



Estudo Regulatório sobre Proteínas Alternativas no Brasil - Carne Cultivada

2022

FICHA DE CRÉDITOS

Autoras

Eloísa Elena Corrêa Garcia, Fabiana Andrea Barrera Galland, Danielle Ito, Rita de Cássia S. C. Ormenese, Neusely da Silva, e Maria Teresa Bertoldo Pacheco.

Coordenação

Ana Carolina Rossettini, Alexandre Cabral, Gustavo Guadagnini, Katherine de Matos, Raquel Casselli.

Revisão

Alexandre Cabral, Amanda Leitolis, Luismar Porto, Fernanda Berti.

Projeto Gráfico

Fábio Cardoso, Vinícius Gallon.

Equipe do The Good Food Institute Brasil

Alexandre Cabral	Diretor de Políticas Públicas
Amanda Leitolis	Especialista de Ciência e Tecnologia
Ana Carolina Rossettini	Gerente de Desenvolvimento
Camila Lupetti	Especialista de Dados
Cristiana Ambiel	Gerente de Ciência e Tecnologia
Guilherme Vilela	Especialista de Engajamento Corporativo
Gustavo Guadagnini	Diretor Executivo
Jaqueline Gusmão	Assistente Executiva
Karine Seibel	Gerente de Operações e Recursos Humanos
Katherine de Matos	Diretora de Ciência e Tecnologia
Lorena Pinho	Analista de Ciência e Tecnologia
Luciana Fontinelle	Especialista de Ciência e Tecnologia
Mariana Bernal	Analista de Políticas Públicas
Mariana Demarco	Analista de Ciência e Tecnologia
Raquel Casselli	Gerente de Engajamento Corporativo
Vinícius Gallon	Especialista de Comunicação



WWW.GFI.ORG.BR



GFIBR@GFI.ORG

The Good Food Institute Brasil

O The Good Food Institute é uma organização global sem fins lucrativos que trabalha para transformar a cadeia de produção de alimentos.

Com equipes nos Estados Unidos, Brasil, Israel, Índia, e países da Europa e da região Ásia-Pacífico, apoia o desenvolvimento do setor de proteínas alternativas, especialmente o mercado de carnes, ovos, e produtos lácteos vegetais, cultivados ou obtidos por fermentação.



Para isso, a instituição oferece os seus serviços gratuitamente à sociedade através de três áreas programáticas:



Engajamento Corporativo

Apoia a indústria de alimentos e de ingredientes, restaurantes e varejistas no desenvolvimento, aprimoramento e distribuição de produtos a base de proteínas alternativas. Auxilia startups e investidores na elaboração de planos de negócios, financiamento, comunicação, comercialização e regulação, além de produzir dados e informações relevantes para o mercado.



Ciência e Tecnologia

Trabalha para desenvolver, financiar e promover o conhecimento científico envolvido na produção de carnes, ovos e produtos lácteos feitos à base de plantas, cultivados a partir de células ou obtidos por fermentação. Promove a capacitação de profissionais e a disseminação do conhecimento técnico e científico associado às áreas de proteínas alternativas.



Políticas Públicas

Atua diretamente com agentes de governo e formuladores de políticas públicas, além de fomentar a comunicação entre o governo e os agentes de mercado, para assegurar que o marco regulatório vigente permita o desenvolvimento pleno do setor de proteínas alternativas no Brasil.

Com esse trabalho, o GFI busca soluções para resolver quatro grandes desafios atuais:

1 Alimentar de forma segura, justa e sustentável quase dez bilhões de pessoas até 2050.

2 Conter as mudanças climáticas provocadas pelo atual sistema de produção de alimentos.

3 Reduzir a contribuição do setor de alimentos no desenvolvimento de novas doenças infecciosas, algumas com potencial pandêmico.

4 Criar uma cadeia de produção de alimentos que não dependa de animais.

O GFI está construindo um mundo onde as proteínas alternativas não são mais alternativas, são a escolha padrão.



APRESENTAÇÃO

Com o intuito de fornecer referência técnica para o desenvolvimento do marco regulatório no Brasil para as proteínas alternativas, a pedido do The Good Food Institute – GFI, o Instituto de Tecnologia de Alimentos – Ital, elaborou três documentos técnicos abordando, separadamente, as proteínas alternativas obtidas por cultura celular, nomeadamente carne cultivada, além daquelas produzidas por fermentação ou produzidas a partir de planta (*plant-based*).

Este documento aborda as **proteínas obtidas por cultura celular**. Inicialmente são apresentadas as principais características técnicas do processo de produção de carne cultivada, bem como um levantamento do cenário regulatório internacional atual sobre cultura de células para produção de proteína animal.

Em relação às características técnicas do processo de produção de carne por cultivo celular, foi realizada uma revisão bibliográfica de artigos internacionais publicados em anos recentes com foco em características dos processos, segurança e pureza dos insumos utilizados, pontos críticos no controle dos processos e contaminantes químicos potenciais.

O mapeamento do estágio da regulamentação da cultura celular no exterior focou principalmente os regulamentos da União Europeia, Canadá, Estados Unidos, Austrália e Nova Zelândia e Singapura, bem como fontes de orientação complementares, como documentos de perguntas e respostas e guias, identificados nos websites das autoridades nacionais competentes.

Por fim, com base nas informações levantadas e considerando o panorama atual da legislação brasileira para aprovação de novos alimentos, ingredientes e aditivos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Anexo 1), apresenta-se uma proposta de regulamentação das proteínas obtidas por cultura de células no Brasil, que poderá ser utilizada como um passo inicial para o processo de criação do marco regulatório no Brasil sobre carnes cultivadas e seus componentes.

PARCEIROS



PALAVRA INSTITUCIONAL

Em artigo escrito em 1931 onde fazia previsões para dali a 50 anos, Winston Churchill dizia que “devemos escapar do absurdo que é criar um frango inteiro apenas para comer um peito ou uma asa”. Quase 100 anos depois estamos perto disso, através de inovações tecnológicas que migraram das pesquisas em medicina regenerativa para a área de alimentos. Toda disrupção tecnológica é um pouco ficção científica até virar realidade. As que são aqui tratadas evoluíram rapidamente da ficção à bancada nos últimos 15 anos, já chegando em escala experimental aos consumidores. Elas podem alterar positivamente a delicada equação que envolve a saúde dos humanos, dos animais e do planeta em que todos vivemos.

Nas inovações tecnológicas em geral, o inovador costuma estar sempre à frente do regulador. No caso do setor de alimentos, o tempo que uma inovação leva até chegar ao prato do consumidor depende da interação entre os laboratórios de pesquisa básica (normalmente dentro de universidades e centros de pesquisa, apoiados de forma direta ou indireta pelas empresas) e as áreas corporativas de P&D, Marketing e Regulatório. Posicionamento de produto, rotulagem e registro são tão importantes quanto formulações, ingredientes e aditivos. Entretanto, Inovações radicais podem complexificar essa interação. Os alimentos obtidos por cultura celular levam tudo isso ao extremo em diferentes disrupções.

A primeira disrupção acontece na lógica de criação de animais para consumo humano, o tal absurdo que Churchill mencionava. Há séculos os criamos com esse fim e, mesmo com os avanços na genética e no manejo de rebanhos, uma parte significativa dos alimentos fornecidos a estes animais são consumidas para sua própria sobrevivência e não são convertidos em carne para a alimentação humana. Da mesma forma, desde sempre esses animais estão sujeitos a riscos e somos levados a defendê-los. Se no passado defendíamos os rebanhos de outros predadores com cercas, agora precisamos defendê-los de patógenos por meio de medicamentos. Os riscos da sanidade animal crescem exponencialmente quando aumentamos o tamanho dos rebanhos com indivíduos geneticamente iguais. Basta vermos a quantidade de abates sanitários realizados nos últimos tempos e as preocupações com as doenças zoonóticas, que são aquelas transmitidas de animais para humanos. Tudo isso muda radicalmente de proporção, custo e nível de risco em um cenário com poucos animais no rebanho, aptos a doarem células, que por sua vez serão transformadas em carne própria para o consumo humano, em um processo controlado que ocorre dentro de biorreatores.

A disrupção seguinte acontece no tipo de produto obtido e nos resíduos de sua produção. Hoje um animal produz determinados tipos de corte no fracionamento após o abate e os tecidos musculares obtidos trazem consigo tanto as características da espécie quanto o histórico de saúde e manejo do animal abatido. E nada mais. Já os produtos obtidos por cultura celular têm sua estrutura aberta àquilo que a engenharia de alimentos entender como necessária ou adequada ao produto. Por exemplo, é possível obter carne de frango com níveis precisos de gordura e enriquecida com Ômega 3 (usualmente encontrado apenas em peixes de água fria). Ao mesmo tempo, como não partimos do abate de um animal vivo, não há partes não aproveitadas da carcaça. Tudo isso em processos com um consumo significativamente menor de recursos naturais finitos, como terra e água.

Uma disrupção final, que não é de ordem tecnológica, tem relação com os mercados. As proteínas de origem animal obtidas por cultura de células não eliminam o mercado de alimentos de origem animal tradicionais. Na verdade, colaboram significativamente na redução da velocidade com que seria necessário aumentar os rebanhos para continuar suprindo a crescente demanda por carne e

outros alimentos proteicos. Dietas ricas em carne tem aumentado sem parar no mundo todo, tanto pelo aumento da população quanto pelo aumento do consumo per capita em algumas regiões. Especialistas apontam que está cada vez mais difícil atender à demanda mundial por carne somente com as tecnologias tradicionais. Parece ser mais fácil e efetivo fornecer um novo tipo de carne em vez de convidar o mundo a se tornar mais vegetariano. As opções de diferentes fontes de obtenção de proteínas para consumo humano conviverão num futuro próximo. Esse é e sempre será um mercado “E” e não um mercado “OU”.

Mobilizadas as empresas, os investidores e a comunidade científica, é hora de também mobilizar os reguladores. É preciso produzir um marco regulatório favorável à inovação e ao investimento e alinhado às experiências regulatórias desenvolvidas em outros países. É preciso integrar o Brasil ao mercado global desta nova categoria de alimentos, garantindo que produtos fabricados aqui possam ser exportados e que possamos importar produtos dentro de padrões de segurança baseados em argumentos científicos, permitindo ao Brasil desenvolver plenamente seu potencial protagonismo nesse segmento de alta tecnologia.

Esse é o principal objetivo deste estudo regulatório, contratado pelo GFI Brasil com o apoio de um grupo de empresas do setor e realizado ao longo de 2021 pela equipe do Instituto de Tecnologia de alimentos (ITAL), reconhecida instituição de pesquisa com quase 60 anos de experiência. Ele foi organizado nos mesmo três eixos em que o GFI pauta sua atuação junto aos agentes reguladores brasileiros: informação, alinhamento e mobilização.

No eixo informação, a compilação robusta de dados sobre o estado-da-técnica no desenvolvimento deste tipo de produto vem acompanhada de diversas “considerações de segurança”, onde realçamos elementos que devem ser levados em conta pelos reguladores. No eixo alinhamento, apresentamos um minucioso levantamento, feito entre agosto e setembro de 2021, sobre as práticas regulatórias em vigor ou em desenvolvimento em diferentes países, permitindo pensar o marco regulatório brasileiro alinhado ao cenário internacional. Por fim, no eixo mobilização, fazemos uma proposta de como pode ser configurado o marco regulatório brasileiro para orientar o processo de produção para obtenção de produtos seguros para consumo, apontando as legislações atuais envolvidas e como o novo marco a ser proposto pode atender às demandas da tecnologia.

Com esse conjunto único de informações, esperamos que a execução das etapas da Análise de Impacto Regulatório para os alimentos obtidos por cultura celular possa ser iniciada em 2022 a partir das informações científicas aqui apresentadas, sendo complementada e atualizada através de canais de comunicação efetivos e bidirecionais com as empresas atuantes no setor e com os reguladores estrangeiros.

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	10
1.1 - Etapas do processo de produção de proteína animal por meio de cultivo de células	11
2 - CARACTERÍSTICAS PRINCIPAIS DOS PROCESSOS DE PRODUÇÃO E ASPECTOS RELACIONADOS À SEGURANÇA	12
2.1 - Fonte de células	12
2.2 - Meio de cultivo celular	17
2.3 - Estruturação	21
2.4 - Biorreatores	23
2.5 - Produto final e seu processamento	24
2.6 - Cultura de células e CGMs	26
3 - CENÁRIO REGULATÓRIO INTERNACIONAL SOBRE CULTURA CELULAR	27
3.1 - Austrália e Nova Zelândia	28
3.1 - Australia New Zealand Food Standards Code – Standard 1.5.1 – Novel Foods .	28
3.2 - Canadá	31
3.3 - Singapura	33
3.4 - Europa	36
3.5 - Estados Unidos	40
3.6 - Israel	42
3.7 - Japão	43
4 - PROPOSTA DE REGULAMENTAÇÃO DAS PROTEÍNAS OBTIDAS POR CULTURA DE CÉLULAS NO BRASIL	44
4.1 - Considerações sobre o Relatório Técnico para submissão do pedido de registro de carnes cultivadas e Seus Componentes junto à ANVISA	45
4.2 - Informações Sugeridas para o Relatório Técnico para Solicitação de Registro de um Processo de Produção de Carne Cultivada e Seus Componentes.	46
5 - REFERÊNCIAS	56
Anexo 1 - Panorama da Legislação Brasileira Atual para Aprovação de Novos Alimentos, Ingredientes e Aditivos	63

1 - INTRODUÇÃO

A pesquisa em relação à produção de proteína a partir de cultura de células vem crescendo aceleradamente nos últimos 6 anos. Diversos grupos ao redor do mundo vêm pesquisando condições de cultivo mais apropriadas e eficientes para produção de carne por cultura de células em escala industrial, que permitam que o processo seja seguro, menos custoso e mais rentável. Diversas *startups* têm se dedicado ao tema, porém nenhuma delas ainda apresenta um modelo econômico de larga escala de produção.

Apesar de a tecnologia estar mais desenvolvida para cultura de células animais, para produção de carne de bovino, suíno e frango, pescados e frutos do mar, processos similares já se mostraram viáveis para produção de proteínas de leite, colágeno e ovos.

Uma cadeia produtiva inteira está se formando ao redor do tema, desde fornecedores de linhagens celulares, meios de cultura, *design* de bioprocessos e fabricação de biorreatores, otimização de processos biotecnológicos, biomateriais para suportes (*scaffolds*) e tecnologias para *downstreaming* do processo de produção de proteína por cultura celular. O interesse é crescente e muita pesquisa e investimento têm sido dedicados ao desenvolvimento dessa tecnologia. Paralelamente, órgãos reguladores e o setor produtivo já estão buscando estruturar o marco regulatório para garantir a segurança do produto e viabilizar sua comercialização.

De acordo com a Organização de Alimentos e Agricultura dos Estados Unidos, o setor da agropecuária representa 18% da emissão de gases de efeito estufa, 30% da ocupação da superfície terrestre, 70% de toda a agricultura mundial e 8% do consumo de água (FAO 2009; Bhat et al. 2019). Ainda assim, a demanda de consumo de carne tende a dobrar até 2050, fazendo com que a produção da carne na forma tradicional não seja sustentável (Henchion et al. 2017). Em relação às questões de sustentabilidade durante a produção de carne, é preciso considerar não só a emissão de CO₂ pela fermentação entérica durante a criação dos animais; mas também as atividades relacionadas à produção de ração, como o uso de fertilizantes e pesticidas, uso de terra e consumo de água pela agricultura, além dos produtos veterinários para tratamento dos animais.

A produção de carne utilizando animais é considerada ineficiente, uma vez que os animais consomem grandes quantidades de alimentos, sendo a maior parte da energia gasta com o seu próprio metabolismo e na produção de tecidos não comestíveis (como ossos, tendões e couro). Em contrapartida, a estrutura da carne cultivada não contém miudezas ou componentes não comestíveis, o que não apenas reduz o tempo de produção, mas também diminui a quantidade de nutrientes necessária por quilograma de carne.

Em termos de consumo de água e emissão de gases de efeito estufa, o cultivo de carne é mais eficiente, porém, em relação a parâmetros energéticos só será benéfico se acompanhado de energia renovável (Bhat et al. 2019). Ainda, acredita-se que o uso de células cultivadas permitiria o controle no uso de antibióticos na produção, reduzindo seu consumo, bem como problemas relacionados à resistência de microrganismos pelo seu uso na agropecuária.

A produção de carne cultivada também está embasada em aspectos éticos em relação ao uso de animais para a alimentação humana. Considera-se que a indústria da carne em geral (gado, aves ou suínos) apresenta condições críticas de criação, como super-confinamento e maus tratos. Ainda, inevitavelmente, exige o abate animal para obtenção do produto final.

O risco de disseminação de doenças infecciosas por microrganismos, como Salmonella e Listeria, também é minimizado na produção de carne cultivada, uma vez que permite que haja maior controle na manipulação de nutrientes e das condições assépticas da produção. A carne produzida pode passar por um rigoroso controle de qualidade, permitindo que se tenha um produto final livre de infecções, doenças, parasitas, ou mesmo contaminantes químicos. Além disso, com maior controle sobre os ingredientes adicionados, tipo de células e sua diferenciação sob este sistema, a composição do produto desenvolvido poderá vir a ser adaptada de acordo com as demandas dos consumidores.

1.1 - Etapas do processo de produção de proteína animal por meio de cultivo de células

O processo de produção de carne cultivada é uma área multidisciplinar, que inclui conhecimentos em engenharia de alimentos, de tecidos e de bioprocessos, bem como biologia celular, bioquímica e genética. A Figura 1 descreve a produção de carne cultivada de forma resumida, podendo ser dividida em 4 etapas principais: (1) aquisição de células-tronco por biópsias de animais; (2) expansão em grande escala (proliferação) das células-tronco em biorreatores, (3) diferenciação induzida de células-tronco em miofibras, adipócitos ou outros tipos de células maduras e estruturação em *scaffolds* e (4) coleta da carne cultivada para posterior processamento em um produto cárneo. A composição do meio de cultivo será determinante para garantir a eficiência do processo, principalmente relacionada à proliferação e diferenciação celular. O produto de carne cultivada pode ser apresentado ao consumidor em forma de hambúrguer, nuggets, almôndegas, ou mesmo intactas, como bifes ou pedaços de frango. Ainda, dependendo do produto desejado, pode ser considerada a adição de outras substâncias como aromatizantes, aglutinantes, aditivos produzidos por fermentação ou compostos à base de plantas.

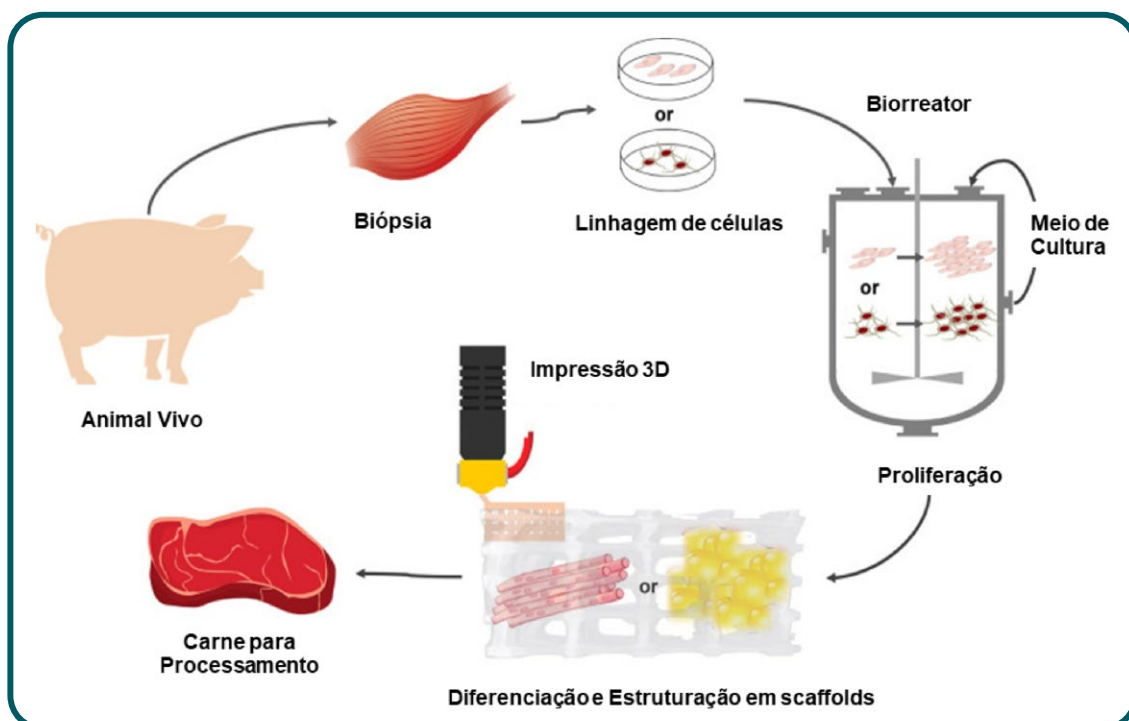


Figura 1. Etapas da produção de carne por cultura de células.
Adaptado de Xin Guan et al., 2021.

2 - CARACTERÍSTICAS PRINCIPAIS DOS PROCESSOS DE PRODUÇÃO E ASPECTOS RELACIONADOS À SEGURANÇA

A seguir são apresentadas as principais características do processo de produção de proteína animal através do cultivo de células animais, bem como são destacados alguns aspectos importantes relacionados ao controle de processo e à segurança do produto final destinado ao consumo como alimento.

Esta seção está dividida em 5 pontos principais relacionados à produção da carne cultivada, sendo: escolha da linhagem de células; meio de cultivo; estruturação; biorreatores e produto final e seu processamento.

Ao final, apesar de não ser uma tecnologia em uso atualmente, são comentadas algumas questões sobre a possibilidade de utilização de células geneticamente modificadas (CGM).

2.1 - Fonte de células

O processo de produção de carne cultivada envolve o isolamento de células-tronco a partir da biópsia de animais de criação para, em seguida, permitir que estas células se proliferem em quantidade adequada em um sistema *in vitro* e se diferenciem em células maduras que constituem a carne, como miócitos e adipócitos. Dois tipos principais de fonte celular podem ser usados: 1) células primárias, retiradas diretamente do animal ou 2) linhagens celulares, as quais são capazes de serem mantidas por longos períodos *in vitro* e, portanto, podem ser sub-cultivadas diversas vezes (Coecke et al., 2005). Entre as células tronco obtidas do tecido primário, pode-se citar, as células tronco embrionárias, as quais são pluripotentes, o que significa que são capazes de formar qualquer tipo celular, e as células tronco adultas, obtidas de tecido adulto e distribuídas pelo corpo em diferentes tecidos, as quais apresentam um potencial de diferenciação mais limitado (multipotentes), uma vez que criam células da mesma camada germinativa ou do mesmo tipo de órgão.

Em relação às células embrionárias, estas devem ser obtidas dos blastocistos, que são formados após alguns dias da fertilização no corpo do animal ou por fertilização *in vitro*. O uso deste tipo celular para produção de carne cultivada tem sido menos empregado, uma vez que a obtenção das células e as condições de cultivo são mais desafiadoras, considerando que requerem fatores de crescimento e inibidores de diferenciação espontânea específicos para cada espécie (Wu and Izpisua Belmonte 2015).

