodukter.

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

Faggruppe for genmodifiserte organismer vurderer søknaden om markedsføring av genmodifisert mais til bruk i næringsmidler og fôrvarer under forordning 1829/2003.

Bakgrunnsinformasjon

Ny informasjon som er vurdert av Faggruppe for genmodifiserte organismer

Fravær av T-Nos-terminator er dokumentert i rapport MSL#:19224 fra 2004. Fôringforsøk på broiler er dokumentert i rapport MSL-17192 fra 2001. Flankesekvenser er dokumentert i rapport MSL # 17074 fra 2000 og i rapport MSL #17284 fra 2002. Analyse av MON810 rekombinant DNA-innskudd fra plasmid PV-ZMBK07 er dokumentert i rapport MSL # 18238 fra 2003. Bioinformasjonsstudier av det rekombinante DNA innskuddet er dokumentert i rapport MSL 18777 fra 2003. Analyse av mulige peptidsekvenser fra 3'-enden til det rekombinante DNA fragmentet er dokumentert i rapport MSL-16846 fra 2000. Fôringsstudie på rotte, 13 ukers fôringsstudie, er dokumentert i rapport MSE N 99092 (MSL 17596) fra 2001.

Beskrivelse av de innsatte genene

Transformasjonssystemet/konstruksjon:

Til transformasjon av kallasbiter(plantevev) er brukt partikkelakselerasjonsmetoden. Plasmid-DNA fra plasmidene PV-ZMBK07 og PV-ZMGT10 ble felt ut på samme mikroskopiske gull eller wolfram partikler. Disse partiklene akselereres v.h.a. krutteksplosjon og bombarderer kallasbitene. Partiklene penetrerer plantevevet som blir bombardert. DNAet avsettes inne i cellene og inkorporeres deretter i plantecellenes kromosomer.

Plasmidet PV-ZMGT10 inneholder gener som koder for glyfosattoleranse. Glyfosat, dvs. Roundup Ready (RR)-sprøytemiddel, brukes til seleksjon av de genetisk modifiserte cellene. Glyfosattoleransegenene (genene *cp4 epsps* og *gox*) er ikke til stede in MON 810 planter. Det

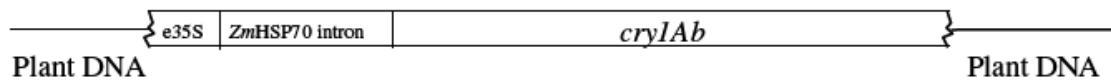
er derfor sannsynlig at cellen som resulterte i cellelinjen MON 810 er en "flyktning" fra glyfosatseleksjonen, f.eks. ved at cellene i nærheten degraderte det tilgjengelige glyfosatet slik at MON 810 cellen overlevde. Mais-cellelinjen MON 810 inneholder genet *cryIA(b)* som kommer fra plasmidet PV-ZMBK07. Genet koder for CryIA(b) proteinet, som gir insekttoleranse.

Vektorkonstruksjon

Transformasjonsplasmidene som ble benyttet til å danne den insekttolerant maislinjen MON 810 var PV-ZMBK07.

Plasmid PV-ZMBK07 inneholder genelementene:

<i>E35S</i>	Blomkål mosaikk virus (CaMV) promoter med dobbel enhancer
<i>hsp70</i>	Intron fra mais <i>hsp70</i> genet (heat-shock protein) er til stede fordi intronet vil øke nivået av gentranskriptet
<i>cry1Ab</i>	Koder for Cry1Ab proteinet
<i>NOS 3'</i>	Et 3'-område til <i>nopalinsyntetase</i> genet som ikke blir translateret, men som terminerer transkript og som dirigerer polyadenylering
<i>lacZ</i>	En del av <i>E. coli lacI</i> genets kodende sekvens som inneholder promoteren <i>Plac</i> og en delvis kodende sekvens for <i>beta-D-galaktosidase</i> -genet
<i>ori-pUC</i>	Replikasjonsorigo som dirigerer replikasjon av plasmidet i <i>E. coli</i>
<i>nptII</i>	Genet for enzymet neomycin fosfotransferase type II.



Figur 1: Lineært mais DNA fragment med et rekombinant DNA fragment på 3582 basepar fra plasmidet PV-ZMBK07.

Beskrivelse av gener i plasmidet PV-ZMBK07.

