

ARTIGO

DOI: 10.3395/2317-269X.00344

Organismos Geneticamente Modificados em alimentos: desafios metodológicos em função dos avanços tecnológicos e da rotulagem

Genetically Modified Organisms in Food: Methodological Challenges Based on Technological Advances and Labeling

Rafael Lawson-Ferreira¹Paola Cardarelli-Leite¹Renata Trotta Barroso Ferreira¹Maria Regina Branquinho^{1,*}

RESUMO

A extensão da área cultivada com plantas geneticamente modificadas e o desenvolvimento de novas construções genéticas que dão origem a novos eventos têm aumentado consideravelmente no Brasil e em todo mundo, e a tendência esperada é a continuação desse panorama. Neste artigo, foram apresentados os principais desafios enfrentados pelos analistas de alimentos, em especial os dos laboratórios de saúde pública, em função dos inúmeros avanços tecnológicos ocorridos no desenvolvimento das construções genéticas inseridas nas plantas, e as questões legislativas relativas à rotulagem desses alimentos. Foram considerados a necessidade de revisão do Decreto nº 4680/2003 de rotulagem, a carência e o alto custo no acesso dos materiais de referência a serem utilizados nas análises, a dificuldade de implantação de novas técnicas de triagem, de quantificação evento específicas assim como de sistemas de detecção de alto desempenho, e o restrito número de laboratórios oficiais atuando nessa área no Brasil. Para o enfrentamento desses desafios e consequente atuação mais efetiva dos órgãos de Vigilância Sanitária, serão necessários maiores investimentos tanto de recursos financeiros como recursos humanos.

PALAVRAS-CHAVE: OGM; Alimentos; Rotulagem; Detecção

ABSTRACT

The cultivated area and extent of genetically modified (GM) plants and the development of new genetic constructs that give rise to new events have considerably increased in Brazil as well as worldwide. This panorama is expected to continue. The main challenges faced by food analysts, particularly those from public health laboratories, arise from many technological advances in the inserted genetic constructs on plant development and legislative issues related to the labeling of these products. This article addresses the need to revise Decree 4680/2003 (labeling of GM foods), the lack and high cost of access to reference materials used in analyses, the difficulty in initiating new event-specific screening, quantitative techniques as well as high-throughput detection systems, and the limited number of official laboratories working in this area in Brazil. The shift in this analytical framework will require improved investments in financial and human resources for more effective sanitary surveillance actions.

KEYWORDS: GMO; Food; Labeling; Detection

¹ Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz (INCQS/ Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

* E-mail: mrbranquinho@hotmail.com

Recebido: 25 ago 2014

Aprovado: 17 nov 2014



INTRODUÇÃO E CONTEXTO

A biotecnologia e, em particular, a tecnologia do DNA recombinante podem ser utilizadas para produzir modificações genéticas que resultem em organismos com características distintas daquelas dos seus semelhantes não modificados. As sequências genéticas codificantes dessas alterações podem ser introduzidas em micro-organismos, plantas e animais.

A primeira aplicação comercial da técnica de transferência de genes ocorreu em 1982 com a aprovação, por agências regulatórias ao redor do mundo, da insulina humana recombinante para o tratamento da diabetes¹. Já a primeira aprovação comercial de um alimento geneticamente modificado (GM) ocorreu bem mais tarde, nos Estados Unidos em 1994, com o tomate “*Flavr Savr*”, de amadurecimento tardio, desenvolvido pela Calgene Inc².

No Brasil, de acordo com a Lei de Biossegurança, define-se Organismo Geneticamente Modificado (OGM) como o organismo cujo material genético tenha sido modificado por qualquer técnica de engenharia genética e a engenharia genética, por sua vez, é a atividade de produção e manipulação de moléculas recombinantes³.

Grande parte dos OGM lançados no mercado mundial são plantas. Sequências genéticas são introduzidas nas plantas por diferentes métodos e, mais comumente, pela transformação mediada por bactérias do gênero *Agrobacterium* ou por biobalística, produzindo os chamados eventos. As características introduzidas nas plantas são, até hoje, em sua grande maioria, a tolerância a herbicidas e a resistência a insetos. Entretanto, os eventos combinados, denominados “stacked events” (híbridos), produzidos por cruzamento de dois ou mais eventos com o objetivo de introduzir distintas características numa mesma planta, foram os que tiveram o maior crescimento nos últimos anos⁴.

No ano de 2013, foi registrado o 17º aumento anual consecutivo do cultivo de grãos manipulados por técnicas de biotecnologia no mundo, marcando um aumento de 100 vezes comparado ao primeiro ano de plantio - 1996. São 27 países que cultivam esses grãos sendo, em ordem decrescente, os Estados Unidos da América, Brasil, Argentina, Índia, Canadá, China, Paraguai, África do Sul, Paquistão, Uruguai, Bolívia, Filipinas, Austrália, Burkina Faso, República da União de Myanmar, Espanha, México, Colômbia, Sudão, Chile, Honduras, Portugal, Cuba, República Tcheca, Costa Rica, Romênia e Eslováquia. Os cinco primeiros concentram cerca de 90% da área plantada⁵.

Desde 1996, 35 países e a União Europeia (UE) concederam 2833 aprovações compreendendo 336 eventos transgênicos em 27 culturas de plantas GM para importação, alimentação humana e animal e para a liberação no meio ambiente, das quais 1321 para alimentação humana, 918 para alimentação animal e 599 para o plantio ou a liberação no meio ambiente. Os países que têm o maior número de aprovações são o Japão (198), EUA (165), Canadá (146), México (131) e Coreia do Sul (103). Os plantios com o maior número de eventos aprovados são o milho (130 em 27 países), algodão (49 em 22 países), batata (31 em 10 países), canola (30 em 12 países) e soja (27 em 26 países). Apesar do milho ser o cultivo com o maior

número de eventos aprovados, a soja tolerante à herbicida continua a ser o principal cultivo seguido por milho, algodão e canola⁵.

