

AUTORES
AUTHORS

✉ **Edna Maria Morais OLIVEIRA**
Edson WATANABE

Embrapa Agroindústria de Alimentos
Av. das Américas 29.501, Guaratiba
CEP 23020-470 Rio de Janeiro-RJ

Victor Augustus MARIN

Pesquisador Visitante, DM, INCQS, Fiocruz
Bolsista Prodoc-CAPEs - Avenida Brasil, 4365,
Manguinhos - CEP 21045-900 Rio de Janeiro-RJ

RESUMO

O cultivo das plantas transgênicas tem sido incorporado à agricultura desde 1996. Existe consenso internacional no que diz respeito à avaliação da segurança alimentar destes novos produtos e, dentro deste contexto, está inserida a equivalência substancial, uma abordagem comparativa que permite a identificação de possíveis diferenças entre o organismo geneticamente modificado (OGM), ou transgênico, e seu análogo convencional. Dependendo do caso, testes adicionais relativos à toxicologia, alergenicidade, além da identificação e caracterização dos chamados efeitos não-intencionais, são também realizados. Neste trabalho, é abordada a avaliação da segurança alimentar de OGMs, assim como a importância da existência de sistemas de fiscalização eficientes antes, durante e após a liberação de um OGM no mercado, garantindo, assim, a saúde do consumidor.

SUMMARY

The cultivation of transgenic plants has been incorporated into agriculture since 1996 and there is international consensus regarding the food safety assessment of these new products. The concept of substantial equivalence, a comparative approach that allows for the identification of possible differences between the genetically modified organism (GMO) or transgenic product, and its conventional counterpart, is inserted into this context. Depending on the case, additional toxicological and allergenicity tests are carried out, as well as studies on the identification and characterization of the non-intentional effects. In this work, the evaluation of the food safety of GMOs and the importance of the existence of efficient systems of fiscalization before, during and after the release of a GMO onto the market in order to safeguard consumer health, is reviewed.

PALAVRAS-CHAVE
KEY WORDS

Engenharia genética; Organismo Geneticamente Modificado (OGM); Equivalência substancial; Segurança alimentar / Genetic engineering; Genetically Modified Organism (GMO); Substantial equivalence; Food safety.

1. INTRODUÇÃO

A qualidade e a disponibilidade de alimentos vêm sendo otimizadas ao longo dos anos, através da aplicação de vários métodos de melhoramento, incluindo a biotecnologia. Assim, os alimentos consumidos atualmente são resultado de alterações genéticas e fisiológicas de plantas selvagens, que foram obtidos através de técnicas como domesticação, seleção e hibridização, além da indução de mutações por irradiação ou pelo tratamento com substâncias mutagênicas. Desta forma, poucas plantas, talvez nenhuma, guardam semelhança com seus "ancestrais".

Dentro do universo da biotecnologia, a tecnologia do DNA recombinante é a mais recente tecnologia desenvolvida. Esta tecnologia utiliza técnicas de biologia molecular para modificar o genoma de organismos, de uma maneira impossível de ser feita através do melhoramento genético convencional. Existem duas diferenças principais entre o melhoramento genético convencional e o efetuado pela engenharia genética. Uma delas é que a engenharia genética é uma técnica com alvos definidos, onde ocorre a transferência de um único gene, ou de um conjunto definido de genes, para um outro organismo, enquanto o melhoramento convencional resulta na troca de grandes partes do genoma entre os organismos envolvidos. Além disso, na engenharia genética, não existe limitação de transferência de genes entre os diferentes reinos, como ocorre no melhoramento convencional, onde somente plantas de uma mesma família podem recombinar.

A engenharia genética se apresenta como uma promissora tecnologia no que se refere aos desafios relacionados à qualidade e à disponibilidade de alimentos. No entanto, como toda nova tecnologia, a engenharia genética traz incertezas relacionadas aos riscos à saúde humana devido ao consumo de alimentos geneticamente modificados (AGMs) e ao impacto no meio-ambiente. Esses riscos devem ser avaliados e monitorados por meio de sistemas de regulamentação com o objetivo de minimizar, ou mesmo anular, a possibilidade de um alimento não-seguro chegar ao consumidor (SCHILTER; CONSTABLE, 2002).

Segundo relatório da ISAAA (International Service for the Acquisition of Agri-Biotech Applications), a superfície mundial cultivada com Organismos Geneticamente Modificados (OGMs) aumentou 12% em 2002. De acordo com o relatório, este tipo de culturas obteve, pelo sexto ano consecutivo, um crescimento acima dos 10%, atingindo uma superfície total de cerca de 59 milhões de hectares. Mais de um quinto da superfície mundial das culturas de soja e algodão é atualmente formada por transgênicos (JAMES, 2002).

É importante ressaltar que OGM é o produto agrícola (grãos, frutas, hortaliças...) que sofre a modificação genética; e que AGM pode ser um OGM ou um alimento preparado à base de um OGM.

A circulação no mercado, ao longo dos anos, de alimentos derivados de OGMs, indica que a segurança da saúde humana e do meio-ambiente podem ser avaliados pelos

procedimentos disponíveis (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2000; FLANDERS INTERUNIVERSITY INSTITUTE FOR BIOTECHNOLOGY, 2001). Apesar disso, a liberação no mercado de novos produtos alimentícios derivados de OGMs é dificultada devido à preocupação do público consumidor, pois uma das maiores barreiras à aceitação dos AGMs é a falta de informação do consumidor que, quando em dúvida, assume uma posição contrária ao seu consumo.

Dentro deste contexto, o sistema que regula a liberação de AGMs deve atender às necessidades de informação e segurança do consumidor. Assim, se faz necessária a análise da segurança alimentar antes do produto geneticamente modificado ser lançado no mercado. Além disso, seria adequado o desenvolvimento de um programa de vigilância após o lançamento de produtos derivados de OGM, para garantir a segurança do consumidor. Desta forma, as agências reguladoras estariam garantindo ao consumidor o direito de escolha entre AGMs e alimentos não geneticamente modificados, através do estabelecimento de procedimentos de separação, rastreabilidade, detecção e rotulagem desses diferentes produtos (SCHILTER; CONSTABLE, 2002).

2. AVALIAÇÃO DA SEGURANÇA ALIMENTAR DE OGMs

2.1 Aspectos básicos

A avaliação da segurança de alimentos tradicionais ou convencionais é conduzida no sentido de definir componentes individuais e substâncias químicas que compõem apenas parte da dieta humana, como os aditivos, pesticidas e outros contaminantes (WHO, 1987). Dessa forma, são realizados estudos toxicológicos em animais, baseados em padrões de segurança para o homem. Esses padrões de segurança são derivados de níveis de ingestão segura para animais, onde o fator de segurança de 100 é geralmente adotado para contornar as diferenças entre as espécies e as variações individuais. A aplicação do fator de segurança implica numa dosagem de contaminantes para os animais-teste centenas de vezes maior que a exposição máxima tolerada para o homem (KUIPER et al., 2001).

No caso dos AGMs, esse fator de segurança não seria aplicável nos estudos de toxicologia, pois, para avaliar se um AGM seria tóxico ou não, a dieta do animal-teste deveria ser exclusivamente composta por este alimento. Com isso, os possíveis efeitos adversos observados poderiam estar relacionados ao desbalanceamento nutricional e não à modificação genética inserida no alimento testado (SCHILTER; CONSTABLE, 2002). Essa dificuldade também é encontrada na avaliação da segurança alimentar de novos produtos alimentícios e, principalmente, de ingredientes (JONAS et al., 1996; AUMAITRE et al., 2002).

2.2 Estratégias para a avaliação da segurança alimentar de OGMs

A introdução da engenharia genética no sistema de produção de alimentos, intensificou os esforços de instituições internacionais no sentido de propor estratégias para a avaliação da segurança dos AGMs. O primeiro artigo abordando o assunto foi publicado em 1990 pelo International Food Biotechnology Council (IFBC). A abordagem comparativa contida na publicação do IFBC serviu de base para que outras instituições pudessem elaborar normas e critérios internacionais para a avaliação da segurança dos AGMs. Dentre estas instituições, pode-se destacar a Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), a Food and Agriculture Administration (FAO) junto à World Health Organization (WHO) e o International Life Sciences Institute (ILSI).

A OECD introduziu o conceito de equivalência substancial (ES) no início dos anos 90, que foi formulado como uma ferramenta que permite a análise de segurança alimentar dos AGMs. Nos anos subseqüentes, as normas que regem a equivalência substancial foram reformuladas por vários órgãos, entre eles a OECD. O conceito de equivalência substancial é uma parte dentro de uma estrutura mais ampla, que trata da segurança alimentar dos OGMs. A equivalência substancial se baseia na idéia de que alimentos já existentes, os chamados convencionais, podem servir como base de comparação entre o AGM e o seu análogo convencional. Por exemplo, comparar uma soja convencional (não-transgênica) com a mesma soja convencional, só que com um gene exógeno inserido em seu genoma através da transgenia.