E5S promoteren binder RNA polymerase, men uttrykkes ikke som RNA og heller ikke som protein.

hsp70 genets intron er satt inn for å øke gentranskripsjonen av *cryIA(b)* genet. Intronet kommer fra mais. Introner uttrykkes ikke.

cryIA(b) genet er den eneste plasmidderiverte nukleotidesequensen som kunne påvises i maisplanten. Genet koder for fullengde *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (B.t.k.) HD-1 proteinet. B.t.k. er en vanlig jordbakterie. Det vanlige navnet på proteinet er CryIA(b).

lacZ genet, alfa området, koder for enzymet beta-galaktosidase, som er et laktose-metaboliserende enzym fra *E. coli*. Enzymet katalyserer hydrolyse av laktose til sine enkelte monosakkarider. Der er ingen helsemessige betenkeligheter med dette enzymet da det er naturlig til stede i menneskets tarmbakterier.

ori-pUC området er replikasjonsgenet for pUC plasmidet, og dets funksjon er at plasmidet kan replikeres i *E. coli*. Genet uttrykkes ikke i andre organismer.

Karakterisering av geninnsettingen

Southern blot-, PCR- og sekvensanalyse viser at et rekombinante DNA fragment på 3582 basepar fra plasmidet PV-ZMBK07 er satt inn i maisens genom. Dette rekombinante DNA fragmentet inneholder deler av *CaMV35S* promoteren, mais *hps70* intron og en avkortet del av *cry1Ab* genen på 2448 basepar. Det avkortet *cry1Ab* genet er tilstrekkelig til å kode for insektsresistensaktivt protein. Det er ikke funnet andre DNA deler av plasmidet PV-ZMBK07 og heller ikke er det funnet DNA fra plasmidet PV-ZMGT10 integrert i MON810 genomet.

Gjennomsnittlig mengde Cry1Ab protein i fôr og korn er målt til henholdsvis 6,40 µg/g ferskvekt (SD=2,62; Range= 1,99-9,91) og 0,72 µg/g ferskvekt (SD=0,21; Range=0,38-1,11). Prøvene som er analysert stammer fra tre feltforsøk utført i Frankrike i 2000. Det er tatt ut fire prøver fra hvert feltforsøk.

Dokumentasjon av "vesentlig likhet"

For analyser av MON810 henviser Monsanto til flere feltforsøk som er utført fra 1995. I USA har MON810 vært kommersielt dyrket siden 1997. MON810 dyrkes kommersielt i EU, Canada, Sør-Afrika og Argentina. Analyser av MON810 er utført i USA i 1993, 1994 og 1995, i Chile i 1994 og 1995, samt i Argentina, Frankrike, Italia og Sør-Afrika. For analyser av hovedkomponenter i maiskorn og fôr henviser Monsanto til 6 feltforsøk i 1994 i USA (kontroll MON818) og 3 feltforsøk i 1995 i Frankrike (kontroll MON820), samt feltforsøk i Frankrike og Italia med fem insektsresistente hybrider fra MON810. Kontrollene var de respektive umodifiserte foreldrelinjene.

Hovedkomponenter i maiskorn og andre plantedeler:

Analyse av ernæringsmessige komponenter ble foretatt av planter både fra amerikanske og europeiske feltforsøk.

Hovedkomponenter i maiskorn og fôr:

Hovedkomponenter som protein, fett, aske, karbohydrater, kalorier og vann ble analysert under god laboratoriepraksis (GLP) i maislinjen MON 810 og kontrollene MON 818 og MON820. Analyseverdiene fra disse analysene er angitt i middelverdi og variasjonsbredde. Sammenlignende analysene fra MON810 og kontrollene vist at verdiene ligger innenfor publiserte verdiområder for alle komponentene i andre maissorter. For de europeiske analysene med hybrider fra MON810 er analyseverdiene angitt kun i variasjonsbredde.

Fettsyresammensetning i maiskorn:

Fettsyrene linolje-, linolen-, olje-, palmitin- og stearinsyre ble analysert. Resultatene viser at der er ingen forskjell mellom MON 810 og MON 818/MON820. Verdiene for alle analysene som er foretatt ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Aminosyrer i maiskorn:

Både essensielle og ikke-essensielle aminosyrer ble analysert. Resultatene viser at det er ingen vesentlige forskjeller mellom MON 810 og MON 818/MON820. Verdiene for alle aminosyreanalysene ligger innenfor de typiske verdiene som er rapportert i litteraturen.

Vitaminer:

Det er ikke foretatt analyser av vitaminer for forsøkene i 1994 og 1995.

Mineraler:

Det er ikke foretatt undersøkelser av mineraler.