O ano de 2013 deu início, nos EUA, ao plantio de milho resistente à seca; também foi aprovado, na Indonésia, o plantio de cana-de-açúcar com essa mesma característica e Bangladesh aprovou o primeiro cultivo GM, a beringela resistente a insetos (Bt)⁵.

A extensão da área cultivada (atualmente com mais de 175 milhões de hectares) e o desenvolvimento de novas construções genéticas que dão origem a novos eventos e de híbridos têm aumentado consideravelmente em todo mundo, com tendência esperada de continuação desse panorama⁵.

No Brasil, quatro cultivos GM estão aprovados pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio), totalizando 37 eventos. São 19 eventos de milho, 12 de algodão, cinco de soja e um de feijão. Destacam-se a soja contendo genes combinados com resistência a insetos e tolerância a herbicidas (Intacta RR2 Pro), aprovada em 2010, e o feijão resistente ao vírus do mosaico dourado (Embrapa 5.1) desenvolvido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, aprovado em 2011. Além desses, vários outros eventos já se encontram em processo de avaliação, entre eles, a soja DAS81419-2, o milho MIR604 e o milho híbrido Bt11xMIR162xMIR604xGA21⁶.

A participação dos laboratórios de saúde pública brasileiros na análise de OGM em alimentos iniciou-se após a ocorrência de denúncias de institutos de defesa do consumidor de que produtos alimentícios continham soja transgênica, o que era proibido na época. O Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) passou a realizar as análises de detecção de soja transgênica por demanda do Ministério Público e de Vigilâncias Sanitárias de vários estados como o Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Bahia, entre outros. Os programas de análises realizados antes de 2005 constataram a presença da soja GM em várias categorias de alimentos⁷. Com a implantação das análises de quantificação no INCQS, outros programas foram estabelecidos nos anos seguintes para avaliar a implementação da legislação de rotulagem e a possível presença de eventos ainda não autorizados nos produtos alimentícios contendo soja e milho^{8,9,10}. Atualmente, tanto o INCQS, como o laboratório da Fundação Ezequiel Dias (FUNED) estão realizando estas análises. Outros trabalhos de instituições de ensino e pesquisa já foram publicados sobre avaliações da presença e percentual de OGM em alimentos comercializados sendo que a maioria constatou, assim como as análises feitas no INCQS, que grande parte dos produtos analisados não apresentava a rotulagem de acordo com a legislação vigente^{11,12,13,14,15,16,17,18}.

Este artigo se propõe a discutir os principais desafios enfrentados pelos analistas de alimentos em função dos inúmeros avanços tecnológicos ocorridos no desenvolvimento das construções genéticas inseridas nas plantas e também as questões legislativas relativas à rotulagem dos produtos alimentícios e rastreabilidade das matérias primas.



SITUAÇÃO ATUAL DA LEGISLAÇÃO DE ROTULAGEM

As primeiras regulamentações específicas para a rotulagem dos alimentos GM foram introduzidas pela União Europeia no final da década de 1990. Desde então, mais de 40 países estabeleceram seus próprios regulamentos para rastreamento e/ ou rotulagem de produtos GM¹⁹. No entanto, alguns princípios fundamentais da legislação de rotulagem de OGM são compartilhados entre os países. Em particular, há consenso sobre o princípio de que a rotulagem só se aplica àqueles OGM que foram submetidos a avaliações de risco e que tenham sido considerados seguros para o consumo humano, animal e para o meio ambiente. Desta forma, a rotulagem de alimentos GM não tem por objetivo substituir as avaliações de risco e segurança alimentar, ela serve, sim, como uma ferramenta adicional, complementar e potencialmente reguladora²⁰. Portanto, o objetivo geral da rotulagem é informar aos consumidores que um produto ou ingrediente alimentar é, contém ou provém de produtos ou ingredientes GM.

Três critérios principais podem ser usados para destacar as diferenças entre as várias abordagens de rotulagem de alimentos GM nos diferentes países: tipo de rotulagem (obrigatória x voluntária); âmbito da rotulagem (produto X processo); limite para rotulagem.

A primeira grande dicotomia separa países com diretrizes de rotulagem voluntária (por exemplo, Argentina, Canadá, Estados Unidos) de países com rotulagem obrigatória (por exemplo, Austrália, União Europeia, Japão, Coreia de Sul, Brasil, China). Normas de rotulagem voluntária simplesmente definem que o alimento pode, ou não, ser chamado geneticamente modificado, deixando para as empresas de alimentos decidirem se desejam exibir estas informações em seus produtos ou não. Em contraste, os regulamentos de rotulagem obrigatória exigem que as empresas mostrem se o produto/ ingrediente específico é ou contém material GM.

Entre os países com a rotulagem obrigatória, a segunda diferença diz respeito ao escopo da rotulagem. Países como a Austrália, Nova Zelândia e Japão aplicam a chamada “rotulagem baseada no produto” e outros como o Brasil, China e países da União Europeia aplicam a abordagem de “rotulagem baseada no processo”. No primeiro caso, apenas os produtos com traços detectáveis de materiais ou ingredientes GM são obrigatoriamente rotulados. No caso da “rotulagem baseada no processo”, qualquer produto produzido a partir de um OGM deverá ser obrigatoriamente rotulado, contendo ou não materiais GM no produto final. Isto significa que nestes países, produtos como óleos refinados são obrigados a ser rotulados, mesmo que os métodos atualmente disponíveis não sejam capazes de detectar vestígios significativos de proteínas ou mesmo de DNA recombinante no produto final.

