



**COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA**  
**PARECER TÉCNICO Nº 1491/2022/SEI-CTNBio - Membros**  
**PARECER TÉCNICO**  
**Setoriais Saúde Humana/Animal**  
**Dra. Erna Geessien Kroon**

Há informação Confidencial no corpo <b>deste Parecer?</b>	
	<b>SIM</b>
X	<b>NÃO</b>

**Processo:** 01245.007745/2020-41

**Requerente:** Takeda Pharma Ltda.

**CQB:** 497/20

**Assunto:** Solicitação de Parecer para Liberação Comercial

**Endereço:** Rodovia SP 340 KM 133,5 s/n – Ed. Administrativo João Aldo Nassif. Jaguariúna - SP.

**Reunião:** 257ª Reunião ordinária da CTNBio, realizada em 8 de dezembro de 2022.

**Decisão:** DEFERIDO

**A. FUNDAMENTAÇÃO TÉCNICA (de acordo com informações do demandante)**

As representantes da Takeda Pharma Ltda., Sra. Karin Bardin Oliveira e Sra. Renata Aracelli Pires e Sr. Alex Bernacchi, solicitaram parecer técnico da CTNBio referente a Liberação Comercial para a vacina contra a Dengue da Takeda (TDV) – vacina de vírus vivo atenuado, tetravalente e recombinante contra a dengue.

**Requerimento de liberação comercial datado e assinado pelo representante legal:** Foi apresentado o requerimento na forma da Resolução Normativa 21 na página 02 a solicitação do julgamento do Pedido de Liberação Comercial na 257ª Reunião ordinária da CTNBio. Nesta ocasião foram apresentados os resultados preliminares relativos à exigência de 5 de maio de 2021 e que foram complementados com informações requeridas em 5 de dezembro de 2022. Com destaque para o trecho:

"A vacina supracitada ainda não possui um nome, portanto, o nome usado na documentação apresentada é "Vacina tetravalente contra a dengue da Takeda (TDV)". Propõe-se que a TDV seja indicada para a prevenção da doença da dengue causada por qualquer sorotipo do vírus da dengue onde a faixa etária da população-alvo para a aplicação inicial é de 4 a 60 anos. A TDV será importada como produto acabado e será fornecida como pó e diluente para solução injetável."

**Parecer técnico da CIBio sobre a proposta:** foi apresentado o parecer técnico da CIBio na página 04 da solicitação. A cópia do Parecer Técnico devidamente assinado foi anexada nessa seção.

**Espécie:** Vírus da Dengue

**Classificação taxonômica:** O organismo parental "vírus da dengue" é um vírus de RNA sensorial positivo de cadeia simples, da família Flaviviridae  
Cepa parental: Vírus da dengue, sorotipo 2 (cepa 16681), cepa DEN-2 PDK-53

**OGM (s):** A vacina TDV é composta por quatro cepas de vírus da dengue vivo atenuado, três das quais são recombinantes:

- uma cepa de TDV-2 clonada e caracterizada molecularmente, ou seja, a cepa do vírus DEN-2 PDK-53 vivo atenuado que adquiriu pequenas alterações na sequência durante a recuperação do vírus *in vitro* a partir de RNA transcrito e transfectado *in vitro*, e
- três cepas de OGM recombinantes derivadas da cepa de TDV-2 por modificação genética e recuperação de vírus *in vitro* a partir de RNA transcrito e transfectado *in vitro*:
  - uma quimera DENV-2/1 (cepa de TDV-1),
  - uma quimera DENV-2/3 (cepa de TDV-3) e
  - uma quimera DENV-2/4 (cepa de TDV-4).

**Vetor (es):** Clones infecciosos (plasmídeos) foram criados para codificar o genoma do vRNA. Foram utilizados apenas uma vez e não são encontrados no produto final.

**B. PARECER PARA DILIGÊNCIA:** Após a análise minuciosa da resposta à diligência datada de 5 de maio de 2021, inclusive com consulta Ad-hoc, a CTNBio considera que o documento não apresenta as respostas aos questionamentos feitos na diligência.

A CTNBIO lista abaixo as questões que deverão ser respondidas para que a liberação comercial da vacina possa ser aprovada.

1. Experimentos que comprovem a ausência de competência vetorial e de reversão em populações de *Aedes aegypti* e de *Aedes albopictus* originários de diferentes biomas do Brasil empregando colônia de baixa geração ( $\leq F3$ )

com TDV-1, TDV-2, TDV-3, TDV-4 e em conjunto como aplicado na vacina, apresentando réplicas de ensaios, utilizando-se um número de vetores representativo por ensaio, que permitirão proceder às análises estatísticas devidas. Os resultados devem incluir combinações de diferentes títulos virais de TDVs no repasto sanguíneo em pelo menos duas diferentes temperaturas por 14 e 21 dias. Como marcador de disseminação deverá ser utilizado o triturado de cabeça, cujo tecido nervoso predominante se infecta ricamente com os flavivírus.