Os alimentos convencionais atualmente consumidos são considerados seguros devido ao seu histórico de uso seguro, embora seja de conhecimento geral que alimentos contêm fatores antinutricionais e toxinas que, se forem consumidos em grandes quantidades, podem causar danos à saúde humana. Com a aplicação do conceito de equivalência substancial, é possível determinar similaridades e diferenças entre o AGM e o seu análogo convencional. No entanto, isso não traz garantia da segurança alimentar do OGM, o que deve ser complementado com estudos toxicológicos adicionais, que devem ser conduzidos caso a caso.

Atualmente, o conceito de ES está associado quase que somente à avaliação de organismos geneticamente modificados, mas também poderia ser expandido para outros organismos geneticamente modificados ou organismos modificados por outras técnicas ou melhoramento tradicional.

Na avaliação da equivalência substancial, quando se compara o AGM e o seu análogo convencional, existem três situações:

- total equivalência entre o alimento GM e o seu análogo convencional;
- o alimento GM é substancialmente equivalente ao seu análogo convencional, com exceção da característica inserida;
- não há equivalência substancial entre o alimento GM e seu análogo.

Na constatação de total equivalência entre o AGM e o convencional não geneticamente modificado, o AGM é considerado seguro e não há necessidade de testes adicionais.

Quando a equivalência é verificada, mas a característica inserida constitui a diferença entre o AGM e o não geneticamente modificado, devem realizar-se testes adicionais relativos à nova proteína expressa. Estes testes adicionais são aplicados de acordo com a natureza da transformação genética que foi realizada. Assim, é necessário conhecer a natureza e a função da nova proteína, a possibilidade de ocorrência de efeitos não-intencionais e a transferência do(s) gene(s) inserido(s) para a microflora do intestino de animais, a alergenidade da nova proteína, além do papel desempenhado por este novo alimento na dieta. O fato do AGM não apresentar equivalência substancial com o seu análogo convencional não descarta a possibilidade de se conduzir novos testes para avaliar a segurança alimentar desse novo alimento. Dessa forma, um estudo caso a caso deve ser conduzido, levando-se em consideração as características do novo produto (KUIPER et al., 2001).

O ILSI Europa preparou um documento que enumera os dados necessários à avaliação da segurança alimentar de OGMs. Tais informações incluem os dados relativos ao inserto (DNA exógeno), o fenótipo do produto e a composição (incluindo a composição total, nutrientes, antinutrientes e toxinas). Dessa forma, a equivalência substancial entre o AGM e o seu análogo convencional pode ser determinada. Assim, como para a OECD e FAO/WHO, o ILSI considera também três situações relacionadas à equivalência substancial: substancialmente equivalente, suficientemente similar e não suficientemente similar. Para produtos, alimentos ou ingredientes, não substancialmente equivalentes, devem ser obtidos dados referentes à nutrição e toxicologia, além de análises de potencial alergênico que utilizam as ferramentas da bioinformática na busca de homologia com os alérgenos conhecidos em bancos de dados disponíveis (ILSI, 1995).

A FAO/WHO recomenda que a avaliação da segurança alimentar seja baseada no conceito de equivalência substancial. Para a FAO/WHO, os níveis de equivalência substancial e as etapas subseqüentes são semelhantes às normas estabelecidas pela OECD (OECD, 1997). O Codex Alimentarius é o órgão da FAO/WHO responsável pela harmonização internacional de padrões para alimentos, os quais são adotados pelos países participantes da Comissão do Codex Alimentarius. Existe um comitê do Codex que trata das questões relacionadas aos alimentos derivados da Biotecnologia, que possui a tarefa de desenvolver padrões, normas e outras recomendações para os AGMs.

2.3 Implicações práticas do conceito de equivalência substancial

A segurança dos alimentos convencionais está baseada no histórico de uso seguro ao longo do tempo. Sabe-se, porém, que os alimentos apresentam em sua composição fatores antinutricionais e toxinas (OECD, 1993a). Entretanto, muitos componentes dos alimentos podem trazer benefícios, como efeitos anticarcinogênicos (saponinas, glicosinolatos e isoflavonas) e ação preventiva sobre a osteoporose (isoflavona) e sobre a incidência de doenças cardio-vasculares (flavonóides). Sendo assim, a relação entre a composição do alimento e a saúde está extremamente relacionada com o

consumo de determinados constituintes, que podem causar efeitos positivos ou negativos (KUIPER et al., 2001; KUIPER et al., 2002a; KUIPER et al., 2002b; AUMAITRE et al., 2002; NAIR et al., 2002).

A avaliação da segurança alimentar de uma planta implica na comparação entre variedades geneticamente “próximas” e com variedades que já se encontram no mercado. Essa comparação engloba análises fenotípicas e de composição, e vem sendo usada com sucesso na avaliação da segurança de plantas melhoradas convencionalmente durante décadas. Esse procedimento, apesar de não apresentar critérios muito bem definidos, possibilitaram a produção de novas variedades que não apresentaram riscos aparentes ao consumidor (WHO, 1995).

A análise da composição vem embasando a avaliação da segurança alimentar dos alimentos derivados de OGMs. Diversos trabalhos científicos já relataram a análise composicional de variedades geneticamente modificadas (Tabela 1). Em 2001, a OECD elaborou documentos com as

normas que orientam a inclusão dos teores de nutrientes e anti-nutrientes nas análises dos OGMs. Outras análises podem se fazer necessárias, dependendo do tipo de alteração genética, ou para que análises mais minuciosas sejam conduzidas e possíveis diferenças sejam detectadas.

Para a avaliação da equivalência substancial, o análogo da planta geneticamente modificada deve ser, preferencialmente, um parental direto. Tal fato pode não ocorrer para todos os casos. Assim sendo, a OECD recomenda o uso de controles que possam determinar se qualquer diferença detectada é efeito da alteração genética efetuada (OECD, 1993a; AUMAITRE et al., 2002; NAIR et al., 2002). Dessa forma, para conduzir a análise composicional, as plantas geneticamente modificadas e seus análogos convencionais devem ser cultivados sob as mesmas condições ambientais (solo, clima, etc), pois tais condições podem ocasionar diferenças significativas na composição, o que não estaria relacionado à alteração genética.

TABELA 1. Análise composicional de variedades geneticamente modificadas.

Variedade	Fenótipo	Parâmetros testados *
Canola	Alto teor de ácido láurico	AA, AE, AG, GL
Canola GT73	Resistente a herbicida (glifosato)	AA, AE, AG, GL, MI, PA, PX, SI
Algodão 1445	Resistente a herbicida (glifosato)	AA, AG, GP, MT, PX, TF
Algodão	Resistente a herbicida (bromoxinil)	AA, CP, AG, GP
Milho GA21	Resistente a herbicida (glifosato)	AA, AG, MI, PX
Milho	Resistente a herbicida (glufosinato)	AA, AG, PX, AR
Milho	Resistente a inseto (Cry1Ab)	AA, AG, MI, PX
Milho	Resistente a inseto (Cry1Ab)	MT, PX
Milho Bt176	Resistente a inseto (Cry1Ab)	AA, MT, PX
Milho Bt176	Resistente a inseto (Cry1Ab)	AA, AG, MI, PX, AR
Milho MON810	Resistente a inseto (Cry1Ab)	AA, AG, MI, AF, PX, AR, TF, IT
Batata	Resistente a herbicida (clorosulfurona)	AA, PX
Batata	Resistente a inseto (Cry3A)	GA, MI, PX, VI
Arroz	Presença de glicina de soja	AA, AG, MI, PX, VI
Soja GTS 40-3-2	Resistente a herbicida (glifosato)	AA, AG, IF, LE, AF, PX, SR, IT, UR
Soja GTS 40-3-2	Resistente a herbicida (glifosato)	IF
Soja	Altos teores de ácido olêico	AA, AG, IF, MI, AF, PX, SR, IT, VI
Abóbora	Resistente a vírus (ZYMV, WWMV2)	MI, PX, AR, VI
Beterraba	Resistente a herbicida (glifosinato)	PX
Tomate	Resistente a inseto (Cry1Ab)	AA, MI, PX, TO, VI
Tomate (Flavr Savr)	Poligalacturonase antisense	MI, PR, TO, VI

