



Госстандарт Республики Беларусь

По Вашему запросу от 03.05.2008 № 03-25/686 лаборатория детекции ГМО Института генетики и цитологии НАН Беларуси провела повторный анализ на предмет наличия генетически-модифицированных составляющих (ГМС) детского питания «Фрисосой», поставляемого в Беларусь ИПООО «Аникабел». Как и в ходе предыдущего исследования (протокол №255 от 06.06.2007) в анализируемом образце ГМС выявлены не были (протокол №321 от 13.08.08). Заметим, что в наших исследованиях показана высокая воспроизводимость результатов: в ходе внутрिलाбораторных сличений, проведенных в ходе последнего исследования, аналогичные результаты получены двумя разными исполнителями.

Нам неизвестны особенности проведения анализов в лабораториях МГЦГиЭ и БелГИМ, в которой было показано присутствие следовых количеств ГМС в смеси «Фрисосой», поэтому наши соображения, касающиеся полученных расхождений в результатах носят достаточно общий характер.

В своей деятельности аккредитованные лаборатории для выявления ГМС используют методики, утвержденные Госстандартом. Это, прежде всего, СТБ ГОСТ Р 52173-2005 «Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения», применение которого обеспечивает высокое качество анализов при сравнительно невысокой их стоимости. Метод основан на идентификации рекомбинантной ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). В частности, он предполагает выявление в ДНК, выделенной из анализируемого пищевого сырья, регуляторных последовательностей, характерных для большинства трансгенных сортов сои и кукурузы: промотора 35S вируса мозаики цветной капусты и терминатора *NOS* из *A.tumefaciens*. С целью выявления ДНК сои и кукурузы как традиционных, так и генно-модифицированных сортов в исследуемом пищевом продукте, а также проверки качества выделяемых из исследуемых образцов препаратов ДНК, применяются методы идентификации последовательностей ДНК, специфичных для всех линий сои (ген лектина) и кукурузы (ген зеина). Именно этот метод используется в лаборатории детекции ГМО института генетики и цитологии НАН Беларуси. Его чувствительность составляет 0,1% ГМС.

В ряде аккредитованных в Беларуси лабораторий для детекции ГМС применяют приборы, позволяющие наряду с выявлением названных последовательностей ДНК, одновременно определять количественное содержание ГМС (метод ПЦР в реальном времени). Использование этого метода в Беларуси допускается Методические указания МУК 4.2.1913-04 «Методы количественного определения генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения в продуктах питания» Минздрав России, Москва, 2004. При этом процесс анализа проб в значительной степени автоматизирован, нет необходимости проводить оценку результатов амплификации с помощью электрофореза. Однако стоимость анализов по сравнению с методикой, предусмотренной СТБ ГОСТ Р 52173-2005, в несколько раз выше. Чувствительность этого метода также выше, чем в названном стандартном методе, и составляет 0,01% ГМС. Данный метод используют в исследованиях, проводимых в лаборатории МГЦГиЭ, а также в лаборатории РЦГиЭО (в исследованиях, проведенных лабораторией РЦГиЭО ГМС в смеси «Фрисосой» не

выявлены) и, насколько нам известно, в лаборатории РУП «БелГИМ» (обнаружены следы ГМС – менее 0,5%).

Таким образом, первая возможная причина выявленных расхождений – разная чувствительность используемых методов. Заметим, что в лаборатории детекции ГМО Института генетики и цитологии НАН Беларуси применяется метод, который, хотя и обладает более низкой чувствительностью по сравнению с ПЦР в реальном времени, однако он соответствует стандарту Беларуси, аналогичному стандарту Российской Федерации, а также, по нашим сведениям, применяется в большинстве аккредитованных лабораторий Европейского Союза для проведения скрининговых исследований на содержание ГМС. Поскольку названные анализы имеют целью соблюдение законодательства в области маркировки и не касаются безопасности анализируемого продукта (любой новый трансгенный сорт допускается к использованию в практических целях только после того как будут представлены убедительные доказательства его безопасности для здоровья человека), то считается общепризнанным, что чувствительность метода 0,1% ГМС является вполне достаточной для названных целей. Заметим, речь идет об очень низких концентрациях. Процент ГМС рассчитывается относительно концентрации присутствующего в продукте немодифицированного аналога. Таким образом, если продукт содержит 1% сои, то концентрация трансгенной сои при проценте ГМС 0,1% будет около 0,001% при пересчете на массу продукта.

Для устранения в будущем подобных расхождений следует, на наш взгляд, принять ряд организационных мероприятий, направленных на сближение чувствительности применяемых в разных лабораториях Беларуси методов. Поскольку стоимость реактивов для проведения анализов в соответствии с СТБ ГОСТ Р 52173-2005 (ПЦР с последующим электрофорезом), в несколько раз ниже, чем с использованием ПЦР в реальном времени, можно рекомендовать лабораториям использовать названную стандартную методику. Для этих целей их необходимо будет только дооснастить оборудованием для проведения электрофореза и регистрации полученных электрофореграмм (цифровая камера и трансиллюминатор), для проведения ПЦР вполне пригодны имеющиеся в их распоряжении приборы. Возможен также вариант поиска решений, направленных на искусственное снижение чувствительности приборов ПЦР в реальном времени, например, путем уменьшения количества циклов амплификации до определенного предела.