Como alternativa pode-se utilizar células-tronco pluripotentes induzidas (iPSCs derivado do inglês, *induced pluripotent stem cells*), onde células somáticas de adulto, como fibroblastos da pele ou leucócitos do sangue, sofrem um processo de reprogramação para voltarem a um estado indiferenciado, através da utilização de fatores de transcrição específicos (Oct4, Klf4, c-Myc e Sox2). Em seguida, as iPSCs podem ser diferenciadas para células de tecidos específicos, como células musculares ou adipócitos (Takahashi and Yamanaka 2006). Este processo apresenta alguns desafios tecnológicos e pode exigir manipulação genética com risco de inserir mutações no genoma da célula. Ainda, a maioria destes estudos com indução foi realizada em células de rato ou camundongo e poucos ainda em células derivadas de bovinos (Bogliotti et al. 2018). Portanto, a adaptação deste sistema para células de gado ou outros animais de criação ainda é incipiente para cultivo de carnes.

As células tronco adultas têm sido as mais empregadas como fonte celular para produção de carne cultivada. Estas apresentam diferenciação limitada e permanecem quiescentes no tecido adulto, com um papel fisiológico importante na regeneração do tecido para reposição de células mortas ou danificadas. As células tronco adultas podem ser obtidas de diversos órgãos, tipicamente biópsias de medula, tecido adiposo ou músculo. Existem três tipos principais de células tronco adultas que apresentam um papel importante para a produção de carne cultivada: as células-satélite musculares, células-tronco mesenquimais e progenitores fibro/adipogênicos (FAPs).

As células satélites encontradas na membrana basal da fibra muscular são capazes de diferenciação em miócitos, e é o tipo celular mais utilizado para o cultivo de carne, uma vez que são abundantes e requerem menor esforço para diferenciação (Wosczyzna and Rando 2018). As células mesenquimais são capazes de diferenciação em adipócitos, condrócitos e fibroblastos, enquanto as células fibro/adipogênicas podem se diferenciar em fibroblastos e adipócitos. Juntas, estas células são capazes de compor todos os principais tipos celulares presentes na carne. Diversos estudos estão sendo realizados com estas células para produção de carne em escala industrial, o que requer otimização para aumentar a capacidade de diferenciação e proliferação e reduzir a dependência de biópsia animal para obtenção (Reiss, 2021). A diferenciação em tecido específico é induzida por manipulação bioquímica, com fatores de transcrição que induzem a expressão de genes de diferenciação.

Para o cultivo de carne em escala industrial torna-se necessário aumentar a capacidade de divisões celulares, a qual é limitada em condições naturais da célula após entrar em estágio de senescência. Portanto, a imortalização destas células é essencial para prosseguir a proliferação e rendimento em escala. Isso pode ser induzido através de modificações epigenéticas e super expressão das enzimas telomerasas (Ramboer et al. 2014; Huang et al. 2014; Hochedlinger and Jaenisch 2015). A tecnologia de imortalização destas células está em crescente aprimoramento e diversos estudos estão sendo realizados para adaptação desta tecnologia com células de animais de criação. Algumas questões associadas estão sendo trabalhadas, como a capacidade no número de passagem celular (divisão celular de uma geração para outra), o limite de sub-cultivo (o qual vai sendo reduzido ao longo das passagens), a proliferação de células sem identificação, bem como a capacidade de diferenciação para outros tipos celulares que não os miócitos, tais como adipócitos (Bhat et al. 2019). Modificações epigenéticas são necessárias para a imortalização e renovação destas células, como, por exemplo, a inibição da via de sinalização celular p38-MAPK (Ding et al. 2018).

A versão atual de carne cultivada é baseada principalmente no cultivo de células musculares, contudo cabe ressaltar que um pedaço de carne convencional contém diferentes proporções de outros elementos, como sangue, nervos e tecido adiposo que devem ser considerados para aprimorar o sabor e textura. Algumas combinações estão sendo testadas, como o acréscimo de células de gordura ao tecido muscular, cultivadas separadamente, obtendo-se o produto final de carne cultivada em forma de guisado. Além disso, os pesquisadores estão trabalhando no desenvolvimento de tecnologia de co-cultura de células (mais de um tipo celular), como o cultivo de miócitos com adipócitos conjuntamente. Cabe ressaltar que esta tecnologia precisa ser aprimorada, uma vez que diferentes células apresentam especificidades nutricionais diversas bem como tempo de maturação.

A produção de carne cultivada deve levar em conta também as características de cor, sabor, textura e propriedades nutricionais do alimento. Várias mudanças bioquímicas podem interferir nas características sensoriais, como processos durante o período inicial pós-morte, glicólise post-mortem, rigor mortis, declínio do pH, ativação calpaína e assim por diante (Bhat et al. 2019). A ausência

dessas etapas poderá afetar a qualidade geral da carne produzida. A exemplo disso, o aspecto da carne bovina cultivada tende a ser mais amarelado do que avermelhado, quando comparada a uma carne convencional, devido à redução da expressão de mioglobina. No entanto, condições de cultivo variadas, como condições de baixa disponibilidade de oxigênio, podem aumentar a expressão de mioglobina, recuperando o aspecto da carne convencional (Kanatous and Mammen 2010).

O processo de cultivo de carne projeta a formação de bancos de células que irão permitir a independência do uso de animais no processo de obtenção das células, bem como garantir a estabilidade da linhagem celular e a consistência do tipo celular cultivado. A ideia é que as células sejam selecionadas, validadas e congeladas em pequenos lotes, permitindo o uso gradual ao longo do tempo. Estas poderão ser descongeladas, validadas novamente e replicadas, mantendo a expansão contínua. O procedimento de congelamento deve ser padronizado no que diz respeito ao meio de congelamento utilizado e a técnica de congelamento. Normalmente o congelamento rápido reduz o risco de cristalização intracelular comum ao processo de congelamento. O meio de congelamento e as substâncias crioprotetoras adicionadas devem ser testados quanto a sua toxicidade e segurança no processo de cultivo posterior (Elliott, Wang, and Fuller 2017).

Em resumo, ainda existem muitos tópicos a serem explorados em função da variabilidade de obtenção dos tipos celulares. A origem do animal pode exigir manipulações genéticas variadas. Ainda, a raça, a idade, o sexo, as particularidades genéticas de cada indivíduo, a localização da biópsia no animal, o tipo de tecido onde será retirada a população celular inicial, são todos fatores que podem influenciar no resultado final (Kyttälä et al. 2016). Sendo assim, mais estudos são necessários para elucidar a potencialidade de cada tipo celular, acessibilidade das culturas celulares e como as propriedades de cada célula podem influenciar as próximas etapas de cultivo.

LINHAGEM DE CÉLULAS CONSIDERAÇÕES DE SEGURANÇA

Cada etapa do processo de fabricação da carne cultivada deverá ser monitorada de forma a rastrear fontes potenciais de perigo e contaminação. Todos os focos potencialmente contaminantes devem ser rigorosamente descritos e inspecionados, incluindo a obtenção, o manuseio, preparação e transferência de células, processo de congelamento e descongelamento das linhagens, armazenamento, controle de equipamentos contaminados e etapas finais do processo. Nesta sessão alguns importantes cuidados de segurança são destacados em relação à produção de linhagens para obtenção de carne adequada ao consumo humano.

Doador animal

A obtenção de células a partir de animais saudáveis deve ser um cuidado a ser levado em consideração no processo de segurança de produção da carne cultivada. Não diferente da carne convencional, as células obtidas para cultivo podem carregar vírus, bactérias ou príons, que podem comprometer a saúde do consumidor (Reddy and Saier 2020). Contudo, a capacidade de transmissão de algum agente infeccioso, vírus animal para humano ou mesmo a propagação de príons (agente infeccioso composto por proteínas aberrantes) ainda

é debatida (Espinosa, Tago, and Treich 2020). Um exemplo é o vírus da leucemia bovina (BLV), bastante comum no gado, o qual, segundo a literatura, já foi encontrado em células de sangue humano, tecido mamário (benigno e maligno) e em carcinoma de células de pulmão, porém pouco se sabe como o processo de transmissão desse vírus ocorre e a possibilidade de desencadear a doença em humanos (Baltzell et al. 2018; Robinson et al. 2016). A produção de carne cultivada apresenta a vantagem de reduzir o contato de humanos com animais selvagens ou da agropecuária e diminuir o risco de pandemias em função de uma redução nos impactos ambientais decorrentes da agropecuária.-

Algumas formas de evitar o perigo da transmissibilidade de infecções são: controlar a qualidade da ração, criação do animal em ambientes limpos, manter o controle do histórico de criação (sexo, idade, local da biópsia, histórico médico, dia da coleta, protocolo usado), como forma de rastreabilidade de possíveis focos contaminantes, bem como a inspeção pré-biópsia por um veterinário. Ainda, as células obtidas por biópsia devem passar por procedimentos de checagem e seu DNA avaliado por técnicas tais como PCR, para detectar a presença ou não de retrovírus endógeno. Além disso, é importante que o fabricante apresente todos os cuidados de manipulação destas células, não só em relação a sua qualidade e assepsia, mas também como forma de proteção ao manipulador.

Controle microbiológico

As formas de contaminação podem ocorrer não só no processo de obtenção e isolamento de células, mas também durante o processo de cultivo, por meio de qualquer forma de manuseio, preparação, contato com equipamentos contaminados ou mesmo durante o congelamento e descongelamento (Ong et al. 2021). É aconselhável que haja, em cada etapa do processo, protocolos e métodos para avaliar e reduzir a contaminação por agentes infecciosos. As células isoladas cultivadas em um sistema *in vitro* são extremamente sensíveis à contaminação por microrganismos, uma vez que não apresentam toda a maquinaria do sistema imune de proteção animal. Contudo, a contaminação por bactérias de interesse toxicológico, tipo *Salmonella*, *Listeria* e *E. coli* é improvável em carne cultivada, uma vez que a contaminação da carne convencional por bactérias entéricas se dá pela contaminação da carcaça por material fecal (Ong et al. 2021). Apesar disso, outros tipos de bactérias são comuns em sistemas *in vitro*, como micoplasmas, podem afetar o crescimento e a produtividade de todo o sistema de cultura celular (Drexler and Uphoff 2002). Assim, normalmente a contaminação de uma cultura de células é acompanhada pelo próprio comprometimento no crescimento e proliferação celular, variações de pH e turbidez do meio. Portanto, um sistema de checagem diária e a triagem regular das culturas, meios e equipamentos podem garantir a assepsia do produto final e a segurança de produção e consumo (Cobo et al. 2005).

Testes de controle de qualidade deverão ser validados e documentados de acordo com os requisitos nacionais aplicáveis e/ou padrões internacionais. Como ponto de partida, os limites e técnicas microbiológicas que são usados na produção de carne convencional podem ser usados para detectar e identificar os microrganismos que possam afetar a comercialização da carne cultivada (Ministério da Agricultura e Pecuária 2019). Contudo, uma adaptação dos padrões em relação aos microrganismos contaminantes potenciais deverá ser realizada para carne cultivada, uma vez que as cepas de microrganismos da carne convencional são de origem predominantemente entérica, pouco prováveis de serem encontradas em cultura celular.

Como exemplo de técnicas para controle de patógenos podem ser citados os métodos clássicos de contagem de placa, os imunoenaios (ex.: ELISA) e métodos moleculares (ex.: PCR). Ainda, existem métodos já padronizados para detectar e quantificar patógenos comuns, como Salmonella, Listeria e E. coli (U. S. Department of Agriculture 2021). A tecnologia de biossensores de detecção de metabólitos também pode ser aplicada em tempo real para rastrear e detectar contaminação microbiana (Sionek, Przybylski, and Tambor 2020). O Serviço de Inspeção e Segurança de Alimentos dos EUA apresenta um guia de identificação e perigo microbiológico para carnes e aves, onde constam métodos para preparação de amostras, isolamento e identificação dos principais microrganismos patogênicos de origem alimentar e suas toxinas, identificação de espécies de tecido de carne e detecção de resíduos antimicrobianos (of California 2000). No Brasil, o Ministério de Agricultura e Pecuária (MAPA) publicou em 2018 a segunda edição do Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal, em continuidade ao trabalho da Coordenação-Geral de Laboratórios Agropecuários para aprimoramento, atualização e uniformização das práticas analíticas na Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários. Este documento estabelece e padroniza os métodos oficiais para análise de alimentos de origem animal, não apenas para as ações fiscalizatórias do MAPA, como dar instrumentos adequados ao mercado para fazer o acompanhamento e garantir a qualidade dos alimentos de origem animal consumidos no Brasil.

Criopreservação

O processo de criopreservação é fundamental na produção de carne cultivada, uma vez que se espera formar bancos de células com linhagens celulares de espécies relevantes da agropecuária para que sejam utilizadas na indústria. Contudo, aspectos de segurança relacionados à criopreservação devem ser levados em consideração, uma vez que existem relatos mostrando a possibilidade de transmissão de vírus e bactérias por tanques de nitrogênio líquido contaminado (Fountain et al. 1997; Tedder et al. 1995). Logo, um importante ponto de controle é a checagem da esterilidade do nitrogênio líquido, ou mesmo das células destinadas ao armazenamento para evitar a propagação não intencional em lotes futuros. Ainda, a compartimentalização das células em diferentes reservatórios, destinados a um único tipo celular, evita a contaminação externa de diferentes fontes celulares (Cobo et al. 2005; FDA 2010).

No processo de congelamento normalmente são usadas soluções crioprotetoras para proteger as células contra o rompimento, devido à formação de cristais de gelo que danificam as membranas celulares. O reagente crioprotetor mais comumente usado é o dimetilsulfóxido (DMSO), o qual foi considerado tóxico para uso médico (Hornberger et al. 2019). Apesar de que o risco da presença destes compostos no produto final seja baixo, uma vez que serão diluídos e lavados ao longo do processo, outras classes de crioprotetores, como inulina e sorbitol, vêm sendo sugeridas por serem mais seguras (MacDonald and Lanier 1997; Savini et al. 2010).

Identidade celular

É provável que algumas variações genéticas não programadas ocorram ao longo do processo do cultivo, uma vez que as células em cultivo apresentam alto poder proliferativo e uma alta taxa de divisões celulares. As variações podem, eventualmente, comprometer as características de identidade padrão da célula por alterar o nível de expressão de proteínas ou metabólitos (Stephens et al. 2018; Ong et al. 2021). Contudo, é importante destacar que a estabilidade genética das células tende a ser conservada por uma característica evolutiva. Ainda, é improvável que sejam produzidas moléculas tóxicas ou alergênicas silenciosas neste processo, uma vez que a própria maquinaria de sobrevivência celular poderia ser comprometida neste processo. É importante ressaltar que as mesmas variações podem ocorrer em células de carne convencional, contudo não há controle a nível genético deste tipo de ocorrência em carne convencional.

As variações moleculares e bioquímicas da célula cultivada podem ser minimizadas pelo controle do número de passagens e renovação do *pool* de células a partir de banco de células, após terem sido registradas variações genéticas. Pesquisas em técnicas de sequenciamento poderão ser utilizadas para comparação genética entre a célula original e a final, auxiliando na identificação de novos compostos potencialmente perigosos. Ainda, através de testes de bioinformática, a toxicidade ou alergenicidade de uma nova proteína pode ser avaliada pela similaridade da sequência de aminoácidos com toxinas ou alérgenos já conhecidos (Ladics et al. 2011). Caso houver homologia, mais estudos podem ser conduzidos para avaliação da alergenicidade, como, por exemplo, resistência à pepsina, testes imunológicos de reatividade cruzada com IgE do soro de indivíduos sabidamente alérgicos etc. (Ong et al. 2021). Ainda, pode-se controlar que a célula usada para produção seja de uma espécie definida, através de testes de *DNA barcoding*. Todas estas análises podem contribuir para garantir a estabilidade e identidade celular das células cultivadas, ainda mais controladas do que sistemas fisiológicos naturais.

2.2 - Meio de cultivo celular

Após o procedimento de aquisição das células, estas são isoladas e cultivadas em meio de cultura suplementado. A composição do meio é extremamente importante, pois pode influenciar a eficiência do crescimento e as características finais do produto. Atualmente, pelo seu valor elevado e características de composição, ainda não há produção suficiente e economicamente interessante para uma demanda em grande escala, por isso é ainda considerado um fator limitante do processo industrial para produção de carne cultivada.

O meio de cultivo consiste em glicose, sais inorgânicos, vitaminas solúveis, aminoácidos e tampões que otimizam o processo de crescimento celular (van der Valk et al. 2010). Contudo, a demanda celular de nutrientes pode variar em diferentes fases do crescimento celular, tal como a etapa de diferenciação, proliferação e síntese proteica, bem como em relação à espécie e tipo celular cultivado (Burton et al. 2000; Yao and Asayama 2017).

Meios de cultivo com composição definida já são comercializados, com variações nos níveis de glicose, piruvato e outros componentes que melhor se adequam para o tipo celular em cultivo. No entanto, as informações sobre sua formulação muitas vezes são limitadas, uma vez que é um parâmetro de diferenciação competitiva. Diversas pesquisas vêm sendo realizadas para otimizar os meios de cultura com novas tecnologias para isolamento dos compostos. Por exemplo, a obtenção dos compostos normalmente ocorre pela alta purificação de aminoácidos e açúcares. Contudo, o uso de hidrolisados ou polissacarídeos de processamento agrícola em grande escala podem vir a servir como insumos para os meios de cultura da carne cultivada (Girón-Calle et al. 2008; Babcock, Smith, and Huntinga 2012). Ainda, análises estatísticas e de bioinformática podem ajudar a equilibrar os tipos de componentes e seus níveis mais aceitos para aplicação como meio de cultura de uma célula em específico, após validação em culturas em grande escala. Essa abordagem reduzirá significativamente o tempo e os recursos necessários para otimizar os meios de cultivo personalizados para cada célula (Jamal, Alam, and Salleh 2008).

A formulação de meio basal é muitas vezes suficiente para manter as células vivas por curtos períodos de tempo, mas para que elas proliferem de forma eficiente por longos períodos de tempo, o soro fetal bovino (SFB) tem sido usado como suplementação do meio basal em ensaios laboratoriais. O SFB é o mais comum, porém podem ser de outras origens, como a de cavalo ou extratos de embrião de galinha (Burattini et al. 2004; Chiron et al. 2012). A composição do soro é extremamente complexa, sendo uma mistura rica em proteínas e aminoácidos, ácidos graxos, hormônios e fatores de crescimento. Contudo, o SFB contém centenas ou mesmo milhares de componentes diferentes e a verdadeira composição e quantidades desses componentes são desconhecidas, tornando-o um produto quimicamente indefinido. A composição é variável de acordo com a região geográfica (onde a dieta de um animal pode variar), por lote dentro da mesma região geográfica, pela sazonalidade da coleta, pela quantidade e identidade dos antibióticos ou hormônios recebidos pela mãe e pela idade gestacional do feto. Ainda não se sabe muito bem quais são os componentes que são especificamente responsáveis por promover o crescimento celular *in vitro* (van der Valk et al. 2010), mas a seleção específica destes componentes poderá acelerar o processo de crescimento celular e aprimorar o processo de cultivo.

Entretanto, o uso de SFB não condiz com a ideologia da produção de carne cultivada, uma vez que depende da extração animal para obtenção. Portanto, por questões éticas do uso de animais para alimentação, bem como para diminuir os riscos potenciais associados a contaminantes e doenças presentes no soro, é necessária a produção de meios de cultivo livres de SFB.

Visando reduzir a heterogeneidade dos meios de cultivo convencionais à base de suplementação com soro fetal bovino, diversos estudos visam a produção de meios de cultivo sintéticos, onde se teria a definição dos componentes e suas respectivas concentrações (O'Neill et al. 2021). Neste sentido, técnicas inovadoras estão sendo estudadas, como, por exemplo, a utilização de subprodutos da agroindústria e fermentação como fonte química de produtos presentes no meio de cultivo. Esta tecnologia pode reduzir os custos na produção de meio de cultivo, o qual é um fator fortemente limitante da produção em escala industrial. Outros métodos de economia podem ser aplicados, como, por exemplo, a reciclagem de meios de cultivo, os quais podem ser usados em um novo processo de produção.

Além disso, a utilização de meios de cultivo sintéticos, com compostos definidos, pode reduzir a variabilidade entre lotes de soro e permitir a produção dos meios de cultivo padronizados e em escala comercial. A produção de fatores de crescimento com origem diferente da animal vem sendo

estudada por diferentes técnicas, tais como fermentação bacteriana ou por extratos de planta, ou, ainda, produção de proteínas recombinantes produzidas por fermentação (Jochems et al. 2002; van der Valk et al. 2010), inovações que prometem evoluir significativamente nos próximos anos. Da mesma maneira, a otimização das formulações poderá aumentar a eficiência de consumo e metabolismo celular (Shiozuka and Kimura 2000).

Células com alta capacidade proliferativa exigem altas doses de nutrientes, tais como glicose e aminoácidos. Os aminoácidos podem ser obtidos por fermentação com consumo de glicose, porém fontes alternativas, como biomassa de algas e certas culturas bacterianas podem representar boas estratégias para diminuir os custos de produção e ao mesmo tempo fomentar outros processos sustentáveis como tratamento de resíduos e captura de CO₂ (Kim 2013; Matassa et al. 2016). Estudos de engenharia metabólica computacional estão sendo realizados e serão de grande importância para prever não apenas o estado funcional das células, mas também avaliar formulações de nutrientes ideais para o crescimento celular *in vitro* (Feist and Palsson 2016).

Outros componentes comuns no meio de cultura são os antibióticos e antifúngicos, que reduzem a possibilidade de contaminação no processo de cultivo. Espera-se o uso destes compostos em concentrações reduzidas e/ou apenas em estágios iniciais no processo de cultivo, o qual apresenta uma maior probabilidade de contaminação. É pouco provável que resíduos de antibióticos e antifúngicos permaneçam no produto final, uma vez que, para comercialização, a carne cultivada é retirada do meio de cultivo e lavada para eliminar as impurezas. Apesar disso, é recomendado que o uso destes compostos seja regulamentado, assim como ocorre na produção de carne convencional na agropecuária (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA 2009). Isso é especialmente importante para culturas de tempo de cultivo prolongado, as quais são mais expostas à contaminação.

A composição dos meios de cultivo pode definir as características da carne. A deficiência de vitaminas, por exemplo, pode causar degeneração em células musculares (Braga et al. 2017). As altas taxas de glicólise em células de cultivo podem causar acidose e deixar a carne mais opaca, assim como ocorre no músculo bovino quando altas taxas de glicólise são induzidas, neste caso, por diferenças climáticas, nutricionais e de estresse (Post et al. 2020). Portanto, são fundamentais os estudos para produção de meio de cultura altamente especializado para a demanda celular.

Além disso, cultura de células mistas, com diferentes tipos de células, exigirá composições de meio variadas, uma vez que as demandas são diferentes para cada tipo celular. Ainda, em cultura de células mistas pode ser que uma célula gere produtos intermediários que alterem o crescimento do outro tipo celular, comprometendo assim a eficiência de produção. Nesse contexto, uso de modificação genética poderia otimizar a eficiência de uso dos nutrientes pelas células, crescimento e adaptação a meios de crescimento sintéticos ou melhorar características do produto final, como nutrição, sabor e textura (Lee et al. 2016).

MEIO DE CULTIVO CELULAR CONSIDERAÇÕES DE SEGURANÇA

Composição

A caracterização de todos os componentes presentes no meio de cultivo é um ponto importante no controle de qualidade para a produção de carne cultivada em escala industrial. Isso possibilita a identificação e avaliação de potenciais substâncias não intencionais presentes ou geradas ao longo do processo de cultivo, controlando o risco de contaminação do produto final.