***Abreviaturas:** AA, aminoácidos; CP, ciclopropenoides (ácidos graxos); AE, ácido erúgico; AG, ácidos graxos; GA, glicoalcaloides; GP, gossipol; IF, isoflavonas; LE, lecitinas; MI, minerais; MT, micotoxinas; AF, ácido fítico; PR, proteínas; PX, proximatós (proteínas, gorduras, cinzas, fibras, carboidratos); SI, sinapina; SR, staquiose e rafinose; AR, açúcares; TF, tocoferol(s); IT, inibidor de tripsina; TO, alfa-tomatina; UR, urease; VI, vitaminas. Fonte: KUIPER et al. (2001)

É importante salientar que a variedade geneticamente modificada seja cultivada em diferentes condições ambientais e diferentes estações do ano, para que diferenças metabólicas possam ser detectadas, explicando possíveis diferenças na composição do alimento. Um exemplo clássico é o aumento significativo dos teores de glicoalcalóides em batata e tomate, dependendo das condições de cultivo. Além disso, deve-se levar em consideração a variabilidade natural na composição dentro de uma mesma variedade. Para evitar barreiras comerciais, estabeleceu-se uma padronização internacional dos dados de composição requeridos para a análise da equivalência substancial (KUIPER et al., 2001; KUIPER et al., 2002a; KUIPER et al., 2002b; AUMAITRE et al., 2002; NAIR et al., 2002). Com isso, caso a variedade geneticamente modificada apresente diferenças na composição, em comparação ao seu análogo convencional, não significa que essa nova variedade seja nociva à saúde humana. Assim, testes adicionais devem ser realizados caso a caso, para estabelecer a segurança do AGM.

2.4 Avaliação de riscos

• Avaliação da segurança de aditivos e contaminantes em alimentos

A segurança de aditivos, resíduos de pesticidas, de drogas veterinárias e de contaminantes está baseada na identificação do perigo, na caracterização do perigo e na avaliação do grau de exposição a este perigo. O perigo é definido como o potencial de um agente químico em causar efeitos nocivos; o risco é uma função da probabilidade de um efeito adverso ocorrer devido à presença do composto perigoso encontrado no alimento, além da severidade deste efeito adverso (exposição x toxicidade). Portanto, o risco é a probabilidade do perigo ocorrer (FAO/WHO, 1995).

Em 1993, a OECD elaborou protocolos de testes padronizados para avaliar a toxicidade de aditivos e contaminantes. Estes testes são geralmente conduzidos em modelos animais. Dependendo dos dados disponíveis e da substância em estudo, maiores ou menores fatores de segurança devem ser adotados. Assim, é provável que o uso de uma larga faixa de aceitação para o estabelecimento de padrões de ingestão diária aceitável (IDA) superestime o real risco envolvido. Essa medida pode ser considerada como uma abordagem inicial de segurança (OECD, 1993a; OECD, 1993b).

• Avaliação da segurança de alimentos (não-processados)

Os alimentos são constituídos de macro e micronutrientes, antinutrientes e toxinas naturais. Sendo assim, a avaliação da segurança descrita anteriormente para um composto químico isolado fica impraticável. Os alimentos possuem componentes tóxicos, onde a margem de segurança entre a ingestão segura e os possíveis efeitos adversos é muito pequena. Um bom exemplo é o caso da dose recomendada de vitamina A para mulheres grávidas, que é de 1mg/dia,

enquanto o nível estimado para a ingestão segura é de 3mg/dia; os efeitos teratogênicos aparecem quando a ingestão é de 7,5mg/dia (ROTHMAN, 1995).

Os testes em animais devem ser orientados no sentido de não superdosar os alimentos, o que pode causar um desbalanceamento nutricional na dieta do animal, mascarando os efeitos de qualquer alteração inserida no alimento. Assim, estabeleceu-se que a dosagem máxima seria a quantidade máxima do novo alimento que pode ser incluída na dieta do animal-teste, e a dosagem mínima deve ser similar à quantidade que seria ingerida na dieta humana (OECD, 1996).

A duração mínima recomendada pela FAO/WHO (2000) para os testes com animais é de 90 dias, com possibilidade de se prolongar por mais 90 dias em caso de observação de algum efeito adverso. Além disso, os testes de segurança do alimento devem ser realizados em paralelo com estudos de toxicidade de constituintes específicos e isolados.

• Avaliação da exposição e o papel da dieta

A introdução no mercado de novas variedades, ou novos alimentos, oriundos de melhoramento convencional ou através da biotecnologia, deve levar em conta o estado nutricional de grupos de consumidores e da população em geral. Isso porque existem hábitos alimentares bastante diversificados em determinadas regiões, o que pode promover uma maior ou menor exposição ao risco. Esta questão torna-se mais crítica quando diferentes variedades apresentam as mesmas proteínas transgênicas, ou um ingrediente derivado de OGM é componente de diferentes produtos alimentícios. Dessa forma, se faz necessário a elaboração de um banco de dados contendo os hábitos alimentares da população em questão (HINO, 2002).

• Estudos com animais de grande porte

Um outro componente muito importante na avaliação de segurança de AGMs, além dos estudos de composição e da avaliação de segurança da nova proteína introduzida, expressa pelo gene inserido, consiste na avaliação de sua equivalência nutricional, realizada através de estudos em que animais são alimentados com rações produzidas a partir do organismo geneticamente modificado (SIDHU et al., 2000).

Por exemplo, no caso da soja, uma vez que esta constitui a principal fonte de proteína na dieta da maioria dos animais de fazenda, podem ser utilizados animais como gado leiteiro, porcos e frangos, que são alimentados com rações contendo grãos de soja moídos ou processados. Assim, são avaliados fatores como: consumo de ração, ganho de peso, expectativa de vida, peso do peito (no caso de frangos), produção e composição do leite (no caso de gado leiteiro), além da avaliação de patologias gerais etc. Normalmente, este tipo de estudo não é utilizado para avaliar a qualidade de novas variedades de soja desenvolvidas através de técnicas convencionais de melhoramento genético (HAMMOND et al., 1996).

No caso da soja tolerante a um herbicida específico, estudos com animais (gado leiteiro, frangos, ratos e peixes) foram conduzidos com a finalidade de prover suporte adicional à aceitação comercial dessa nova variedade de soja, embora sua equivalência a variedades comerciais já tivesse sido confirmada através de estudos de composição. Neste estudo, a linhagem parental não modificada foi comparada com duas linhagens geneticamente modificadas. Foi constatado que as linhagens de soja geneticamente modificadas são nutricionalmente equivalentes à linhagem parental, ou seja, a incorporação genética da tolerância ao herbicida não altera a "saudabilidade" da linhagem parental (HAMMOND et al., 1996).

Em um outro estudo, milho geneticamente modificado tolerante a herbicida foi utilizado na ração de frangos (50-60% p/p). Concluiu-se que o milho geneticamente modificado é tão seguro e nutritivo quanto o milho convencional (não modificado) (SIDHU et al., 2000).

2.5 Avaliação de segurança de alimentos geneticamente modificados

• Avaliação da segurança das novas proteínas expressas - Alergenicidade

Havendo equivalência substancial entre o OGM e o seu análogo convencional, com exceção da nova característica inserida, estudos adicionais com enfoque nesta característica devem ser conduzidos. Algumas análises são consideradas suficientes para garantir a segurança dos novos alimentos, como a verificação da homologia da seqüência de aminoácidos (estrutura primária) da nova proteína expressa, com a de proteínas sabidamente alergênicas e da digestibilidade proteolítica sob condições que simulam a digestão de mamíferos (FAO/WHO, 1996). No entanto, existem circunstâncias em que outros testes se fazem necessários, tais como a análise da especificidade e o modo de ação da proteína, possibilidade da proteína estar envolvida com efeitos tóxicos nos mamíferos ou se a estrutura primária da proteína sofre modificações naturais, mobilidade eletroforética, imunoreatividade com anticorpos poli e monoclonais e possíveis variações pós-traducionais (glicosilações, acetilações ou fosforilações) (WHO, 2000).

O potencial alergênico das novas proteínas expressas por variedades geneticamente modificadas é a principal preocupação no que se refere à segurança alimentar destes produtos, principalmente se não há histórico de alergenicidade de tais proteínas. Um exemplo clássico de proteínas expressas por variedades geneticamente modificadas são as proteínas (Cry) de *Bacillus thuringiensis*.

As proteínas Cry têm sido introduzidas nas plantas GM para conferir às novas variedades propriedades inseticidas contra larvas de determinados insetos. O mecanismo de ação dessas proteínas baseia-se na ligação específica proteína-receptor das células epiteliais do intestino da larva do inseto. Esta ação provoca a formação de poros e, conseqüentemente, ocorre a lise celular, seguida de morte por privação nutricional.

