

Artículo reseña

DETECCIÓN DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS (OGMs) EN LA CADENA ALIMENTARIA

Belkis Corona, Odalys Uffo y Siomara Martínez

Laboratorio de Biología Molecular, Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana, Cuba. Correo electrónico: bcorona@censa.edu.cu

RESUMEN: Una gran cantidad de plantas genéticamente modificadas (GM) han sido aprobadas para su cultivo en el ámbito mundial, luego de haber pasado por rigurosos controles de seguridad alimentaria y ambiental. El establecimiento de una metodología disponible, validada y económica, para la detección y cuantificación del contenido de organismos genéticamente modificados (OGM) en alimentos se ha convertido en una necesidad evidente. Los métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), resultan de gran utilidad. En el presente artículo se describe el estatus metodológico para la detección de OGM en la cadena alimenticia, haciendo énfasis particular en la utilidad de la reacción en cadena de la polimerasa.

(Palabras clave: organismos genéticamente modificados (OGM); reacción en cadena de la polimerasa)

DETECTION OF GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS (GMOs) IN THE FOOD CHAIN

ABSTRACT: A great amount of genetically modified (GM) plants has been approved for their culture world-wide after going through rigorous food biosafety and environmental controls. The establishment of suitable, validated and economical methodology for the detection and quantification of content in food and feed has become an evident necessity. Polymerase chain reaction (PCR) based methods are very powerful for this area. In the present review, the methodological status for the detection of GMOs in the nutritional chain is described, making particular emphasis in the utility of the polymerase chain reaction.

(Key words: genetic modified organisms (GMOs); polymerase chain reaction)

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos inmemorables los seres humanos han modificado el entorno que los rodea y han seleccionado características valiosas de diferentes plantas y animales. Los métodos convencionales de mejoramiento de plantas y animales, a través de la fertilización cruzada y la selección, han permitido desarrollar variedades, con grupos de características particulares (18).

En las últimas tres décadas, los investigadores han descubierto que el ADN puede ser modificado o inter-

cambiable entre plantas, animales, bacterias y otros organismos. La llamada tecnología del ADN recombinante permite combinar fragmentos de la molécula de ADN de dos o más fuentes diferentes o de regiones diferentes del genoma. El proceso de modificar el ADN de un organismo o de transferirlo de un organismo a otro, mediante la ingeniería genética, nos lleva a obtener plantas, animales o microorganismos genéticamente modificados (18).

La historia del desarrollo de la ingeniería genética en plantas se inicia en 1983 con las primeras modificaciones de células vegetales. En 1984 se producen

las primeras plantas transgénicas y en el 1986 se realizan las primeras pruebas de campo y se desarrollan plantas resistentes a virus. En 1988 se desarrollan plantas resistentes a plagas (insectos) y a herbicidas, en 1989 se trabaja en la maduración de los frutos y ya para 1990 hay más de 100 pruebas experimentales en el campo, obteniéndose en 1995 los primeros productos comerciales (18).

La era de los denominados «alimentos transgénicos» para el consumo humano directo, se inició el 18 de mayo de 1994, cuando la Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos autorizó la comercialización del primer alimento con un gen «extraño», el tomate «Flavr-Savr», con maduración retardada, obtenido por la empresa Calgene (28).

Esta tecnología ha generado controversias en cuanto a como controlar y regular la introducción de los OGM en los diferentes mercados del mundo, existiendo los siguientes instrumentos internacionales relacionados con este tema:

- Convenio sobre Diversidad Biológica: En 1992, en la Cumbre de la tierra de Río de Janeiro, se firmó este convenio.
- Protocolo de Cartagena: la elaboración y firma de este protocolo estaba prevista desde el origen de la firma del convenio sobre Diversidad Biológica.

La palabra “transgénico” proviene de “trans” (cruzar de un lugar a otro) y “génico” (referido a los genes), o sea, es todo aquel organismo que tiene incorporado un gen extraño. Es decir, los OGM son organismos, cuyo material genético ha sido modificado de una manera que no acaece en el apareamiento o recombinación natural, por la introducción de genes de otras especies (16, 28).

A grandes rasgos, una planta genéticamente modificada es aquella a cuyo genoma se han incorporado uno o más transgenes mediante ingeniería genética. Estos transgenes poseen una secuencia nucleotídica específica y se expresan generando una proteína nueva en el organismo, lo cual le va a conferir un nuevo fenotipo a la planta (1). En cualquiera de estos tres niveles, ADN, proteínas o fenotípico, es posible hacer un análisis para determinar cualitativa o cuantitativamente la presencia de una modificación genética (24).

Durante el año 2000 los países que cultivaron mayor cantidad de plantas genéticamente modificadas fueron: Estados Unidos, Argentina, Canadá, y China. Otros países como Sudáfrica, Australia, Rumania, México, Bulgaria, España, Alemania, Francia

y Uruguay, también lo hicieron, pero en menor escala. Para ese mismo año, los cultivos que se sembraron en mayor proporción fueron soya (59%), maíz (23%), algodón (12%), y canola (6%). En su gran mayoría los caracteres insertados en estos cultivos corresponden a tolerancia a herbicidas y resistencia a plagas (18).