Ainda, cada fabricação de meio de cultivo poderá ter, inevitavelmente, suas especificidades, como por exemplo, adição de componentes para enriquecimento nutricional (ex. vitaminas), ou mesmo adição de compostos para melhorar condições organolépticas da carne (pigmentos). Dessa forma, a identificação dos compostos utilizados para a produção dos meios de cultivo é um ponto de controle para as empresas que o produzem, no sentido de evitar contaminantes indesejados, bem como estabelecer uma padronização de componentes para escala industrial. É pouco provável que os compostos utilizados sejam tóxicos, uma vez que a célula *in vitro* não aguentaria tais condições.

Uso de hormônios

O uso de hormônios no meio de cultivo também deverá ser limitado, uma vez que o consumo excessivo pode causar efeitos adversos, como na reprodução, eu mesmo com efeitos carcinogênicos (Jeong et al. 2013). De fato, o nível de hormônios usados na agropecuária já é regulado no mercado convencional. Apesar do nível de hormônio no produto final da carne cultivada ser provavelmente menor do que no da pecuária tradicional, a identificação e a determinação da concentração dessas moléculas no produto final devem atender os mesmos requisitos estabelecidos para a carne convencional.

Uso de antibióticos

O uso de antibióticos é comum no cultivo celular para evitar a contaminação microbiana ao longo do processo de cultivo. No entanto, a exemplo de outras aplicações, o seu uso deverá ser regulado para evitar o risco da resistência antimicrobiana de patógenos humanos, bem como interferência na microflora intestinal, hipersensibilidade ou mesmo efeitos mutagênicos (Jeong et al. 2013). A Organização Mundial da Saúde desenvolveu uma lista de antimicrobianos que não devem ser usados em animais, de forma a evitar a disseminação e resistência a antibióticos (World Health Organisation 2019). Portanto, tal lista poderá ser considerada também para o cultivo de carne. Um consenso é que, se usado antibiótico, este deve ser aplicado em baixas concentrações. O uso destes apenas nos estágios iniciais do processo de fabricação da carne, acompanhado de enxagues periódicos, reduz as chances de que os antibióticos persistam no produto final. O residual de antibióticos no produto final deve atender os mesmos requisitos hoje estabelecidos para a carne convencional.

Controle da contaminação dos meios de cultivo

A produção dos meios de cultivo deverá ser continuamente monitorada quanto à contaminação por agentes microbiológicos, de forma a garantir a esterilidade ao longo de todo o processo de produção de carnes em biorreatores. O risco de contaminação de um meio celular aumenta com um maior tempo de cultivo. Portanto, a checagem de qualidade do meio poderá variar de acordo com o tempo de proliferação das células e registros desse controle devem ser padronizados. De forma geral, os meios de cultivo são esterilizados com técnicas de filtração ou injeção de gases. Parâmetros tais como controle de pH ou nível de oxigênio dissolvido podem ser usados para avaliar indícios de contaminação. Propostas para reduzir os custos de esterilização e o tempo de produção do meio de cultivo vêm sendo apresentadas. Um exemplo disso é o uso de sacos pré-esterilizados, onde são incorporados os componentes para manutenção e monitoramento das culturas, como aspersores de gás, sensores para medir parâmetros como pH e oxigênio dissolvido no meio. Esta técnica permite a compartimentalização do cultivo, diminuindo as chances de contaminação em massa, bem como auxilia no rendimento celular (Bellani et al. 2020). Ainda, importantes cuidados de limpeza e esterilização dos biorreatores após uma certa quantidade de operações e equipamentos auxiliam no controle microbiológico. Os produtos usados para a limpeza deverão ser descritos e não poderão conter nenhum resíduo tóxico que possa a vir a comprometer a qualidade da carne produzida. Cuidados rigorosos no controle de esterilidade do meio podem auxiliar a reduzir o nível de antibióticos usados nas culturas.

2.3 - Estruturação

Uma outra questão desafiadora no processo de cultura de células é manter a disposição das células em crescimento alinhadas em forma de fibras como ocorre naturalmente na carne convencional e formação do tecido estruturado. As células de mamíferos normalmente requerem fixação em alguma superfície para crescimento, por isso, diversos sistemas de ancoragem vêm sendo estudados para o cultivo de células em biorreatores, como microcarreadores e *scaffolds*. De forma geral, a proliferação destas células começa em um pequeno sistema de cultura planar, seguido por expansão volumétrica em sequência e, finalmente, a maturação do produto em grandes biorreatores. Estes sistemas fornecem o suporte mecânico, a porosidade para troca de nutrientes, bem como conferem estrutura e textura mais similares a um pedaço de carne convencional.

Os microcarreadores são muito utilizados como matriz de ancoragem. Caracterizam-se por terem formato de microesferas, o que possibilita uma ampla área de ancoragem para as células em crescimento nos biorreatores, uma vez que as esferas ficam em suspensão na cultura. Os microcarreadores podem ser compostos de diferentes materiais (sintéticos ou naturais), que constituirão uma matriz extracelular. Contudo, a separação das células com os microcarreadores pode representar uma desvantagem, uma vez que muitas células podem ser perdidas, comprometendo o rendimento do processo (Reiss, 2021).

Vários biomateriais artificiais ou naturais, de origem animal e vegetal, têm sido usados na bioengenharia de tecidos como matriz para estruturação (*scaffolds*). O colágeno tem obtido bastante sucesso para produção de carne cultivada, no entanto, como é de origem animal, representa uma

fonte esgotável e não sustentável para a produção de carne (Dong and Lv 2016). As células dispostas nestas matrizes devem ser capazes de interagir e aderir, permitindo a contração celular, como ocorre naturalmente nas células de miócitos. Compostos naturais provenientes da agricultura, formados por celulose, como a folha de espinafre descelularizada, foram testados como matrizes de apoio para miócitos, apresentando resultados promissores (Jones, Rebello, and Gaudette 2021). Além disso, a soja texturizada pode representar uma alternativa viável como sistema de ancoragem, considerando que é um biomaterial proteico e poroso, bem como comestível (Ben-Arye, 2020). Alguns outros compostos vêm sendo sugeridos, como amilopectina, quitosana, dextran etc., porém a aplicação para uso em alimentos precisa ser melhor estudada (Ben-Arye et al. 2020; Bodiou, Moutsatsou, and Post 2020; Ong et al. 2021).

Outra tecnologia que vem sendo adaptada para estruturar a carne cultivada é a de bioimpressão tridimensional, combinada com princípios de engenharia para produção de tecidos ou órgãos (Gillispie et al. 2019). Esta tecnologia vem sendo aplicada na clínica, para regeneração de tecidos ou órgãos anatomicamente e funcionalmente semelhantes aos humanos. Esta técnica consiste em semear células em estruturas que imitam o órgão biológico, fornecendo superfícies para ancoragem das células. Contudo, para aplicação na cultura de células para produção de carne cultivada, o biomaterial utilizado, ao contrário da clínica, deve ser palatável e com textura adequada para uso como alimento. Alguns problemas clássicos estão associados à engenharia de tecidos, como problemas de vascularização, baixa resistência mecânica das células, limitações nutricionais e falta de células funcionais (Mandrycky et al. 2016).

ESTRUTURAÇÃO E SCAFFOLDS CONSIDERAÇÕES DE SEGURANÇA

Considerando que muitos dos processos de cultivo celular envolverão o uso de *scaffolds* para ancoragem e crescimento das culturas celulares, e que estes farão parte da carne cultivada a ser produzida, os materiais utilizados deverão apresentar critérios de segurança de alimentos. O material deve ser comestível, biodegradável, palatável e seguro durante o processo de cultivo e após cozimento e preparação dos produtos cárneos. Se os materiais não forem ainda aprovados para uso em alimentos, eles exigirão uma avaliação individual prévia de segurança, como requerido para qualquer aditivo ou ingrediente alimentar.

Ainda, alguns processos de cultivo podem envolver a remoção das células aderidas ao *scaffold*, para a produção de carne de guisado, por exemplo. Neste último caso, normalmente exige-se a remoção mecânica, enzimática ou química dos *scaffolds* (Nienow et al. 2014; Bodiou, Moutsatsou, and Post 2020). Na condição de dissociação química, as enzimas devem atender às especificações de grau alimentício, uma vez que podem acabar sendo parte do produto final (Stephens et al., 2018). Em práticas laboratoriais, tripsina é comumente usada para dissociação enzimática. Contudo, este composto é derivado de animais e pode apresentar variação de acordo com o lote (Masters and Stacey 2007). Ainda, o uso de tripsina-EDTA deve ser estritamente regulado para consumo. Fontes não animais, como a enzima recombinante TrypLE, derivada de fonte microbiana, ou tampões de dissociação sem enzimas, como Versene, podem representar uma alternativa para este processo (Masters and Stacey 2007; Allan, De Bank, and Ellis 2019; Beers et al. 2012).

2.4 - Biorreatores

Um dos grandes desafios no sistema de cultura de células é a produção em escala industrial. É necessário que todo o processo seja controlado, com alta replicação e que a densidade celular seja maior do que um sistema bidimensional, como normalmente é feito o cultivo celular em laboratório. Ao contrário de métodos manuais, os quais são caros, trabalhosos e com alto risco de contaminação, o processo de cultivo em escala industrial deve ocorrer em biorreatores. Com biorreatores, o processo pode ser automatizado, planejado e adequado para cada tipo celular, reduzindo a manipulação humana e os riscos de contaminação. Os biorreatores permitem manter um ambiente controlado, com balanço de energia e retirada de calor do sistema, se necessário, de forma a manter os padrões energéticos do sistema. Parâmetros tais como tipo de meio de cultura, temperatura, oxigênio e densidade celular devem permanecer estáveis ou variar de acordo com a demanda, de forma a padronizar o processo industrial. Os biorreatores são essenciais para a proliferação das células. Para isso, os meios de cultura e a adição de fatores de crescimento podem ser alterados ao longo do processo para estimular a diferenciação celular, ou aprimorar o crescimento e densidade celular (Braga et al. 2017; Allan, De Bank, and Ellis 2019).

Ainda não existem biorreatores específicos para crescimento padrão em escala industrial. O design de um biorreator depende da forma do produto final, por exemplo, carne moída ou em formato de bife. Nem todos os biorreatores serão desenhados para abrigar *scaffolds* no seu interior. Contudo, o seu tamanho poderá variar em função do modelo do *scaffold* inserido, uma vez que será dependente de volume e superfície, bem como com a eficiência de sementeira do biorreator, a dinâmica de circulação do meio de cultivo pelo sistema, transferência de massa, custo etc. (Allan, De Bank, and Ellis 2019).

Existem diversas configurações de biorreatores. Um biorreator deve ser capaz de simular um sistema natural, onde as células são irrigadas por vasos sanguíneos que permitem a chegada de nutrientes para a manutenção da viabilidade celular. Existem biorreatores onde a célula cresce em suspensão, em microesferas, por exemplo, ou aderida a sistemas planares (Post et al. 2020). O cultivo em suspensão é preferido, uma vez que permite maior agitação e aumenta a superfície de contato com o meio de cultivo, reduzindo a limitação de difusão de nutrientes (Hu 2020). Sistemas de esferas suspensas em solução com agitação constante permitem um maior contato das células com o meio, sendo estruturas potencialmente candidatas para crescimento em larga escala (Bhat et al. 2019). Sistemas com alimentação contínua do meio de cultivo e agitação constante são interessantes, por manterem um ambiente homogêneo. A mistura pode se dar por agitação mecânica, pneumática ou hidráulica, como biorreatores de tanque agitados por impulsor (STRs), biorreatores de parede giratória (RWBs) e biorreatores em ondas (Allan, De Bank, and Ellis 2019).

BIORREATORIOS CONSIDERAÇÕES DE SEGURANÇA

Infraestrutura

Toda a planta produtiva de cultura de células deverá ter controle da assepsia do ambiente, bem como das incubadoras e biorreatores controlados para crescimento celular. Espera-

se que para a produção em escala industrial o processamento seja todo automatizado e a manutenção das células seja em biorreatores fechados. Isso diminui as chances de contaminação, em comparação com métodos manuais de cultivo, que exigem profissionais extremamente qualificados. Portanto, o cultivo de carne em escala industrial deve manter padrões específicos que garantam a biossegurança não só do produto final, mas também ao manipulador.

Equipamentos, descartáveis e agentes de limpeza devem ser seguros para produção de alimentos, com controle da lixiviação de contaminantes para o produto final. Pode-se tomar como base de controle os requisitos adotados pela indústria biofarmacêutica, a qual já utiliza materiais seguros na produção de dispositivos médicos e cosméticos, bem os regulamentos de materiais para contato com alimentos e saneantes aprovados para uso em plantas de processamento de alimentos (Gao and Allison 2016). Considerando-se que as células são muito sensíveis a contaminantes externos, qualquer resíduo de agentes de limpeza comprometeria o crescimento das mesmas e, por consequência, o rendimento da produção. Portanto, é improvável que resíduos contaminantes não fossem notados ao longo da produção.

As plantas devem ter controle efetivo dos parâmetros de operação dos biorreatores, assim como sistema de sanitização e higienização adequados, a exemplo do que hoje é empregado nas indústrias de produtos cárneos.

2.5 - Produto final e seu processamento

Uma vez finalizado o processo de cultivo celular, a carne cultivada é coletada para futura aplicação como carne fresca (ex. carne, moída, bifes ou pedaços de frango etc.) ou pode ser utilizada como matéria prima na produção de inúmeros produtos cárneos, como hambúrguer, nuggets, almôndegas, linguiças etc. Ainda, dependendo do produto desejado, pode ser adicionada de outras substâncias como aromatizantes, aglutinantes, aditivos produzidos por fermentação, compostos à base de plantas (Ong et al. 2021). A exemplo da carne convencional, ela também pode ser submetida a processamentos subsequentes, como esterilização, tratamento por calor ou radiação, fermentação, tratamento enzimático, defumação, secagem, cura, pasteurização e outros (Post et al. 2020). O controle de qualidade e fiscalização dos produtos cárneos derivados da carne cultivada seguem os mesmos requisitos estabelecidos para os produtos convencionais.

Ainda, o produto final poderá ser oferecido ao consumidor como uma mistura de carne cultivada e ingredientes *plant-based*.

Da mesma forma que para os produtos cárneos produzidos com carne convencional, a composição nutricional do produto final deverá ser determinada e informada no seu rótulo.

PRODUTO FINAL E SEU PROCESSAMENTO CONSIDERAÇÕES DE SEGURANÇA

Coleta da carne cultivada

A obtenção e manipulação de células após a produção é uma etapa importante em relação à segurança da carne cultivada. Diversos protocolos de coleta e purificação das células e processamento podem ser criados, a depender da proposta do fabricante. Cada caso deverá ser analisado individualmente, podendo ter como ponto de partida para o produto final de carne cultivada, os limites microbiológicos e os níveis máximos de impurezas ou resíduos (metais, toxinas naturais, contaminantes naturais, contaminantes ambientais) que são estabelecidos para a carne convencional. No entanto, é esperado que a carne cultivada em específico seja analisada para definição dos parâmetros de qualidade e requisitos mais adequados para o produto.

É esperado que a remoção do meio de cultivo provoque, inevitavelmente, a morte das células, assim como ocorre na produção de carne convencional, após o abate do animal. Os eventos proteolíticos da morte celular devem ocorrer da mesma forma que na carne convencional, no entanto, é recomendável que sejam estudados, pois podem ocorrer com intensidade diferente da carne convencional.

Potenciais Contaminantes

Não é esperado que o processo de cultivo de carne gere um produto com maior alergenicidade ou toxicidade do que a carne convencional, uma vez que a presença de qualquer toxina poderia comprometer o próprio crescimento celular *in vitro*. Contudo, a carne cultivada pode diferir em relação a uma convencional, em relação ao nível de proteínas ou metabólitos, com algum potencial alergênico quando em altas concentrações.

Além disso, produção de carne cultivada pode envolver a adição de outras substâncias externas além da produção da célula, com o objetivo de conferir propriedades organolépticas (por exemplo, proteínas ou pigmentos que conferem coloração), adicionar valor nutricional (por exemplo, vitaminas) ou mesmo a própria presença de *scaffolds*. Todos esses ingredientes e coadjuvantes devem ter uso aprovado para a aplicação em alimentos.

Existem diversos testes bioquímicos, *in silico*, *in vitro* e *in vivo* que podem ser usados para avaliação de segurança de ingredientes e aditivos alimentares (Ong et al. 2021), os quais poderão ser utilizados na avaliação da carne cultivada. Os testes *in vitro* e *in silico* são mais eficientes e requerem menor custo e tempo de análise, bem como evita o uso de testes animais. Métodos proteômicos podem ser usados para verificar se existem compostos com homologia na sequência de proteínas com alergenicidade conhecida. Métodos *in vitro* que simulem a digestão podem indicar estabilidade proteica e menor alergenicidade nos produtos com maior digestibilidade. Testes de citotoxicidade podem ser usados como uma

ferramenta de triagem e podem ser mais sensíveis do que os testes *in vivo* para demonstrar a segurança no nível celular. Pesquisas que avaliam a interação dos produtos da digestão da carne cultivada com o microbioma intestinal podem indicar o impacto na composição da microbiota em relação a moléculas geradas na produção de carne (Ong, 2021).

Caso encontrada alguma toxicidade nos estudos *in silico* ou *in vitro* testes de toxicidade em animais podem ser utilizados para avaliação da segurança. Para avaliação da toxicidade é mais razoável testar a segurança de insumos específicos, metabólitos ou ingredientes adicionados à ração do animal em estudo de forma a testar a segurança do ingrediente.

Por fim, contaminação química ou microbiológica pode ser introduzida durante a produção de produtos cárneos a partir da carne cultivada, pela adição de outros ingredientes ou mesmo pela embalagem. Portanto, estas etapas deverão ser submetidas aos controles microbiológicos e de contaminação química usuais da indústria fabricante de produtos cárneos.

Rotulagem

Informações nutricionais da carne cultivada deverão constar da rotulagem do produto comercializado, sendo que no caso de produto cárneo devem ser considerados todos os ingredientes de sua formulação. Espera-se que produtos de carne cultivada apresentem um valor nutricional melhorado em comparação com a carne convencional, por exemplo, com relação ao menor teor de gordura, contudo, isso deve ser analisado especificamente para cada produto.

2.6 - Cultura de células e CGMs

Apesar de não ser uma tecnologia imprescindível para a produção de carne cultivada, algumas empresas, no futuro, poderão querer alterar a expressão de algumas proteínas de interesse de forma intencional. A introdução da expressão de novas proteínas ou o aumento da expressão de proteínas ou metabólitos teria como objetivo melhorar não só o valor nutricional, mas também a bioatividade funcional do alimento, como por exemplo, a adição de carotenoides através de processos de engenharia de metabólitos (Stout et al. 2020). Ainda, outras otimizações celulares que envolvam modificação genética poderiam ter como objetivo, reduzir a expressão de alguns metabólitos para diminuir a alergenicidade de alguns compostos da carne e manter o mesmo perfil genético celular do início ao fim do processo.

Neste caso, será necessário monitorar quaisquer modificações genética e bioquímica derivadas dessa manipulação e assegurar o consumo seguro para humanos. Portanto, a sequência do genoma da célula modificada deverá ser estudada para avaliar se o material genético inserido altera a função do gene essencial, ou se afeta as fases de leitura aberta (em inglês, *open reading frame* (ORF), o qual é a parte do gene capaz de ser traduzida) e para garantir que nenhum gene codifique toxinas ou anti-nutrientes conhecidos (Ong et al. 2021). Apesar de que muitos estudos avaliam o consumo de transgênicos de origem vegetal, poucos são destinados ao estudo de produtos transgênicos de origem animal. Todavia, produtos cárneos com origem em células genética e/ou genomicamente modificadas (CGM) após-

biópsia, e que não são/serão utilizadas para a geração de indivíduos (organismos) independentes, autônomos e férteis, sujeitos a passarem seus genes (modificados) para sua descendência, não oferecem riscos ambientais e, portanto, não necessariamente serão tratados como OGM.

Ainda, como mencionado anteriormente, o cultivo de células para produção de carnes pode fazer o uso de procedimentos de reprogramação genética, que permitem que uma célula comum possa ser transformada em células tronco pluripotentes (Wang et al. 2019). Essa técnica induz a expressão forçada de fatores definidos, através de vetores virais, que modificam o genoma normal. Dessa forma, alguns sistemas de reprogramação “não integrados” foram desenvolvidos ao longo da última década. Entre essas técnicas, a de mRNA para reprogramação celular, chamado de *footprint-free*, pode ser mais adequada e segura para a produção de carne de cultivo, uma vez que não faz modificações permanentes no genoma (Warren and Lin 2019).

CULTURA DE CÉLULAS E CGMs CONSIDERAÇÕES DE SEGURANÇA

Em relação a carnes cultivadas que apresentem modificação genética serão importantes estudos que avaliem o risco para transferência desses genes ao consumidor (ex. genes de resistência a antibióticos). Não há método padrão para realizar tal estudo, porém alguns trabalhos *in vitro* e *in vivo* (em animais) avaliam através da estabilidade do DNA após digestão, da saliva e fluido gastrointestinal (Martín-Orúe et al. 2002; Netherwood et al. 2004). Porém, na conclusão destes estudos, os autores ressaltam que é altamente improvável que os eventos de transferência de genes observados alterem a função gastrointestinal ou representem um risco para a saúde humana.

Em relação aos estudos em humanos, estes podem ser testados com o alimento inteiro, mas são normalmente utilizados para avaliar a palatabilidade, tolerância à digestão, alergenicidade, efeitos nutricionais negativos para populações específicas, como grávidas, crianças, pacientes com comorbidade etc. (*Safety and Nutritional Assessment of GM Plants and Derived Food and Feed: The Role of Animal Feeding Trials*, 2008). A avaliação de efeitos adversos e alergenicidade também poderá ser monitorada após a comercialização do produto, quando se atinge uma maior quantidade de pessoas a longo prazo (Wal et al. 2003; Hepburn et al. 2008).

3 - CENÁRIO REGULATÓRIO INTERNACIONAL SOBRE CULTURA CELULAR

Com intuito de obter subsídios técnicos foi conduzido um levantamento do cenário regulatório internacional sobre cultura de células para produção de proteína animal. Esse trabalho consistiu no mapeamento do estágio da regulamentação da cultura celular no exterior, com ênfase nos regulamentos da União Europeia, Canadá, Estados Unidos, Austrália e Nova Zelândia e Singapura, bem como fontes de orientação complementares, como documentos de perguntas e respostas e guias, identificados nos *websites* das autoridades nacionais competentes.

Desse modo, a seguir é apresentado um resumo das principais características das medidas ou mecanismos adotados por esses países para avaliação da segurança de Novos Alimentos (*Novel Foods*), com ênfase na cultura de células para produção de proteína animal.

3.1 - Austrália e Nova Zelândia

Na Austrália e na Nova Zelândia, a regulamentação dos novos alimentos é responsabilidade da FSANZ - *Food Standards Australia New Zealand* (Autoridade de Padrões de Alimentos da Austrália e Nova Zelândia). Segundo informações publicadas em seu site (<https://www.foodstandards.gov.au/consumer/generalissues/Pages/Cell-based-meat.aspx>), a FSANZ considera que seu sistema atual de regulação de alimentos é suficiente para avaliar novos tipos de alimentos, incluindo alimentos produzidos por novas tecnologias.