Na análise dessas proteínas, além dos testes relacionados anteriormente, as mesmas foram avaliadas quanto à capacidade de ligação com tecidos do trato intestinal

(ensaio in vitro) de roedores e de primatas, inclusive de humanos (EPA, 2000a; NOTEBORN, 1995). Após a análise dos resultados, verificou-se que não há presença de receptores específicos em tecidos de mamíferos.

Outro exemplo é a avaliação do risco da proteína Cry9C (68 kDa) de *B. thuringiensis* (subespécie *tolworthii*), que foi expressa no milho, produzindo o evento milho StarLink™, utilizado como ração animal. Esta proteína apresentou características semelhantes às proteínas alergênicas já conhecidas, como o peso molecular, resistência ao ataque proteolítico do suco gástrico e ao tratamento ácido e térmico. A proteína induz uma resposta positiva ao IgE, e pode ser encontrada intacta na corrente sanguínea de ratos alimentados com este evento. No entanto, a sua seqüência de aminoácidos não possui nenhuma homologia com outras proteínas alergênicas ou toxinas. Além disso, o extrato protéico do milho convencional e do StarLink™ se mostraram semelhantes quanto à reatividade contra soro de pacientes alérgicos a milho ou a outros alimentos. Diante do exposto e em conseqüência de dúvidas metodológicas, ainda não há um parecer conclusivo da possível alergenicidade da Cry9C (EPA, 2000a; EPA, 2000b; CDC, 2001).

Outra experiência com proteínas com potencial de alergenicidade é o caso da introdução da subunidade 2S-albumina da castanha-do-Brasil (*Bertholettia excelsa*), para ser expressa em soja. O objetivo da transformação era produzir uma soja com maiores níveis de metionina, aumentando o valor nutricional do produto, que seria utilizado como ração animal. Entretanto, muitos consumidores apresentam reações alérgicas à castanha. O soro destes consumidores alérgicos apresentou reatividade com a proteína. Sendo assim, o desenvolvimento da soja rica em metionina foi cancelado. Vale a pena salientar que o cancelamento foi devido à alergenicidade apresentada pela castanha e não ao gene que codifica para a proteína alergênica.

• Avaliação da segurança da ingestão de alimentos geneticamente modificados

Diversos estudos têm sido realizados no sentido de acompanhar o desenvolvimento de animais alimentados com rações ou alimentos contendo OGMs e a avaliação de sistemas in vitro, que simulem as condições gastrintestinais de humanos (HERITAGE, 2002). Os parâmetros avaliados estão apresentados na Tabela 2. Na quase totalidade destes estudos, não foram verificados efeitos adversos, patologias ou histopatologias anormais.

• Detecção e caracterização de efeitos não-intencionais

Quando seqüências de DNA específicas são inseridas no genoma de uma planta, produzindo o chamado efeito intencional (alvo), outras alterações neste genoma podem ocorrer (disrupção de genes, silenciamento ou ativação de outros), como resultado da formação de novos metabólitos ou da alteração dos níveis de metabólitos já existentes. Essas alterações inesperadas são chamadas de efeitos não-intencionais (não-alvos) (TURK; SMEEKENS 1999; DUECK et al., 1998).

TABELA 2. Análises de toxicidade utilizando alimentos geneticamente modificados^a.

Variedade	Evento	Animal	Duração	Parâmetros
Semente de algodão	Endotoxin Bt	Rato	28 dias	Peso, digestibilidade, histopatologia dos órgãos, análise do sangue
Milho	Endotoxina Cry9c (B. thuringiensis var. tolworth)	Homem		Reatividade com soro
Batata	Lectina (Galanthus nivalis)	Rato	10 dias	Histopatologia de intestinos
Batata	Endotoxina Cry1	Rato	14 dias	Histopatologia de intestino
Batata	Glicinina (soja, Glycine max)	Rato	28 dias	Consumo, peso, análise do sangue, contagem de células somáticas, peso dos órgãos, histopatologia de fígado e rins
Arroz	Glicinina (soja, Glycine max)	Rato	28 dias	Consumo, peso, análise do sangue, contagem de células somáticas, peso dos órgãos, histopatologia de fígado e rins
Arroz	Acetiltransferase fosfinotricina (Streptomyces hygroscopicus)	Rato	Aguda e 30 dias	Consumo, peso, Dosagem Letal Média, análise do sangue, peso dos órgãos, histopatologia
Soja GTS 40-3-2	CP4 EPSPS (Agrobacterium)	Rato	105 dias	Consumo, peso, histopatologia de intestino e níveis de IgE e IgG, reatividade com soro
Soja GTS 40-3-2	CP4 EPSPS (Agrobacterium)	Homem		Reatividade com soro de pacientes alérgicos a soja
Soja GTS 40-3-2	CP4 EPSPS (Agrobacterium)	Rato	150 dias	Análise do sangue, composição da urina, atividade de enzimas hepáticas
Soja	2S Albumina (Castanha do Brasil, Bertholetta excelsa)	Homem		Reatividade com soro de pacientes alérgicos a castanha do Brasil
Tomate	Endotoxina Cry1Ab (B. thuringiensis var. kurstaki)	Rato	91 dias	Consumo, peso, peso dos órgãos, análise do sangue, histopatologia
Tomate	Poligalacturonase anti-sensi (tomate, Lycopersicon esculentum)	Rato	28 dias	Consumo, peso, peso dos órgãos, análise do sangue, histopatologia

^aDados disponíveis em trabalhos publicados^b Teste adicional de mutagenicidade
Fonte: KUIPER et al. (2001)

A identificação dos efeitos não-intencionais pode ser conduzida através da análise das características agrônômicas/morfológicas da nova variedade, além das análises de nutrientes-chave, antinutrientes e toxinas naturais (Tabela 3).

Algumas vezes, pode-se predeterminar quais seriam os possíveis efeitos não-intencionais através do conhecimento do fragmento de inserção, da função da proteína que será expressa ou da sua participação nas vias metabólicas. No entanto, muitos dos efeitos não-intencionais são impossíveis de serem previstos devido ao desconhecimento das interações gene-gene, da regulação da expressão gênica e da existência de regulações cruzadas, os efeitos pleiotrópicos (YE et al., 2000).

Vale ressaltar que a ocorrência de efeitos não-intencionais não é exclusividade dos OGMs. Nos alimentos obtidos por métodos convencionais é comum a detecção dessas alterações adversas.

As limitações destas análises podem estar relacionadas à ocorrência de toxinas e antinutrientes desconhecidos e à disponibilidade de métodos de detecção adequados. Para identificar possíveis efeitos não-intencionais, são utilizadas diferentes abordagens: a análise de um composto específico,

a análise de um perfil composicional, perfilamento (fingerprinting), análise a nível de DNA, análise da expressão gênica, análise proteômica e análise do metaboloma.

Análise de compostos específicos

A análise de compostos específicos se baseia na análise de nutrientes-chave como proteínas, carboidratos, gorduras, vitaminas e outros componentes que, se sofrerem alguma alteração não-intencional, podem afetar o valor nutricional e a segurança do novo alimento em estudo. Para a seleção desses compostos, deve-se considerar a variedade modificada, a estrutura e função do gene inserido e a possibilidade de interferência do produto destes genes inseridos nas vias metabólicas, como pode ser ilustrado na Figura 1.

Análise por perfilamento

A análise por perfilamento foi desenvolvida para a identificação de mudanças na fisiologia do organismo receptor, alvo da modificação genética. Essas mudanças podem ocorrer em vários níveis: de integração celular, de DNA, de expressão gênica, de tradução de proteínas e de alterações nas vias metabólicas (KUIPER et al., 2001).

TABELA 3. Efeitos não-intencionais em variedades geneticamente modificadas.