De acuerdo a las estadísticas del Servicio Internacional para la adquisición de Aplicaciones de la Agrobiotecnología (ISAAA), el área global de plantaciones de semillas genéticamente modificadas ha crecido 47 veces desde 1996, siendo el área global de estas semillas en el 2004, de 81 millones de hectáreas, cultivados por 8.25 millones de campesinos en 17 países (<http://www.eximbankagro.com>).

Una gran cantidad de plantas genéticamente modificadas han sido aprobadas para su cultivo en el ámbito mundial, luego de haber pasado por rigurosos controles de seguridad alimentaria y ambiental. Sin embargo, algunos mercados, en particular la Unión Europea, tienen estrictos requerimientos para su etiquetado. La normativa de etiquetado que rige desde el 2004, establece el etiquetado obligatorio de los alimentos derivados de un OGM, independientemente de la detectabilidad de ADN o proteínas y sólo admite la presencia accidental de hasta un 0.9% de OGM aprobado o de un 0.5%, en el caso de eventos aún no aprobados pero con un dictamen de Bioseguridad favorable (24) y valores de 0.3-0.5-0.7% para semillas. Este límite de 0.9% tiene como objetivo excluir la presencia accidental de ingredientes transgénicos en alimentos convencionales debido a una contaminación involuntaria (<http://revista.consumer.es/web/es/20021001/actualidad/analisis1/52487>).

Detección de OGMs.

El aprovechamiento en campo de los beneficios de la biotecnología vegetal implicó inmediatamente la necesidad de implementar procedimientos de campo y laboratorio para poder discriminar mercaderías conteniendo un nivel de OGM superior a un umbral determinado, de aquellas que estaban por debajo. Con el paso del tiempo se ha avanzado sensiblemente en una serie de aspectos que han hecho evolucionar en este sentido (5, 24):

- Se han desarrollado protocolos de purificación de ADN y de PCR para aplicar a gran escala.
- Los métodos de PCR han evolucionado hacia técnicas cuantitativas (PCR en Tiempo Real).
- Se han desarrollado técnicas inmunológicas y juegos diagnósticos específicos de fácil aplicación.

- Existe más información molecular sobre los eventos y los cebadores específicos correspondientes.

- Se han desarrollado y aplicado programas de trazabilidad e identidad preservada para la característica "genéticamente modificado".

- Se discuten protocolos y materiales de referencia a nivel de normas de CODEX Alimentario, ISO (Internacional Standards Organization) e ISTA (Internacional Seed Testing Association), entre otras.

La detección de OGMs o derivados de OGMs puede ser realizada detectando una molécula (ADN, ARN o proteína) que esté asociada específicamente o derivada de una modificación genética de interés (25).

Sin embargo, la mayoría de los métodos no están dirigidos a detectar proteínas o ARN. Esto tiene varias razones:

1. El ADN puede ser purificado y multiplicado en millones de copias en pocas horas, mediante la PCR.
2. La multiplicación del ARN y proteínas es un proceso más complicado y lento.
3. El ADN es una molécula muy estable, mientras que el ARN es inestable.
4. La estabilidad de una proteína varía y depende del tipo de proteína.
5. Normalmente existe una correlación linear entre la cantidad de OGM y ADN, si el ADN genéticamente modificado es nuclear, pero no, si este es extranuclear.
6. Normalmente no existe esta correlación entre la cantidad de OGM y proteína/ARN.
7. La modificación genética se realiza a nivel de ADN y hasta el presente, el ADN modificado genéticamente es nuclear en todos los OGM comercializados.

Los protocolos analíticos son muy sensibles, ya que detectan un gen en decenas de miles de genes del genoma, o una nueva proteína entre varios miles de proteínas. Actualmente, los protocolos pueden detectar un evento o grupo de eventos en un cultivo en particular, pero ninguno puede detectar en un único ensayo todos los eventos, por eso no se puede asegurar que una muestra está libre de OGM, sólo se puede asegurar que está libre de los eventos para los cuales se hayan realizado los análisis pertinentes (24).

La base de cada tipo de tecnología de detección de OGM es buscar la diferencia entre la variedad no modificada y la planta transgénica. Existen tres metodologías para detectar modificaciones genéticas

en los cultivos tales como soya, algodón, maíz, etc. Una es mediante la diferenciación fenotípica. La otra es a nivel de proteínas por técnicas inmunológicas (tiras reactivas o ELISA), las cuales detectan la presencia de proteínas específicas, por la unión específica entre el antígeno expresado y el anticuerpo blanco. El otro método está basado en la detección a nivel de ADN, mediante PCR. Estos dos últimos métodos muestran la ausencia o presencia de un OGM en la muestra, pero también pueden dar alguna indicación de cantidad (porcentaje) en una muestra tratada (7, 10).

Detección fenotípica.

Por lo general, las plantas genéticamente modificadas que se encuentran actualmente en campo presentan la característica de resistencia a herbicida y/o a insectos. La evaluación de la resistencia a insectos de una planta se realiza mediante ensayos biológicos complejos y de larga duración, por eso, esta no es una alternativa práctica para el análisis de granos. Sin embargo, la resistencia a herbicidas sí puede ser evaluada mediante ensayos sencillos en laboratorio y en campo (24), pudiendo observarse los resultados de la evaluación de la diferencia fenotípica entre una planta genéticamente modificada resistente a herbicida y la planta natural.