Sekundære metabolitter og antiernæringsstoffer:

Det er ikke foretatt undersøkelser av sekundære metabolitter og antiernæringsstoffer.

Konklusjon

Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametre. Verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen.

Innhold av toksiner

Planten inneholder ingen andre toksiner enn de som eventuelt er naturlig til stede i mais og B.t.k. HD-1 toksinet (Cry1Ab).

Det genetiske materialet nødvendig for produksjon av CryIA(b) er nukleinsyrer (DNA) som består av: (1) genetisk material som koder for Cry1Ab-toksinet og (2) dets regulatoriske områder, dvs. områder som kontrollerer ekspresjonen (*CaMV 35S*) og et intron fra *hsp70* genet. Intronet øker ekspresjonen av genet. Disse regulatoriske genene uttrykkes ikke som proteiner. Det forventes ingen toksisk virkning ved ernæringsmessig eksponering for det genetiske materialet som er nødvendig for produksjon av Cry1Ab-proteinet i maiskorn.

Dokumentasjon av toksisitet og allegenisitet

Toksisitet:

Monsanto har i 2001 foretatt et 13 ukers fôringsforsøk med hybride DK551Bt (hybrid av MON810), umodifisert kontroll DK551 og seks forskjellige kommersielt tilgjengelige umodifiserte maishybrider. Seks uker gamle hann og hunn rotter, 20 rotter/kjønn/gruppe, totalt 10 grupper for hvert kjønn, ble fôret med følgende maisfôr i 13 uker: 11 vekt-% - og 33 vekt-% DK551Bt og DK551, samt 33 vekt-% maisfôr fra de seks kommersielt tilgjengelige umodifiserte maishybridene. Fôr som inneholdt 11 % DK551Bt og DK551 mais ble supplert med 22 % umodifisert kommersiell mais. Undersøkelsene av dyrene er avpasset OECDs retningslinjer nr. 408, Subchronic Oral Toxicity - Rodent: 90-day Study. Det er blitt funnet noen få og små statistiske forskjeller. Forskjellene var ikke doserelatert og ikke konsekvent forskjellig for begge kontrollgruppene.

Fôringsforsøk på broiler:

Søknaden inneholder dokumentasjon fra 42-dagers fôringsforsøk på broilere, 800 dyr, fordelt i åtte grupper som ble føret med henholdsvis mais fra MON810, en Bt/RR modifisert hybrid(inneholder både Bt-toksin og RR-protein), to umodifiserte kontrollhybrider og fire kommersielle umodifiserte referansehybride maissorter. Det ble ikke påvist testrelaterte endringer for de som ble føret med MON810, Bt/RR modifisert hybrid, de to umodifiserte kontrollhybridene og de fire kommersielle referansehybridene. Faggruppen konkluderer med at det er ingen grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen er forskjellig fra umodifisert mais.

Allergenitet:

Bt-proteiner

Til tross for vel 50 års bruk av B.t.k. som sprøytemiddel er det ingen bekreftede rapporter over øyeblikkelige eller forsinkede allergiske reaksjoner til tross for betydelig human 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.

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

Det er mulig at Cry1Ab som benyttes i MON810, kan ha tilsvarende effekter som vist for det beslektede Cry1Ac-proteinet, som induserer immunologiske reaksjoner mot seg selv og økt reaksjon mot proteiner gitt samtidig. Dersom Cry1Ab har tilsvarende adjuvanseffekt som det beslektede Cry1Ac-proteinet er rapportert å ha, vil dette teoretisk kunne føre til økt utvikling av allergi mot matvarer spist sammen med maisen, foruten mot maisen selv. Matallergi mot mais er lite vanlig i Norge, men er et problem i noen områder, bl.a. Nord-Italia. Man ville vente at adjuvanseffekten kom til syne først og fremst som økt forekomst av allergi mot de matvarene der matallergi fra før er vanligst. IgE ble ikke målt i de refererte studiene av adjuvanseffekt av Cry1Ac-proteinet.

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

Konklusjon:

Faggruppen finner det ut fra tilgjengelige data vanskelig å vurdere om korn fra MON810 er mer allergifremkallende enn umodifiserte maiskorn. På bakgrunn av foreliggende eksperimentelle studier i mus, finner Faggruppen imidlertid at muligheten for økt allergifremkallende aktivitet hos MON810 med den informasjon vi har tilgang til, ikke med rimelig sikkerhet kan utelukkes. Da mengde Cry1Ab i maiskorn kan være over 1 µg/g fersk vekt, mener Faggruppen at det må kreves av Monsanto å kommentere forsøkene som viser adjuvanseffekt av Cry1Ac.