Названное объяснение не может быть использовано к результатам исследований РЦГЭиОЗ, которые показали отсутствие ГМС в смеси «Фрисосой», несмотря на применение прибора ПЦР в реальном времени. С целью достижения высокого качества, репрезентативности и воспроизводимости результатов методика проведения анализов в соответствии с выше названным стандартом предъявляет жесткие требования к помещениям для отдельных этапов анализа, применяемому оборудованию, качеству реактивов, подготовке персонала, порядку отбора образцов и составления средних проб, соблюдению которых в лаборатории детекции ГМО Института генетики и цитологии НАН Беларуси уделяется очень много внимания. Для контроля качества отдельных этапов анализа предусмотрено наличие ряда контрольных проб. Качество выделения ДНК оценивают по наличию в пробах последовательностей ДНК, специфичных для всех линий сои (ген лектина) и (или) кукурузы (ген зеина) и отсутствию таковых в пробе отрицательного контрольного образца (ДНК нетрансгенных растений, отличных от сои и кукурузы). Качество проведения реакции амплификации оценивают по наличию в пробах положительных контрольных образцов (трансгенной сои и трансгенной кукурузы) последовательностей ДНК, специфичных для сои и (или) кукурузы, а также последовательностей ДНК,

характерных, для ГМС (промотора 35S и (или) терминатора *NOS*); отсутствию названных фрагментов ДНК в пробе отрицательного контроля (раствор ТЕ-буфера).

Метод детекции ГМС, основанный на реакции ПЦР, обладает исключительно высокой чувствительностью. В связи с этим к лабораториям, персоналу предъявляются исключительно жесткие требования к качеству работ. Поэтому очень важно, что применяемые методы позволяют четко оценить качество выполнения отдельных этапов анализа образцов, как описано выше. Появление искомым фрагментов ДНК, специфичных для сои, кукурузы, трансгенных линий, в пробах отрицательного контрольного образца или отрицательного контроля (контаминация проб) свидетельствуют о недостаточном качестве проведения, соответственно, этапа выделения ДНК и этапа амплификации ДНК. Такие испытания необходимо повторить, стараясь устранить возможные причины контаминации. Испытания, в которых имеет место контаминация пробы отрицательного контрольного образца или отрицательного контроля считаются недействительными.

Исключительно высокая чувствительность применяемого метода анализа делает крайне мало вероятным получение отрицательного результата (отсутствие ГМС) для образцов, содержащих ГМС, в случае соблюдения репрезентативности выборки (отбор образцов) и методики приготовления средних проб. С другой стороны, высокая чувствительность метода, в особенности, в случае использования прибора ПЦР в реальном времени, делает вероятным получение ложно положительного результата (наличие ГМС) для образцов, не содержащих ГМС, из-за контаминации. В связи с этим в лаборатории детекции ГМО Института генетики и цитологии НАН Беларуси действует жесткое правило: все образцы, для которых получены положительные результаты, обязательно подвергаются повторному исследованию. Таким образом, решение о том, что образец содержит ГМС выносится только в случае воспроизведения положительного результата в двух последовательно проведенных испытаниях. Нам не известны условия проведения испытаний в лабораториях МЦГиЭ и БелГИМ, в частности, неизвестно, практикуют ли они проведение обязательных повторных исследований образцов, в которых обнаружены ГМС. Однако считаем, что исключать контаминацию проб в качестве одной из возможных причин получения положительных результатов, а, следовательно, и выявленных расхождений результатов, не следует. В любом случае, лаборатории детекции ГМС в Беларуси должны проявлять высокую ответственность в вынесении заключений, касающихся, прежде всего, обнаружения ГМС в образцах. Эти результаты должны выноситься только в том случае, когда лаборатория убеждена в достоверности и воспроизводимости полученных результатов, их объективности, что не допущены какие-либо нарушения технологии, которые могли привести к контаминации анализируемых образцов.

Третье по вероятности объяснение выявленных расхождений в результатах анализов смеси «Фрисосой» - гетерогенность продукта по содержанию примесей ГМС. В отдельных упаковках следы ГМС могут присутствовать, в других – нет. На наш взгляд, относительно смеси «Фрисосой» данное объяснение наименее вероятно, учитывая характер приготовления продукта (высокая степень гомогенизации компонентов и их перемешивание), а также исключительно высокую чувствительность методов детекции ГМС. Тем не менее, полностью его исключать не следует. Значимость фактора гетерогенности может существенно возрасти при анализе других продуктов и сырья, подлежащих анализу на содержание ГМС, особенно таких, которые представляют собой или содержат неразмолотое и нераздробленное зерно сои, кукурузы. Для снижения значимости

фактора гетерогенности большое значение имеет соблюдение установленной методики отбора образцов, приготовления средних проб. Лаборатория детекции ГМО Института генетики и цитологии самостоятельно отбор образцов не производит, однако соблюдению установленной методики приготовления средних проб в ней уделяется пристальное внимание.

Таким образом, как показывает практика исследований по детекции ГМС в Беларуси (настоящий случай) и в других странах, полностью исключить расхождения в результатах исследований отдельных лабораторий очень сложно, особенно в случае анализа не достаточно гомогенных продуктов и сырья. Поэтому, на наш взгляд, окончательное решение в спорных ситуациях должно быть основано на результатах исследований одной или нескольких лабораторий (своего рода, арбитражных), в которых, на взгляд Госстандарта, в наибольшей степени соблюдаются условия проведения испытаний, обеспечивающие снижение вероятности появления ложно положительных результатов.

Руководитель
Национального координационного
центра биобезопасности
д.б.н.

А.П.Ермишин