Os limites de rotulagem foram inicialmente empregados em decorrência de contaminação incidental, seja pelo transporte, armazenagem dos grãos e outros processos e a definição de um limiar de rotulagem tem implicações óbvias sobre a necessidade de métodos de detecção quantitativa para atender às legislações vigentes.

Entre os países que adotam a rotulagem obrigatória, há diferenças significativas tanto quanto aos limites dos materiais GM presentes no alimento como para a aplicação desses limites somente para os principais ingredientes individualmente. Os limites variam entre 0,9%, 1% e 5% (União Europeia, Brasil e Japão, respectivamente) e China com nenhum limite (0%)^{21,22}.

No Brasil, a rotulagem é obrigatória segundo o Decreto nº 4.680/2003 que estabelece que os alimentos e ingredientes alimentares destinados ao consumo humano ou animal, embalados a granel ou *in natura*, que contenham ou que sejam produzidos a partir de OGM com presença acima do limite de 1% do produto, contenham a informação da natureza transgênica do produto. Adicionalmente, deve ser identificada também a espécie doadora do gene no local reservado para a identificação dos ingredientes²³. Desta maneira, nos produtos que contenham OGM além do limite estabelecido, os rótulos devem apresentar o símbolo definido pela Portaria nº 2.658 do Ministério da Justiça²⁴ adicionado de uma das expressões, dependendo do caso: “(nome do produto) transgênico”, “contém (nome do ingrediente ou ingredientes) transgênico(s)” ou “produto produzido a partir de (nome do produto) transgênico”. O Decreto nº 4.680/2003, assim como está redigido, não deixa claro alguns aspectos que são fundamentais, na área analítica, para verificação da aplicação do limite de 1% nos rótulos dos produtos alimentícios:

- no caso dos alimentos compostos por ingredientes derivados de diferentes cultivos (ex: milho e soja), o decreto não deixa claro se a avaliação de 1% deve ser feita por ingrediente ou sobre o produto em sua totalidade. Na União Europeia, por exemplo, a legislação é baseada em OGM individual. Assim, se o produto contém ingredientes GM diferentes (ex: milho, soja), cada um deles pode conter até 0,9% e, mesmo que a soma de ambos os ingredientes ultrapasse 0,9% (ex: 0,6% milho MON810 e 0,7% de soja RR), os requisitos de rotulagem não se aplicam. No entanto, se houver dois diferentes milhos GM presentes no produto, o seu conteúdo é somado (ex: 0,6% de MON810 e 0,7% de milho NK603) e o produto deverá ser rotulado.
- não há especificação da unidade de medida a ser utilizada na quantificação do OGM. No Japão, o limite é baseado na fração de massa como unidade de medida para quantificação do OGM, enquanto os requerimentos atuais da União Europeia e muitos outros países recomendam como unidade de medida o uso da “porcentagem de alvo GM por alvo específico da espécie correspondente em número de cópias de DNA, calculada em termos de genoma haploide”. Ambos conceitos apontam para dificuldades em sua aplicação.
- a obrigatoriedade da informação nos rótulos dos alimentos e ingredientes produzidos a partir de animais alimentados com ração contendo ingredientes transgênicos traz a questão da importância da implementação da cadeia de rastreabilidade, visto a incapacidade metodológica de detecção destes ingredientes.



NOVOS DESAFIOS NA DETECÇÃO DE OGM EM ALIMENTOS

Ensaio de avaliação da presença de OGM nos alimentos são baseados na detecção de sequências de DNA ou de proteínas recombinantes expressas, sendo essas moléculas os alvos que diferenciam os OGM de seus semelhantes não transgênicos.

A detecção de DNA é realizada utilizando métodos moleculares, em sua grande maioria baseados na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), enquanto que as proteínas são detectadas por métodos imunológicos.

Abordaremos, neste artigo, somente os métodos baseados na detecção de sequências de DNA, uma vez que são os mais largamente empregados na análise de alimentos.

A análise rotineira para pesquisa de OGM em alimentos é normalmente dividida em etapas cobrindo desde a preparação da amostra, extração e purificação do DNA, amplificação por PCR e avaliação dos dados, constituindo a chamada “abordagem modular”, uma vez que requisitos específicos de desempenho sejam seguidos²⁵. Este conceito visa o aumento da eficiência e a redução dos custos da análise. Após a preparação da amostra, extração e purificação do DNA, testes de triagem são realizados para verificar a provável presença de um OGM no produto e, em caso de resultados positivos, métodos evento específicos quantitativos são utilizados para quantificar os eventos, sendo a PCR em tempo real (qPCR) o método mais empregado.

Métodos de referência utilizando a qPCR para detecção, identificação e quantificação de inúmeros eventos encontram-se validados pela UE e disponíveis em bancos de dados²⁶.

Na quantificação por PCR em tempo real, o conteúdo de OGM em uma amostra é expresso pela relação entre o número de cópias de DNA recombinante e o número de cópias do DNA endógeno, específico da espécie, calculado em termos de genoma haploide²⁷. A sequência endógena deve estar presente em uma única cópia por genoma haploide, de forma estável, nas diversas linhagens de uma espécie da planta, e ser amplificada com a mesma eficiência do que o gene geneticamente modificado.

Os materiais de referência certificados (MRC) são fundamentais para a construção das curvas de calibração em análises quantitativas e consistem de farinhas contendo quantidades determinadas de OGM em material não GM; plasmídeos de DNA contendo um ou mais fragmentos alvo; sementes íntegras e DNA obtidos de folhas. Alguns materiais de referência (não certificados) oriundos de DNA genômico também são utilizados no controle das análises e nos ensaios de validação de métodos.