Métodos basados en la detección del ADN introducido.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR):

La PCR permite la amplificación de un fragmento de ADN de interés con una alta sensibilidad y especificidad. Fragmentos de ADN con una longitud de 100pb hasta 1000pb son amplificados con la ayuda de una enzima polimerasa y dos cebadores. A través de una serie de ciclos térmicos diferenciales la enzima ayuda a la replicación y amplificación exponencial de la secuencia flanqueada por los cebadores (Fig. 1). Finalmente el fragmento amplificado está sujeto a un gel estándar de electroforesis, cuya presencia puede ser detectada basada en la determinación de su talla (3).

El blanco más prometedor para el análisis del material transgénico es el ADN insertado. Esta molécula es mucho más estable que las proteínas y está presente en las mismas concentraciones en todo el OGM. Aunque es imposible detectar a moléculas individuales de ADN, estas pueden ser amplificadas usando la técnica de la PCR. Este método permite la amplificación de secuencias específicas del ADN en pocas horas, facilitando el análisis cualitativo y cuantitativo de dichas secuencias por medio de técnicas de laboratorio comunes (<http://www.bio.davidson.edu>).

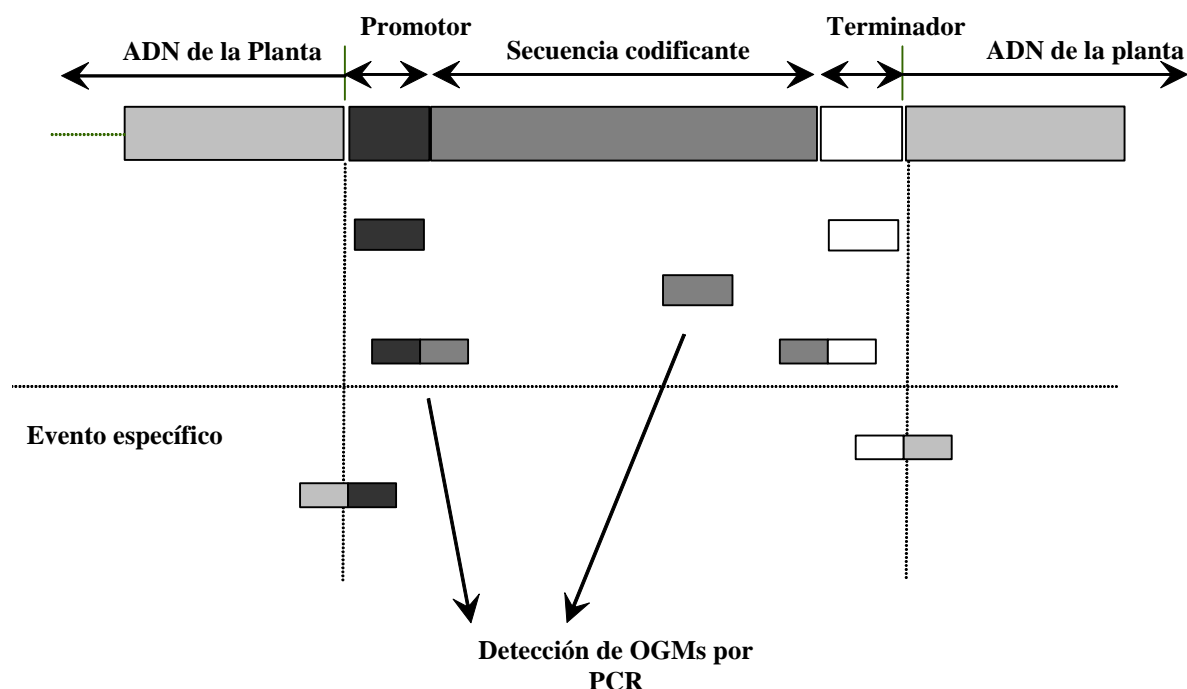


FIGURA 1. Uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en la detección de OGMs./ *Use of the polymerase chain reaction (PCR) in the GMOs detection.*

Cada estrategia basada en la detección por PCR depende de un conocimiento detallado de la secuencia del ADN transgénico y de la estructura molecular del OGM, con el objetivo de seleccionar los cebadores apropiados (20). Varios ingredientes de alimentos, modificados genéticamente, han sido analizados utilizando PCR: soya (17); trigo (2); canola y papa (12); arroz y papaya (27); alfalfa (6); maíz, azúcar de remolacha y tomate (26).

El ADN que ha sido introducido en el cultivo transgénico contiene tres elementos: El promotor, el gen que confiere el nuevo rasgo de interés agronómico y la señal de paro de este gen. La PCR puede usarse para detectar a cualquiera de estos elementos, siempre y cuando el cebador utilizado (cuya secuencia se diseña a partir de una secuencia conocida de los elementos indicados) sea complementario a las secuencias buscadas (Fig. 1). El primer ciclo de la PCR "fabrica" así la secuencia deseada. Los ciclos subsecuentes multiplican esta secuencia. Los fragmentos de ADN amplificados son separados en un gel por tamaño, el cual se tiñe con un compuesto que fluoresce cuando se expone a la luz ultravioleta, lo que permite visualizar a los fragmentos de DNA obtenidos (<http://www.bio.davidson.edu>, <http://people.ne.mediaone.net>).