As carnes produzidas por cultura de células devem ser avaliadas de acordo com as regras existentes no Código de Padrões de Alimentos e requerem Aprovação Pré-mercado. Dependendo do tipo e da composição da carne cultivada, sua aprovação deverá atender requisitos previstos nos seguintes regulamentos:

- Novos alimentos - alimentos sem histórico de consumo humano tradicional na Austrália e na Nova Zelândia;
- Coadjuvantes de processamento - substâncias utilizadas na produção de alimentos, mas que não têm função tecnológica no alimento final à venda;
- Aditivos alimentares - substâncias que desempenham uma função tecnológica no alimento final;
- Alimentos produzidos por engenharia genética;
- Vitaminas e minerais;
- Rotulagem que indica a verdadeira natureza do alimento;
- Definição de carne cultivada;
- Requisitos de segurança do alimento.

As Partes um e dois do Código regulam o uso de ingredientes, coadjuvantes de processamento, corantes, aditivos, vitaminas e minerais e também incluem normas para alimentos geneticamente modificados.

Os Novos Alimentos são regulamentados por dois atos do Código de Padrões de Alimentos, o Padrão 1.5.1 e o Anexo 25.

3.1 - Australia New Zealand Food Standards Code – Standard 1.5.1 – Novel Foods

<https://www.legislation.gov.au/Details/F2017C00324> [acesso em 04/08/2021].

O Padrão 1.5.1 define Novos Alimentos como alimentos não tradicionais que exigem uma avaliação

de segurança em relação (a) ao potencial para provocar efeitos adversos em humanos; (b) à composição ou estrutura; (c) ao processo de produção; (d) à fonte de obtenção ou sua origem; (e) ao padrão e níveis de consumo do alimento; ou (f) outras questões relevantes. Como não tradicionais, entende-se alimentos e substâncias derivadas de alimentos ou de outras fontes que não tenham histórico de consumo humano na Austrália e Nova Zelândia. Não é aceita como histórico de consumo humano a utilização de um produto como alimento ou ingrediente de alimentos para fins médicos.

Na categoria de Novos Alimentos podem ser incluídos plantas e animais e seus componentes, extratos de plantas ou animais, ervas e extratos de ervas, macro componentes, substâncias químicas, microrganismos incluindo probióticos e alimentos derivados de novas fontes ou de novos processos não previamente usados.

Australia New Zealand Food Standards Code – Schedule 25 – Permitted Novel Foods

<https://www.legislation.gov.au/Series/F2015L00440> [acesso em 04/08/2021].

O Anexo 25 lista os novos alimentos já permitidos, incluindo o nome do novo produto e as condições de uso aprovadas. Para comercialização de um novo alimento, o interessado deve submeter à FSANZ um pedido para alterar o *Food Standards Code*, através da inclusão do produto no Anexo 25. **Até o momento não há registro de aprovação de proteína obtida por cultura celular, ou seja, ainda não foi submetido nenhum pedido ou ele ainda está em avaliação.**

Diretrizes para a submissão dos pedidos

Há vários documentos de orientação para a submissão dos pedidos de aprovação de novos alimentos.

a) Registro de posições adotadas em resposta a consultas (Record of views formed in response to inquiries)

<https://www.foodstandards.gov.au/industry/novel/novelrecs/Documents/Record%20of%20views%20updated%20April%202020.pdf> [acesso em 04/08/2021].

A FSANZ mantém uma listagem dos produtos submetidos à consulta prévia e das respectivas conclusões, que também serve de orientação para determinar se um produto se enquadra ou não no *status* de novo alimento. Tais recomendações não têm força legal, sendo fornecidas apenas com o intuito de auxiliar na decisão de submeter ou não um pedido de autorização de novo alimento.

b) Regulação de novos alimentos (Regulation of novel foods)

<https://www.foodstandards.gov.au/industry/novel/Pages/default.aspx> [acesso em 04/08/2021].

Esta página também contém esclarecimentos sobre o que são novos alimentos, como determinar se um produto se enquadra na definição de novo alimento, considerações de saúde pública e segurança e, além disso, um item adicional sobre exclusividade de permissão para marcas específicas. Quando um novo tipo de produto é incluído pela primeira vez na lista de novos alimentos autorizados, o requerente pode solicitar à FSANZ que a permissão seja exclusiva para sua marca

comercial. Esta permissão é válida por 15 meses, revertendo então para uma permissão geral que se estende a qualquer outra marca do mesmo produto. O período de exclusividade objetiva oferecer uma vantagem competitiva à empresa que realizou o trabalho de desenvolvimento do novo alimento ou novo ingrediente, mas não impede que, neste intervalo, outras empresas que também estejam produzindo tal alimento ou ingrediente solicitem uma permissão exclusiva para suas próprias marcas.

c) Manual FSANZ para Requerentes (FSANZ Application Handbook)

<https://www.foodstandards.gov.au/code/applications/Documents/Application%20Handbook%20as%20at%201%20July%202019.pdf> [acesso em 04/08/2021].

Este Manual contém um capítulo específico sobre os pedidos relativos aos Novos Alimentos, com requisitos diferenciados para diferentes tipos de novos alimentos. São as seguintes as informações tecnológicas e científicas exigidas no processo de solicitação de aprovação.

c.1) Breve descrição do produto, com o nome e, se existente, a marca comercial e a categoria em que se enquadra na definição de novo alimento (planta, animal ou componente ou extrato de planta ou animal, substância química pura, macronutrientes como proteína, gordura ou polissacarídeo, microrganismo, ingrediente derivado de novas fontes, alimento produzido por novo processo).

c.2) Intenção de uso proposta, que no caso de ingredientes adicionados a alimentos, deve esclarecer a função ou funções no alimento, incluindo funções fisiológicas ou de benefícios à saúde.

c.3) Informações sobre a segurança, que variam com a categoria em que se enquadra o novo produto.

c.3.1) No caso de macronutrientes (aqui enquadram-se as proteínas obtidas por cultura celular), são requeridas (i) Informações sobre metabolização e, quando apropriado, produtos de degradação e de metabolismo. (ii) Resultados de estudos toxicológicos com animais e humanos (estudos de toxicidade aguda, toxicidade de curto prazo e toxicidade de longo prazo, estudos de carcinogenicidade, estudos de toxicidade reprodutiva, estudos de toxicidade de desenvolvimento, estudos de genotoxicidade e estudos especiais, como neurotoxicidade ou imunotoxicidade). No caso da inexistência de dados de estudos ou quando não são relevantes, deve ser apresentada uma exposição dos motivos. (ii) Relatórios de avaliação de segurança preparados por agências internacionais ou nacionais responsáveis pela segurança dos alimentos ou saúde pública.

c.3.2) No caso de microrganismos (aqui incluídos probióticos) são requeridas (i) informações sobre patogenicidade potencial, (ii) informações sobre efeitos do microrganismo na formação da microbiota intestinal, (iii) informações sobre o uso do microrganismo em alimentos ou como alimento em outros países, (iv) informações sobre estudos de tolerância em humanos.

c.4) Informações sobre ingestão estimada, incluindo uma lista dos alimentos propostos

ou que aos quais se pretende adicionar o novo ingrediente e os níveis de adição em cada um. Quando aplicável, os níveis de ocorrência natural da substância nos alimentos também devem ser informados. Dados de consumo provável entre a população alvo e não-alvo são preferidos. Quando aplicável, deve ser informado se o alimento ou ingrediente tem probabilidade de substituir outro alimento da dieta, com dados sobre os níveis e a frequência de consumo projetados, podendo aí incluir-se pesquisas de mercado nacional ou informações de outros mercados internacionais.

c.5) Informações demonstrando que o uso do novo alimento ou ingrediente alimentar não causará um desequilíbrio nutricional na dieta.

c.6) Informações relacionadas ao impacto potencial na compreensão do consumidor e no comportamento de consumo na dieta (substituição, adição ou rejeição de alimentos) que interfiram nos padrões de nutrição e atividade física estabelecidos pelas políticas e diretrizes da Austrália e Nova Zelândia.

3.2 - Canadá

No Canadá a responsabilidade por regulamentar os alimentos é compartilhada pela *Health Canada*, uma instituição federal do Ministério da Saúde, e pela *Canadian Food Inspection Agency* (CFIA), uma agência dos Ministérios da Agricultura, da Saúde e da Ciência e Tecnologia do Canadá. A CFIA se concentra principalmente nas funções de inspeção e aplicação das políticas e diretrizes que são estabelecidas pela *Health Canada*. <https://inspection.canada.ca/about-cfia/acts-and-regulations/list-of-acts-and-regulations/eng/1419029096537/1419029097256>

No levantamento realizado não foi encontrada informação oficial específica do *Health Canada* sobre a avaliação de segurança de carne cultivada [pesquisa finalizada em 01/08/2021] <https://www.canada.ca/en/health-canada.html>

Segundo os documentos ““Friend” or “Fiend”: *In vitro* lab meat and how Canada might regulate its production and sale”, publicado em 2018 pelo *The Canadian Agri-Food Policy Institute*, e o “*First Steps Towards a Regulatory Framework for Cultured Food Products in Canada*”, publicado em 2020 pela *Cellular Agriculture Canada*, a proteína obtida por cultura de células deverá considerada um Novo Alimento.

O mecanismo regulatório é a solicitação de Aprovação Pré-Mercado, conforme estabelecido no Regulamento de Alimentos e Drogas (*Food and Drug Regulation*) discutido a seguir.

Regulamento de Alimentos e Medicamentos (Food and Drug Regulation)

https://laws-lois.justice.gc.ca/eng/regulations/c.r.c.,_c._870/index.html

Na *Food and Drug Regulation*, Parte B, Divisão 28, novos alimentos (*novel foods*) são definidos como: (a) uma substância, incluindo um microrganismo, que não tem histórico de utilização segura como alimento ou (b) um alimento que foi produzido, preparado, preservado ou embalado por um processo (i) que não tenha sido aplicado anteriormente a este alimento, e (ii) que provoca alteração

significativa nas características do alimento ou (c) um alimento derivado de organismos (plantas, animais ou microrganismos) geneticamente modificados de modo que (i) o organismo passou a exibir características nunca antes observadas, (ii) o organismo deixou de exibir características anteriormente presentes, ou (iii) uma ou mais características do organismo já não se encontram dentro da faixa esperada (*novel food*).

Observa-se que o Canadá inclui os alimentos produzidos com organismos geneticamente modificados (GMOs) na definição de novos alimentos.

Com relação à notificação obrigatória pré-mercado, as seguintes informações sobre o produto são exigidas: (i) a designação do novo alimento; (ii) uma descrição do novo alimento; (iii) informações a respeito de sua produção; (iv) detalhes do método de fabricação, preparação, preservação, acondicionamento e estocagem; quando aplicável detalhes da principal alteração; (v) informações a respeito do uso pretendido e instruções para a preparação; (vi) quando aplicável, informações a respeito do histórico de uso como alimento no país de origem; (vii) informações de segurança para consumo; (viii) informações sobre os níveis estimados de ingestão e (ix) informações sobre a rotulagem.

Uma Seção sobre novos alimentos (*Novel Foods Section*) foi estabelecida na Diretoria de Alimentos (*Food Directorate*) da *Health Canada* para coordenar a avaliação de segurança dos novos alimentos submetidos à aprovação. A *Novel Foods Section* distribui o processo de submissão aos gabinetes relevantes da *Food Directorate*, ou seja, o Gabinete de Segurança Química (*Bureau of Chemical Safety*) - para avaliação de considerações químicas e toxicológicas, o Gabinete de Ciências Nutricionais (*Bureau of Nutritional Sciences*) - para considerações nutricionais e o Gabinete de Riscos Microbianos (*Bureau of Microbial Hazards*) - para aspectos microbiológicos e de biologia molecular.

Concluída a avaliação e não havendo pendências em relação a qualquer aspecto de segurança ou risco para a saúde associados ao consumo do novo produto, o peticionário é notificado de que a *Health Canada* não tem objeções à sua comercialização no Canadá. O novo alimento está sujeito aos mesmos requisitos legais e regulamentares aplicáveis aos outros alimentos no país, sendo responsabilidade do fabricante garantir que tais requisitos sejam cumpridos.

O *Health Canada* disponibiliza Guias Orientativos em seu site: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/legislation-guidelines/guidance-documents.html#add>, porém para Novel Foods, o guia faz referência apenas à avaliação de plantas e microrganismos - *Guidelines for the Safety Assessment of Novel Foods Derived from Plants and Microorganisms*.

No entanto, é possível realizar uma consulta pré-submissão ao *Health Canada* ou CFIA com questionamentos sobre os requisitos e informações necessários para submeter um produto à Avaliação Pré-Mercado. As informações sobre *Pre-submission consultation procedures for novel foods, novel feeds and plants with novel traits* está disponível em: <https://inspection.canada.ca/plant-varieties/plants-with-novel-traits/applicants/pre-submission-consultation/eng/1368394145255/1368394206548>.

Os ingredientes utilizados na produção da carne cultivada, que se enquadrem na definição de “aditivo alimentar” de acordo com a *Food and Drug Regulation* parte B *Food subitem B.01.001* e não possuírem aprovação, de acordo com a parte B. DIVISION 16 - *Food Additives subitem B.16.002*, deverão ser previamente aprovados pela *Health Canada*. O guia *A Guide for the Preparation of Submissions on Food Additives* está disponível em: <https://www.canada.ca/en/health-canada/>

[services/food-nutrition/reports-publications/guide-preparation-submissions-food-additives.html](https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/reports-publications/guide-preparation-submissions-food-additives.html) [acesso em 07/09/21].

Algumas substâncias utilizadas na produção que não se enquadram na definição de “ingredientes” e nem de “aditivos alimentares”, podem ser classificadas como coadjuvantes de processamento e não possuem regulamento específico. Para definir o enquadramento de uma substância como um aditivo ou coadjuvante, o documento *Policy for Differentiating Food Additives and Processing Aids*, deve ser utilizado:

<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/reports-publications/policy-differentiating-food-additives-processing-aids-2008.html#fn4> [acesso em 07/09/21]

Apesar de não possuir um regulamento específico, os coadjuvantes de processamento devem ser seguros para a aplicação desejada. A Seção 4(1) do *Food and Drugs Act*. (<https://laws-lois.justice.gc.ca/eng/acts/F-27/page-2.html#h-234067>) proíbe a venda de alimentos que “(a) contenham dentro ou sobre ele qualquer substância tóxica ou nociva; (b) sejam impróprios para consumo humano; (c) consistam no todo ou em parte de qualquer substância animal ou vegetal contaminada, pútrida, podre, decomposta ou doente; (d) estejam adulterados; ou (e) foram fabricados, preparados, conservados, embalados ou armazenados em condições não higiênicas”.

Além disso, as empresas podem requisitar uma Carta de Não Objeção ao *Health Canada* através de um peticionamento para uma avaliação voluntária não mandatória de coadjuvantes de processamento. O Guia *Policy for Issuing an Interim Letter of No Objection (iLONO) for a Food Processing Aid (2015)*, está disponível em: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/legislation-guidelines/guidance-documents/guide-preparing-food-processing-submissions-2013.html>.

3.3 - Singapura

A *Singapore Food Agency (SFA)* é a responsável por supervisionar a segurança alimentar e de alimentos do campo à mesa. Em 23 de novembro de 2020, a SFA atualizou os requisitos para avaliação de segurança de novos alimentos no *Requirements for the Safety Assessment of Novel Foods*, disponível em: https://www.sfa.gov.sg/docs/default-source/food-import-and-export/Requirements-on-safety-assessment-of-novel-foods_23-Nov-2020.pdf, que, além de apresentar os requisitos gerais para avaliação de segurança de novos alimentos, inclui requisitos específicos para carne cultivada.

Em 1 de dezembro de 2020, a SFA aprovou a venda de carne cultivada de frango da empresa Eat Just Inc., com a marca GOOD Meat – (<https://goodmeat.co>), sendo a primeira aprovação desse tipo de alimento no mundo.

As empresas de alimentos que pretendem produzir, importar e vender novos alimentos em Singapura são obrigadas a realizar uma avaliação da segurança de seus produtos e submetê-la à revisão da SFA para obter uma autorização de venda. A avaliação de segurança deve demonstrar que os insumos usados na produção, bem como o processo de fabricação e os controles do processo garantem um produto sem risco à segurança dos alimentos e em conformidade com os padrões estabelecidos nos regulamentos existentes no país para alimentos.

A SFA estima um prazo de três a seis meses para concluir a avaliação. Para evitar atrasos, as empresas são incentivadas a consultar a Agência no início do processo, para entender as informações que deverão ser providenciadas na comprovação da segurança de seus novos produtos.

A SFA define Novos Alimentos como alimentos ou ingredientes alimentares que não têm um histórico de uso seguro. Como histórico de uso seguro entende o consumo contínuo na dieta de uma população humana significativa, por um período de pelo menos 20 anos, sem relatos de efeitos adversos à saúde humana. A definição de Novos Alimentos também pode incluir compostos quimicamente idênticos às substâncias que ocorrem naturalmente nos alimentos, mas produzidos por meio de novas tecnologias.

Ao avaliar se uma substância tem histórico de uso seguro a SFA levará em consideração as seguintes informações: (i) a duração do consumo (por quantos anos o ingrediente vem sendo consumido como alimento ou usado na alimentação), (ii) a extensão do uso (se o produto é consumido ou usado pela população em geral, por uma subpopulação, por certas tribos etc.), (iii) a quantidade (o nível consumido como alimento ou usado na alimentação), (iv) a finalidade ou contexto de uso (se é amplamente consumido ou apenas usado para fins cerimoniais ou em períodos de fome etc.) e (v) evidências que demonstrem a ausência de efeitos adversos à saúde humana. As fontes de informação que serão consideradas na determinação do histórico de consumo incluem publicações científicas e não científicas, livros (por exemplo, livros de receitas, livros sobre a história da cultura alimentar), patentes, depoimentos de duas ou mais autoridades independentes e confiáveis etc. Histórico de uso como produto medicinal não é considerado evidência suficiente para demonstrar história de uso seguro como alimento. Em caso de dúvida, as empresas podem consultar a SFA para determinar se o alimento enquadra-se na definição de Novo Alimento.

Dados e informações requeridas na avaliação de segurança de novos alimentos

Para novos alimentos e ingredientes alimentares em geral são requeridas (i) informações sobre a identidade e pureza do novo alimento, incluindo percentagens dos principais componentes e das impurezas presentes, (ii) Informações sobre o processo de fabricação e insumos usados, (iii) uso pretendido e níveis de uso propostos, informando se o novo produto se destina a grupos populacionais específicos, (iv) estudos de toxicidade (*in vitro* e *in vivo*), quando relevantes, incluindo toxicidade aguda, toxicidade de curto prazo e de longo prazo, carcinogenicidade, toxicidade reprodutiva, toxicidade de desenvolvimento e genotoxicidade, (v) estudos de metabolismo ou toxicocinética, quando relevantes, incluindo absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME), (vi) quaisquer relatórios de avaliação de segurança conduzidos por autoridades de segurança de alimentos nos principais países desenvolvidos (Austrália, Canadá, Nova Zelândia, Japão, União Europeia e Estados Unidos da América).

Quando usadas informações da literatura na avaliação de segurança, estas informações devem estar publicadas em revistas científicas de renome. Estudos não publicados podem ser considerados se conduzidos de acordo com as Boas Práticas de Laboratório e outras diretrizes relevantes estabelecidas internacionalmente (como as diretrizes da OCDE). São aceitas avaliações conduzidas de acordo com as orientações da FDA, EFSA, FAO e OMS.

Para substâncias quimicamente idênticas às que ocorrem naturalmente nos alimentos, mas produzidas por processos não convencionais não é requerida uma avaliação de segurança completa, com todos os estudos de toxicidade citados para novos alimentos em geral. Para estes ingredientes, as seguintes informações são relevantes na avaliação: (i) dados demonstrando que o ingrediente é quimicamente idêntico à sua contraparte de ocorrência natural, (ii) dados sobre a pureza, incluindo identidade e níveis de quaisquer impurezas presentes (por exemplo, contaminantes, toxinas etc.),

(iii) processo de fabricação, incluindo identidade e segurança dos insumos usados e quaisquer subprodutos ou metabólitos produzidos.

Além destes, caso os novos ingredientes sejam produzidos a partir de um microrganismo geneticamente modificado, as seguintes informações também devem ser apresentadas: (iv) informações de segurança da cepa utilizada (por exemplo, se os genes são conhecidos por produzir toxinas etc.) e (v) dados de alergenicidade do ingrediente e impurezas residuais (se presentes).

Os critérios adicionais específicos para avaliação da segurança de carnes cultivadas são descritos no item c do documento, reproduzido a seguir:

Para carne cultivada

Carne cultivada refere-se à carne produzida a partir de cultura de células animais. O processo de produção envolve o cultivo das linhagens celulares selecionadas (ou células-tronco) em um biorreator. As células são cultivadas em um meio de crescimento adequado e, subsequentemente, em um *scaffold* para produzir produtos que se assemelham ao músculo da carne.

A SFA observa que a ciência para a produção de carne cultivada ainda está em um estágio inicial. A SFA atualmente requer que as seguintes informações sejam submetidas para a avaliação de segurança da carne cultivada, com a ressalva que as informações necessárias podem mudar em função os desenvolvimentos na produção de carne cultivada:

- (i) Descrição de todo o processo de fabricação.
- (ii) Caracterização da carne cultivada, incluindo composição nutricional e comparação dos resíduos de fatores de crescimento em relação a dados de literatura.
- (iii) Informações relacionadas às linhagens celulares utilizadas, incluindo:
 - a) Identidade e origem das linhagens celulares.
 - b) Descrição dos métodos usados para seleção e triagem de células.
 - c) Informações sobre como as linhagens celulares são preparadas e armazenadas após sua obtenção.
 - d) Descrição das modificações e adaptações feitas às linhagens celulares e como estas se relacionam com a expressão de substâncias que podem resultar em risco para a segurança dos alimentos.
- (iv) Informações relacionadas aos meios de cultura usados, incluindo:
 - a) Composição do meio, com identidade e pureza de todas as substâncias adicionadas. As

empresas devem indicar se individualmente a pureza das substâncias usadas nos meios de cultura está de acordo com as especificações recomendadas pelo Comitê Conjunto da FAO / OMS de Especialistas em Aditivos Alimentares (JECFA, Farmacopeia Britânica, Farmacopeia Europeia ou Food Chemical Codex).

b) Esclarecimento sobre se o meio de cultura permanece no produto cárneo cultivado acabado ou se é removido completamente. Quando os meios de cultura são removidos completamente, as empresas devem fornecer informações que demonstrem a remoção.

(v) Informações relacionadas aos materiais de *scaffolding* (estruturação), se utilizados, incluindo: sua identidade e pureza.

(vi) Informações sobre como a pureza e a estabilidade genética da cultura de células são garantidas durante o processo de fabricação.

a) Quando diferenças genéticas entre as linhagens celulares iniciais e a carne cultivada acabada são observadas, as empresas devem investigar as diferenças para determinar se elas resultariam em riscos para a segurança dos alimentos (por exemplo, super expressão da produção de metabólitos).

(vii) Avaliação de segurança cobrindo possíveis perigos decorrentes da fabricação da carne cultivada.

(viii) Outros estudos relevantes para apoiar a segurança, como ensaios de digestibilidade, perfil de alérgenos, sequenciamento genético etc.

3.4 - Europa

Na União Europeia alimentos obtidos de culturas de células são contemplados na definição de Novos Alimentos do Regulamento (EU) nº 2.283, de 25 de novembro de 2015, que estabelece regras para a colocação de novos alimentos no mercado da União. No Artigo nº 3, item Definições tem-se:

Novos alimentos: alimentos não utilizados em quantidade significativa para consumo humano na União antes de 15 de maio de 1997, independentemente da data de adesão dos Estados-Membros à União, e que se insiram, pelo menos, numa das seguintes categorias (dentre elas):

vi) alimentos que consistam em culturas de células ou culturas de tecidos derivados de animais, plantas, microrganismos, fungos ou algas, ou que tenham sido isolados ou produzidos a partir dessas culturas.