Devido ao crescente desenvolvimento e aprovação de novos eventos, a detecção de OGM enfrenta desafios cada vez maiores. Métodos validados que sejam rápidos, precisos e forneçam informações sobre as características dos OGM em alimentos assim como materiais de referência adequados são pré-requisitos para a criação de estratégias efetivas de detecção, quantificação e rastreabilidade de OGM.

O estabelecimento de bases de dados para pesquisa de informações sobre OGM é extremamente importante. Vários bancos de dados desenvolvidos por organismos internacionais relacionados com a segurança e avaliação de riscos, aplicação, desenvolvimento, rotulagem, regulação e métodos de análise podem ser citados, como os da União Europeia, Center of Environmental Risk Assessment (CERA), Crop Life International, por GMO Detection Method Database (GMDD), entre outros^{26,28,29,30,31}.

A tradicional estratégia da análise de OGM consiste, primeiramente, na realização de ensaios presuntivos visando à detecção dos elementos genéticos mais comumente utilizados nas construções seguidos pela identificação do evento por meio de ensaios evento específicos e a quantificação do OGM. Esta estratégia, entretanto, já encontra limitações devido ao constante aumento do número de eventos e à diversidade das novas construções e complexidade dos novos eventos que vêm sendo desenvolvidos e lançados no mercado. Portanto, novas abordagens têm sido apresentadas incluindo novas estratégias para a seleção do elemento genético a ser investigado, o uso de métodos de alto desempenho para detecção de múltiplos alvos e uso de modelos matemáticos e algoritmos que permitem a conversão de resultados analíticos em indicação da presença de potenciais OGM numa amostra de alimento³².

Pode-se destacar os métodos de multiplex-PCR em tempo real com sistema TaqMan® de detecção das sequências P-35S, T-NOS, CTP2-CP4EPS, *bar* e *pat*, comumente utilizadas nas construções, funcionando como método de triagem e para direcionamento das análises subsequentes³³.

A plataforma CoSYPS (“Combinatory SYBR® Green real-time PCR Screening”), desenvolvida pelo “Scientific Institute of Public Health” (IPH, Bélgica), se baseia, em linhas gerais, numa matriz com os dados referentes aos principais elementos genéticos possíveis de serem utilizados na construção das diversas plantas GM, aliada a PCR em tempo real com sistema SYBR® Green, e forma a base para a decisão do provável evento presente numa amostra^{34,35}.

Sistemas de qPCR baseados na plataforma Taqman® para detecção, identificação e quantificação de múltiplos eventos utilizando “placas prontas-para-uso” (“Real Time PCR based Ready-to-use Multitarget Analytical System”) já estão em uso na Europa³⁶. Estas placas de 96 reações contêm iniciadores e sondas já utilizados em métodos validados e servem para triagem e quantificação de até 39 eventos em sete espécies de plantas num mesmo ensaio.

Outro sistema também baseado nas “placas prontas-para-uso”, desenvolvido por Cottenet e colaboradores³⁷, utiliza placas de 384 reações de qPCR (Taqman®) e permite a detecção e quantificação de 47 alvos envolvendo elementos de triagem e evento específicos de até 7 amostras.

Assim como os sistemas desenvolvidos para detecção de múltiplos eventos numa só corrida de PCR em tempo real, outras tecnologias de alto desempenho já vêm sendo aplicadas como a dos microarranjos de DNA que consistem de sondas específicas imobilizadas



em suporte de vidro. Vários microarranjos já foram desenvolvidos para a detecção simultânea de eventos de milho, soja, genes endógenos e elementos genéticos comuns³⁸. Dentre esses sistemas, o Dual[®] Chip GMO PCR permite a identificação dos elementos genéticos P-35S, T-NOS, *pat*, *cry1A(b)*, EPSPS, P-NOS, *nptII*, os genes endógenos invertase (milho), cruciferina (canola), lectina (soja) e *rbc1*, um gene universal para plantas, e uma sonda específica para CaMV para controle da contaminação das plantas por esse vírus. Esse sistema permite a identificação de todos os eventos que tenham na sua estrutura o gene *cry1A(b)* e *epsps*^{39,40}.

Um dos mais promissores incrementos tecnológicos no que diz respeito ao PCR quantitativo foi o desenvolvimento do PCR digital (dPCR). A ideia por trás desta tecnologia é a quantificação absoluta do número de alvos que se encontram presentes numa amostra utilizando diluições limite e cálculos estatísticos. Pela contagem dos resultados positivos e negativos dessas diluições, pode-se calcular o número absoluto de cópias dos alvos inicialmente presentes numa amostra⁴¹.

O desenvolvimento de métodos analíticos mais rápidos, mais baratos e com maior desempenho, aliados à automação e quantificação, é uma tendência futura na análise de OGM em alimentos. Por outro lado, devido às atuais diferenças nos regulamentos de rotulagem entre os países, a padronização, a troca de informações e a cooperação internacional sobre métodos de análise de OGM são de grande importância não só para facilitar o monitoramento mas também para reduzir possíveis disputas pelo comércio global de alimentos¹⁹.

Um dos maiores desafios da análise de OGM se relaciona à detecção dos OGM não autorizados para uso em alimentos. Como no Brasil não existe requerimento legal para aceitação de baixos teores de eventos já aprovados em outros países, mas ainda sem parecer positivo da CTNBio, o achado de qualquer teor desse tipo de evento constitui-se ilegal. O comércio global entre países, as práticas incompletas de sanitização, a complexidade da cadeia de segregação de grãos e sementes e um provável escape nos testes de liberação planejada no campo, podem ser fontes desses OGM não autorizados⁴².