El procedimiento de la PCR se aplica rutinariamente en el caso de alimentos no procesados, en los que el material genético se encuentra intacto. Su selección se fundamenta en su extrema sensibilidad que, bajo condiciones experimentales óptimas, permite la amplificación de más de un billón de copias de la secuencia deseada a partir de una sola copia del ADN original (Tabla 1). En ocasiones su uso se puede ver limitado en el caso de los alimentos procesados, donde es más difícil aislar cantidades suficientes del ADN intacto y donde el material genéticamente modificado de distintas variedades pudiera encontrarse mezclado entre sí. Los resultados de esta prueba se estima que son confiables en un 99.9% de los casos sometidos (<http://www.bio.davidson.edu>).

Existen tres factores esenciales que determinan el éxito del método de detección de OGM mediante PCR. Estos son la **cantidad** de ADN extraído, la **calidad**, la cual se relaciona con la cantidad de daño que ha sufrido el ADN durante los pasos de procesamiento del alimento, antes de la purificación y la **pureza**, la cual refleja la cantidad de contaminantes purificados con el ADN (8).

Una extracción optimizada del ADN resulta fundamental para asegurar la presencia y calidad del mate-

TABLA 1. Características generales del PCR en la detección de OGMs (8)./ *General characteristics of the PCR in the GMOs detection (8)*

Ventajas	Alta sensibilidad.
	Cualquier tipo de tejido puede ser analizado, pues todas las células de la planta poseen el mismo ADN.
	Proporciona relativa cuantificación.
	Los métodos se pueden diseñar en el laboratorio, siempre que la secuencia esté disponible.
Desventajas	Consumo de tiempo en la preparación de las muestras.
	El ensayo total consume de 1 a 2 días.
	Más caros que los métodos de detección de proteínas.
	Los costos del equipamiento resultan de moderados a caros: termociclador e insumos de electroforesis.
	Los insumos de PCR deben ser almacenados a 4°C.
	Susceptibilidad a inhibidores que pueden estar presentes en los alimentos.
	Garantía de calidad requerida para reducir al mínimo el riesgo de contaminación cruzada.
Limitaciones	No hay método de PCR que detecte todo los OGM.
	La utilidad para un rango de materiales debe tener asegurada la calidad y cantidad requerida.
	Se requieren habilidades técnicas.

rial a amplificar por PCR (Fig. 2) (Tabla 1). Este aspecto resulta particularmente importante en el análisis de alimentos que han sido altamente procesados, pues el ADN puede degradarse durante el procesamiento, particularmente por tratamiento térmico en presencia de agua, por lo que la cantidad de fragmentos que aún contienen el blanco de interés intacto, puede decrecer a medida que el alimento es pro-

cesado. En adición el método de purificación de ADN utilizado debe remover todas las sustancias inhibitoras presentes en la muestra (8).

Métodos cuantitativos utilizando PCR.

En principio la cuantificación basada en PCR puede ser desarrollada después de la culminación del PCR (análisis del punto final), mediante el llamado

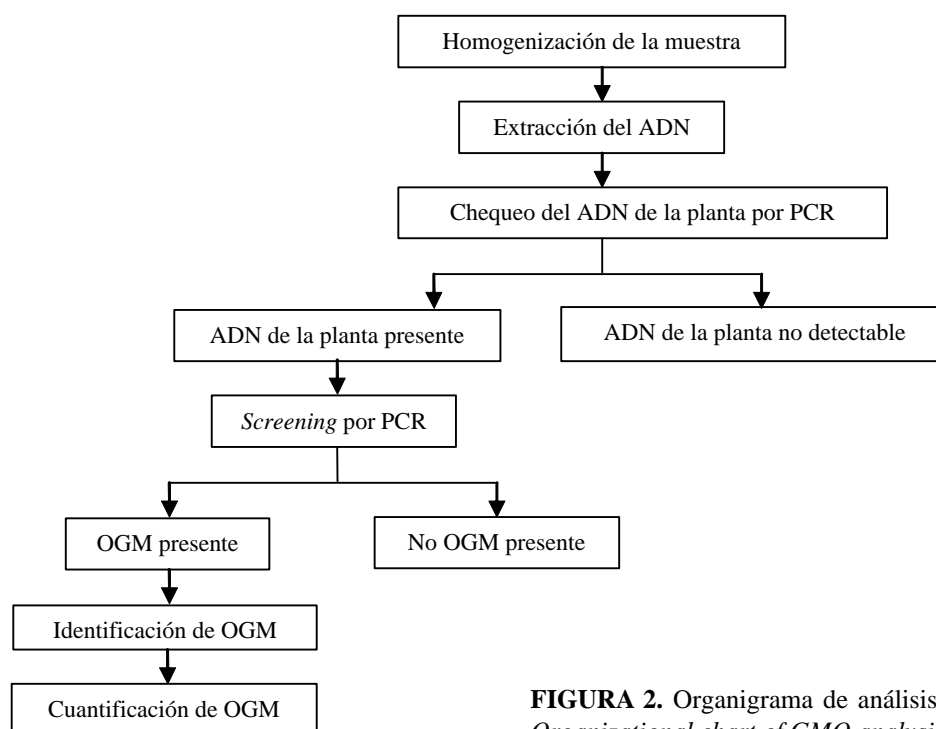


FIGURA 2. Organigrama de análisis de un OGM por PCR./ *Organizational chart of GMO analysis by PCR.*

PCR cuantitativo (19) o durante el PCR (análisis en tiempo real) que analiza la cantidad de producto sintetizado durante la PCR, estimado directamente por la medida de la fluorescencia en la reacción de PCR (23, 13).