A Autoridade Europeia para Segurança dos Alimentos (EFSA) na 108ª Reunião Plenária do Painel da NDA (*Nutrition, Novel Foods and Food Allergens*) realizada em 26/11/20, contemplou o tema *Cultured (in vitro) Meat* na apresentação *Insights on novel foods risk assessme*, apresentando os seguintes pontos a serem considerados na avaliação de segurança: <https://www.efsa.europa.eu/en/events/event/108th-plenary-meeting-nda-panel-open-observers>

Avaliação de Segurança da Cultura de Células – Principais Considerações

Definição

Alimentos que consistam de isolados ou produzidos a partir de cultura de células ou tecido

Identidade

- Fonte Biológica (Código Internacional de Nomenclatura),
- Órgão ou tecido ou parte do organismo,
- Informações sobre a identidade das células,
- Tipo de cultura,
- Banco de células tronco, repositório celular,
- Célula ou tecido usado como substrato para o novo alimento.

Caracterização

- Identidade e quantidade de impurezas, subprodutos ou resíduos, resíduos de antibióticos,
- Constituintes nutricionalmente relevantes,
- Perigos biológicos: BSE / TSE, vírus (fonte, zoonose), contaminantes microbiológicos,
- Tipo e espectro de analitos alvo, dependendo das fontes e processo de produção.

Processo de Produção

Descrição detalhada, incluindo:

- Tratamento, modificação, imortalização de células,
- Matérias-primas, meios/substratos de cada etapa, fatores de crescimento / hormônios, condições de cultura, antibióticos, medidas de higiene, descrição dos equipamentos,
- Potenciais subprodutos, impurezas, contaminações, estabilidade das células, consistência do processo de produção,
- Limites operacionais e parâmetros-chave do processo de produção.

Informação Nutricional

- Papel do novo alimento na dieta (com base nos usos pretendidos) ,
- Abordagem comparativa com carne convencional,
- Qualidade e quantidade de macro e micronutrientes.

Alergenicidade

- Avaliada com base em dados composicionais abrangentes,
- Indicação do uso potencial uso de ferramentas «ômicas» (genômica, transcriptômica, proteômica, metabolômica) para avaliação.

Os principais critérios de avaliação de segurança de Novos Alimentos da EFSA, descritos em *Guidance on the preparation and submission of an application for authorisation of a novel food in the context of Regulation (EU) 2015/2283¹ (Revision 1 – 26/03/21)* (<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2021.6/555>) são resumidos a seguir.

A carne cultivada é descrita no item 1.1.7. “Alimentos que consistem de, isolados ou são produzidos a partir de cultura de células ou cultura de tecidos derivados de animais, plantas, fungos ou algas”, que se refere a culturas derivadas de origem multicelular (animais, plantas, incluindo algas e cogumelos). Ressalta-se que alimentos originários de culturas de origem unicelular (bactérias e leveduras) são tratados em outra seção do documento.

Identidade do novo alimento

- Fonte biológica (informações taxonômicas sobre família, gênero, espécie, subespécie, variedade) de acordo com os códigos internacionais de nomenclatura,
- Órgão ou tecido ou parte do organismo de origem,
- Banco de células ou repositório celular,
- Informações sobre a identidade das células,
- Célula ou tecido usado como substrato para o novo alimento,
- Tipo de cultura.

Processo de produção

A descrição do processo de produção deve ser detalhada o suficiente para fornecer as informações que formarão a base para a avaliação da biodisponibilidade, valor nutricional e segurança. Com relação à segurança, a descrição deve incluir informações sobre potenciais subprodutos, impurezas ou contaminantes.

Também devem ser fornecidas informações sobre o manuseio das fontes, por exemplo, as condições de propagação, crescimento e colheita de plantas e fungos (por exemplo, silvestres ou cultivados, práticas de cultivo, época de colheita em relação à estação e ao estágio de crescimento da planta); a criação, recriação, alimentação e condições de cultivo para animais de criação ou a caça, captura ou coleta e abate de animais selvagens vivos; as condições de cultura para microrganismos e algas e de cultura de células ou cultura de tecidos de plantas e animais. A descrição do cultivo de plantas, fungos, algas e microrganismos e da criação de animais também deve incluir informações sobre o uso de pesticidas, antimicrobianos e antiparasitários.

Limites operacionais e parâmetros-chave do processo de produção também devem ser fornecidos. Medidas implementadas para controle de produção e garantia de qualidade e segurança devem ser descritas (por exemplo, APPCC, BPF, ISO). Um fluxograma de produção deve ser fornecido, incluindo verificações de controle de qualidade e segurança.

Os critérios de padronização (por exemplo, marcadores químicos para o novo alimento) devem ser fornecidos.

Dados de composição

As informações devem incluir dados qualitativos e quantitativos sobre a composição, bem como propriedades físico-químicas, bioquímicas e caracterização microbiológica.

Requisitos gerais

Informações sobre a identidade e a quantidade de impurezas e subprodutos, resíduos de contaminantes químicos e microbiológicos devem ser fornecidos (por exemplo, metais pesados, micotoxinas, PCBs / dioxinas e antibióticos). O tipo e o espectro de potenciais analitos alvo devem ser considerados à luz das fontes e do processo de produção.

Requisitos para misturas complexas e alimentos prontos

Dados qualitativos e quantitativos sobre constituintes principais (por exemplo, teor de cinzas, umidade, proteínas, gordura e carboidratos) e outros componentes relevantes como micronutrientes.

Estabilidade do produto

Dados sobre a estabilidade do novo alimento em condições normais de armazenamento, incluindo os efeitos da embalagem, a temperatura de armazenamento e o ambiente (luz, oxigênio, umidade, umidade relativa).

Especificações

As especificações com os parâmetros-chave que caracterizam e definem a identidade do novo alimento, bem como os limites para esses parâmetros e outros relevantes. Ex. físico-químicos, bioquímicos ou microbiológicos.

Histórico de uso do novo alimento e / ou de sua origem

Usos propostos e ingestão estimada prevista: dados sobre a população alvo, os usos e níveis propostos, estimativa de ingestão do novo alimento e de substâncias indesejáveis como resíduos, metabólitos secundários, contaminantes identificados na análise de composição do produto e que podem estar presentes no produto final oriundos do processo de fabricação ou formados durante o processamento e/ou armazenamento.

Identificar se há restrições de uso, cuidados na preparação, ou identificação de grupos ou subgrupos (por exemplo, crianças, gestantes, mulheres lactantes, alérgicos) que devem evitar o consumo do novo alimento.

Absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME)

Dados sobre ADME em humanos e animais dos compostos de interesse

Informação Nutricional

As informações nutricionais sobre o novo alimento devem incluir detalhes de sua composição de nutrientes e abordar a biodisponibilidade levando em consideração as influências do processo de produção, armazenamento e outros processamentos que podem ser necessários para consumo prévio (ex. cocção).

Quando um novo alimento se destina a substituir outro alimento, o requerente deve demonstrar que o

novo alimento não difere de uma forma que seria nutricionalmente desvantajosa para o consumidor, nas condições de utilização propostas.

Além de uma avaliação dos dados de composição e uma avaliação da literatura relevante e bases de dados, em casos específicos, dados de estudos *in vitro* e/ou animais e/ou humanos podem ser necessários para avaliar a interação do novo alimento na dieta e com os nutrientes.

Informações Toxicológicas

Os estudos toxicológicos, podem englobar avaliação de genotoxicidade, toxicidade: subcrônica, crônica, reprodutiva e de desenvolvimento, carcinogenicidade, estudos em humanos etc.

Os estudos toxicológicos devem ser conduzidos de acordo com as diretrizes internacionais (por exemplo, OCDE) e de acordo com os princípios de Boas Práticas Laboratoriais. A definição de quais estudos são necessários para avaliação de segurança, deverá ser baseada nos dados levantados anteriormente. Exemplo: a identidade, estrutura química, composição e propriedades físico-químicas do novo alimento etc.

Alergenicidade

O potencial alergênico do novo alimento deve ser avaliado considerando sua composição, particularmente a(s) proteína(s), o processo de produção e os dados experimentais e em humanos disponíveis. Uma revisão abrangente da literatura deve ser fornecida, a fim de recuperar as informações existentes sobre sensibilização, relatos de casos de reações alérgicas e/ou estudos de alergenicidade (*in vitro*, em animais, em humanos) do novo alimento e/ou sua(s) fonte(s).

Até o momento não há registro de aprovação na Europa de proteína obtida por cultura celular, ou seja, ou ainda não foi submetido nenhum pedido ou ele ainda está em avaliação.

3.5 - Estados Unidos

Em 2019, o *United States Department of Agriculture* (USDA) e a *Food and Drug Administration* (FDA) estabeleceram um acordo formal para realizar, de forma conjunta, a regulamentação de carnes cultivadas. Dado o papel específico de cada órgão na regulamentação e fiscalização de alimentos e produtos agrícolas, o USDA e a FDA assumiram responsabilidades conjuntas e compartimentadas na regulamentação de carnes cultivadas.

Na coleta de células de animais vivos, USDA e FDA, em conjunto, coordenarão a transferência da supervisão regulatória para cada órgão, com foco na elegibilidade das células coletadas para serem processadas em produtos de gado ou aves. Deverão compartilhar informações e notificar se condições questionáveis que possam levar à fabricação de produtos adulterados forem identificadas.

Para os animais destinados ao consumo humano e regulamentados pelo *Federal Meat Inspection Act* (FMIA) (bovinos, ovinos, suínos, caprinos e peixes da ordem Siluriformes) ou pelo *Poultry Products Inspection Act* (PPIA) (frango, peru, pato, ganso, galinhas d'angola, etc.), o USDA/FSIS é responsável

pela regulamentação durante o processamento. Os produtos alimentícios produzidos a partir de células de espécies regulamentadas pelo USDA (FMIA e PPIA) serão regulamentados pela FDA durante a coleta, seleção e cultivo de células e pelo USDA/FSIS durante o processamento e rotulagem subsequentes.

Para alimentos feitos de células cultivadas de animais não regulamentados pelo FMIA ou pelo PPIA ou alimentos destinados ao consumo animal, a FDA é responsável pela regulamentação também durante o processamento. Portanto, produtos alimentícios para consumo humano feitos de células de espécies não sujeitas à jurisdição do USDA (por exemplo, frutos do mar que não Siluriformes e carne de caça) e produtos alimentícios para consumo animal serão regulamentados exclusivamente pela FDA.

Responsabilidades do USDA

O USDA/FSIS realizará inspeções em estabelecimentos onde as células derivadas de animais e aves são coletadas. Esses estabelecimentos serão inspecionados pelo USDA e deverão atender aos requisitos regulatórios deste órgão com relação a:

- Registro do Pedido de Inspeção de produtos e de empresas (Formulário para Inspeções de Carnes, Aves, Ovos e Importados e Formulário para Registro de Manipuladores de Carne);
- Padrões regulatórios das instalações;
- Saneamento do estabelecimento;
- Sistemas de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (Princípios HACCP).

Os inspetores do USDA/FSIS revisarão os registros dos lotes produzidos durante a cultura de células e verificarão a conformidade com os requisitos regulatórios do USDA/FSIS nas etapas de processamento, embalagem e rotulagem do produto final para verificar se os produtos obtidos por cultura de células são seguros, saudáveis, não adulterados, e rotulados corretamente. Caso os tecidos celulares sejam enviados a outros estabelecimentos para processamento posterior, estes também estarão sujeitos à inspeção pelo USDA-FSIS.

A inspeção da coleta e processamento de células pelo USDA/FSIS ocorrerá com uma frequência de, no mínimo, uma vez por turno (que é a mesma frequência para o processamento de produtos tradicionais de carnes e aves) para que os produtos recebam a marca de inspeção do USDA. Ao final, o USDA/FSIS garantirá que os produtos produzidos por cultura celular sejam rotulados de maneira correta e consistente com os princípios da FDA e USDA/FSIS. De acordo com os requisitos do FMIA e do PPIA, todos os rótulos de produtos alimentícios humanos a partir de células cultivadas de gado ou de aves deverão ser pré-aprovadas pelo USDA/FSIS.

Responsabilidades da FDA

A FDA ainda não detalhou os requisitos para a cultura de células, mas definiu que, para produtos derivados de células animais cultivadas, será necessário um processo completo de autorização prévia e inspeções de registros e instalações que deverão estar em conformidade com as Boas Práticas de Fabricação e Requisitos de Controle Preventivo da FDA. Os principais elementos das

Boas Práticas de Fabricação incluem:

- Análise de perigos: todos os perigos biológicos, químicos e físicos conhecidos ou esperados, intencionais ou não, devem ser levantados e a instalação deve ter controles preventivos para os supostos perigos.
- Controles Preventivos: as instalações devem ter um procedimento escrito de controle preventivo que seja implementado para garantir que o alimento não seja adulterado pelos vários perigos identificados. Isso envolve processos, alergênicos alimentares, controles de saneamento, entre outros controles de perigo.
- Supervisão e Gerenciamento de Controles Preventivos: a instalação deve ter uma forma de supervisionar e monitorar se os controles preventivos estão sendo cumpridos.
- Programa para a Cadeia de Suprimento: para qualquer produto, para o qual um perigo seja identificado e requeira controle preventivo, os fabricantes devem ter um programa para a cadeia de suprimentos com base no risco.
- Plano de recall: caso seja identificado um perigo em um produto, o fabricante deve ter um plano para realizar o *recall* do produto, envolvendo um plano de notificação para o público e partes interessadas.

Para a FDA, o processo de Autorização Pré-Mercado inclui a avaliação do processo de produção e do material biológico produzido, incluindo a coleta de tecido, linhagens e bancos de células, controles de fabricação e de todos os componentes e insumos. Embora ainda não tenha delineado os requisitos específicos para a coleta de tecidos e cultura de células, a FDA incentiva as empresas a contatarem a agência na fase inicial de desenvolvimento para dar início à discussão sobre o assunto.

Após a concessão da Autorização Pré-Mercado, a FDA pretende conduzir inspeções de rotina bem como outras atividades que envolvem a avaliação dos materiais e processos de produção, a supervisão nos bancos de células e nas instalações onde as células são conservadas, diferenciadas e multiplicadas.

Ao conduzir inspeções e outras atividades de supervisão, a FDA usará os resultados da avaliação prévia e fará uma avaliação completa nos registros de produção mantidos pelo fabricante. Se forem encontradas áreas não conformes, a agência tomará as medidas adequadas.

A FDA também garantirá que a rotulagem de produtos à base de células cultivadas a partir de espécies animais não sujeitas à jurisdição do USDA seja verdadeira e não enganosa, consistente com os princípios da FDA e USDA/FSIS para rotulagem de produtos.

Ainda em relação à rotulagem, o *Code of Federal Regulations* dos EUA (*Title 21 - Food and Drugs - 21CFR130.8 Food Standards: General*) exige Padrões de Identidade para diversos alimentos. Resumidamente, para que tais alimentos possam ser rotulados como de uma categoria específica, estes devem seguir um conjunto de diretrizes que incluem: os ingredientes necessários e em que proporção, juntamente com os diferentes processos envolvidos na fabricação de um determinado alimento. Esse requisito evita que os fabricantes rotulem incorretamente seus produtos.

Até o momento não há registro de aprovação nos Estados Unidos de proteína obtida por cultura celular, ou seja, ou ainda não foi submetido nenhum pedido ou ele ainda está em avaliação.

3.6 - Israel

Por se tratar de produto obtido por uma nova tecnologia e sem histórico de consumo em Israel antes de 2006, a carne cultivada atende à definição de novos alimentos, os quais são enquadrados em uma de três categorias:

- Alimentos em que a estrutura molecular primária foi modificada ou originada de um Organismo Geneticamente Modificado (OGM),
- Alimentos que contêm isolados de plantas, animais, microrganismos, fungos ou algas não tradicionalmente consumidos ou considerados seguros para consumo em Israel (e que não aparecem na lista de plantas, fungos e algas comestíveis),
- Alimentos que sofreram alteração no valor nutricional ou no aumento de compostos indesejáveis em função da aplicação de um novo processo de produção.

Para que a comercialização de um novo alimento seja aprovada, há um procedimento de Autorização Pré-Mercado baseado na Lei de Proteção à Saúde Pública – Artigo 18: Alimentos, de 2015. O fabricante deve apresentar um pedido online, que deve ser aprovado pelo Serviço Nacional de Alimentação e pelo Ministério da Saúde.

A avaliação de segurança baseia-se nos requisitos de avaliação da UE, sendo que o órgão regulador de Israel aceita as avaliações dos órgãos de segurança da UE, EUA, Canadá, Japão, Austrália e Nova Zelândia.

3.7 - Japão

Segundo o GFI (<https://gfi.org/blog/cultivated-meat-regulation-2021/>), o governo japonês está trabalhando para desenvolver uma estrutura regulatória específica para proteínas obtidas por cultura celular, garantindo a segurança dos alimentos e a aceitação pelo consumidor. Grupos da indústria, por sua vez, estão trabalhando para propor padrões para os órgãos reguladores. Duas ações merecem destaque:

Em abril de 2020, o Ministério da Agricultura, Silvicultura e Pesca - MAFF constituiu um *Food Tech Research Group* (Grupo de Pesquisa em Tecnologia de Alimentos), incluindo mais de 100 empresas. O foco do grupo não se limita à carne cultivada. Seu objetivo é fomentar a indústria de alimentos e fortalecer a segurança dos alimentos do Japão por meio de tecnologia. O grupo se reuniu para compartilhar informações do setor, para entender os desafios estruturais que as *startups* e empresas estabelecidas estão enfrentando no campo da inovação em tecnologia de alimentos e para permitir o desenvolvimento de políticas adequadas.

A segunda iniciativa importante é da Associação Japonesa para Agricultura Celular - JACA, uma colaboração entre indústria, governo e academia para criar regras para carnes, ovos e laticínios cultivados, a fim de contribuir para sua comercialização no Japão. A JACA é liderada pelo *Center for Rulemaking Strategy* (CRS) da Tama University, um *think tank* japonês, conta com 30 empresas,

incluindo algumas das principais empresas de alimentos do Japão. O foco da CRS é projetar regulamentos (leis, padrões industriais, diretrizes de autorregulação etc.) para tecnologias emergentes e conceitos importantes a serem implementados na sociedade japonesa.

Em iniciativas anteriores o CRS trabalhou com a regulamentação em campos que incluem tecnologia de *blockchain*, energia de hidrogênio e políticas econômicas. Ao contrário do *Food Tech Research Group*, o foco principal da JACA é a carne cultivada. A JACA tem realizado reuniões regulares para discutir possíveis estruturas regulatórias e várias empresas internacionais de carne cultivada se juntaram à colaboração. O grupo está atualmente trabalhando para obter uma orientação formal para a carne cultivada dentro da estrutura regulatória existente no Japão. <https://www.gfi-apac.org/blog/japan-regulatory-updates-on-shaping-the-cultivated-meat-market> [acesso em 07/09/21].

4 - PROPOSTA DE REGULAMENTAÇÃO DAS PROTEÍNAS OBTIDAS POR CULTURA DE CÉLULAS NO BRASIL

A carne cultivada é produto da tecnologia de cultura de células, onde a carne é produzida a partir de células animais usando uma combinação de biotecnologia, engenharia de tecidos e biologia molecular. A tecnologia de cultura de células não reproduz o animal em si, mas produz um produto que se assemelha à carne tradicional de um animal, a ser consumido como bife, carne moída ou produtos cárneos em geral.

Ela não se enquadra nas definições de carnes e de produtos cárneos atualmente adotadas pelo **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA/MAPA** (Decreto n. 9.013, de 29 de março de 2017, alterado pelo Decreto n. 10.468, de 18 agosto de 2020). Entretanto, o mesmo regulamento já prevê a possibilidade de inovações tecnológicas em seu Artigo 429: “*É permitida a fabricação de produtos de origem animal não previstos neste Decreto ou em normas complementares, desde que seu processo de fabricação e sua composição sejam aprovados pelo DIPOA/MAPA*”.

Não há dúvida de que esta categoria de produtos deve ser classificada no conceito internacionalmente adotado de Novos Alimentos (*Novel Foods*), cuja avaliação da segurança hoje no Brasil é de responsabilidade da ANVISA.

O Guia Nº 23 da ANVISA, de 23/07/19, **Guia para Comprovação da Segurança de Alimentos e Ingredientes**, em sua versão 1, estabelece que, no caso de novos produtos cobertos por regulamentos próprios, serão obedecidos os procedimentos administrativos dos respectivos regulamentos, a exemplo dos produtos cuja competência de regularização pré-mercado é do MAPA. O Guia prevê que uma cópia do ofício sobre o resultado da avaliação de segurança destes produtos seja encaminhada ao MAPA, indicando que a avaliação de qualquer novo produto no Brasil, mesmo os da competência do MAPA, serão conduzidas pela ANVISA, porém, com plena ciência do MAPA.

Assim, é esperado que o **Registro das Carnes Cultivadas** seja expedido pela ANVISA e que a inspeção e requisitos de produção e de comercialização dos produtos cárneos dela derivados venham a ser de responsabilidade do MAPA.

O Guia n. 23/2019 apresenta as diretrizes para comprovação da segurança de novos alimentos e

ingredientes e as orientações sobre como apresentar uma **Petição de Registro**.

Em julho de 2020, a ANVISA publicou o documento **Novos Alimentos e Ingredientes: Documento de Base para Discussão Regulatória**, onde são apresentadas a situação regulatória atual e as tratativas iniciais para a revisão da legislação sanitária de novos alimentos e ingredientes. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br/documents/33880/5833856/Documento+de+base+sobre+novos+alimentos/ed783550-fc93-42c2-91cc-ccb02c36fc9>

Nesta proposta de revisão, a ANVISA detalha melhor a classificação de Novos Alimentos (*alimentos e ingredientes obtidos de vegetais, animais, minerais, microrganismos, fungos, algas ou de forma sintética sem histórico de consumo seguro no Brasil como alimento*) e lista, entre outros exemplos, aqueles que “*consistam em culturas de células ou culturas de tecidos ou tenham sido produzidos a partir destas culturas*”.

Para submissão de um pedido de registro de um novo alimento, além das informações básicas sobre o solicitante, deve ser apresentado um **Relatório Técnico** contendo informações detalhadas sobre o processo produtivo, sistema de controle da produção e dos riscos identificados, ingredientes, insumos e coadjuvantes utilizados, características do produto final, análise de risco do seu uso como alimento, bem como a denominação do produto, finalidade de uso e recomendação de consumo indicada. O relatório deve também apontar as metodologias analíticas para avaliação do produto e dos insumos utilizados, se pertinente.

Um panorama da legislação brasileira atual para aprovação de novos alimentos, ingredientes e aditivos é apresentado no Anexo 1.

4.1 - Considerações sobre o Relatório Técnico para submissão do pedido de registro de carnes cultivadas e Seus Componentes junto à ANVISA

Em qualquer área da tecnologia de alimentos, o principal objetivo da regulamentação é orientar o processo de produção para obtenção de produtos seguros para consumo. Normalmente, isso envolve a análise crítica dos riscos microbiológicos e químicos envolvidos e o estabelecimento de padrões e requisitos que devem ser atendidos para garantir a segurança. Também pode considerar parâmetros nutricionais e de qualidade esperados para o alimento. Sempre que possível, tais requisitos são definidos em legislações específicas ou guias, quando existe um histórico de produção e consumo que lastreiam as especificações.