Sobre a detecção dos chamados eventos desconhecidos, os quais não foram oficialmente registrados em qualquer país, a dificuldade reside, principalmente, na falta de informações disponíveis sobre a sequência recombinante e seu devido local de inserção no genoma impedindo a elaboração de métodos evento específicos. Técnicas de alta complexidade (“fingerprint” do PCR de âncora) implementadas por Ruttink e colaboradores, em 2010, se mostraram úteis na pesquisa desses eventos⁴³.

Além das plantas, outros tipos de alimentos GM estão no mercado ou perto de serem comercializados⁴⁴. Além disso, algumas plantas e animais são usados para “molecular pharming”, ou seja, para a produção de proteínas farmacêuticas e produtos químicos⁴⁵. Cabe ressaltar que a grande maioria das vacinas, biofármacos e medicamentos à base de proteínas é produzida utilizando culturas de micro-organismos e células eucarióticas recombinantes em biorreatores⁴⁶.

Novas técnicas para o desenvolvimento de plantas e outros organismos estão em curso nos laboratórios de pesquisa. Nos OGM descritos e comercializados, os elementos genéticos introduzidos foram provenientes de um organismo doador de espécie diversa do receptor. No entanto, outros tipos de modificações podem ser utilizadas para alterar as características das plantas. Várias dessas técnicas já foram adotadas por produtores de plantas, como a cisgênese, que consiste na introdução de sequências de DNA recombinante totalmente derivadas da espécie receptora⁴⁷.

Estes novos OGM apresentam características mais diversas do que os atualmente comercializados, desafiando ainda mais os atuais métodos de detecção. Portanto, melhorias nas abordagens de detecção existentes e desenvolvimento de novas metodologias serão necessários para enfrentar estas situações⁴⁸.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise laboratorial dos alimentos geneticamente modificados tem como objetivos principais: a verificação dos requisitos legais de rotulagem; a verificação da presença de eventos não autorizados; o monitoramento pós-comercialização da cadeia produtiva a fim de possibilitar a detecção antecipada de possíveis efeitos adversos e demonstrar o cumprimento dos requerimentos internacionais de rastreabilidade de grãos e matérias-primas. Os laboratórios da rede pública de saúde atuam na avaliação dos três primeiros objetivos, sendo a avaliação da rastreabilidade dos grãos e matérias-primas de responsabilidade do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

Na questão legislativa, o Decreto nº 4.680/2003 estabelece a obrigatoriedade da rotulagem nos alimentos que contenham acima de 1% de OGM, visando proporcionar ao consumidor a informação das características e do processo que resultou o produto, a fim de distingui-lo de outros alimentos não geneticamente modificados. Para tanto, é importante conhecer a origem do produto, como foi produzido e de que substância ele é composto. Entretanto, encontramos várias lacunas no decreto que em muito influenciam a sua completa aplicação, tais como:

1. Não fica claro se a aplicação do limite de 1% deve ser feita por ingredientes individualmente ou sobre o produto em sua totalidade. Consideramos que, quando da sua criação, em 2003, o legislador não poderia imaginar o enorme salto quantitativo da indústria de grãos derivados da biotecnologia assim como a área plantada com culturas GM. Naquele momento havia somente regulações específicas para uma parcela de soja GM⁴⁹, inicialmente plantada de forma ilegal. Atualmente, já temos outros cultivos aprovados para comercialização (milho, algodão e feijão) e, logicamente, a avaliação tem que ser feita por ingredientes individuais, apesar deste ponto não estar claro na redação do decreto.
2. Não esclarece em que base deve ser feita a interpretação do percentual do conteúdo do OGM, podendo corresponder ao peso do ingrediente modificado em função do peso total do ingrediente ou ao percentual de alvo GM por alvo específico da espécie correspondente em número de cópias de DNA. Esta



é uma questão global, já que as legislações de rotulagem de outros países, inclusive as da União Europeia, também não esclarecem em que base deve ser feita essa interpretação.

Considerando-se também as questões metodológicas na interpretação dos limites dos teores, o estabelecimento do conteúdo relativo de um OGM em um produto com base na razão peso/peso do ingrediente implica na suposição de que existe uma proporcionalidade direta entre o peso do ingrediente e o número total de genes/genoma contido nele, que é o resultado obtido pelas metodologias usadas na quantificação dos teores. Portanto, a real dosagem molecular das sequências geneticamente modificadas *versus* ingrediente analisado pode variar muito, até mesmo em função da ploidia, se o evento é homocigoto ou heterocigoto e do número de inserções do genoma.

Além desses fatores de variação, ainda deve ser considerado que os grãos GM, e os não GM, que compõem o alimento, podem apresentar diferentes tamanhos de células devido a diferenças no conteúdo relativo de água que varia em função das formas de cultivo, colheita e secagem dos grãos ou que o conteúdo de DNA por célula difere devido a diferenças genéticas, o que pode criar uma considerável lacuna entre a unidade legal de medida (peso) e a unidade analítica de medida (número de cópias de DNA)²⁵.

Por ser a mais abrangente, adotamos a recomendação da UE de que a unidade de medida deve corresponder ao percentual de alvo GM em relação ao alvo específico da espécie em número de cópias de DNA, calculado em termos de genoma haplóide, apesar da quantificação por PCR em tempo real das sequências presentes em uma amostra não fornecer a real dosagem molecular dessas modificações.

3. Outro ponto de difícil consideração analítica é o artigo terceiro que estabelece a rotulagem de “alimentos e ingredientes produzidos a partir de animais alimentados com ração contendo ingredientes transgênicos”. Atualmente, não dispomos de metodologias analíticas para tal avaliação e apenas a rastreabilidade da cadeia produtiva das rações e suas matérias-primas podem evidenciar tais informações.