Con la introducción de la legislación sobre el mandato de marcaje de productos alimenticios que contengan OGMs se ha incrementado la demanda de laboratorios de testaje que desarrollen o adopten métodos cuantitativos de detección. A partir de los esfuerzos realizados para lograr el etiquetado de los alimentos genéticamente modificados, como ingredientes de los alimentos, los métodos de detección cuantitativa, tales como PCR cuantitativo (QC-PCR) y PCR en tiempo real (Real-Time PCR) se aplican en los laboratorios oficiales de control de alimentos (11). Aunque los OGMs aprobados para el consumo humano han sido analizados con pruebas científicas rigurosas y han sido fuertemente juzgados; el etiquetado permite que los consumidores tengan la opción de seleccionar el alimento que deseen (1).

Detección inmunológica.

Los OGMs están caracterizados por un genoma alterado, el cual puede llevar a la expresión de una nueva proteína; por lo tanto, los alimentos modificados genéticamente pueden ser identificados detectando la presencia de la nueva proteína expresada, codificada por el material genético (15).

Los ensayos inmunológicos para la detección de OGM, básicamente se desarrollan con dos formatos: las tiras reactivas o *strips* de flujo lateral y el ELISA (ensayo de inmunodetección ligado a enzima).

Flujo lateral o *lateral flow*

En este formato se reúnen todos los reactivos en un soporte sólido y mediante el flujo por capilaridad de la muestra en solución se logra determinar la presencia o ausencia de una determinada proteína (análisis cualitativo). Este formato se ha aplicado exitosamente para la detección de un sinnúmero de moléculas de importancia en el diagnóstico veterinario y humano. El resultado de estas tiras es cualitativo (positivo o negativo) y la sensibilidad (o límite de detección) oscila entre 0.5% y 2% para determinados eventos y de 0.1% y 0.3% para otros (24).

En la Figura 3 se puede observar el esquema de la banda de flujo lateral. El anticuerpo de captura está unido directamente a uno de los extremos de la banda, mientras que el anticuerpo detector se encuentra sobre el extremo opuesto (seco, pero no unido de

manera directa a la superficie de la banda). En este último extremo se adiciona la muestra de interés, la cual fluye junto con el anticuerpo detector en la dirección contraria. Si la proteína transgénica, a la cual reconoce de manera específica el anticuerpo de captura, se encuentra presente, los tres elementos reaccionan entre sí (el anticuerpo de captura con la proteína de interés y con el anticuerpo detector) formándose una banda colorida donde el anticuerpo detector se acumula. Si no es así, sólo reacciona el anticuerpo de captura con el anticuerpo detector, en una región más alejada, indicando que la prueba fue realizada correctamente (22, 24).

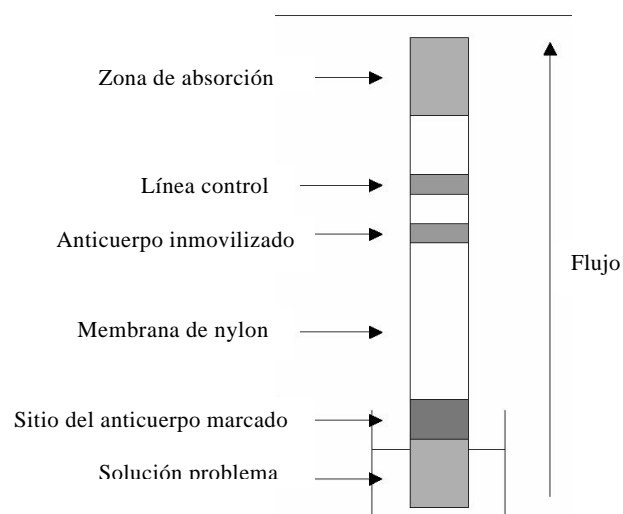


FIGURA 3. Esquema de la tira de flujo lateral./ *Lateral flow strip schedule.*

A pesar de ser un ensayo cualitativo, los resultados se pueden hacer a partir de cálculos estadísticos para determinar la probabilidad de que la muestra tenga un contenido de granos genéticamente modificados (GM), inferior a un determinado valor para un nivel de confianza dado. Para esto, es imprescindible conocer la sensibilidad del *strip* expresada en granos GM/granos no GM y trabajar con submuestras que no excedan este número para evitar resultados falsos negativos (<http://www.acpa.org>).

Obviamente la gran ventaja de esta metodología de análisis radica en su simplicidad y rapidez (Tabla 2), por eso se le utiliza en campo como control inicial en la conformación de conjuntos, que luego serán analizados por algún método cuantitativo, o como primer control a la entrada de un proceso o industria (<http://www.acpa.org>).