Planta Receptora	Característica	Efeito não-intencional
Canola	Super expressão de fitoeno-sintase	Alterações múltiplas no metabolismo (tocoferol, clorofila, ácidos graxos, fitoeno)
Batata	Expressão de invertase de levedura	Redução do conteúdo de glicocalcóide (-37%-48%)
Batata	Expressão de glicinina de soja	Aumento do conteúdo de glicocalcóide (+ 16%-88%)
Batata	Expressão de levansucrase bacteriana	Perturbações adversas nos tecidos tubários e no transporte de carboidrato no floema
Arroz	Expressão de glicinina de soja	Aumento do conteúdo de vitamina B6 (+ 50%)
Arroz	Expressão de polivitamina A Via de biossíntese	Formação inesperada de derivados de carotenóide (beta-caroteno, luteína, zeaxantina)
Soja	Expressão de resistência a glifosato (EPSPS)	Alto teor de lignina (20%) em solos sob temperatura normal (20°C), talos rompidos e redução no rendimento em solos sob altas temperaturas (45°C).
Trigo	Expressão de glicose oxidase	Fitotoxicidade
Trigo	Expressão de fosfatidil serina sintase	Lesões necróticas

Fonte: KUIPER et al. (2001)

Análise de efeitos não-intencionais

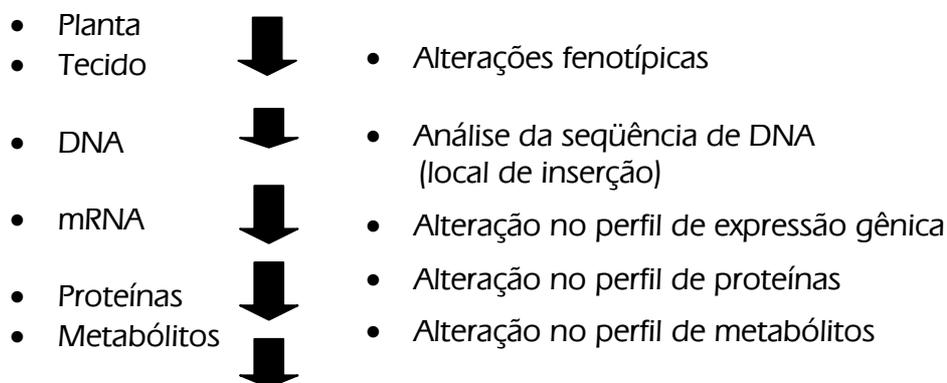


FIGURA1. Diferentes níveis de integração para a detecção de efeitos não-intencionais (KUIPER et al., 2001).

Muitos são os fatores que interferem nas propriedades agronômicas, morfológicas e fisiológicas de uma variedade alimentar, como as características genéticas, os fatores agrônômicos (solo, uso de fertilizantes, etc), influências ambientais (localização, clima, hora do dia e estresses), interações micróbio-planta, estágio de maturidade da planta, além dos efeitos da pós-colheita (armazenamento, transporte, distribuição, patologias, etc.).

O estudo dos efeitos não-intencionais já vem sendo realizado nos produtos agrícolas que chegaram ao mercado nos últimos cinco anos como resultado da “primeira onda” da engenharia genética. Esses produtos, que apresentam características como tolerância a herbicidas e resistência a

insetos, apresentaram pequenos benefícios aos consumidores. A busca dos efeitos não-intencionais nos OGMs será ainda mais importante no momento que os OGMs da “segunda onda” (alimentos funcionais) entrarem no mercado, trazendo produtos com novas características, que promovem melhoras na saúde do consumidor, como a soja com alto conteúdo de ácido oléico. Além disso, a maior revolução na produção agrícola é esperada com a “terceira onda” (bio-fábricas), que trará produtos contendo medicamentos e outros componentes importantes para a saúde humana e produção animal, o que poderia resultar numa “revolução da saúde” promovida por produtos geneticamente modificados (PORTUGAL, 2001).

Análise de DNA

A abordagem mais direta para a identificação de efeitos intencionais e não-intencionais é a localização e a caracterização do local de inserção do transgene na planta receptora. Assim, é necessário buscar dados das seqüências que flanqueiam o sítio de inserção do transgene, através do seqüenciamento. Além do seqüenciamento, a localização e a estrutura do transgene podem ser identificadas através de metodologias como hibridização *in situ* e hibridização *in situ* por fluorescência (SPERTINI et al., 1999; IGLESIAS et al., 1997; PEDERSEN et al., 1997).

Análise da expressão gênica

O estudo da expressão gênica tem sido realizado com sucesso através da tecnologia microarray, que se baseia na hibridização de moléculas de RNA mensageiro (RNAm) de amostras em estudo com seqüências-alvo imobilizadas em spots definidos e ordenados. Antes da hibridização, os DNAs complementares obtidos dos RNAs são marcados com um corante fluorescente e a intensidade da fluorescência, após a hibridização, é que se traduz na medida do nível de expressão de cada gene diferente. Essa técnica permite a análise da expressão de um grande número de genes, além da possibilidade de comparação de perfis de expressão sob diferentes condições de cultivo, maturação, estresses, etc. (KUIPER et al., 2001).

O microarray é uma metodologia que permite a observação da ocorrência de alterações na expressão gênica, fornecendo informações iniciais da natureza dessas alterações, que podem apresentar algum efeito no valor nutricional e na segurança dos produtos em estudo. Uma metodologia alternativa ao microarray é a DDRT-PCR (Diferencial Display Reverse Transcriptase-Polymease Chain Reaction) (COLMENARES et al., 2000).

Análise proteômica

O conhecimento da complexidade biológica de células vegetais pode ser expandido através da análise proteômica, que é a técnica que permite a análise de inúmeras proteínas simultaneamente, auxiliando na compreensão da função dos genes. Uma das metodologias mais adotadas é a eletroforese bidimensional de misturas de proteínas e a SDS-PAGE (sodium-dodecyl-sulfate-polyacrilamide gel eletrophoresis) juntamente com análises por espectrometria de massa. Basicamente, a análise proteômica se resume na identificação de proteínas e suas alterações pós-traducionais, quantificação da variação na composição da mistura de proteínas e análise das interações proteína-proteína (KUIPER et al., 2001).

Análise do metaboloma

A análise multicomposicional dos compostos biológicos ativos do vegetal (nutrientes, antinutrientes, toxinas e outros compostos relevantes) e suas interações, também chamada análise do metaboloma, permite a detecção de efeitos intencionais e não-intencionais resultantes de uma modificação genética.

As metodologias utilizadas são a cromatografia gasosa (CG), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a ressonância magnética nuclear (RMN), além da CG-acoplada à espectrometria de massa, que vem se mostrando uma excelente ferramenta para a determinação do perfil metabólico. Esses métodos permitem a detecção e a quantificação de um grande número de compostos numa amostra, possibilitando a aquisição de informações mais detalhadas sobre possíveis alterações em OGMs, do que as resultantes de análises de compostos isolados. A identificação de alterações conduz a avaliações adicionais para o estabelecimento da segurança alimentar como testes *in vitro* ou *in vivo* (KUIPER et al., 2003).

2.6 Os genes marcadores

Na construção de vetores para a obtenção de OGMs, os genes marcadores seletivos utilizados geralmente são os genes que codificam resistência a antibióticos ou a herbicidas. O uso desses genes marcadores vem causando grandes discussões, em virtude do risco de transferência e expressão destes genes de resistências em bactérias, causando problemas clínicos e veterinários. No entanto, existem estudos que explicam a dificuldade da transferência e da expressão dos genes marcadores ocorrerem. A transferência do DNA de uma planta para a microbiota intestinal de células de mamíferos dependeria de condições muito específicas como a liberação dos genes específicos do DNA da planta, a permanência da integridade do gene sob as condições gastrintestinais (presença de nucleases da planta, das bactérias e das células de mamíferos), o transporte competitivo dos genes, as células de mamíferos e das bactérias deveriam estar "competentes" para a transformação, além da resistência dos genes ao ataque das enzimas de restrição. Além disso, o gene seria inserido no genoma do hospedeiro (da microbiota ou do mamífero) através de processos raros de reparo ou de recombinação. A transferência de DNA de planta para bactérias ocorre em condições de laboratório, quando a recombinação homóloga é possível de ocorrer. Assim, um gene só tem a possibilidade de ser transferido da planta para a bactéria, se este mesmo gene tiver seqüências similares no genoma da bactéria.

Mesmo com estas dificuldades para a ocorrência da transferência e expressão de genes, outros genes estão sendo utilizados como marcadores nas transformações genéticas mais recentes. Dentre estes novos marcadores, pode-se destacar os genes que codificam a triptofano descarboxilase, a β -glucoronidase, xilulose-fosfomanose isomerase, xilose isomerase (onde o OGM cresce em meio contendo xilose, que é normalmente tóxico), fosfomanose isomerase (OGM cresce em manose 6-fosfato). Outra alternativa é retirar ("nocautear") os genes marcadores após a transformação e seleção bem sucedidas, utilizando o sistema CreLox (GLEAVE et al., 1999).

3. ROTULAGEM DE ALIMENTOS GENETICAMENTE MODIFICADOS

À medida que a discussão sobre as questões de comércio internacional relacionadas à biotecnologia se intensifica, observa-se a crescente necessidade de se distinguir alimentos geneticamente modificados daqueles que não foram geneticamente modificados. Em vários países, a legislação para a rotulagem de alimentos estabelece limites permissíveis de OGMs, os chamados "threshold levels". Assim, alimentos que contêm ingredientes geneticamente modificados em níveis acima do permitido devem ser rotulados como "geneticamente modificados" (ERICKSON, 2000).