Tendo em vista esses aspectos, torna-se necessária uma revisão desse decreto em função da diversidade de plantas já autorizadas no Brasil e no avanço do conhecimento científico dos últimos anos para que os resultados das análises dos teores de OGM possam servir efetivamente para a tomada de ações concretas de vigilância sanitária.

Os Materiais de Referência Certificados (MRC) são utilizados nas análises como controles internos dos ensaios, para a construção das curvas de calibração nos ensaios de quantificação e na validação ou verificação dos métodos. Para a detecção dos eventos já aprovados no Brasil, existem os MRC produzidos pelo “European Reference Materials” (ERM) e pelo “American Oil Chemists Society” (AOCS), que são de alto custo e muitos necessitam de importação, o que traz uma dificuldade maior aos laboratórios de saúde pública. Infelizmente não existe, no Brasil, o compromisso das empresas produtoras das sementes GM em fornecer o material

de referência aos organismos governamentais responsáveis pela aprovação da comercialização (CTNBio) e aos laboratórios de controle dos produtos alimentícios (INCQS e Laboratórios Centrais).

Muitos fatores contribuem para o aumento da complexidade da detecção, identificação e quantificação dos OGM, entre eles a diversidade das espécies de plantas, a diversidade das construções inseridas, o aumento do cruzamento entre os eventos (híbridos) e o incremento do comércio entre países.

O uso de testes iniciais de triagem de detecção de elementos genéticos utilizados na maioria das construções dos eventos pode propiciar a discriminação rápida da amostra que contenha ou não um OGM, além de direcionar mais eficientemente sua identificação por métodos evento específicos. A ampliação da pesquisa dos atuais promotor P-35S e terminador T-NOS para outros elementos como, por exemplo, a pesquisa de sequências dos genes *bar*, *pat*, *cryI*, *epsps* por qPCR com sistema SYBR® Green, de menor custo entre as metodologias de PCR em tempo real, pode proporcionar um direcionamento na identificação da maioria dos eventos já aprovados e alguns não autorizados no Brasil. A utilização desses testes é uma das etapas da chamada abordagem “matriz de OGM” que já vem sendo aplicada pela maioria dos laboratórios oficiais em todo o mundo.

Entretanto, continuaremos com o problema da identificação dos chamados híbridos, pois estes são indistinguíveis metodologicamente, numa amostra de alimentos, da mistura dos eventos originários individuais.

Outro aspecto interessante é o da utilização dos chamados sistemas de detecção de alto desempenho, principalmente as “placas prontas-para-uso”. Apesar de já estarem em desenvolvimento há alguns anos, ainda não estão disponíveis comercialmente e o custo de produção deve ser alto. Acreditamos que uma vez disponibilizadas, os laboratórios de saúde pública deveriam investir na aquisição e posterior implantação desses sistemas.

Um grande desafio da análise de OGM está relacionado à detecção dos OGM não autorizados para uso em alimentos. Muitas vezes, a detecção desses eventos é ainda mais dificultada porque pode ser mascarada pela presença de eventos autorizados presentes na amostra do alimento, passando assim despercebidos na análise laboratorial. Para que os laboratórios possam superar esse desafio, o primeiro passo é que as informações sobre a distribuição dos produtos derivados de OGM nos mercados dos diversos países estejam disponíveis. A rápida aquisição das substâncias de referência bem como a implantação da matriz de triagem de OGM, aliada à utilização de métodos de detecção de alto desempenho, como as “placas prontas-para-uso”, poderiam ser o caminho para a obtenção de resultados mais efetivos.

Há que se considerar o custo-benefício do desenvolvimento, validação e implementação das metodologias analíticas atualmente disponíveis e a complexidade da análise em alimentos processados e relacioná-lo ao custo-benefício da análise e rastreabilidade das matérias-primas. De forma a atender a legislação e consequentemente ao direito do consumidor à informação, estratégias



de integração destas abordagens devem ser tomadas para diminuir o custo e aumentar a confiabilidade dos resultados, uma vez que no Brasil qualquer produto derivado de transgênicos deverá, obrigatoriamente, ser rotulado quando de sua entrada na cadeia produtiva de alimentos.

Encontrar a melhor forma de coexistência entre a análise de alimentos processados e a rastreabilidade de matérias-primas é, sob o nosso ponto de vista, o maior desafio para a análise de OGM no mundo e, principalmente, em países em desenvolvimento onde a cadeia de rastreabilidade ainda não está completamente implementada.