TABLA 2. Características de las tiras de flujo lateral (22;14;21;1)/ *Characteristics of lateral flow strips* (22;14;21;1)

Propósito	Proporcionar una prueba rápida para la detección de rasgos genéticamente modificados.
Ventajas	Mínima preparación de las muestras.
	Resultados rápidos (5-10 minutos).
	Cualitativo.
	Relativamente barato.
	Disponible.
	Las tiras pueden ser almacenadas a temperatura ambiente antes de su uso.
	Fácil de desarrollar con mínimo de entrenamiento.
	No se requiere equipamiento caro.
	Útil para testaje en campo.
Desventajas	No muy sensible (~1% de proteína genéticamente modificada).
	Carencia de disponibilidad de anticuerpos relevantes.
	Desarrollo de anticuerpos apropiados puede tomar más de un año.
Limitaciones	Limitado a uno o a pequeño número de rasgos por prueba.
	No son evento específico
	Algunos OGM modificados no expresan a niveles detectables la proteína blanco.
	Sólo disponible para un número limitado de OGM.
	Más útil para material crudo o entero, no procesado.

Ensayo de inmunodetección ligado a enzima (ELISA).

El método de ELISA se fundamenta en el uso de anticuerpos específicos para capturar a la proteína de interés (Figura 4). Este procedimiento es capaz de discriminar proteínas específicas presentes en el producto bajo análisis, de entre cientos de proteínas distintas presentes en la misma muestra. El método de ELISA es extremadamente sensible, versátil y cuantitativo. En general, este procedimiento, incluye el uso de anticuerpos que se unen de manera específica a las proteínas de interés (llamados anticuerpos primarios), por ejemplo a aquellas que son sintetizadas como resultado de la introducción del nuevo ADN (llamadas proteínas transgénicas). Una reacción colorimétrica o fluorimétrica desencadenada por un segundo anticuerpo (o anticuerpo secundario) permite visualizar y medir la cantidad de la proteína de interés. El resultado se compara con la señal emitida por concentraciones conocidas de la misma proteína, por lo que el ensayo no solo es cualitativo, si no también cuantitativo. Una restricción para el uso de pruebas de ELISA en la detección de proteínas transgénicas es la desnaturalización de estas durante el procesamiento del alimento. Los resultados de esta prueba se estima que son confiables en un 95% de los casos sometidos (4). Todos los ELISA detectan un rasgo genéticamente modificado, pero no todos los rasgos pueden ser detectados o diferenciados por un ELISA (Tabla 3) (8).

Comparación de las técnicas de detección de proteínas y detección de ADN.

Las principales diferencias entre los métodos de detección de proteínas (ELISA), los cuales son preferidos en los Estados Unidos y las técnicas basadas en el ADN (PCR), las cuales son preferidas en Europa, se resumen en la Tabla 4.

¿Cómo detectar OGMs en el futuro?

En un futuro cercano serán muchos los eventos aprobados y liberados en el mundo. En diversos ámbitos se está discutiendo la posibilidad de introducir secuencias no codificantes en el genoma de las plantas junto con los genes de interés de una modificación genética, para generar blancos de detección universales frente a la diversidad de eventos que habrá en el futuro (24).

Frente a esta perspectiva de diversidad de modificación genética y tan heterogénea mundialmente, la nueva tecnología de los *microchips*, *microarrays* o micromatrices, podría permitir detectar y cuantificar en un solo ensayo la presencia de cientos o miles de secuencias.

A grandes rasgos, un *microchip* es un soporte sólido de pequeño tamaño, en el cual se han fijado puntos ordenados y microscópicos de secuencias de simple cadena conocidas. Estas secuencias tienen la capacidad de hibridar con su ADN complementario, y si este está marcado con un fluoróforo, el punto de la

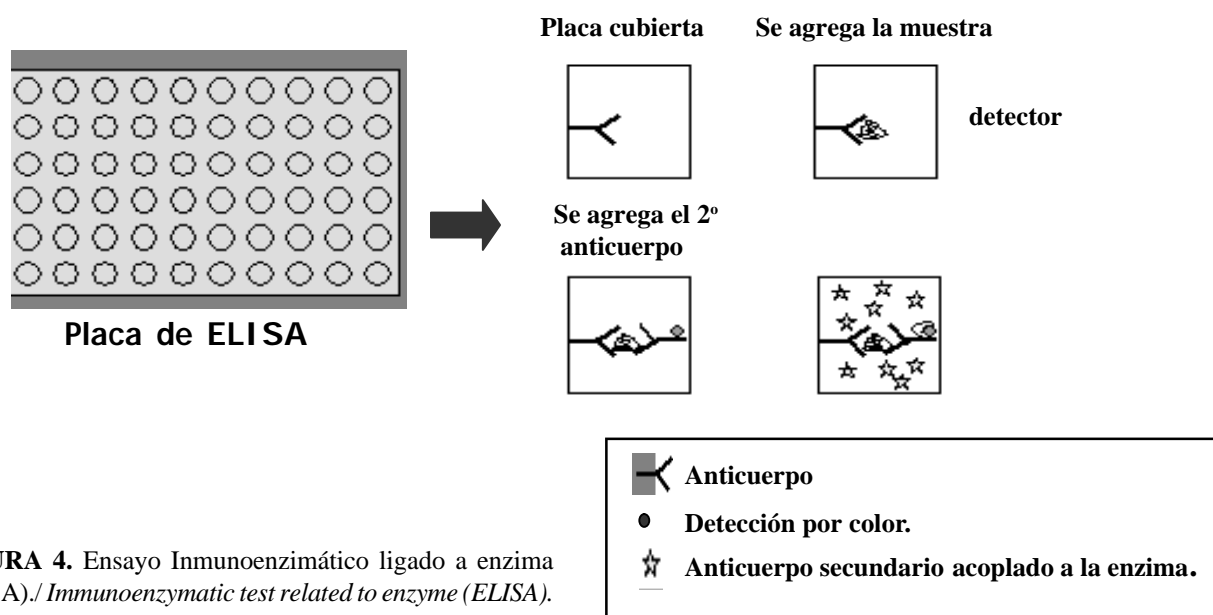


FIGURA 4. Ensayo Inmunoenzimático ligado a enzima (ELISA)./ *Immunoenzymatic test related to enzyme (ELISA).*