A questão da rotulagem está longe de atingir um consenso mundial e tem merecido a atenção de vários países, principalmente pelo impacto de custo que poderá causar na cadeia produtiva. Um estudo realizado pela KPMG (2000) para os governos da Austrália e da Nova Zelândia mostrou que, quanto menor o limite para a presença não-intencional de organismos geneticamente modificados em partidas de alimentos convencionais, maior será o acréscimo no custo do produto final.

Na União Européia, está em vigor legislação que determina que alimentos que contêm uma porcentagem superior a 0,9% de OGMs ou seus derivados devem ser rotulados. Como esta legislação isenta da rotulagem os alimentos que não contêm quantidades mensuráveis da nova proteína ou DNA, está em discussão uma nova proposta que estabelece medidas de rastreabilidade para que todos os alimentos geneticamente modificados sejam rotulados.

No Japão, foi estabelecido o nível de 5% para a soja e, no caso do milho, devido à potencial polinização cruzada, nenhuma porcentagem foi estabelecida. Na Austrália e Nova Zelândia, foi estabelecido o limite de 1% para a presença de qualquer alimento geneticamente modificado já aprovados para consumo nestes países, sem que seja necessária a rotulagem; acima deste limite, a rotulagem é obrigatória.

Contudo, a rotulagem pode não ser requerida para alimentos que não contêm quantidades mensuráveis da nova proteína ou DNA (BEEVER; KEMP, 2000), como é o caso de alguns ingredientes alimentares altamente refinados (por exemplo, sacarose e óleos vegetais), uma vez que qualquer material genético e proteína que possam estar presentes são destruídos e removidos durante o processo de refino; assim, o produto final que entra na composição do alimento não é, em si, modificado e, portanto, não pode ser distinguido daquele produzido através de meios convencionais (DONALDSON; MAY, 2000).

Nos Estados Unidos, não existe nenhum requerimento obrigatório para a rotulagem de alimentos geneticamente modificados. O FDA mantém a posição de que, se alimentos geneticamente modificados são substancialmente equivalentes aos seus análogos convencionais, nenhum tipo de rotulagem é requerida, a não ser nos casos em que o conteúdo nutricional tenha sido alterado ou quando o produto contenha alérgenos conhecidos (ERICKSON, 2000).

No Brasil, o Decreto N° 4.680, de 24 de abril de 2003, estabelece que tanto os produtos embalados, como os vendidos a granel ou in natura, que contenham ou sejam produzidos a partir de organismos geneticamente modificados, com presença acima do limite de um por cento do produto, deverão ser rotulados e o consumidor deverá ser informado sobre a espécie doadora do gene no local reservado para a identificação dos ingredientes. O novo decreto também estabelece que os alimentos e ingredientes produzidos a partir de animais alimentados com ração contendo ingredientes transgênicos deverão ser rotulados com a seguinte expressão: "(nome do animal) alimentado com ração contendo ingrediente transgênico" ou "(nome do ingrediente) produzido a partir de animal alimentado com ração contendo ingrediente transgênico" (BRASIL, 2003).

Ressalta-se a importância da metodologia de detecção da presença de organismo geneticamente modificado, tema este que está em discussão em diversos fóruns internacionais, mas que ainda não chegou a um consenso. Percebendo que a metodologia atualmente disponível ainda não se encontra internacionalmente validada, a Comissão do Codex Alimentarius está dando alta prioridade a esta questão através do CCMAS (Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling).

4. CONCLUSÕES

O cenário atual indica que por sua relação íntima com a necessidade de segurança, o desenvolvimento da biotecnologia agropecuária deverá seguir uma rota diferenciada de outros setores industriais que não têm essa característica. Via de regra, o desenvolvimento de qualquer indústria nascente enfatiza principalmente questões de mercado. A biotecnologia agropecuária tem forçosamente que considerar um outro aspecto: informação precisa ao consumidor sobre esta nova tecnologia, utilizando como referência neste processo a mais confiável base científica.

Mesmo que muita experiência tenha sido adquirida no que se refere à análise de produtos desenvolvidos e comercializados em outros países, é necessário que os protocolos de segurança sejam desenvolvidos e/ou adaptados para condições locais. No que se refere à segurança ambiental, este desenvolvimento e/ou adaptação é imperativo, uma vez que os resultados podem ser diferentes daqueles já obtidos em outras regiões do mundo. A análise de segurança alimentar tem que ser complementada nos casos em que novos dados estão disponíveis (por exemplo, no caso de um novo transgene ser utilizado) ou se existirem outras aplicações na cadeia alimentar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANZFA (2000) GM foods and the consumers - ANZFA's safety assessment process for genetically modified food. ANZFA Occasional paper series.

- AULRICH, K.; DAENICKE, R.; HALLE, I.; FLACHOWSKY, G. Vergleichende Untersuchung zum Einsatz von herkömmlichen und Bt-Mais in der Geflügel- und Wiederkäuerernährung. In: Richtwerte, Vorsorgewerte und Grenzwert-Bedeutung für Landwirtschaft, Ernährung und Umwelt. Kongressband 1999, Halle/Saale, VDLUFA Schriftenreihe 52/1999. Darmstadt: VDLUFA Verlag, 1999. p.285-288.
- AUMAITRE, A.; AULRICH, K.; CHESSON, A.; FLACHOWSKY, G.; PIVA, G. New feeds from genetically modified plants: substantial equivalence, nutritional equivalence, digestibility, and safety for animals and the food chain. **Livestock Production Science**, v.74, n.3, p.223-238, 2002.
- BEEVER, D.E.; KEMP, C.F. Safety issues associated with the DNA in animal feed derived from genetically modified crops. A review of scientific and regulatory procedures. **Nutrition Abstracts and Reviews**, Series B: Livestock Feeds and Feeding, v.70, n.3, p.175-192, 2000.
- BÖHME, H.; AULRICH, K. Inhaltstoffe und Verdaulichkeit von transgenen, Basta resistenten Zuckerrüben bzw. Maiskörnern im Vergleich zu den isogenen Sorten beim Schwein. In: Richtwerte, Vorsorgewerte und Grenzwert-Bedeutung für Landwirtschaft, Ernährung und Umwelt. Kongressband 1999, Halle/Saale, VDLUFA Schriftenreihe 52/1999. Darmstadt: VDLUFA Verlag, 1999. p.289-292.
- BRAKE, J.; VLACHOS, D. Evaluation of transgenic Event 176 Bt corn in broiler chickens. **Poultry Science**, v.77, n.5, p.648-653, 1998.
- BRASIL. Decreto nº 4.680, de 24 de 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. Publicado no D.O.U. de 25 de Abril de 2003, Seção I, página 2. Republicado no D.O.U. de 28 de Abril de 2003, Seção I, página 1.
- BURKS, A. W.; FUCHS, R. L. Assessment of the endogenous allergens in glyphosate-tolerant and commercial soybean varieties. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v.96, n.6, p.1008-1010, 1995.
- CDC (2001). Investigation of Human Health Effects Associated with Potential Exposure to genetically Modified Corn. June 11, 2001. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention. <http://www.cdc.gov/ncen/ehhe/Cry9C> report.
- CHEN, S.; HUANG, J.; ZHOU, B.; NI, W.; ZHANG, Z.; SHEN, X.; XU, Y.; GU, L.; LI, S. A. safety assessment of feeding rats and quails with cotton-seed meal from Bt-transgenic cotton plants. **Jiangsu Journal of Agricultural Science**, v.12, n.1, p.17-22, 1996.
- COLMENARES, M.; GIMÉNEZ, C.; OROPEZA, M.; GARCÍA, E. Nonradioactive Identification of Differential Display RT-PCR Products. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.18, n.1, p.65a-65f, 2000.
- CONNER, A.J. Biosafety assessment of transgenic potatoes: environmental monitoring and food safety evaluation. In: Proceedings of the 3rd International Symposium on the Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Microorganisms, Monterey, USA, November 13-14, 1994 (Jones DD, Ed.) Oakland, CA: University of California, 1994. p.245-262.
- DONALDSON, L.; MAY, R. Health implications of genetically modified foods. May 1999. Site do Department of Health. Disponível: <http://www.doh.gov.uk/gmfood.htm> [capturado em 15/09/2003].
- DUECK, T.A.; VAN DER WERF, A.; LOTZ, L. A. P.; JORDI, W. **Methodological Approach to a Risk Analysis for Polygene-Genetically Modified Plants (GMPs): A Mechanistic Study**. AB note 50. Wageningen, the Netherlands: Research Institute for Agrobiology and Soil Fertility (AB-DLO), 1998.
- ENGEL, K.H.; GERSTNER, G.; ROSS, A. Investigation of glycoalkaloids in potatoes as example for the principle of substantial equivalence. In: Novel Food Regulation in the EU - Integrity of the Process of Safety Evaluation. Berlin: Federal Institute of Consumer Health Protection and Veterinary Medicine, 1998. p.197-209.
- EPA (2000a). Assessment of Scientific Information concerning StarLink Corn Cry9c Bt Corn Plant-pesticide. In: Federal Register 65 (October 31, 2000). Arlington: Environmental Protection Agency, 2000. p. 65246-65251. Disponível: http://frwebgate.access.gpo.gov/cgi-bin/getdoc.cgi?dbname=2000_register&docid=00-28076-filed [capturado em 15/09/2003].
- EPA (2000b). Data Evaluation Report: Safety Assessment of StarLink Genetically Modified Corn Containing the Truncated Bt Insecticidal Protein Cry9c for Human Food Use. In: MRID 44714001. Arlington: Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs, 2000. Disponível: <http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/cry9c/der-44734306a.html> [capturado em 12/08/2001].
- ERICKSON, B.E. Detecting genetically modified products in food. **Analytical Chemistry**, v.72, n.13, p.454A-459A, 2000.
- EU. Regulation[EC] Nº 258/97 of European Parliament and of the Council of 27 January 1997 concerning novel foods and novel food ingredients. **Official Journal of the European Communities**, L43, 1-7, 1997a. Disponível: http://www.europa.eu.int/eur-lex/en/lif/dat/1997/en_397R0258.html [capturado em 07/02/2000].
- EU. 97/618/EC: Commission Recommendation of 29 July 1997 concerning the scientific aspects and the presentation of information necessary to support applications for the placing on the market of novel foods and novel food ingredients and the preparation of initial assessment reports under Regulation (EC) No 258/97 of European parliament and of the Council. **Official Journal of the European Communities**, L253, 1-36, 1997b. Disponível: http://europa.eu.int/eur-lex/en/lif/dat/1997/en_397X0618.html [capturado em 07/02/2000].
- EWEN, S. W. B.; PUSZTAI, A. Effect of diet containing genetically modified potatoes expressing Galanthus nivalis lectin on rat small intestine. **Lancet**, v.354, n.9187, p.1353-1354, 1999.
- FAO/WHO. Application of risk analysis to food standards issues. Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Geneva, Switzerland, 13-17 March 1995. WHO, Geneva.
- FAO/WHO. Biotechnology and food safety: report of a joint FAO/WHO Consultation, Rome, 1996, 31p. (FAO Food Nutrition papers).
- FAO/WHO. Safety Aspects of Genetically Modified Foods of Plant Origin. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology, Geneva, Switzerland, 29 May-2 June 2000. Rome: Food and Agriculture Organisation of the United Nations. Disponível: <http://www.fao.org/esn/gm/biotec-e.html> [capturado em 25/05/2000].
- FARES, N.H.; EL SAYED, A.K. Fine structural changes in the ileum of mice fed on delta-endotoxin-treated potatoes and transgenic potatoes. **Natural Toxins** v.6, n.6, p.219-233, 1998.