Contudo, a cultura de células é ainda uma tecnologia em franca evolução, com inúmeras inovações previstas, muitas disruptivas (por exemplo, com relação aos meios de cultura, características dos biorreatores, sistema de estruturação etc.), o que requer um marco regulatório flexível, mais focado no **autoconhecimento e autocontrole** da segurança do processo e na sua fiscalização, do que em descrição de tecnologias e especificações de produto. Esta proposta também facilitará uma eventual estrutura de **autorregulação** desse novo setor.

Propõe-se a elaboração de um **Guia para Solicitação de Aprovação Pré-Mercado de Carnes e Seus Componentes Produzidas por Cultura Celular**, que possa ser empregado para carnes de diferentes

naturezas e obtidas por vários processos tecnológicos e que oriente sobre as principais questões que devem ser pré-investigadas pelo fabricante, sobre os pontos críticos do processo e os respectivos meios de controle, informações estas que devem ser documentadas no **Relatório Técnico para o Pedido de Registro**.

Pela natureza inovadora da tecnologia e do produto, o relatório técnico deverá ser precedido de **Estudos Técnico-Científicos** para levantamento de informações relevantes para estabelecimento da segurança de controles de processo e do produto final.

A seguir, são apresentadas sugestões para abordagem das informações necessárias para a elaboração de um relatório técnico para solicitação de registro de um processo de produção de carne cultivada junto à ANVISA. As fontes de informação são sugestões e não têm intenção de serem exaustivas.

4.2 - Informações Sugeridas para o Relatório Técnico para Solicitação de Registro de um Processo de Produção de Carne Cultivada e Seus Componentes

A) Informações Gerais:

- Denominação do produto/Tipo de carne a ser cultivada (ex. bovina, suína, frango, espécie de pescado etc.), ou seus componentes (tecido muscular, tecido conjuntivo e/ou gordura)
- Recomendação de consumo;
- Formato do produto final a ser fabricado (p.e. moído, em filé etc.);
- Descrição sucinta do processo tecnológico;
- Aplicações pretendidas (ex. como carne para preparo doméstico, para bares e restaurantes e/ou fabricação de produtos cárneos, pratos prontos etc.);
- Mercado a que se destina (institucional ou varejo, nacional e/ou internacional).

B) Planta baixa das instalações industriais

Identificando a linha de produção, laboratórios, áreas de recepção e estocagem de insumos, câmaras de estocagem do produto acabado etc.

Descrição detalhada do processo de fabricação

Descrever detalhadamente o processo de fabricação, de forma ordenada e abrangendo todas as etapas de produção, desde a biópsia dos animais até a coleta da carne, identificando as etapas que são realizadas dentro e fora da planta industrial.

- Cada uma das etapas deve ser descrita e detalhada com relação à tecnologia, características dos equipamentos (fabricante, modelo, características técnicas, capacidade), identificando também os pontos de entrada de insumos, transferência de materiais, coleta e tratamento de resíduos, parâmetros críticos de controle do processo, temperaturas, tempo médio de retenção das culturas celulares em cada etapa, capacidade de produção da planta etc.
- Apresentar um fluxograma da produção (ex. Figura 2) incluindo as entradas e saídas dos

principais insumos e dos produtos intermediários do processo, a coleta e tratamento de resíduos e indicando os principais pontos de controle de qualidade e segurança do processo.

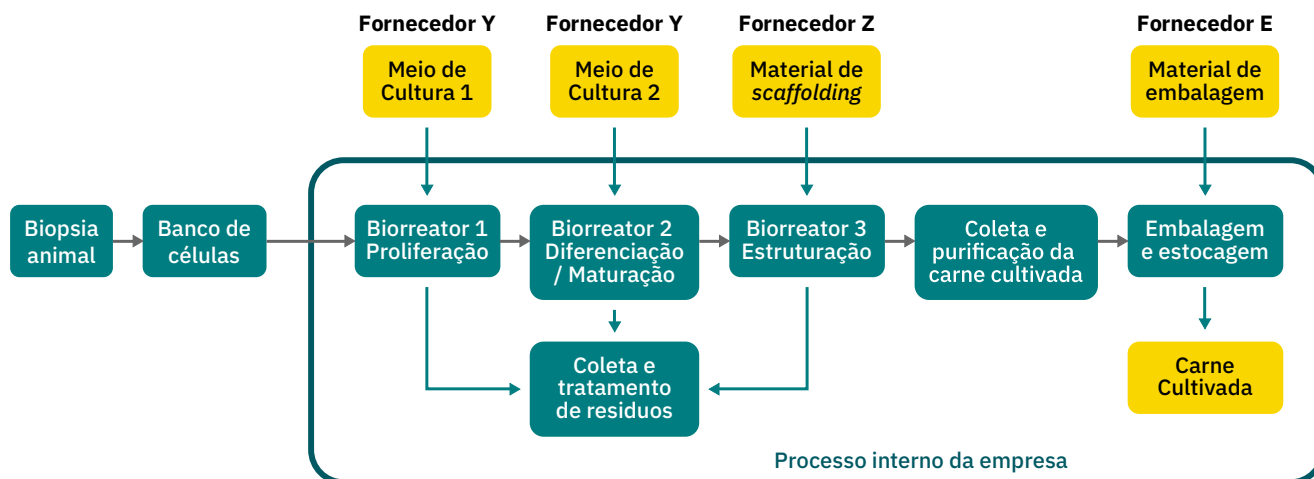


Figura 2. Representação esquemática de um fluxograma de produção de carne cultivada e seus componentes.

- Detalhar os limites operacionais e parâmetros-chave do processo de produção incluindo informações sobre os principais pontos de controle, como por exemplo, os parâmetros do ambiente interno dos biorreatores, como concentração de oxigênio e de gás carbônico, pH, temperatura, massa celular, controle de metabólitos etc., descrevendo os sistemas de monitoramento desses parâmetros.
- Informar quais são os fornecedores dos principais insumos utilizados, como o banco de células, fabricantes dos meios de cultura ou dos ingredientes utilizados na sua formulação, fornecedor do *scaffold* e da embalagem da carne cultivada.

D) Sistema de controle da consistência do processo de produção, de garantia de qualidade e de segurança

Empregando metodologias de APPCC e BPF, relatar os limites operacionais e parâmetros-chave do processo de produção e as medidas empregadas para detectar e controlar a ocorrência de contaminações e a alteração da estabilidade das células, garantindo a consistência do processo de produção.

- A análise de perigos deve investigar todos os perigos biológicos, químicos e físicos conhecidos ou esperados, intencionais ou não, e devem ser estabelecidos e monitorados controles preventivos para os supostos perigos.
- Devem ser apresentados os Procedimentos Operacionais e os Registros dos Controles de materiais, insumos, de produção, de higienização, de tratamento de resíduos e de qualidade do produto final, entre outros.
- Detalhar as medidas de higiene, como sistemas de filtragem do ar ambiente e de controle da assepsia da planta produtiva, sistemas de limpeza e higienização da planta e de cada um dos equipamentos e o controle microbiológico dos insumos utilizados.
- O controle dos riscos também deve envolver a cadeia de suprimentos, seja da linhagem de

células, quanto dos insumos, meios de cultura, material de estruturação, embalagem, entre outros.

Fontes de Referência:

- Portaria MS n. 1.428, de 26 de novembro de 1993 – *Regulamento técnico para inspeção sanitária de alimentos*. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1993/prt1428_26_11_1993.html
- Resolução RDC n. 275, de 21 de outubro de 2002 – *Regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/ industrializadores de alimentos e a lista de verificação das boas práticas de fabricação em estabelecimentos produtores/ industrializadores de alimentos*. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2002/anexos/anexo_res0275_21_10_2002_rep.pdf
- Portaria SVS/MS n. 326, de 30 de julho de 1997 – *Regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos*. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs1/1997/prt0326_30_07_1997.html
- Resolução RDC n. 24, de 8 de junho de 2015 - *Dispõe sobre o recolhimento de alimentos e sua comunicação à Anvisa e aos consumidores*. Disponível em: http://www.saude.pi.gov.br/uploads/divisa_document/file/261/RDC_24_2015.pdf

E) Informações relacionadas às linhagens celulares utilizadas, incluindo:

- Fonte biológica e origem das linhagens celulares (dados que permitam rastrear o doador). Como fonte biológica incluir informações taxonômicas sobre família, gênero, espécie, subespécie;
- Origem das linhagens celulares, com dados que permitam rastrear o doador;
 - Tecido ou parte do organismo coletado na biópsia;
 - Condições de criação e critérios de avaliação da saúde dos animais utilizados para biópsia, incluindo laudos do veterinário responsável;
 - Garantia do controle de perigos biológicos: BSE / TSE, vírus (fonte, zoonose) e contaminantes microbiológicos;
 - Condições de preservação do material da biópsia até o local de seleção e triagem das células;
 - Empresa e técnico responsável pela biópsia, seleção e triagem de células;
 - Empresa e técnico responsável pelo Banco de Células (repositório celular);
 - Descrição dos métodos usados para seleção e triagem de células;
 - Informações sobre o tipo de cultura e como as linhagens celulares são preparadas;
- Descrição detalhada dos processos de tratamento, modificação e imortalização de células;
 - Processo e controle de congelamento, descongelamento e de armazenamento das linhagens;

- Descrição das modificações e adaptações feitas às linhagens celulares e como estas se relacionam com a expressão de substâncias que podem resultar em risco para a segurança dos alimentos (apresentar Estudo Técnico-Científico específico);
- Segurança e adequação dos insumos utilizados, desde a biópsia até o armazenamento das linhagens celulares;
- Critério utilizado para renovação periódica do *pool* de células congeladas e de acordo com os limites de passagens.

Fontes de Referência:

- Instrução Normativa - IN n. 36, de 21 de agosto de 2019, da ANVISA, que *dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação complementares a Insumos e Medicamentos Biológicos*. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-36-de-21-de-agosto-de-2019-211913888>

- Recomendações para manuseio de material genético de origem agropecuária, disponíveis em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/material-genetico>

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/material-genetico/estabelecimentos/estabelecimentos>

F) Informações relacionadas aos meios de cultura usados, incluindo:

- Composição do meio de cultura empregado em cada biorreator ou fase da produção, com identidade, pureza e origem de todas as substâncias utilizadas na formulação, sejam nutrientes, fatores de crescimento, hormônios, antimicrobianos, antimicóticos ou aditivos para conferir características organolépticas à carne cultivada etc.

Obs: cada componente do meio de cultura deve ter aprovação prévia para utilização como alimento, ingrediente, coadjuvante ou aditivo de alimentos, aprovados segundo os requisitos definidos pela Anvisa. A pureza de cada componente deve ser demonstrada por meio de especificações e/ou análises, de acordo com os requisitos definidos na legislação vigente e metodologias analíticas validadas e com limites de detecção adequados.

Caso algum ingrediente ou aditivo ainda não tenha aprovação prévia, esta deve ser providenciada antes da submissão da petição da carne cultivada. Para tanto, devem ser seguidas as orientações do Guia n. 43/2020 da ANVISA, de 22/12/2020, *Guia de procedimentos para pedidos de inclusão e extensão de uso de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia de fabricação na legislação brasileira*.

Para as substâncias que não possuem especificações em referências reconhecidas pela ANVISA, há o Guia n. 37 da ANVISA de 23/09/2020, versão 1, *Guia de especificações de ingredientes alimentares*, que apresenta recomendações quanto ao estabelecimento de especificações de novos ingredientes, aditivos alimentares, inclusive aditivos aromatizantes de extratos vegetais, coadjuvantes de tecnologia (exceto enzimas).

- Informar se os meios são adquiridos já formulados ou se a mistura/preparação é feita no local

de produção;

- Fornecer dados que demonstrem se o meio de cultura permanece no produto cárneo cultivado acabado ou se é removido completamente. Quando os meios de cultura são removidos completamente, as empresas devem fornecer relatórios analíticos que comprovem a remoção (apresentar Estudo Técnico-Científico específico);
- No caso de utilização de fatores de crescimento (hormônios) e/ou antibióticos e/ou antimicóticos, sugere-se que sejam usados apenas aqueles aprovados para a produção da carne convencional equivalente, quando não for possível, uma aprovação prévia da substância deverá ser solicitada junto à autoridade competente. A quantidade máxima possível é aquela que garanta que os limites residuais estabelecidos para a carne convencional equivalente não sejam ultrapassados na carne cultivada;
- Informações sobre o processo de esterilização dos meios de cultura (ex: filtração, vapor etc.);
- Relatório específico demonstrando a eficácia do meio de esterilização adotado, para cada meio de cultura/biorreator;
- Controle da reciclagem dos meios de cultura nos biorreatores, com análise crítica dos limites operacionais.

Fontes de Referência:

- Ferramenta de consulta de novos alimentos, novos ingredientes, probióticos e enzimas aprovados pela ANVISA. Disponível em: <https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiNTA3ZDQxOGEtYzg0NC00NTI1LTg0MzYtOGEzMWU4MThlNjAwIiwidCI6ImI2N2FmMjNmLWMzZjMtNGQzNS04MGM3LWI3MDg1ZjVlZGQ4MSJ9>
- Resolução RDC n. 45, de 03 de novembro de 2010. *Dispõe sobre aditivos alimentares autorizados segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF)*. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/resolucao-rdc-no-45-de-3-de-novembro-de-2010.pdf>
- Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes PNCRC / Animal. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animais/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes>
- Lista de ingredientes (constituintes) autorizados para uso em suplementos alimentares. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/ingredientes>
- Legislação brasileira relativa aos Produtos Veterinários: Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/legislacao-1>
- Instrução Normativa n. 51, de 19 de dezembro de 2019, da ANVISA. *Estabelece a lista de limites máximos de resíduos (LMR), ingestão diária aceitável (IDA) e dose de referência aguda (DRfA) para insumos farmacêuticos ativos (IFA) de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal*. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animais/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes/instrucao-normativa-2019_51-anvisa.pdf
- Instrução Normativa n. 26, de 9 de julho de 2009 do MAPA. *Regulamento técnico para a fabricação, o*

controle de qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-26-de-9-de-julho-de-2009.pdf>

- Instrução Normativa SDA n. 55, de 01 de dezembro de 2011, que *proíbe a importação, a produção, a comercialização e o uso de substâncias naturais ou artificiais, com atividade anabolizantes hormonais, para fins de crescimento e ganho de peso em bovinos de abate*. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes/documentos-da-pncrc/instrucao-normativa-sda-n-o-55-de-01-de-dezembro-de-2011.pdf>

G) Informações relacionadas aos materiais de estruturação (scaffolding), se utilizados, incluindo:

- Natureza química e especificação do material;
- Fornecedor e processo de fabricação;
- Adequação do material como ingrediente comestível ou como material para contato com alimentos, caso seja prevista a extração da carne ou tecido do material de estruturação;
- Caso a carne seja extraída, descrever o processo e insumos utilizados, os quais devem ser aprovados como coadjuvantes de processo, uma vez que podem acabar sendo parte do produto final.

Obs: Como material comestível, a composição do material deve atender as especificações de ingredientes e aditivos para alimentos ou de películas comestíveis. Se a carne for extraída do *scaffold*, o material deve atender a legislação vigente de materiais para contato com alimentos da ANVISA, sendo que os ensaios de migração devem utilizar condições e simulantes adequados para a composição do meio de cultura e temperatura de processo e tempo de contato.

Fontes de Referência:

- Resolução RDC n. 53, de 7 de outubro de 2014. *Dispõe sobre a lista de enzimas, aditivos alimentares e veículos autorizados em preparações enzimáticas para uso na produção de alimentos em geral*. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3637633/RDC_53_2014_COMP.pdf/21f7d0e6-7c67-4f9d-b387-d3715112b45a

- Resolução RDC n. 466, de 10 de fevereiro de 2021. *Estabelece os coadjuvantes de tecnologia autorizados para uso na produção de alimentos e ingredientes na função de solventes de extração e processamento*. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5918056/%283%29RDC_466_2021_COMP.pdf/d31c2aa0-d071-4e02-99bd-b3a26a2dd11e

- Resolução RDC n. 272, de 14 de março de 2019, que *estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos*. Disponível em: https://www.in.gov.br/web/guest/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/67378977/do1-2019-03-18-resolucao-da-diretoria-colegiada-rdc-n-272-de-14-de-marco-de-2019-67378770

- Resolução RDC n. 329, de 19 de dezembro de 2019, que *estabelece os aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia autorizados para uso em pescado e produtos de pescado*. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-rdc-n-329-de-19-de-dezembro-de-2019-235414834>

- Resolução RDC n. 124, de 19 de junho de 2001 – *Preparados formadores de películas à base de polímeros e/ou resinas destinados ao revestimento de alimentos*. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_124_2001_COMP.pdf/3a3191ea-ef01-4622-b68e-af93ceb5abe7

- Resolução RDC n. 217, de 1º de agosto de 2002 - *Regulamento técnico sobre películas de celulose regenerada em contato com alimentos*. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/%281%29RDC_217_2002_.pdf/d998a002-bca0-4590-9df5-072b8d70fd38

- Resolução RDC nº 56, de 16 de novembro de 2012. *Dispõe sobre a lista positiva de monômeros, outras substâncias iniciadoras e polímeros autorizados para a elaboração de embalagens e equipamentos plásticos em contato com alimentos*. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/4048184/RDC_56_2012_COMP.pdf/f203caaa-d5b4-4ac1-afc8-82f0bb13ffcb

- Resolução RDC n. 326, de 3 de dezembro de 2019. *Estabelece a lista positiva de aditivos destinados à elaboração de materiais plásticos e revestimentos poliméricos em contato com alimentos e dá outras providências*. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3427171/%281%29RDC_326_2019_COMP.pdf/fda6ab97-e5d8-4aba-9155-8108188a76b5

- Resolução RDC n. 88, de 29 de junho de 2016. *Aprova o regulamento técnico sobre materiais, embalagens e equipamentos celulósicos destinados a entrar em contato com alimentos e dá outras providências*. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2883670/%281%29RDC_88_2016.pdf/b6eb3585-1294-42a5-9b01-69133446781f

- Resolução RDC n. 89 de 29 de junho de 2016. *Aprova o regulamento técnico sobre materiais celulósicos para cocção e filtração a quente e dá outras providências*. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2883670/RDC_89_2016_.pdf/28abd258-85fd-4a3d-b60e-9cef9338180c

- Resolução RDC n. 90, de 29 de junho de 2016. *Aprova o regulamento técnico sobre materiais, embalagens e equipamentos celulósicos destinados a entrar em contato com alimentos durante a cocção ou aquecimento em forno e dá outras providências*. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2883670/RDC_90_2016_.pdf/40195f9f-eb16-493d-8a03-848a063c281e

H) Informações sobre a pureza e a estabilidade genética da cultura de células durante o processo de fabricação

- Apresentar Estudo Técnico-Científico específico comparando as linhagens celulares iniciais e a carne cultivada. Quando diferenças genéticas forem observadas, devem ser investigadas as causas e suas características para determinar se elas resultam ou não em riscos para a segurança de alimentos (por exemplo, super expressão da produção de metabólitos secundários);

- Demonstrar, por meio de Estudo Técnico-Científico específico, que os controles de processo minimizam ou eliminam a formação desses metabólitos indesejados e descrever o método de controle da composição do meio de cultura nos biorreatores para detecção e/ou controle dos metabólitos de interesse em cada uma das etapas do processo, quando pertinente;

- O estudo deve apresentar as condições de contorno avaliadas e um histórico do controle das condições de processo que permitam concluir que o método é adequado para prevenção e controle da estabilidade genética durante o processo.

Fontes de Referência:

- Ong, Kimberly J, Jeremiah Johnston, Isha Datar, Vincent Sewalt, Dwayne Holmes, Jo Anne, and Kimberly J Ong. 2021. *Food Safety Considerations and Research Priorities for the Cultured Meat and Seafood Industry*. Authorea, no. February: 507011, doi: 10.1111/1541-4337.12853. Epub 2021 Oct 10.

- Post, Mark J., Shulamit Levenberg, David L. Kaplan, Nicholas Genovese, Jianan Fu, Christopher J. Bryant, Nicole Negowetti, Karin Verzijden, and Panagiota Moutsatsou. 2020. *Scientific, Sustainability and Regulatory Challenges of Cultured Meat*. Nature Food. <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0112-z>

Avaliação da carne cultivada

Devem ser fornecidos dados que permitam avaliar a qualidade e segurança do produto final, que pode ser a carne ou algum de seus componentes, como tecido conjuntivo e gordura.

- Dados qualitativos e quantitativos sobre a composição, bem como propriedades físico-químicas, bioquímicas e caracterização microbiológica da carne produzida, de preferência em comparação com a carne convencional equivalente;

Obs: Na análise da contaminação microbiológica: apresentar estudo prévio de prospecção de possíveis microrganismos contaminantes presentes no produto final (fungos e bactérias) e propor limites para controle da contaminação microbiológica. Podem ser utilizados métodos de contagem de placa, imunoenaios (p.e. ELISA) e métodos moleculares (ex. PCR);

- Composição nutricional e comparação com os mesmos parâmetros da carne convencional equivalente;
- Análise de impurezas, subprodutos ou resíduos, resíduos de hormônios e de antibióticos possivelmente presentes.
 - Outros estudos relevantes para apoiar a segurança da carne cultivada, como ensaios de digestibilidade, perfil de alérgenos, sequenciamento genético etc.;
 - Fornecer a especificação completa da carne cultivada, com parâmetros-chave que caracterizam e definem sua identidade, bem como as variações pertinentes (especificação de parâmetros físico-químicos, bioquímicos ou microbiológicos).

Obs: A Instrução Normativa n. 60 da ANVISA, que estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos, prevê a possibilidade de enquadramento de produto não caracterizado explicitamente nas categorias gerais e específicas e permite adotar a classificação por similaridade da natureza do alimento. Assim, a carne cultivada, por similaridade, poderia ser enquadrada nas categorias: “5. Carnes de Aves”, “6. Carne Bovina, Suína e outras” ou 7. Pescados”. Porém, no caso de carne cultivada, há necessidade de que seja realizado um estudo prévio para definição de padrões específicos, uma vez que não é esperada a presença de bactérias características do trato gastrointestinal de animais

ou que possam estar presentes externamente (couro, penas etc.). Por outro lado, a carne cultivada é suscetível à contaminação durante as etapas do processo, uma vez que não há uma barreira de proteção para as células ou tecidos.

Fontes de Referência:

- Resolução RDC n. 331, de 23 de dezembro de 2019. *Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação.* Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n-331-de-23-de-dezembro-de-2019-235332272>
- Instrução Normativa IN n. 60, de 23 de dezembro de 2019. *Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos.* Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>
- Plano de Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes PNCRC / Animal. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/plano-de-nacional-de-controle-de-residuos-e-contaminantes>
- Instrução Normativa n. 51, de 19 de dezembro de 2019 - *Estabelece a lista de limites máximos de resíduos (LMR), ingestão diária aceitável (IDA) e dose de referência aguda (DRfA) para insumos farmacêuticos ativos (IFA) de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal.* Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-51-de-19-de-dezembro-de-2019-235414514>

J) Informações nutricionais da carne cultivada

Dada sua classificação como Novo Alimento, é necessário esclarecer:

- O papel da carne cultivada na dieta (com base nos usos pretendidos e a ingestão estimada prevista). Fornecer dados sobre a população alvo, os usos e níveis de consumo previstos, sua estimativa de ingestão e de substâncias indesejáveis como resíduos, metabólitos secundários, contaminantes identificados, se presentes;
- Identificar se há restrições de uso, cuidados na preparação, ou identificação de grupos ou subgrupos (por exemplo, crianças, gestantes, mulheres lactantes, alérgicos) que devem evitar o consumo da carne cultivada;
- Comentar o nível de similaridade com a carne convencional. Demonstrar que a carne cultivada não difere de uma forma que seria nutricionalmente desvantajosa para o consumidor nas condições de utilização propostas;
- Destacar a qualidade e quantidade de macro e micronutrientes e sua biodisponibilidade e a influência do processo de produção, armazenamento e outros processamentos que podem ser necessários para consumo prévio.