REFERÊNCIAS

1. Jhonson IS. Human insulin from recombinant DNA technology. *Science*. 1983;219(4585):632-7. <http://dx.doi.org/10.1126/science.6337396>
2. Kramer MG, Redenbaugh K. Commercialization of a tomato with an antisense polygalacturonase gene: The FLAVR SAVRTM tomato story. *Euphytica*. 1994;79(3):293-7. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00022530>
3. Brasil. Lei nº 11.105, de 24 de março 2005. Regulamenta os incisos II, IV e V do § 1o do art. 225 da Constituição Federal, estabelece normas de segurança e mecanismos de fiscalização de atividades que envolvam organismos geneticamente modificados - OGM e seus derivados, cria o Conselho Nacional de Biossegurança - CNBS, reestrutura a Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio, dispõe sobre a Política Nacional de Biossegurança - PNB, revoga a Lei no 8.974, de 5 de janeiro de 1995, e a Medida Provisória no 2.191-9, de 23 de agosto de 2001, e os arts. 5o, 6o, 7o, 8o, 9o, 10 e 16 da Lei no 10.814, de 15 de dezembro de 2003, e dá outras providências. *Diário Oficial União*. 28 mar 2005.
4. Waigmann E, Paoletti C, Davies H, Perry J, Karenlampi S, Kuiper H. Risk assessment of Genetically Modified Organisms (GMOs). *EFSA J*. 2012;10(10):s1008. <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2012.s1008>
5. James C. Global status of commercialized Biotech/GM crops: 2013. Ithaca: International Service for the Acquisition of Agrobiotech Applications; 2013. (ISAAA brief, vol 46).
6. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Comissão Técnica Nacional de Biossegurança. CTNBio. Brasília, DF: Comissão Técnica Nacional de Biossegurança; 2014 [citado em: 1 agosto 2014]. Disponível em: <http://www.ctnbio.gov.br/>
7. Cardarelli P, Branquinho MR, Ferreira RTB, Cruz FP, Gemal AL. Detection of GMO in food products in Brazil: the INCQS experience. *Food Control*. 2005;16(10):859-66. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.07.010>
8. Ferreira RTB, Branquinho MR, Cardarelli-Leite P. Soja geneticamente modificada em alimentos contendo farinha e preparados à base de farinha de trigo. Detecção e adequação à legislação de rotulagem. *Braz J Food Technol*. 2009;12(3):241-8. <http://dx.doi.org/10.4260/BJFT.2009800900018>
9. Branquinho MR, Ferreira RTB, Cardarelli-Leite P. Survey of compliance with labeling legislation in food containing GMOs in Brazil. *J Food Comp Analysis*. 2010;23(3):220-5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2009.09.004>
10. Branquinho MR, Gomes DMV, Ferreira RTB, Lawson-Ferreira R, Cardarelli-Leite P. Detection of genetically modified maize events in Brazilian maize-derived food products. *Food Sci Technol*. 2013;33(3):399-403. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612013005000063>
11. Marcelino FC, Guimarães MFM, Barros EG. Detecção e quantificação de alimentos geneticamente modificados: o panorama brasileiro. *Ceres*. 2007;54(313):240-50.
12. Marcelino FC, Guimarães MFM, Barros EG. Detection and quantification of Roundup Ready® soybean residues in sausage samples by conventional and real-time PCR. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2008;28(supl):38-45. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612008000500007>
13. Brod FCA, Arise ACM. Quantification of Roundup Ready® soybean in Brazilian soy-derived foods by real-time PCR. *Int J Food Sci Technol*. 2008;43(6):1027-32. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2007.01556.x>
14. Brod FCA, Ferrari CS, Valente LL, Arise ACM. Nested PCR detection of genetically modified soybean in soybean flour, infant formula and soymilk. *LWT Food Sci Technol*. 2007;40(4):748-51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2005.12.009>
15. Greiner R, Konietzny U. Presence of genetically modified maize and soy in food products sold commercially in Brazil from 2000 to 2005. *Food Control*. 2008;19(5):499-505. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.05.016>
16. Dinon AZ, Bosco KT, Arisi ACM. Monitoring of Bt11 and Bt176 genetically modified maize in food sold commercially in Brazil from 2005 to 2007. *J Sci Food Agric*. 2010;90(9):1566-9. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.3980>
17. Dinon AZ, Melo JE, Arisi ACM. Monitoring of MON810 genetically modified maize in foods in Brazil from 2005 to 2007. *J Food Comp Analysis*. 2008;21(6):515-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2008.04.008>
18. Dinon AZ, Treml D, Melo CS, Arisi ACM. Monitoring of GMO in Brazilian processed meat and soy-derived products from 2007 to 2008. *J Food Comp Analysis*. 2010;23(3):226-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2009.12.002>
19. Zhang D, Guo J. The development and standardization of testing methods for genetically modified organisms and their derived products. *J Integr Plant Biol*. 2011;53(7):539-51. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7909.2011.01060.x>
20. Zel J, Milavec M, Morisset D, Plan D, Van den Eede G, Gruden K. How to reliably test for GMOs. Berlin: Springer; 2012.
21. Gruere GP, Rao SR. A review of international labeling policies of genetically modified food to evaluate India's proposed rule. *AgBio Forum*. 2007;10(1):51-64.
22. Costa TEMM, Marin VA. Rotulagem de alimentos que contém Organismos Geneticamente Modificados: políticas internacionais e Legislação no Brasil. *Ciênc Saúde Coletiva*. 2011;16(8):3571-82. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232011000900025>