- FLANDERS Interuniversity Institute for Biotechnology **In:** Custers R (Ed.), *Safety of Genetically Engineered Crops*. VIB-publication, Zwijnaarde, Belgium, 2001.
- GERTZ, J.M.; VENCIL, W.K.; HILL, N.S. Tolerance of transgenic soybean (Glycine max) to heat stress. **In:** Proceedings of the 1999 Brighton Crop Protection Conference: Weeds, Vol. 3. Farnham, UK: British Crop Protection Council, 1999. p.835-840.
- GLEAVE, A.P.; MITRA, D.S.; MUDGE, S.R.; MORRIS, B.A.M. Selectable marker-free transgenic plants without sexual crossing: transient expression of cre recombinase and use of a conditional lethal dominant gene. **Plant Molecular Biology**, v.40, n.2, p.223-235, 1999.
- HAMMOND, B.G.; VICINI, J.L.; HARTNELL, G.F.; NAYLOR, M.W., KNIGHT, C.D.; ROBINSON, E.H., FUCHS, R.L.; PADGETTE, S.R. The feeding value of soybeans fed to rats, chickens, catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance. **Journal of Nutrition**, v.126, n.3, p.717-727, 1996.
- HASHIMOTO, W.; MOMMA, K.; KATSUBE, T.; OHKAWA, Y.; ISHIGE, T.; KITO, M.; UTSUMI, S.; MURATA, K. Safety assessment of genetically engineered potatoes with designed soybean glycinin: compositional analyses of the potato tubers and digestibility of the newly expressed protein in transgenic potatoes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.79, n.12, p.1607-1612, 1999a.
- HASHIMOTO, W.; MOMMA, K.; YOON, H.-J.; OZAWA, S.; OHKAWA, Y.; ISHIGE, T.; KITO, M.; UTSUMI, S.; MURATA, K. Safety assessment of transgenic potatoes with soybean glycinin by feeding studies in rats. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.63, n.11, p.1942-1946, 1999b.
- HATTAN, D. Evaluation of toxicological studies on Flavr Savr tomato. **In:** Food Safety Evaluation (OECD, ed.). Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development, 1996. p.58-60.
- HERITAGE, J. Degradation of transgenic DNA from genetically modified soyabean and maize in human intestinal simulations. **British Journal of Nutrition**, v.87, n.6, p.529-531, 2002.
- HINO, A. Safety Assessment and Public Concerns for Genetically Modified Food Products: The Japanese Experience. **Toxicologic Pathology**, v.30, n.1, p.126-128, 2002.
- IGLESIAS, V.A.; MOSCONE, E.A.; PAPP, I.; MICHALOWSKI, S.; PHELAN, T.; SPIKER, S.; NEUHUBER, F.; MATZKE, M.; MATZKE, A.J.M. Molecular and cytogenetic analyses of stably and unstably expressed transgene loci in tobacco. **Plant Cell**, v.9, n.8, p.1251-1264, 1997.
- ILSI Europe. The safety assessment of novel foods. Guidelines prepared by the ILSI Novel Food Task Force. ILSI Europe Report Series. 1995.
- JAMES, C. 2002. Preview: Global Status of Commercialized Transgenic Crops: 2002. ISAAA Briefs No. 27. ISAAA: Ithaca, NY.
- JONAS, D.A.; ANTIGNAC, E.; ANTOINE, J.M.; CLASSEN, H-G.; HUGGETT, A.; KNUDSEN, I.; MAHLER, J.; OCKHUIZEN, T.; SMITH, M.; TEUBET, M.; VOGEL DE, P. The safety assessment of novel foods. Guidelines prepared by ILSI Europe Novel Food Task Force. **Food and Chemical Toxicology**, v.34, n.10, p.931-940, 1996.
- KPMG. Report on the costs of labeling genetically modified foods. Prepared for the Australia and New Zealand Food Standards Council. Canberra, March 2000. Disponível: http://www.foodstandards.gov.au/srcfiles/GMcost_report_final.pdf [capturado em 03/05/2003].
- KUIPER, H.A.; KLETER, G.A.; NOTEBORN, H.P.J.M.; KOK, E.J. Assessment of the food safety issues related to genetically modified foods. **The Plant Journal**, v.27, n.6, p.503-528, 2001.
- KUIPER, H.A.; NOTEBORN, H.P.J.M.; KOK, E.J.; KLETER, G.A. Safety aspects of novel foods. **Food Research International**, v.35, n.2-3, p.267-271, 2002.
- KUIPER, H.A.; KLETER, G.A.; NOTEBORN, H.P.J.M.; KOK, E.J. Substantial equivalence – an appropriate paradigm for the safety assessment of genetically modified foods? **Toxicology**, v.181/182, p.427-431, 2002.
- KUIPER, H.A.; KOK, E.J.; ENGEL, K-H. Exploitation of molecular profiling techniques for GM food safety assessment. **Current Opinion in Biotechnology**, v.14, n.2, p.238-243, 2003.
- LAPPÉ, M.A.; BAILEY, E.B.; CHILDRESS, C.; SETCHEL, K.D.R. Alterations in clinically important phytoestrogens in genetically modified herbicide-tolerant soybean. **Journal of Medicinal Food**, v.1, n.4, p.241-245, 1999.
- LAVRIK, P.B.; BARTNICKI, D.E.; FELDMAN, J.; HAMMOND, B.G. et al. Safety assessment of potatoes resistant to Colorado potato beetle. **In:** Genetically Modified Foods – safety Aspects, ACS Symposium Series 605 (Engel KH, Takeoka GR, Teranishi R, ed.) Washington, DC: American Chemical Society, 1995. p.148-159.
- MASOERO, F.; MOSHINI, M.; ROSSI, F.; PRANDINI, A.; PIETRI, A. Nutritive value, mycotoxin contamination and in vitro rumen fermentation of normal and genetically modified corn (Cry1A(b)) grown in Northern Italy. **Maydica**, v.44, n.3, p.205-209, 1999.
- MOMMA, K.; HASHIMOTO, W.; OZAWA, S.; KAWAI, S.; KATSUBE, T.; TAKAIWA, F.; KITO, M.; UTSUMI, S.; MURATA, K. Quality and safety evaluation of genetically engineered rice with soybean glycinin: analyses of grain composition and digestibility of glycinin in transgenic rice. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.63, n.2, p.314-318, 1999.
- MOMMA, K.; HASHIMOTO, W.; YOON, H.J.; OZAWA, S.; FUKUDA, Y.; KAWAI, S.; TAKAIWA, F.; UTSUMI, S.; MURATA, K. Safety assessment of rice genetically modified with soybean glycinin by feeding studies on rats. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v.64, n.9, p.1881-1886, 2000.
- NAIR, R.S.; FUCHS, R.L.; SCHUETTE, A.S. Current Methods for Assessing Safety of Genetically Modified Crops as Exemplified by Data on Roundup Ready Soybeans. **Toxicologic Pathology**, v.30, n.1, p.117-125, 2002.
- NATIONAL Research Council. **In:** Genetically Modified Pest-protected Plants: Science and Regulation. National Academy Press, Washington, DC, 2000. Disponível: <http://national-academies.org> [capturado em 02/11/2001].
- NIDA, D.L.; PATZER, S.; HARVEY, P.; STIPANOVIC, R.; WOOD, R.; FUCHS, R.L. Glyphosate-tolerant cotton: the composition of the cottonseed is equivalent to that to conventional cottonseed. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, n.7, p.1967-1974, 1996.
- NORDLEE, J.A.; TAYLOR, S.L.; TOWNSEND, J.A.; THOMAS, L.A.; BUSH, R.K. Identification of a Brazil-nut allergen in transgenic soybeans. **The New England Journal of Medicine**, v.334, n.11, p.688-692, 1996.