TABLA 3. Características de los métodos ELISA en la detección de OGM (22; 14; 21; 1)./ *Characteristics of ELISA methods in the GMOs detection (22; 14; 21; 1)*

Propósito	Identificar y semicuantificar una proteína específica relacionada a un rasgo genéticamente modificado.
Ventajas	Moderada preparación de la muestra.
	Ensayo relativamente rápido (2-4 horas incluyendo la preparación de la muestra).
	Cualitativo o semicuantitativo.
	Costo relativamente bajo o medio.
	Ensayo de formato robusto y simple.
	Conveniente y rentable para el análisis de numerosas muestras.
	Económicamente comparado con los métodos de detección de ADN.
	Se requiere menos habilidad que para los métodos de detección de ADN.
	Equipamiento más barato que para los métodos de detección de ADN.
Desventajas	Menos sensible que los métodos de detección de ADN.
	Los juegos diagnósticos son almacenados a 4°C.
	Costo moderado del equipamiento que requiere un lector de placas de ELISA.
	Falta de disponibilidad de anticuerpos relevantes.
	La cuantificación puede ser cuestionable, ya que puede estar influenciada por factores externos como el clima, las condiciones del suelo y la disponibilidad de nutrientes.
	El desarrollo de anticuerpos apropiados puede demorar de meses hasta años.
	Pueden existir falsos positivos, debido a contaminaciones cruzadas con otros componentes de la muestra analizada.
Limitaciones	Las pruebas ELISA no son evento específico.
	La sensibilidad es de ~ 0.5 a 1% de OGM.
	Algunos OGMs no expresan niveles detectables de la proteína blanco y otros expresan la proteína de forma muy limitada o no la expresan en todas las partes de la planta.
	Los juegos comerciales están disponibles para un número limitado de OGMs.
	La producción de anticuerpos es lenta y difícil.
	La mayoría de los ELISA detecta una sola proteína cada uno.
	Más útil para material crudo o entero, no procesado. No siempre útil para material procesado, debido a la desnaturalización de las proteínas por el calor.
	Conveniente para detectar el flujo del gen en cosechas convencionales de la misma especie, pero la proteína puede ser expresada en una forma modificada o no ser expresada en todos, si la construcción se realizó en una especie de planta diferente.

TABLA 4. Principales diferencias de los ensayos basados en la detección de ADN y en la detección de proteínas (9)./
Main differences of the tests based on the DNA and protein detection (9)

Características	ADN (PCR)	Proteína (ELISA/Lateral flow)
Sensibilidad	Alta	Media
Sensibilidad a la contaminación	Alta	Baja
Complejidad	Alta	Media/Baja
Velocidad	Media	Media/Alta
Marcadores universales	Si	No
Flexibilidad en el diseño	Si	No
Disponibilidad de los marcadores	Si	Baja (anticuerpos)
Automatización	Si	Sí/No
Cuantificación	Si/No	Sí/No
Extensión	A todo	Material no procesado
Rasgos	A todo	Plantas tolerantes a herbicidas y protegidas de los insectos
Precio	Alto	Bajo
Robustez	Alta	Media
Confiabilidad	Alta	Media
Identificación	Posible	No posible

micromatriz quedará marcado. Luego de la hibridación con la muestra de ADN marcado, un aparato de barrido especial realiza la lectura punto por punto, identificando los puntos marcados y por lo tanto las secuencias que están presentes en la muestra bajo análisis.

Finalmente hay que mencionar que los materiales genéticamente modificados que no mantengan una equivalencia sustancial con los materiales tradicionales, por definición, van a ser segregados e identificados de acuerdo a la nueva característica de valor y serán producidos y etiquetados de manera tal que se asegure su pureza, calidad y su valor de uso diferencial.