KONKLUSJON

Det er funnet statistiske forskjeller i enkeltparametere, men verdiene for de enkelte analyserte komponentene ligger innenfor typiske verdier for andre maissorter som er rapportert i litteraturen. Faggruppen anser at disse forskjellene ikke har noen helsemessig signifikans, og konkluderer med at det ikke er grunn til å anta at den ernæringsmessige kvaliteten til den genmodifiserte maisen MON810 er forskjellig fra umodifisert mais.

Flere studier viser at proteinet Cry1Ab ikke er akutt toksiske. Monsanto har utført sub-kroniske studier på rotter føret med maiskorn fra MON810. Disse studiene viser at fôr som inneholder mais fra disse hybridene, ikke fører til påvisbare helseeffekter på dyrene. Faggruppen konkluderer med at det er lite sannsynlig at eksponering for Cry1Ab-proteinet og *cry1Ab*-genet i seg selv og i de mengder som tilføres via genmodifisert mais, er helsemessig betenkelige.

Faggruppen mener at det må kreves av Monsanto å kommentere de forsøk som gjort der det er påvist adjuvanseffekter av Cry1Ac og om slike effekter kan oppstå ved inntak av maisprodukter som inneholder aktivt Cry1Ab-protein.

VURDERT AV

Faggruppe for genmodifiserte organismer:

Ingolf Nes, Knut Berdal, Sonja Klemsdal, Casper Linnestad, Audun Nerland, Vibeke Thrane.

Koordinator fra sekretariatet: Arne Mikalsen

REFERANSER

- EFSA 99, 2004. "Guidance document for the risk assessment of genetically modified plants and derived food and feed".
- EHC, 1999. Environmental Health Criteria 217. *Bacillus thuringiensis*. WHO, Geneve 1999
- EPA, 2003. Event MON863 *Bt* Cry3Bb1 Corn Biopesticide Registration Action Document.
- Moreno-Fierros L, Ruiz-Medina EJ, Esquivel R, López-Revilla R, Piña-Cruz S. 2003. Intranasal Cry1Ac protoxin is an effective mucosal and systemic carrier and adjuvant of *Streptococcus pneumoniae* polysaccharides in mice. Scand J Immunol., 57: 45-55.
- OECD, 2002. Consensus Document on Compositional Consideration for New Varieties of Maize (*Zea Mays*): Key Food and Feed Nutrients, Anti-nutrients and Secondary Plant Metabolites, No. 6, Series on Safety of Novel Foods and Feeds.
- Prasad S.S.S.V. & Shethna, Y.I., 1975. Enhancement of immune response by the proteinaceous crystal of *Bacillus thuringiensis* var *thuringiensis*. Biochem Biophys Res Commun., 62: 517-521.
- Rojas-Hernández S, Rodríguez-Monroy MA, López-Revilla R, Reséndiz-Albor AA, Moreno-Fierros L., 2004. Intranasal coadministration of the Cry1Ac protoxin with amoebal lysates increases protection against *Naegleria fowleri* meningoencephalitis. Infect Immun., 72:4368-4375.
- Vazquez-Padron RI. Martinez-Gil AF. Ayra-Pardo C. Gonzalez-Cabrera J. Prieto-Samsonov DL. de la Riva GA., 1998. Biochemical characterization of the third domain from *Bacillus thuringiensis* Cry1A toxins. Biochem Mol Biol Int., 45(5):1011-20.
- Vazquez RI. Moreno-Fierros L. Neri-Bazan L. De La Riva GA. Lopez-Revilla R., 1999. *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac protoxin is a potent systemic and mucosal adjuvant. Scand J Immunol., 49: 578-84.
- Vazquez-Padron RI. Gonzales-Cabrera J. Garcia-Tovar C. Neri-Bazan L. Lopez-Revilla R. Hernandez M. Moreno-Fierro L. de la Riva GA., 2000a. Cry1Ac protoxin from *Bacillus thuringiensis* sp. *kurstaki* HD73 binds to surface proteins in the mouse small intestine. Biochem Biophys Res Commun., 271:54-8.
- Vazquez-Padron RI. Moreno-Fierros L. Neri-Bazan L. Martinez-Gil AF. de-la-Riva GA. Lopez-Revilla R., 2000b. Characterization of the mucosal and systemic immune response induced by Cry1Ac protein from *Bacillus thuringiensis* HD 73 in mice. Braz J Med Biol Res., 33:147-55.