- NOTEBORN, H.P.J.M.; BIENENMAN-PLOUM, M.E.; VAN DEN BERG, H.J.; ALINK, G.M.; ZOLL, L.; REYNAERTS, A.; PENSA, M.; KUIPER, H.A. Safety assessment of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal protein CRYIA(b) expressed in transgenic tomatoes. **In:** Genetically Modified Foods – Safety Aspects, ACS Symposium Series 605 (Engel, K.-H, Takeoka, G.R and Teranishi, R., eds.). Washington, DC: American Chemical Society, p.134-147, 1995.
- OECD. **In:** Safety Evaluation of Foods Derived by Modern Biotechnology. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development. 1993a. Disponível: http://www.oecd.org/dsti/sti/s_t/biotech/prod/modern.htm [capturado em 05/06/2000].
- OECD. **In:** OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development. 1993b.
- OECD. **In:** Food Safety Evaluation. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development. 1996.
- OECD. **In:** Report of the OECD workshop on the toxicological and nutritional testing of novel foods, Aussois, France, 5-8 March 1997. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development. 1998. Disponível: <http://www.oecd.org/ehs/ehsmono/aussoidrEN.pdf> [capturado em 13/07/2000].
- PADGETTE, S.R.; BIEST, T.N.; NIDA, D.L.; BAILEY, M.R.; MACDONALD, J.; HOLDEN L.R.; FUCHS R.L. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. **Journal of Nutrition**, v.126, n.3, p.702-716, 1996.
- PEDERSEN, C.; ZIMNY, J.; BECKER, D.; JÄHNE-GÄRTNER, A.; LÖRZ, H. Localization of introduced genes on the chromosomes of transgenic barley, wheat, triticale by fluorescence in situ hybridization. **Theoretical and Applied Genetics**, v.94, n.6-7, p.749-757, 1997.
- PORTUGAL, A.D.; SAMPAIO, M.J.; CONTINI, E.; AVILA, F. Agricultural biotechnology in Brasil – Institutionality and implications of genetically modified organisms. Paper submitted to the 5th International Conference of the International Consortium on Agricultural Biotechnology Research (ICABR) on “Biotechnology, Science and Modern Agriculture: A New Industry at the Dawn of the Century”, Ravello, Italy, June 2001.
- QUEMADA, H. Food safety evaluation of a transgenic squash. **In:** Food safety Evaluation (OECD, ed.). Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development, 1996. p.71-79.
- REDENBAUGH, K.; LINDEMANN, J.; MALYI, L. Application of the principles of substantial equivalence in the safety evaluation of FLAVR SAVR tomato, BXN cotton and oil-modified rapeseed. **In:** Application of the Principles of Substantial Equivalence to the Safety Evaluation of Foods or Food Components from Plants Derived by Modern Biotechnology. Report of WHO Workshop (WHO/FNU/FOS/95.1). Geneva: World Health Organization, 1995. p.37-50.
- ROTHMAN, K.J.; MOORE, I.L.; SINGER, M.R.; NGUYEN, U.; MANNINO, S.; MILUNSKY, A. Teratogenicity of high vitamin A intake. **The New England Journal of Medicine**, v.333, p.1369-1373, 1995.
- SCHILTER, B.; CONSTABLE, A. Regulatory control of genetically modified (GM) foods: likely developments. **Toxicology Letters**, v.127, n.1-3, p.341-349, 2002.
- SCHREIBER, G.A. Challenges for methods to detect genetically modified DNA in foods. **Food Control**, v.10, n.6, p.351-352, 1999.
- SHEWMAKER, C.K.; SHEELY, J.A.; DALEY, M.; COLBURN, S.; KE, D.Y. Seed-specific overexpression of phytoene synthase: increase in carotenoids and other metabolic effects. **The Plant Journal**, v.20, n.4, p.401-412, 1999.
- SIDHU, R.S.; HAMMOND, B.G.; FUCHS, R.L.; MUTZ, J.N.; HOLDEN, L.R.; GEORG, B.; OLSON, T. Glyphosate-tolerant corn: the composition and feeding value of grain from glyphosate-tolerant corn is equivalent to that of conventional corn (*Zea mays* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, n.6, p.2305-2312, 2000.
- SPERTINI, D.; BELIVEAU, C.; BELLEMARE, G. Screening of transgenic plants by amplification of unknown genomic DNA flanking T-DNA. **Biotechniques**, v.27, n.2, p.308-314, 1999.
- TESHIMA, R.; AKIYAMA, H.; OKUNUKI, H.; SAKUSHIMA, J.I.; GODA, Y.; ONODERA, H.; SAWADA, J.I.; TOYODA, M. Effects of GM and non-GM soybeans on the immune system of BN rats and B10 mice. **Journal of the food hygienic society of Japan**, v.41, n.3, p.188-193, 2000.
- TURK, S.C.H.J.; SMEEKENS, S.C.M. Genetic modification of plant carbohydrate metabolism. **In:** Applied Plant Biotechnology (Chopra VL, Malik VS, Bhat SR, ed.) Enfield, UK: Science Publishers, 1999. p.71-100.
- TUTEL'YAN, V.A.; KRAVCHENKO, L.V.; LASHNEVA, N.V.; AVREN'EVA, L.I.; GUSEVA, G.V.; SOROKINA, E.Y.; CHERNYSHEVA, O.N. Medical-biological evaluation of protein concentrate obtained from genetically modified soybean. Biochemical investigation. **Voprosy Pitaniya**, v.68, n.1, p.9-12, 1999.
- WANG, Y.; LAI, W.; CHEN, J.; MEI, S.; FU, Y.; HU, X.; ZHANG, W. Toxicity of anti-herbicide gene (BAR) transgenic rice. **Weisheng Yanjiu**, v.29, n.3, p.141-142, 2000.
- WHO. **In:** Principles for the Safety Assessment of Food Additives and Contaminants in Food. Environmental Health Criteria 70. Geneva: World Health Organization. 1987.
- WHO. **In:** Application of the principle of substantial equivalence to the safety evaluation of foods or food components from plants derived by modern biotechnology. Report of a WHO Workshop, Food Safety Unit, World Health Organization, Geneva, Switzerland. 1995.
- WHO. **In:** Safety aspects of genetically modified foods of plant origin. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on food derived from biotechnology. WHO Head-quarters. World Health Organization, Geneva, Switzerland. 2000.
- YE, X.; BABILI, S.; KLOETI, A.; ZHANG, J.; LUCCA, P.; BEYER, P.; POTRYKUS, I. Engineering the provitamin A (beta-carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm. **Science**, v.287, n.5451, p.303-305, 2000.