REFERENCIAS

- Ahmed, F.E. (2002): Detection of genetically modified organisms in foods. *Trends in Biotechnology*. 20(5): 215-223.
- Allman, M.; Candrian, U.; Höfelein, C. y Lüthy, J. (1993): Polymerase chain reaction (PCR): a possible alternative to immunochemical methods assuring safety and quality of food. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*. 196: 248-251.
- Atlas, R.M. y Bej, A.K. (1994): Polymerase Chain Reaction. In: Gerhardt, P., Murray, R.G.E., Wood, W.A. and Krieg, N.R., (Eds.) *Methods for general and molecular bacteriology*. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, pp. 418-435.
- Ausubel, F.; Brent, R.; Kingston, R.; Moore, D.; Seidman, J.; Smith, J. y Struhl, K. (1995): *Current Protocols in Molecular Biology*. Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School. John Wiley & Sons, Inc. ed. Supplement 18, 30.
- Biotechnology. Methods for detection of GMO Grain in Commerce (2000): <http://www.acpa.org>.
- Blake, N.K.; Ditterline, R.L. y Stout, R.G. (1991) : Polymerase chain reaction used for monitoring multiple gene integration in JUREDFWHULXP-mediated transformation. *Crop Science*. 31: 1686-1688.
- Fagan, J.; Schoel, B.; Haegert, A.; Moore, J. y Beeby, J. (2001): Performance assessment under field conditions of a rapid immunological test for transgenic. *Int. J. Of Food Science and Technology*. 36: 357-367.
- Griffiths, K.; Partis, L.; Croan, D.; Wang, N. y Emslie, K.R. (2002): Review of technologies for detecting genetically modified materials in commodities and food. Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, Australia: 126.
- Gryson, N.; Rotthier, A. y Messens, K. (2005) : Detection of genetically modified organisms in food and feed. In: *Advanced course in regulatory and biosafety issues of Agricultural Biotechnology*. Hogeschool Gent. 2005.
- Holst-Jensen, A.; Rønning, S.; Løvseth, A. y Berdal, K. G. (2003): PCR technology for screening

- and quantification of genetically modified organisms (GMOs). *Anal. Bioanal Chem.* 375: 985-993.
11. Hubner, P.; Waiblinger, H.U.; Pietsch, K. y Brodmann, P. (2001): Validation of PCR methods for quantitation of genetically modified plants in food. *JAOAC Int.* 84(6): 1855- 64.
 12. Jongedijk, E.; de Schutter, A.A.J.M.; Stolte, T.; Van den Elzen, P.J.M. y Cornelissen, B.J.C. (1992): Increased resistance to potato virus X and preservation of cultivar properties in transgenic potato under field conditions. *BioTechnology.* 422-429.
 13. Jordan, J. (2000): Real Time detection of PCR products and microbiology. *Journal in Microbiology:* 61-65.
 14. Lin, H.Y.; Chiang, J.W. y. Shih, D. (2001): Detection of genetically modified soybeans by PCR method and immunoassay kits. *Yaowu Shipin Fenxi/Journal of Food and Drug Analysis.* 9(3): 160-166.
 15. Lipp, M.; Bluth, A.; Eyquem, F.; Kruse, L.; Schimmel, H.; Van den Eede, G. y Anklam, E. (2001): Validation of a method based on polymerase chain reaction for the detection of genetically modified organisms in various processed foodstuffs. *European Food Research Technology.* 497-504.
 16. Martínez, M.C. (2002): Laboratorio de detección de organismos genéticamente modificados. (http://www.redbio.org/portal/encuentros/enc_2001/minicursos/pdf).
 17. Meyer, R.; Chardonens, F.; Hubner, P. y Luthy, J. (1996): Polymerase chain reaction (PCR) in the quality and safety assurance of food: detection of soybean in processed meat products. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und – Forschung A:* 339-344.
 18. Ortiz, S. (2002): (<http://nappo.org/PRA-Symposium/PDF-Final/Ortiz.pdf>).
 19. Raeymackers, L. (1993): Quantitative PCR: theoretical considerations with practical implications. *Analytical Biochemistry.* 582-585.
 20. Roux, K.H. (1995): Optimization and troubleshooting in PCR. *PCR Methods and Applications.* 185-194.
 21. Spiegelhalter, F.; Lauter, F.R. y Russell, J.M. (2001): Detection of genetically modified food products in a commercial laboratory. *Journal of Food Science.* 66(5): 634-640.
 22. Stave, J.W. (1999): Detection of new or modified proteins in novel foods derived from GMO – future needs. *Food Control.* 10: 367-374.
 23. Studer, E.; Rhyner, C.; Lüthy, J. y Hübner, P. (1998): Quantitative competitive PCR for the detection of genetically modified soybean and maize. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A.* 207: 207-213.
 24. Tozzini, A.C. (2004): Detección de OGM en la cadena alimentaria. (<http://www.inta.gov.ar/ediciones/2004/biotec/parte9-cap4.pdf>).
 25. Van den Eede, G.; Lipp, M.; Eyquem, F. y Anklam, E. (2000): Validation of a double competitive polymerase chain reaction method for the quantification of GMOs in raw materials. *Report published by the European Commission, Joint Research Centre, IHCP, Ispra, Italy.* EUR 19676: 40.
 26. Waiblinger, H.U.; Pietsch, K.; Brodmann, P. y Wurz, A. (1997): A screening method for the identification of 'genetically modified' food of plant origin. In: *Foods produced by means of genetic engineering.* Schreiber, G.A. & Bögl, K.W. (Eds) 2nd Status Report, BgVV-Heft 1/1997, Bunderinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, Berlin, Germany. 118-122.
 27. Yang, J.S.; Yu, T.A.; Cheng, Y.H. y Yeh, S.D. (1996): Transgenic papaya plants from JUREDFWHULXP-mediated transformation of petioles of LQ_YLWUR propagated multishoots. *Plant Cell Reports.* 15: 459-464.
 28. Zamudio, T. (2005): Evaluación de alimentos derivados de OGM. (<http://www.biotech.bioetica.org/dl14>).

(Recibido 1-4-2006; Aceptado 3-8-2006)