K) Avaliação do potencial de alergenicidade

- Apresentar Estudo Técnico-Científico específico com análise de alergênicos possivelmente presentes na carne cultivada, cuja presença pode ser prevista com base no tipo e modificação da linhagem de células, do processo de fabricação e dos insumos utilizados. Podem ser

utilizadas ferramentas ômicas (genômica, transcriptômica, proteômica, metabolômica) ou testes de bioinformática: comparação da sequência de aminoácidos presentes com toxinas ou alérgenos já conhecidos;

- Para cada componente alergênico identificado ou estimado, apresentar uma revisão abrangente da literatura, a fim de recuperar informações existentes sobre sensibilização, relatos de casos de reações alérgicas e/ou estudos de alergenidade (*in vitro*, em animais, em humanos).

L) Acondicionamento e estocagem

- Descrever o material de embalagem utilizado e dados que confirmem sua adequação para contato com alimentos (ver Resoluções da ANVISA no item 4.2.G);
- Fornecer dados sobre a estabilidade do novo alimento em condições normais de armazenamento, incluindo os efeitos da embalagem, temperatura de armazenamento e ambiente (luz, oxigênio, umidade, umidade relativa). As orientações para a realização do estudo de estabilidade estão descritas no Guia 16 da ANVISA, de 30/10/2018, *Guia para determinação de prazos de validade de alimentos*.
- Na rotulagem, devem constar todos os requisitos obrigatórios, dentre eles, o lote e a data de fabricação, a data de validade e a temperatura recomendada de estocagem, transporte e comercialização.
- Resultados de **estudo sobre a estabilidade do produto**, incluindo a comparação com alterações celulares *pós-mortem* em comparação com a carne convencional.

Fontes de Referência:

- Resolução RDC n.459, de 21 de dezembro de 2000. *Estabelece as instruções de preparo, uso e conservação obrigatórias na rotulagem de produtos de carne crua suína e de aves*. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6002763/RDC_459_2020_.pdf/30f55edb-0b3b-4153-8ef9-389066027e3f

- Guia n. 16 da ANVISA, de 30 de outubro de 2018, Guia para determinação de prazos de validade de alimentos. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5056443/Guia+16_2018+prorrogacao+prazo.pdf/13a19f5f-94f8-4430-9548-6d43278ffb62

M) No caso de manipulação genética (se permitida)

- Resultados da avaliação da segurança pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança (CTNBio)
- Descrever a alteração realizada e seu objetivo (ex: introdução de novos genes/proteínas para melhorar o valor nutricional ou funcional da carne). Recomenda-se:
- Optar por métodos *footprint free*, que evitam modificação permanente do genoma;
- Não utilizar genes para resistência a antibióticos;

- Avaliar se o material genético inserido altera a função do gene essencial, ou se afeta as fases de leitura aberta (porção codificante);
- Avaliar que não seja codificado alguma toxina ou alergênico;

5 - REFERÊNCIAS

- Allan, Scott J., Paul A. De Bank, and Marianne J. Ellis. 2019. “Bioprocess Design Considerations for Cultured Meat Production With a Focus on the Expansion Bioreactor.” *Frontiers in Sustainable Food Systems*. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00044>
- Babcock, JF, Shawn Smith, and Hans Huntinga. 2012. “Enhancing Performance in Cell Culture : Hydrolysates from Plants for Media Supplementation.” *Genetic Engineering News*.
- Baltzell, Kimberly A., Hua Min Shen, Savitri Krishnamurthy, Jennette D. Sison, Gerard J. Nuovo, and Gertrude C. Buehring. 2018. “Bovine Leukemia Virus Linked to Breast Cancer but Not Coinfection with Human Papillomavirus: Case-Control Study of Women in Texas.” *Cancer* 124 (7): 1342–49. <https://doi.org/10.1002/cncr.31169>
- Beers, Jeanette, Daniel R. Gulbranson, Nicole George, Lauren I. Siniscalchi, Jeffrey Jones, James A. Thomson, and Guokai Chen. 2012. “Passaging and Colony Expansion of Human Pluripotent Stem Cells by Enzyme-Free Dissociation in Chemically Defined Culture Conditions.” *Nature Protocols*. <https://doi.org/10.1038/nprot.2012.130>
- Bellani, Caroline Faria, Jila Ajeian, Laura Duffy, Martina Miotto, Leo Groenewegen, and Che J. Connon. 2020. “Scale-Up Technologies for the Manufacture of Adherent Cells.” *Frontiers in Nutrition*. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.575146>
- Ben-Arye, Tom, Yulia Shandalov, Shahar Ben-Shaul, Shira Landau, Yedidya Zagury, Iris Ianovici, Neta Lavon, and Shulamit Levenberg. 2020. “Textured Soy Protein Scaffolds Enable the Generation of Three-Dimensional Bovine Skeletal Muscle Tissue for Cell-Based Meat.” *Nature Food*. <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0046-5>
- Ben-Arye T and Levenberg S. 2019. “Tissue Engineering for Clean Meat Production”. *Front. Sustain. Food Syst.* <https://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00046>
- Bhat, Zuhaib F., James D. Morton, Susan L. Mason, Alaa El Din A. Bekhit, and Hina F. Bhat. 2019. “Technological, Regulatory, and Ethical Aspects of In Vitro Meat: A Future Slaughter-Free Harvest.” *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12473>
- Bodiou, Vincent, Panagiota Moutsatsou, and Mark J. Post. 2020. “Microcarriers for Upscaling Cultured Meat Production.” *Frontiers in Nutrition*. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00010>
- Bogliotti, Yanina Soledad, Jun Wu, Marcela Vilarino, Daiji Okamura, Delia Alba Soto, Cuiqing Zhong, Masahiro Sakurai, et al. 2018. “Efficient Derivation of Stable Primed Pluripotent Embryonic Stem Cells from Bovine Blastocysts.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 115 (9): 2090–95. <https://doi.org/10.1073/pnas.1716161115>

- Braga, Melissa, Zena Simmons, Keith C Norris, Monica G Ferrini, and Jorge N Artaza. 2017. "Vitamin D Induces Myogenic Differentiation in Skeletal Muscle Derived Stem Cells." *Endocrine Connections* 6 (3): 139–50. <https://doi.org/10.1530/ec-17-0008>
- Burattini, S., R. Ferri, M. Battistelli, R. Curci, F. Luchetti, and E. Falcieri. 2004. "C2C12 Murine Myoblasts as a Model of Skeletal Muscle Development: Morpho-Functional Characterization." *European Journal of Histochemistry* 48 (3): 223–33. <https://doi.org/10.4081/891>
- Burteau, Caroline C., François R. Verhoeve, Johann F. Mols, Jean Sébastien Ballez, Spiros N. Agathos, and Yves Jacques Schneider. 2003. "Fortification of a Protein-Free Cell Culture Medium with Plant Peptones Improves Cultivation and Productivity of an Interferon- γ -Producing CHO Cell Line." *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Animal*. [https://doi.org/10.1290/1543-706X\(2003\)039<0291:FOAPCC>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1290/1543-706X(2003)039<0291:FOAPCC>2.0.CO;2)
- Burton, Nycole M., Janet L. Vierck, Lyssa Krabbenhoft, Katherine Byrne, and Michael V. Dodson. 2000. "Methods for Animal Satellite Cell Culture under a Variety of Conditions." *Methods in Cell Science* 22 (1): 51–61. <https://doi.org/10.1023/A:1009830114804>
- Chiron, Stéphane, Carole Tomczak, Alain Duperray, Jeanne Lainé, Gisèle Bonne, Alexandra Eder, Arne Hansen, Thomas Eschenhagen, Claude Verdier, and Catherine Coirault. 2012. "Complex Interactions between Human Myoblasts and the Surrounding 3D Fibrin-Based Matrix." *PLoS ONE* 7 (4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036173>
- Cobo, Fernando, Glyn N. Stacey, Charles Hunt, Carmen Cabrera, Ana Nieto, Rosa Montes, José Luis Cortés, Purificación Catalina, Angela Barnie, and Ángel Concha. 2005. "Microbiological Control in Stem Cell Banks: Approaches to Standardisation." *Applied Microbiology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s00253-005-0062-2>
- Coecke, Sandra, Michael Balls, Gerard Bowe, John Davis, Gerhard Gstraunthaler, Thomas Hartung, Robert Hay, et al. 2005. "Guidance on Good Cell Culture Practice: A Report of the Second ECVAM Task Force on Good Cell Culture Practice." *ATLA Alternatives to Laboratory Animals*. <https://doi.org/10.1177/026119290503300313>
- Ding, Shijie, G. N.M. Swennen, Tobias Messmer, Mick Gagliardi, Daniël G.M. Molin, Chunbao Li, Guanghong Zhou, and Mark J. Post. 2018. "Maintaining Bovine Satellite Cells Stemness through P38 Pathway." *Scientific Reports* 8 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28746-7>
- Dong, Chanjuan, and Yonggang Lv. 2016. "Application of Collagen Scaffold in Tissue Engineering: Recent Advances and New Perspectives." *Polymers*. <https://doi.org/10.3390/polym8020042>
- Drexler, Hans G., and Cord C. Uphoff. 2002. "Mycoplasma Contamination of Cell Cultures: Incidence, Sources, Effects, Detection, Elimination, Prevention." In *Cytotechnology*. <https://doi.org/10.1023/A:1022913015916>
- Elliott, Gloria D., Shangping Wang, and Barry J. Fuller. 2017. "Cryoprotectants: A Review of the Actions and Applications of Cryoprotective Solutes That Modulate Cell Recovery from Ultra-Low Temperatures." *Cryobiology*. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2017.04.004>
- Erickson, G. A., S. R. Bolin, and J. G. Landgraf. 1991. "Viral Contamination of Fetal Bovine Serum Used for

Tissue Culture: Risks and Concerns.” *Developments in Biological Standardization*.

Espinosa, Romain, Damian Tago, and Nicolas Treich. 2020. “Infectious Diseases and Meat Production.” *Environmental and Resource Economics* 76 (4): 1019–44. <https://doi.org/10.1007/s10640-020-00484-3>

FAO. 2009. “How to Feed the World in 2050.” *Insights from an Expert Meeting at FAO*. http://www.fao.org/fileadmin/templates/wsfs/docs/expert_paper/How_to_Feed_the_World_in_2050.pdf

FDA. 2010. “Guidance for Industry Cell Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Materials Used in the Production of Viral Vaccines for Infectious Disease Indications.” *FDA Guidance for Industry*.

Feist, Adam M., and Bernhard O. Palsson. 2016. “What Do Cells Actually Want?” *Genome Biology* 16 (1): 1–2. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-0983-3>

Fountain, D., M. Ralston, N. Higgins, J. B. Gorlin, L. Uhl, C. Wheeler, J. H. Antin, W. H. Churchill, and R. J. Benjamin. 1997. “Liquid Nitrogen Freezers: A Potential Source of Microbial Contamination of Hematopoietic Stem Cell Components.” *Transfusion* 37 (6): 585–91. <https://doi.org/10.1046/j.1537-2995.1997.37697335152.x>

Gao, Ying, and Nigel Allison. 2016. “Extractables and Leachables Issues with the Application of Single Use Technology in the Biopharmaceutical Industry.” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1002/jctb.4824>

Gillispie, Gregory J., Jihoon Park, Joshua S. Copus, Anil Kumar Pallickaveedu Rajan Asari, James J. Yoo, Anthony Atala, and Sang Jin Lee. 2019. “Three-Dimensional Tissue and Organ Printing in Regenerative Medicine.” In *Principles of Regenerative Medicine*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809880-6.00047-3>

Girón-Calle, Julio, Javier Vioque, Justo Pedroche, Manuel Alaiz, María M. Yust, Cristina Megías, and Francisco Millán. 2008. “Chickpea Protein Hydrolysate as a Substitute for Serum in Cell Culture.” *Cytotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s10616-008-9170-z>

Henchion, Maeve, Maria Hayes, Anne Maria Mullen, Mark Fenelon, and Brijesh Tiwari. 2017. “Future Protein Supply and Demand: Strategies and Factors Influencing a Sustainable Equilibrium.” *Foods* 6 (7): 1–21. <https://doi.org/10.3390/foods6070053>

Hepburn, P., J. Howlett, H. Boeing, A. Cockburn, A. Constable, A. Davi, N. de Jong, et al. 2008. “The Application of Post-Market Monitoring to Novel Foods.” *Food and Chemical Toxicology*. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.008>

Hochedlinger, Konrad, and Rudolf Jaenisch. 2015. “Induced Pluripotency and Epigenetic Reprogramming.” *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 7 (12). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019448>

Hornberger, Kathlyn, Guanglin Yu, David McKenna, and Allison Hubel. 2019. “Cryopreservation of Hematopoietic Stem Cells: Emerging Assays, Cryoprotectant Agents, and Technology to Improve Outcomes.” *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. <https://doi.org/10.1159/000496068>

- Hu, Wei-Shou. 2020. *Cell Culture Bioprocess Engineering*. *Cell Culture Bioprocess Engineering*. <https://doi.org/10.1201/9780429162770>
- Huang, Yan, Puping Liang, Dan Liu, Junjiu Huang, and Zhou Songyang. 2014. “Telomere Regulation in Pluripotent Stem Cells.” *Protein and Cell*. <https://doi.org/10.1007/s13238-014-0028-1>
- Jamal, P, M Z Alam, and N U Salleh. 2008. “Media Optimization for Bioproteins Production from cheaper Carbon Source”. *Journal of Engineering Science and Technology*. https://www.researchgate.net/profile/Md-Alam-254/publication/49593899_Medai_optimization_for_bioproteins_productions_from_cheaper_carbon_source/links/00b4952e74c680c943000000/Medai-optimization-for-bioproteins-productions-from-cheaper-carbon-source.pdf
- Jayme, David W., and Shawn R. Smith. 2000. “Media Formulation Options and Manufacturing Process Controls to Safeguard against Introduction of Animal Origin Contaminants in Animal Cell Culture.” *Cytotechnology*. <https://doi.org/10.1023/A:1008133717035>
- Jeong, Sang Hee, Daejin Kang, Myung Woon Lim, Chang Soo Kang, and Ha Jung Sung. 2013. “Risk Assessment of Growth Hormones and Antimicrobial Residues in Meat.” *Toxicological Research*. <https://doi.org/10.5487/TR.2010.26.4.301>
- Jochems, Carlo E.A., Jan B.F. Van der Valk, Frans R. Stafleu, and Vera Baumans. 2002. “The Use of Fetal Bovine Serum: Ethical or Scientific Problem?” *ATLA Alternatives to Laboratory Animals* 30 (2): 219–27. <https://doi.org/10.1177/026119290203000208>
- Jones, Jordan D., Alex S. Rebello, and Glenn R. Gaudette. 2021. “Decellularized Spinach: An Edible Scaffold for Laboratory-Grown Meat.” *Food Bioscience*. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100986>
- Kanatous, Shane B., and Pradeep P.A. Mammen. 2010. “Regulation of Myoglobin Expression.” *Journal of Experimental Biology*. <https://doi.org/10.1242/jeb.041442>
- Kim, Se Kwon. 2013. *Marine Proteins and Peptides: Biological Activities and Applications*. *Marine Proteins and Peptides: Biological Activities and Applications*. <https://doi.org/10.1002/9781118375082>
- Kok, E. J., J. Keijer, G. A. Kleter, and H. A. Kuiper. 2008. “Comparative Safety Assessment of Plant-Derived Foods.” *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2007.09.007>
- Kyttälä, Aija, Roksana Moraghebi, Cristina Valensisi, Johannes Kettunen, Colin Andrus, Kalyan Kumar Pasumarthy, Mahito Nakanishi, et al. 2016. “Genetic Variability Overrides the Impact of Parental Cell Type and Determines iPSC Differentiation Potential.” *Stem Cell Reports* 6 (2): 200–212. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2015.12.009>
- Laassri, Majid, Edward T. Mee, Sarah M. Connaughton, Hasmik Manukyan, Marion Gruber, Carmen Rodriguez-Hernandez, Philip D. Minor, Silke Schepelmann, Konstantin Chumakov, and David J. Wood. 2018. “Detection of Bovine Viral Diarrhoea Virus Nucleic Acid, but Not Infectious Virus, in Bovine Serum Used for Human Vaccine Manufacture.” *Biologicals*. <https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2018.06.002>
- Ladics, Gregory S., Robert F. Cressman, Corinne Herouet-Guicheney, Rod A. Herman, Laura Privalle, Ping Song, Jason M. Ward, and Scott McClain. 2011. “Bioinformatics and the Allergy Assessment of Agricultural

Biotechnology Products: Industry Practices and Recommendations.” *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 60 (1): 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2011.02.004>

Lee, Namil, Jongoh Shin, Jin Hyoung Park, Gyun Min Lee, Suhyung Cho, and Byung Kwan Cho. 2016. “Targeted Gene Deletion Using DNA-Free RNA-Guided Cas9 Nuclease Accelerates Adaptation of CHO Cells to Suspension Culture.” *ACS Synthetic Biology* 5 (11): 1211–19. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.5b00249>

MacDonald, Grant A., and Tyre C. Lanier. 1997. “Cryoprotectants for Improving Frozen-Food Quality.” In *Quality in Frozen Foods*. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5975-7_11

Mandrycky, Christian, Zongjie Wang, Keeyoung Kim, and Deok Ho Kim. 2016. “3D Bioprinting for Engineering Complex Tissues.” *Biotechnology Advances*. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.011>

Martín-Orúe, Susana M., Anthony G. O’Donnell, Joaquin Ariño, Trudy Netherwood, Harry J. Gilbert, and John C. Mathers. 2002. “Degradation of Transgenic DNA from Genetically Modified Soya and Maize in Human Intestinal Simulations.” *British Journal of Nutrition*. <https://doi.org/10.1079/bjn2002573>

Masters, John R., and Glyn N. Stacey. 2007. “Changing Medium and Passaging Cell Lines.” *Nature Protocols*. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.319>

Matassa, Silvio, Willy Verstraete, Ilje Pikaar, and Nico Boon. 2016. “Autotrophic Nitrogen Assimilation and Carbon Capture for Microbial Protein Production by a Novel Enrichment of Hydrogen-Oxidizing Bacteria.” *Water Research* 101: 137–46. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.05.077>

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. 2009. Instrução Normativa n 26/2009. Regulamento técnico para a fabricação, o controle de qualidade, a comercialização e o emprego de produtos antimicrobianos de uso veterinário. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/alimentacao-animal/arquivos-alimentacao-animal/legislacao/instrucao-normativa-no-26-de-9-de-julho-de-2009.pdf>

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e Secretaria de Defesa Agropecuária. 2019. “Manual de Métodos Oficiais Para Análise de Alimentos de Origem Animal.” 2º Edição. 2019. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/laboratorios/credenciamento-e-laboratorios-credenciados/legislacao-metodos-credenciados/arquivos-metodos-da-area-poa-iga/ManualdeMtodosOficiaisparaAnlisedeAlimentosdeOrigemAnimal2ed.pdf>

Netherwood, Trudy, Susana M. Martín-Orúe, Anthony G. O’Donnell, Sally Gockling, Julia Graham, John C. Mathers, and Harry J. Gilbert. 2004. “Assessing the Survival of Transgenic Plant DNA in the Human Gastrointestinal Tract.” *Nature Biotechnology*. <https://doi.org/10.1038/nbt934>

Nienow, Alvin W., Qasim A. Rafiq, Karen Coopman, and Christopher J. Hewitt. 2014. “A Potentially Scalable Method for the Harvesting of HMSCs from Microcarriers.” *Biochemical Engineering Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2014.02.005>

O’Neill, Edward N., Zachary A. Cosenza, Keith Baar, and David E. Block. 2021. “Considerations for the Development of Cost-Effective Cell Culture Media for Cultivated Meat Production.” *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12678>

of California, [ABC] Almond Board. 2000. “FSIS Microbiological Hazard Identification Guide for Meat and Poultry Components of Products Produced by Very Small Plant.”

Ong, Kimberly J, Jeremiah Johnston, Isha Datar, Vincent Sewalt, Dwayne Holmes, Jo Anne, and Kimberly J Ong. 2021. “Food Safety Considerations and Research Priorities for the Cultured Meat and Seafood Industry.” *Authorea*, no. February: 507011.

Pazos, Patricia, Monica Boveri, Alessandra Gennari, Juan Casado, Fernando Fernandez, and Pilar Prieto. 2004. “Culturing Cells without Serum: Lessons Learnt Using Molecules of Plant Origin.” *Altex*.

Post, Mark J., Shulamit Levenberg, David L. Kaplan, Nicholas Genovese, Jianan Fu, Christopher J. Bryant, Nicole Negowetti, Karin Verzijden, and Panagiota Moutsatsou. 2020. “Scientific, Sustainability and Regulatory Challenges of Cultured Meat.” *Nature Food*. <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0112-z>

Ramboer, Eva, Bram De Craene, Joery De Kock, Tamara Vanhaecke, Geert Berx, Vera Rogiers, and Mathieu Vinken. 2014. “Strategies for Immortalization of Primary Hepatocytes.” *Journal of Hepatology*. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.05.046>

Reddy, Bhaskara L., and Milton H. Saier. 2020. “The Causal Relationship between Eating Animals and Viral Epidemics.” *Microbial Physiology*. <https://doi.org/10.1159/000511192>.