23. Brasil. Decreto nº 4.680, de 24 abril de 2003. Regulamenta o direito à informação, assegurado pela Lei nº 8.078, de 11 de setembro de 1990, quanto aos alimentos e ingredientes alimentares destinados ao consumo humano ou animal que contenham ou sejam produzidos a partir de organismos geneticamente modificados, sem prejuízo do cumprimento das demais normas aplicáveis. Diário Oficial União. 28 abr 2003.
24. Brasil. Portaria nº 2.658, de 22 dezembro de 2003. Define o símbolo de que trata o art. 2º, § 1º, do Decreto 4.680, de 24 de abril de 2003, na forma do anexo à presente portaria. Diário Oficial União. 26 dez 2003.
25. Holst-Jensen A, Berdal KG. The modular analytical procedure and validation approach and the units of measurement for genetically modified materials in foods and feeds. *J AOAC Int.* 2004;87(4):927-36.
26. European Commission, Joint Research Centre, European Union Reference Laboratory for GM Food and Feed. Status of dossiers. União Européia; 2014 [citado em 5 ago 2014]. Disponível em: <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/StatusOfDossiers.aspx>
27. Weighardt F. European GMO labeling thresholds impractical and unscientific. *Nat Biotechnol.* 2006;24(1):23-5. <http://dx.doi.org/10.1038/nbt0106-23b>
28. European Commission, Joint Research Centre, European Union Reference Laboratory for GM Food and Feed. GMOMethods: EU Database of reference methods for GMO analysis. União Européia; 2014 [citado em 5 ago 2014]. Disponível em: <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/gmomethods/>
29. Center for Environmental Risk Assessment. GM Crop Database. Washington, DC: Center for Environmental Risk Assessment; 2014 [citado em 5 ago 2014]. Disponível em: <http://www.cera-gmc.org/GMCropDatabase>
30. The CropLife International. The CropLife International detection methods database. Internacional: CropLife International; 2014 [citado em 5 ago 2014]. Disponível em: <http://www.detection-methods.com/>
31. Shanghai Jiao Tong University, GMO Detection Laboratory. GMO detection method database. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University; 2014 [citado em 5 ago 2014]. Disponível em: <http://gmdd.shgmo.org/>
32. Querci M, Van den Bulcke M, Zel J, Van den Eede G, Broll H. New approaches in GMO detection. *Anal Bioanal Chem.* 2010;396(6):1991-2002. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-009-3237-3>
33. Huber I, Block A, Sebah D, Debode F, Morrisset D, Grohmann L et al. Development and validation of duplex, triplex, and pentaplex real-time PCR screening assays for the detection of genetically modified organisms in food and feed. *J Agric Food Chem.* 2013;61(43):10293-301. <http://dx.doi.org/10.1021/jf402448>
34. Van den Bulcke M, Lievens A, Barbau-Piednoir E, Mbella GM, Roosens N, Sneyers M et al. A theoretical introduction to combinatory SYBR Green qPCR screening, a matrix-based approach for the detection of materials derived from genetically modified plants. *Anal Bioanal Chem.* 2010;396(6):2110-23. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-009-3286-7>
35. Barbau-Piednoir E, Stragier P, Roosens N, Mazzarra M, Savini C, Van den Eede G, et al. Inter-laboratory testing of GMO detection by combinatory SYBR Green PCR screening (CoSYPS). *Food Anal Methods.* 2014;7(8):1719-28. <http://dx.doi.org/10.1007/s12161-014-9837-3>
36. Querci M, Foti N, Bogni A, Kluga L, Broll H, Van den Eede G. Real-time-based ready-to-use multi-target analytical system for GMO detection. *Food Anal Methods.* 2009;2(4):325-36. <http://dx.doi.org/10.1007/s12161-009-9093-0>
37. Cottenet G, Blancpain C, Sonnard V, Chuah PF. Development and validation of a multiplex real-time PCR method to simultaneously detect 47 targets for the identification of genetically modified organisms. *Anal Bioanal Chem.* 2013;405(21):6831-44. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-013-7125-5>
38. Elenis DS, Kalogianni DP, Glynou K, Ioannou PC, Christopoulos TK. Advances in molecular techniques for the detection and quantification of genetically modified organisms. *Anal Bioanal Chem.* 2008;392(3):347-54. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-008-1868-4>
39. Leimanis S, Hamels S, Naze F, Mbella GM, Sneyers M, Hochegger R et al. Validation of the performance of a GMO multiplex screening assay based on microarray detection. *Eur Food Res Technol.* 2008;227(6):1621-32. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-008-0886-y>
40. Hamels S, Glouden T, Gillard K, Mazzara M, Debode F, Foti N et al. A PCR-microarray method for the screening of genetically modified organisms. *Eur Food Res Technol.* 2009;228(4):531-41. <http://dx.doi.org/10.1007/s00217-008-0960-5>
41. Milavec M, Dobnik D, Yang L, Zhang D, Gruden K, Jana Zel J. GMO quantification: valuable experience and insights for the future. *Anal Bioanal Chem.* 2014; <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-014-8077-0>
42. Holst-Jensen A, Bertheau Y, De Loose M, Grohmann L, Hamels S, Hougs L et al. Detecting un-authorized genetically modified organisms (GMOs) and derived materials. *Biotechnol Adv.* 2012;30(6):1318-35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.01.024>
43. Ruttink T, Demeyer R, Van Gulck E, Van Droogenbroeck B, Querci M, Taverniers I et al. M. Molecular toolbox for the identification of unknown genetically modified organisms. *Anal Bioanal Chem.* 2010;396(6):2073-89. <http://dx.doi.org/10.1007/s00216-009-3287-6>
44. Marris E. Transgenic fish go large. *Nature.* 2010;467(7313):259. <http://dx.doi.org/10.1038/467259a>
45. Faye L, Gomord V. Success stories in molecular farming: a brief overview. *Plant Biotechnol J.* 2010;8(5):525-8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1467-7652.2010.00521.x>
46. Berlec A, Strukelj B. Current state and recent advances in biopharmaceutical production in *Escherichia coli*, yeasts and mammalian cells. *J Ind Microbiol Biotechnol.* 2013;40(3-4):257-74. <http://dx.doi.org/10.1007/s10295-013-1235-0>



47. Broeders SRM, De Keersmaecker SCJ, Roosens NHC. How to deal with the upcoming challenges in GMO detection in food and feed. *J Biomed Biotechnol.* 2012; <http://dx.doi.org/10.1155/2012/402418>
48. Lusser M, Parisi C, Plan D, Rodríguez-Cerezo E. New plant breedings techniques: state-of-the-art and prospects for commercial development. Luxembourg: European Union; 2014 [citado em 3 ago 2014]. (JRC Scientific and technical reports). Disponível em: <http://ipts.jrc.ec.europa.eu/publications/pub.cfm?id=4100>
49. Brasil. Lei nº 10.688, de 13 de junho de 2003. Estabelece normas para a comercialização da produção de soja da safra de 2003 e dá outras providências. *Diário Oficial União.* 16 jun 2003.

Agradecimentos

Os autores agradecem o aporte financeiro da Fundação Oswaldo Cruz e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária.



Esta publicação está sob a licença Creative Commons Atribuição 3.0 não Adaptada.
Para ver uma cópia desta licença, visite http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR.