

Analyse d'aliments pour rats pour une étude de 6 mois

Feed analysis for a 6 month study in rats

Technical specifications

1 – GÉNÉRALITÉS

1.1 Objet de l'étude expérimentale (Background)

L'INRA en collaboration avec l'INSERM et l'ANSES développe une étude sur les effets potentiels à long terme de l'ingestion d'OGM chez le rat.

Ce programme de recherche considère que les analyses actuellement effectuées dans le cadre des études de toxicité à 90 jours conformément aux lignes directrices de l'OCDE et l'EFSA, pourraient inclure les concepts et technologies récentes, en vue d'optimiser leur caractère prédictif. Ces avancées récentes incluent les nouvelles analyses biologiques et physiologiques développées ces dernières années. Ce programme, en se basant sur ces techniques, vise à identifier des biomarqueurs précoces de toxicité pour améliorer la prédictivité des tests de toxicité à 90 jours des plantes génétiquement modifiées (PGM).

Dans cette optique, le programme inclut une étude expérimentale de 6 mois dans laquelle des rats nourris avec 2 maïs génétiquement modifiés seront comparés à leurs contrôles négatifs respectifs (nourris avec des maïs non-OGM génétiquement proches). Les rats seront exposés au MON 810 (maïs Bt) ou NK 603 (résistent au glyphosate) traité ou non à un herbicide contenant du glyphosate. L'objectif sera de suivre ces nouveaux paramètres exploratoires et d'étudier les variations entre les groupes de rats. Cependant, l'étude expérimentale devra se rapprocher le plus possible des protocoles de test de toxicité orale subchronique chez le rongeur : à 90 jours chez le rat (lignes directrices OCDE 408) et à 90 jours pour les doses répétées sur aliment entier (lignes directrices EFSA).

INRA in collaboration with INSERM and ANSES aims at developing an experimental design on the potential effect of GMO feeding in rats.

The present program considers that tests samples and analysis performed in the current rodent 90-days (90d) study according to OECD and EFSA guidelines may be able to evolve by exploiting the most advanced concepts and technologies, in order to optimize their predictive character. These changes include taking into account advances in biological and physiological testing and systems analysis in recent years. Based on these advances, the program aims at identifying early biomarkers of toxicity to improve the predictability of the rodent 90d studies applied to Genetically Modified Plants (GMP).

For this purpose, the program will conduct a **rat study during six months on groups of animals fed two GM maizes compared to groups of negative control animals** (animals fed with genetically close non-GMO maize). The animals will be exposed for a period of 6 months to MON 810 (Bt resistance) or NK603 (glyphosate resistance) treated or not by the glyphosate herbicide. The followed approach, namely the exploration of new

parameters for monitoring animals will be to identify variations between groups. Meanwhile, the animal trial will have to be as close as possible to subchronic oral toxicity rodent: 90 days study in rats according to OECD guideline 408 and EFSA guidance on conducting repeated dose 90 days oral toxicity study in rodents on whole food/feed.

1.2 Calendrier de la procédure (Indicative procedure timetable)

Le début de l'expérimentation est prévu en juillet 2015 (semaine 28), l'ensemble des analyses T0 devra être effectué avant cette date. Des analyses supplémentaires seront effectuées en fin d'expérimentation.

The beginning of experiment wanted is July 2015 (week 28), all analysis T0 must be performed before that date. Other analyses will be performed at the end of experiment.

1.3 Prestations à la charge du prestataire et limites de prestation (Provider's tasks and scope of the service) :

Le prestataire devra effectuer les analyses des 9 types de granulés avant le début de l'expérimentation et à la fin de l'expérimentation.

The service provider will analyse the 9 diets before the beginning of experiment and at the end of it.

2. DESCRIPTION DES ANALYSES (TECHNICAL SPECIFICATIONS FOR ANALYSIS)

2.1 MAÏS ET GRANULES (MAIZE AND PELLETS)

Cinq variétés de maïs seront utilisées pour la fabrication de 8 régimes alimentaires: NK 603, MON 810, variétés isogéniques associées non génétiquement modifiées et NK 603 cultivé avec du Roundup.

Les rats seront nourris en période d'acclimatation avec un régime contrôle puis avec l'un des 8 régimes expérimentaux.

La teneur en maïs des 8 régimes expérimentaux est la suivante : **tableau 1** ci-dessous.

Regimen	isogenic non GM MON810 (%)	MON810 (%)	isogenic non GM NK603 (%)	NK603 (%)	NK603+glyphosate (%)
1	33	0			
2	22	11			
3	0	33			
4			33	0	0
5			22	11	0
6			0	33	0
7			22	0	11
8			0	0	33
9 control diet					

Les 9 régimes (8+ 1 contrôle) devront être analysés avant le début de l'expérimentation et en fin d'expérimentation, après 6 mois. L'envoi des échantillons à analyser sera effectué par le producteur de granulés à T0 et par le CRO à T6 mois.

Five varieties will be used to produce the 8 diets: NK 603, MON 810, corresponding isogenic non GM varieties and NK 603 grown with Roundup.

Rats will be fed a control diet during acclimatization and one of the 8 experimental diet thereafter.

Maize content of each diet is detailed in Table 1.

The 9 diets (8+1 control diet) will have to be analysed before the beginning of experiment and at the end of it, 6 months later. The shipment of pellets samples will be done by the feed producer at T0 and by the CRO after 6 months.

2.2 ANALYSES (ANALYSIS)

La liste des analyses est la suivante :

List of analysis :

Specifics

Proximates, fibre : Moisture, crude protein, crude fat, ash, crude fiber, total dietary fibre, acid detergent fibre, neutral detergent fibre, carbohydrate by calculation

Total starch

Fatty acids : C8-C22 (minimum range)

Amino acids : Trp included

Sugars: raffinose, stachyose, glucose, fructose, sucrose, maltose, lactose

Minerals : Calcium, phosphorus, sodium, potassium, chloride, magnesium, zinc, manganese, copper, iodine, iron, selenium

Heavy metals : arsenic, cadmium, lead, mercury, Al

Vitamins, carotenoids : A, D3, E, K3, B1, B2, nicotinic acid, B6, pantothenic acid, B12, biotin, folate, choline

Phytic acid

Trypsin inhibitor

Lectins

Sterols: cholesterol, campesterol, β -sitosterol, stigmasterol

Phenolics: p-coumaric, ferulic acid, caffeic acid

Furfural

Isoflavones : daidzin, genistin, glycitein, glycitin, daidzein, genistein

Transgenic elements screen: 35S promoter, NOS terminator, FMV promoter, CP4 EPSPS (1),

Quantification of transgenic events: MON810, NK603

Cry1Ab protein

Nitrite and nitrate

Total PAHs

Pesticides : essential/frequently detected pesticides used in Europe/internationally or at the most regulatory executary list UE N°400/2014 from european commission (22 april 2014)

Mycotoxins: fumonisin B1,B2,B3, ochratoxin A, zearalenone, Aflatoxins B, deoxynivalenol (DON)

Bacteria*

Micro-organisms *

*Proposer une liste de routine. Les granulés seront sous vide et irradiés donc aucune contamination n'est attendue.
Propose a routine list. Pellets will be vacuum-sealed and irradiated, no contamination is expected.

Les analyses ne devront pas être BPL, la certification ISO 17025 and COFRAC serait un plus.

Un compte-rendu d'analyse sera envoyé au format pdf et excel (ou équivalent) sous forme de certificat d'analyse.

Analysis under GLP are not required, a certificate ISO 17025 and COFRAC would be a plus.

A certificate of analysis will be sent in pdf and excel (or equivalent) format.