Reiss, Jacob; Robertson, Samantha and Suzuki, Masatoshi. 2021. “Cell Sources for Cultivated Meat: Applications and Considerations throughout the reduction Workflow”. *International Journal of molecular Science*. <https://doi.org/10.3390/ijms22147513>

Robinson, Lary A., Crystal J. Jaing, Christine Pierce Campbell, Anthony Magliocco, Yin Xiong, Genevra Magliocco, James B. Thissen, and Scott Antonia. 2016. “Molecular Evidence of Viral DNA in Non-Small Cell Lung Cancer and Non-Neoplastic Lung.” *British Journal of Cancer* 115 (4): 497–504. <https://doi.org/10.1038/bjc.2016.213>

“Safety and Nutritional Assessment of GM Plants and Derived Food and Feed: The Role of Animal Feeding Trials.” 2008. *EFSA Journal*. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2008.1057>

Savini, Michele, Cinzia Cecchini, Maria Cristina Verdenelli, Stefania Silvi, Carla Orpianesi, and Alberto Cresci. 2010. “Pilot-Scale Production and Viability Analysis of Freeze-Dried Probiotic Bacteria Using Different Protective Agents.” *Nutrients*. <https://doi.org/10.3390/nu2030330>

Shiozuka, Masataka, and Ichiro Kimura. 2000. “Improved Serum-Free Defined Medium for Proliferation and Differentiation of Chick Primary Myogenic Cells.” *Zoological Science* 17 (2): 201–7. <https://doi.org/10.2108/zsj.17.201>

Sionek, Barbara, Wiesław Przybylski, and Krzysztof Tambor. 2020. “Biosensors in Evaluation of Quality of Meat and Meat Products - A Review.” *Annals of Animal Science*. <https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0057>

Stephens, Neil, Lucy Di Silvio, Illtud Dunsford, Marianne Ellis, Abigail Glencross, and Alexandra Sexton. 2018. “Bringing Cultured Meat to Market: Technical, Socio-Political, and Regulatory Challenges in Cellular Agriculture.” *Trends in Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.04.010>

- Stout, Andrew J., Addison B. Mirliani, Erin L. Soule-Albridge, Julian M. Cohen, and David L. Kaplan. 2020. "Engineering Carotenoid Production in Mammalian Cells for Nutritionally Enhanced Cell-Cultured Foods." *Metabolic Engineering* 62: 126–37. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2020.07.011>
- Takahashi, Kazutoshi, and Shinya Yamanaka. 2006. "Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors." *Cell* 126 (4): 663–76. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>
- Tedder, R. S., M. A. Zuckerman, N. S. Brink, A. H. Goldstone, A. Fielding, S. Blair, K. G. Patterson, et al. 1995. "Hepatitis B Transmission from Contaminated Cryopreservation Tank." *The Lancet* 346 (8968): 137–40. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(95\)91207-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(95)91207-X)
- Tekkatte, Chandana, Gency Ponrose Gunasingh, K. M. Cherian, and Kavitha Sankaranarayanan. 2011. "'Humanized' Stem Cell Culture Techniques: The Animal Serum Controversy." *Stem Cells International*. <https://doi.org/10.4061/2011/504723>.
- U. S. Department of Agriculture. 2021. "Microbiology Laboratory Guidebook." 2021
- Valk, J. van der, D. Brunner, K. De Smet, Å Fex Svenningsen, P. Honegger, L. E. Knudsen, T. Lindl, et al. 2010. "Optimization of Chemically Defined Cell Culture Media - Replacing Fetal Bovine Serum in Mammalian in Vitro Methods." *Toxicology in Vitro*. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2010.03.016>
- Wal, J. M., P. A. Hepburn, L. J. Lea, and R. W.R. Crevel. 2003. "Post-Market Surveillance of GM Foods: Applicability and Limitations of Schemes Used with Pharmaceuticals and Some Non-GM Novel Foods." *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. [https://doi.org/10.1016/S0273-2300\(03\)00079-5](https://doi.org/10.1016/S0273-2300(03)00079-5)
- Wang, Yiming, Song Chen, Zuoqin Yan, and Ming Pei. 2019. "A Prospect of Cell Immortalization Combined with Matrix Microenvironmental Optimization Strategy for Tissue Engineering and Regeneration 06 Biological Sciences 0601 Biochemistry and Cell Biology." *Cell and Bioscience*. <https://doi.org/10.1186/s13578-018-0264-9>
- Warren, Luigi, and Cory Lin. 2019. "mRNA-Based Genetic Reprogramming." *Molecular Therapy*. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.12.009>
- Wessman, S. J., and R. L. Levings. 1999. "Benefits and Risks Due to Animal Serum Used in Cell Culture Production." *Developments in Biological Standardization*.
- World Health Organisation. 2019. "Critically Important Antimicrobials for Human Medicine 6th Revision 2018." <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/312266/9789241515528-Eng.Pdf?Ua=1>
- Wosczyzna, Michael N., and Thomas A. Rando. 2018. "A Muscle Stem Cell Support Group: Coordinated Cellular Responses in Muscle Regeneration." *Developmental Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2018.06.018>
- Wu, Jun, and Juan Carlos Izpisua Belmonte. 2015. "Dynamic Pluripotent Stem Cell States and Their Applications." *Cell Stem Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2015.10.009>
- Yao, Tatsuma, and Yuta Asayama. 2017. "Animal-Cell Culture Media: History, Characteristics, and Current Issues." *Reproductive Medicine and Biology*. <https://doi.org/10.1002/rmb2.12024>.

Xin Guan, Qingzi Lei, Qiyang Yan, Xueliang Li, Jingwen Zhou, Guocheng Du, Jian Chen. Trends and ideas in technology, regulation and public acceptance of cultured meat. *Future Foods*, Volume 3, 2021, 100032, ISSN 2666-8335, <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100032>

Zelber-Sagi, Shira, Dana Ivancovsky-Wajcman, Naomi Fliss Isakov, Muriel Webb, Dana Orenstein, Oren Shibolet, and Revital Kariv. 2018. "High Red and Processed Meat Consumption Is Associated with Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Insulin Resistance." *Journal of Hepatology* 68 (6): 1239–46. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2018.01.015>

Anexo 1 - Panorama da Legislação Brasileira Atual para Aprovação de Novos Alimentos, Ingredientes e Aditivos

No Brasil, o controle sanitário de alimentos é uma responsabilidade compartilhada entre o Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), através dos Departamentos de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) e de Inspeção de Produtos de Origem Vegetal (DIPOV).

Ao MAPA cabe a regulamentação, controle e fiscalização de alimentos exclusivamente de **origem animal** (carnes, leite, ovos, mel, pescados) e seus derivados e de alimentos de origem vegetal e de bebidas em geral (não alcoólicas, alcoólicas e fermentadas). O registro é obrigatório para todos os estabelecimentos de produtos de origem animal que realizem o comércio interestadual ou internacional (Decreto n. 9013/2017 da Presidência da República), bebidas em geral ([Decreto n. 6.871/2009](#) da Presidência da República), vinho e derivados da uva e do vinho ([Decreto n. 8.198/2014](#) da Presidência da República) e alguns produtos vegetais (Lei n. 9972/2000 da Presidência da República, Instrução Normativa n. 9/2019 da Secretaria de Defesa Agropecuária e Instrução Normativa n. 97/2020 da Secretaria de Defesa Agropecuária).

À ANVISA cabe a regulamentação, controle e fiscalização de produtos e serviços que envolvem risco à saúde pública, dentre eles medicamentos, cosméticos, produtos de higiene pessoal, saneantes, alimentos e seus insumos (ingredientes, matérias-primas, aditivos alimentares, coadjuvantes de tecnologia, materiais em contato com alimentos, contaminantes e resíduos de medicamentos veterinários), como também rotulagem e a avaliação da segurança de inovações tecnológicas desses produtos. É obrigatório o registro de alimentos com alegações de propriedade funcional e ou de saúde, alimentos infantis, fórmulas para nutrição enteral, suplementos alimentares contendo enzimas ou probióticos e novos alimentos e novos ingredientes (Resolução RDC 27/2010 alterada pela RDC 240/2018).

Com relação à situação regulatória nacional de “novos alimentos”, o MAPA ainda não estabeleceu regulamentação especificamente voltada a esses produtos. Em dezembro de 2020 realizou um *workshop* para tratar sobre mercado, conceitos, pesquisas em desenvolvimento e marco regulatório do segmento de produtos *plant-based*, uma das linhas de produtos abarcados pelo conceito de “novos alimentos”. A produção de alimentos *plant-based* inclui novas matérias primas vegetais que, inclusive podem ser submetidas à fermentação para redução de fatores antinutricionais e melhoramento do sabor e da digestibilidade.

<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/mercado-de-alimentos-a-base-de-vegetais-e-tema-de-workshop-promovido-pelo-mapa> [acesso em 01/09/2021].

Em junho de 2021 a Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA) promulgou a Portaria Nº 327/2021, com o objetivo de obter subsídios para fomentar a discussão sobre a regulação dos *plant-based*

Segundo a diretoria do DIPOV, o processo de estabelecimento de uma agenda regulatória encontra-se na fase inicial de estruturação e só tem previsão de ser concluída em 2023. O processo envolverá, além do MAPA, a ANVISA e outros órgãos que possam contribuir com o estabelecimento das normas e compartilhar competências e responsabilidades.

<https://www.beefpoint.com.br/regulacao-da-carne-vegetal-tem-inicio-no-brasil/> [acesso em 01/09/2021].

Na ANVISA, por outro lado, há uma regulamentação de “Novos Alimentos” estabelecida desde 1999, que encontra-se em fase de discussão para revisão e aprimoramento. Em julho de 2020 foi publicado o documento “Novos alimentos e ingredientes – documento de base para discussão regulatória”, onde foram apresentadas as tratativas iniciais para a revisão desta legislação.

<http://antigo.anvisa.gov.br/documents/33880/5833856/Documento+de+base+sobre+novos+alimentos/ed783550-fc93-42c2-91cc-ccb02c36fc9>

A proposta de definição da ANVISA apresentada no documento “Novos Alimentos e Ingredientes: Documento de Base para Discussão Regulatória” inclui alimentos e ingredientes obtidos de vegetais, animais, minerais, microrganismos, fungos, algas ou de forma sintética sem histórico de consumo seguro no Brasil como alimento, incluindo, mas não limitado aos produtos que: (a) sejam obtidos de fontes sem histórico de consumo seguro no Brasil; (b) possuam estrutura molecular nova ou intencionalmente modificada; (c) consistam em culturas de células ou culturas de tecidos ou tenham sido produzidos a partir destas culturas; (d) tenham sido submetidos a processo produtivo não aplicado na produção de alimentos; (e) tenham alterações na sua composição ou estrutura que afetem seu valor nutricional, metabolismo ou teor de contaminantes; (f) sejam constituídos por nanomateriais artificiais; (g) sejam constituintes de suplementos alimentares não previstos na IN n. 28, de 2018; (h) sejam compostos de nutrientes e de outras substâncias para fórmulas enterais não previstos na RDC n. 22, de 2015; (i) sejam compostos de nutrientes para alimentos destinados a lactentes e a crianças de primeira infância não previstos na RDC n. 42, de 2011; (j) ingredientes fontes de nutrientes e de substâncias bioativas para uso em alimentos convencionais; ou (k) sejam constituintes autorizados apenas para uso em suplementos alimentares, caso venham a ser usados em outros alimentos. Produtos excluídos da definição: Aditivos alimentares, coadjuvantes de tecnologia, substâncias consideradas *doping* pela Agência Mundial Antidopagem, substâncias sujeitas a controle especial, substâncias obtidas das espécies que não podem ser usadas na composição de produtos tradicionais fitoterápicos, outras substâncias com finalidade terapêutica ou medicamentosa e alimentos e ingredientes que atendam à definição de Organismos Geneticamente Modificados (OGM) e de produtos derivados de OGM na Lei de Biossegurança.

No que tange os Novos Alimentos, a situação regulatória vigente abarca os seguintes atos legislativos, consultados na base Biblioteca de Alimentos da ANVISA, atualizada em 10/06/2021:

<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/regulamentacao/legislacao/bibliotecas-tematicas/arquivos/biblioteca-de-alimentos>

A.1. Resolução n. 16 de 30 de abril 1999 - *Regulamento referente a procedimentos para registro de alimentos e/ou novos ingredientes*

<http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/26327>

Estabelece o procedimento para registro de novos alimentos ou novos ingredientes junto à ANVISA no Brasil.

Define “novos alimentos ou ingredientes” como alimentos ou substâncias sem histórico de consumo no País, ou alimentos com substâncias já consumidas, e que, entretanto, venham a ser adicionadas ou utilizadas em níveis muito superiores aos atualmente observados nos alimentos consumidos na dieta regular. Esse conceito legal não se aplica aos aditivos alimentares e aos coadjuvantes de tecnologia, que devem observar uma regulamentação específica sobre sua identidade, qualidade, segurança e eficácia.

Estabelece a documentação a ser fornecida na apresentação do pedido de registro, incluindo um relatório técnico científico com as seguintes informações: denominação do produto; finalidade de uso; recomendação de consumo indicada pelo fabricante; descrição científica dos ingredientes; composição química com caracterização molecular, quando for o caso, e ou formulação do produto; descrição da metodologia analítica para avaliação do produto; evidências científicas aplicáveis, conforme o caso, à comprovação de segurança de uso (ensaios nutricionais e ou fisiológicos e ou toxicológicos em animais de experimentação; ensaios bioquímicos; estudos epidemiológicos; ensaios clínicos; comprovação de uso tradicional pela população sem danos à saúde; evidências abrangentes da literatura científica, órgãos internacionais de saúde e legislação internacionalmente reconhecida sobre as características do alimento ou ingrediente).

Estabelece que a avaliação do relatório técnico científico será feita pela Comissão de Assessoramento Técnico científica em Alimentos Funcionais e novos Alimentos (CTCAF), instituída pela Portaria n. 15, de 30 de abril de 1999.

A.2. Portaria n. 15, de 30 de abril de 1999 - *Institui a Comissão de Assessoramento Tecno-Científico em Alimentos Funcionais e Novos alimentos (CTCAF)*

<https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?jornal=2&pagina=4&data=03/05/1999> (o número da Portaria neste endereço fornecido pela ANVISA é 395/1999).

Esta Comissão foi instituída para assessorar a Anvisa nos assuntos científicos relacionados à avaliação de segurança e eficácia de novos alimentos e alimentos funcionais. Desde a sua criação, a CTCAF analisou centenas de processos de novos alimentos, ingredientes e alimentos funcionais (ANVISA, 2020).

A.3. Resolução n. 17 de 30 de abril 1999 - *Diretrizes básicas para avaliação de risco e segurança dos alimentos*

<http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/26333>

Define Avaliação de Risco, estabelece as bases para comprovação da segurança de alimentos e ingredientes alimentares e atribui à CTCAF a responsabilidade pela condução da avaliação caso a caso.

A.4. Guia n. 23, versão 1, de 23 de julho de 2019 - *Guia para Comprovação da Segurança de Alimentos e Ingredientes*

<http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/5355698/Guia+Seguran%C3%A7a+de+Alimentos.pdf/dae93caa-7418-4b9a-97f2-2ec9ebc139e2#:~:text=Portanto%2C%20mesmo%20que%20a%20Page,do%20produto%20n%C3%A3o%20a%20pro%C3%ADba>

Este documento foi colocado em vigor em 09/08/2019 e submetido à consulta pública em 12/08/2019, com encerramento previsto para 10/08/2020. Em 04/08/2020, foi autorizada a prorrogação do prazo para contribuições, estendida até 10/08/2021. O link de acesso ao documento foi desativado na versão de 10/06/2021 da Biblioteca de Alimentos da ANVISA, provavelmente em função do processo de revisão em andamento.

O Guia inclui as diretrizes para comprovação da segurança de novos alimentos e ingredientes e orientações sobre como apresentar uma petição de registro. Complementa a Resolução RDC n. 16/1999, que não estabeleceu as categorias de produtos abarcadas pela definição de novos alimentos e tampouco o que se entende por “histórico de consumo no país”. O Guia não altera a definição, mas apresenta exemplos de produtos que se enquadram no conceito e evidências que podem caracterizar histórico de consumo. Detalhes podem ser consultados no documento de base para discussão regulatória de “Novos alimentos e ingredientes” (ANVISA, 2020).

As orientações sobre como apresentar uma petição de registro encontram-se sumariadas a seguir.

A.4.1. Orientações gerais para a apresentação de petições de registro de novos alimentos

O dossiê técnico-científico deve ser apresentado na língua portuguesa. As publicações técnico-científicas e os pareceres de autoridades ou instituições estrangeiras poderão ser aceitos em língua inglesa ou espanhola, desde que essas sejam as línguas dos textos originais.

Considerando a Lei de Acesso à Informação (LAI) (Lei n. 12.527, de 18 de novembro de 2011), devem ser indicadas as partes das informações e documentação constantes no dossiê técnico científico que devem ser tratadas como confidenciais.

Administrativamente, nem todos os produtos que atendem à definição de novos alimentos ou novos ingredientes deverão ser autorizados nesta categoria, uma vez que a legislação prevê enquadramentos específicos para alguns produtos cobertos por regulamentos próprios. Estes regulamentos, apresentados no Quadro A.1, foram revisados de forma a estabelecer que novos produtos não previstos nos regulamentos possam ser incluídos, mediante petição das empresas através de protocolo específico de avaliação de segurança e de eficácia. Nestes casos serão obedecidos os procedimentos administrativos dos respectivos regulamentos e os novos produtos relativos a estes regulamentos serão enquadrados nas listas positivas das respectivas normas.

Quadro A.1. Categorias de novos produtos com enquadramento em regulamento específico.

Novos ingredientes para adição em suplementos alimentares	Resolução RDC 243/2018
Novos ingredientes para adição em alimentos destinados a lactentes e a crianças de primeira infância	Resolução RDC 42/2011
Novos ingredientes para adição em fórmulas infantis	Resolução RDC 43/2011 Resolução RDC 44/2011 Resolução RDC 45/2011
Novos produtos cuja competência de regularização pré-mercado é do MAPA	-

O documento prevê que, no caso de petições de avaliação de novos alimentos ou novos ingredientes relacionados a alimentos de competência do MAPA, cópia do ofício sobre o resultado da avaliação será encaminhada a este órgão. Isto indica que a avaliação de segurança de qualquer novo produto no Brasil, mesmo os da competência do MAPA, será conduzida pela ANVISA, mas não define como se dará a atuação do MAPA na condução do processo de aprovação.

A.1.4.4. Informações científicas para avaliação de segurança que devem embasar uma petição de registro para a análise

Para Identificação do perigo

- Denominação do ingrediente/alimento
- Formulação e descrição científica do ingrediente/alimento
- Composição química com caracterização molecular (INS, CAS, Fórmula Molecular, Especificação do ingrediente)
- Descrição da metodologia analítica para avaliação do ingrediente
- Descrição detalhada do processo de produção
- Evidências abrangentes sobre as características do alimento ou ingrediente
- Informações adicionais para identificação do perigo

a) Para caracterização do perigo

- Estudos toxicológicos (absorção, distribuição, metabolismo e excreção; genotoxicidade; toxicidade aguda; toxicidade subcrônica; toxicidade crônica, toxicidade sobre a reprodução, toxicidade sobre o desenvolvimento e outros estudos toxicológicos)
- Estudos em humanos
- Evidências sobre histórico de uso
- Determinação do nível de segurança

b) Para avaliação de exposição

- Finalidade e condições de uso
- Informações adicionais para avaliação da exposição (principais fontes alimentares, incluindo concentração das substâncias de preocupação toxicológica; dados de consumo do alimento pela população brasileira das principais fontes alimentares)
- Abordagem para avaliação da exposição

c) Para caracterização do risco

- Combinação dos resultados das outras três etapas para estimativa quantitativa ou qualitativa da probabilidade de ocorrência e da gravidade de um efeito adverso na população.

A.5. Guia n. 37, versão 1, de 02 de setembro de 2020 - Guia de Especificações de Ingredientes Alimentares

<http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/433500>

Este documento foi colocado em vigor em 02/09/2020 e submetido à consulta pública em 23/09/2020, com encerramento em 22/09/2021. Trata-se de instrumento regulatório não normativo, de caráter recomendatório e não vinculante. Seu objetivo é fornecer recomendações para o estabelecimento de especificações de novos ingredientes, aditivos alimentares (inclusive aromatizantes de extratos vegetais), coadjuvantes de tecnologia (exceto enzimas), compostos fonte de nutrientes, substâncias bioativas e constituintes de alimentos em geral, que não têm especificações em referências reconhecidas pela Agência ou que cujas especificações diferem daquelas constantes nestas referências.

Os princípios básicos descritos neste documento são aplicáveis aos ingredientes de alimentos no âmbito de competência da Anvisa, mas não isentam os petionários do cumprimento de regras estabelecidas por outros entes reguladores, como o MAPA.

A.6. Páginas da ANVISA com orientações para petição de registro

A ANVISA disponibiliza diversas páginas com orientações para a apresentação de petições de registro de alimentos. Dentre elas as seguintes apresentam orientações relacionadas a novos alimentos:

A.6.1 Sistema de Consulta de assuntos de peticionamento da ANVISA – Área de Alimentos

<https://www9.anvisa.gov.br/peticionamento/sat/Consultas/ConsultaAssuntoPersistir.asp>

Apresenta um *check list* dos documentos e informações necessárias para realizar peticionamentos afetos a diversos assuntos regulamentados pela agência.

O assunto N° 4109 trata da “Avaliação de Segurança e Eficácia de Propriedades Funcionais ou de Saúde de Novos Alimentos e Novos Ingredientes” <https://www9.anvisa.gov.br/peticionamento/sat/Consultas/ConsultaAssuntoCheckList.asp?pCoAssunto=4109&sArea=Alimento>

O assunto 4034 trata do “Registro de Novos Alimentos e Novos Ingredientes” <https://>

www9.anvisa.gov.br/peticionamento/sat/Consultas/ConsultaAssuntoCheckList.asp?pCoAssunto=4034&sArea=Alimento

A.6.2. Documentação solicitada para o peticionamento de registro e pós-registro de alimentos – Embasamento Legal (Junho/2021)

<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/sectorregulado/regularizacao/alimentos/arquivos/documentaoregistroepsregistrodealimentos.pdf>

Esta publicação resume a documentação requerida para os pedidos de registro de diversas categorias de alimentos, incluindo novos alimentos e novos ingredientes. A organização da listagem de documentos é feita em função do ato legislativo que fundamenta cada exigência.

A.7 Ferramenta de consulta de novos alimentos, novos ingredientes, probióticos e enzimas aprovados

<https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiNTA3ZDQxOGEtYzg0NC00NTI1LTg0MzYtOGEzMWU4MThlNjAwIiwidCI6ImI2N2FmMjNmLWMzZjMtNGQzNS04MG M3LWI3MDg1ZjVlZGQ4MSJ9>

A ANVISA disponibiliza uma ferramenta que permite a consulta de novos ingredientes e novos alimentos já aprovados, incluindo enzimas e probióticos. Desenvolvida em formato de painel, a plataforma possibilita a pesquisa a partir do nome do ingrediente ou da finalidade de uso.

A ferramenta apresenta informações como a finalidade e as condições de uso do ingrediente, bem como as categorias de alimentos para as quais o uso do ingrediente está permitido, as doses mínimas e máximas estabelecidas e as referências de especificações publicadas em compêndios. A plataforma contém ainda a identificação das empresas.

O usuário pode navegar por uma das seguintes categorias: Açúcares, Aminoácidos, Carboidratos, Copolímeros, Enzimas, Especiarias, Fibras alimentares, Lipídeos, Minerais, Oligossacarídeos, Outros nutrientes, Probióticos, Proteínas, Substâncias bioativas e Vitaminas.

Na seção inferior do painel principal o usuário encontra links para acesso direto a um painel específico para:

- a) Enzimas aprovadas como coadjuvantes de tecnologia. O painel específico traz informações complementares sobre o ato legislativo que concedeu a aprovação.
- b) Ingredientes aprovados para uso em suplementos alimentares. O painel específico apresenta informações complementares sobre limites de dosagem estabelecidos por faixa etária.

A.8. Lista de ingredientes (constituintes) autorizados para uso em suplementos alimentares

<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/ingredientes>

Esta listagem é a mesma apresentada no painel específico “ingredientes aprovados para uso em

suplementos alimentares” da “ferramenta de consulta de novos alimentos, novos ingredientes, probióticos e enzimas aprovados”, mas nesta página foram também incluídos os seguintes links:

a) Informações gerais sobre suplementos alimentares: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/suplementos-alimentares>

b) Perguntas e respostas sobre o marco normativo de suplementos alimentares: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/ingredientes/arquivos/4741json-file-1>

c) Guia N° 23, versão 1, de 23/07/2019 - Guia para Comprovação da Segurança de Alimentos e Ingredientes: <http://antigo.anvisa.gov.br/guias#/visualizar/403910> (observação: o link não abre o guia, provavelmente porque está sendo atualizado com os resultados da consulta pública encerrada em 10/08/2021).

d) Sistema de peticionamento: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/sistemas/peticionamento/peticionamento>