2. Experimentos que comprovem o baixo risco de escape ambiental fazendo pelo menos 10 passagens sucessivas, por via intra-torácica e oral em populações de *Aedes aegypti* e de *Aedes albopictus* originários de diferentes biomas do Brasil empregando colônia de baixa geração ( $\leq$  F3) com TDV-1, TDV-2, TDV-3, TDV-4 e em conjunto como aplicado na vacina. Os resultados devem avaliar a presença de vRNA em triturado de cabeça e em órgãos sexuais nas passagens sucessivas e se ocorre a reversão dos TDVs em alguma das passagens.

3. Experimentos que comprovem a inexistência da possibilidade de fuga ambiental por hospedeiros imuno-deprimidos que deverá ser feito em modelos como em camundongos AG 129. Deverão ser apresentados resultados que comprovem a inexistência do potencial transmissão a partir destes mamíferos para *Aedes aegypti* e de *Aedes albopictus* originários de diferentes biomas do Brasil empregando colônia de baixa geração ( $\leq$  F3) com TDV-1, TDV-2, TDV-3, TDV-4 e em conjunto como aplicado na vacina.

4. Experimentos que comprovem a inexistência da possibilidade de fuga ambiental por transmissão vertical sexual ou transovariana em *Aedes aegypti* e de *Aedes albopictus* originários de diferentes biomas do Brasil empregando colônia de baixa geração ( $\leq$  F3) em pelo menos 10 gerações infectados pela via intra-torácica com TDV-1, TDV-2, TDV-3, TDV-4 e em conjunto como aplicado na vacina. Os resultados devem avaliar a presença de vRNA em triturado de cabeça e em órgãos sexuais em cada geração.

5. Experimentos que comprovem a inexistência do potencial de recombinação de TDVs entre si e com amostras selvagens de DENV locais de baixa passagem em células

6. No plano de monitoramento especificar uma área representativa determinada pela empresa onde a disseminação em mosquitos na natureza em área de interseção urbana/silvestre será acompanhada coletando amostras de ovos e de mosquitos das duas espécies e avaliar presença de vírus. Informar número de vacinados na região e o período a ser avaliado.

### **C. CONSIDERAÇÕES SOBRE RELATÓRIO APRESENTADO**

A requerente enviou um relatório em 18 de janeiro de 2023 reiterando o pedido de liberação comercial. A CTNBio lista abaixo as considerações sobre este **relatório**:

1. O documento mostra avanços claros nas pesquisas para obter as respostas ao solicitado à diligência datada de 5 de maio de 2021, indicando a baixa probabilidade de danos ao meio ambiente, preocupação da referida diligência.
2. Segundo item 3.11. e página 61 do Anexo 2 do documento encaminhado pela TAKEDA os esforços para medir a estabilidade de TDVs devem continuar, pois o relato foi de sequenciamento de apenas uma amostra. A CTNBio solicita esforços no sentido de usar tecnologias mais sensíveis. Não utilizar a técnica de re-amplificação de DNA mas sim o nested-PCR, com uso de iniciadores internos. Além disto, não utilizar a agarose como método de evidenciar o resultado, porém o gel de poliacrilamida 8% com coloração SYBR® Gold (Thermofisher) com posterior eluição das bandas para execução do sequenciamento.
3. Em relação ao item 4.1.1 pg 17, a CTNBio entende que a transmissão vertical independe da glândula salivar.
4. Em relação a Tabela 6 pg 27, o controle utilizado de DENV2 não funcionou, não podendo esta ser apresentada como uma tabela definitiva
5. Em 4.15 a CTNBio considera que a conclusão não pode ser feita pois o controle positivo não funcionou.
6. Em 4.21 pg 28 a argumentação especulativa, pois a transmissão vertical (infecção inaparente, não detectável) pode ocorrer em sucessivas passagens levando a adaptação natural do vírus ao hospedeiro.
7. Em 4.2.2. pg 47/86 a CTNBio solicita que as passagens cegas não devem ser interrompidas, mesmo havendo redução dos títulos após primeira passagem nos dois vetores
8. Na Pg 57 Tabela 13, o resultado mostra que A albopictus foi detectado o TDV1 após 14 dias em 20%. Chama atenção que em doses maiores estes resultados não foram reproduzidos. Poderia neste caso estar ocorrendo uma maior ativação do sistema imune do vetor em doses maiores?
9. No item 4.4.1 pg 59 temos a seguinte consideração: a transmissão vertical seria uma ocorrência grave e um número cada vez maior de publicações científicas mostram a sua ocorrência, apesar da dificuldade de se fazer uma relação com a epidemiologia.
10. Que o cronograma da continuidade das pesquisas proposto seja obedecido, com envio de relatórios nas datas propostas pela requerente, tendo ou não completado o item. Que seja acrescentado ao cronograma o estudo da reversão dos TDVs. Este item deve ser enviado **imediatamente**.

11. Que a **formatação** do relatório seja com identificação de novos resultados ou conclusões e a data da inclusão destas no relatório **cumulativo**, com o devido cuidado de que as conclusões se atenham aos resultados e não constituam meras percepções.
12. Que seja acrescentado o estudo de reversão no monitoramento pós liberação comercial. Este item deve ser enviado **imediatamente**.

#### **D. PARECER**

Desta forma, a requerente, atendendo ao pedido da CTNBIO apresentou os resultados preliminares das pesquisas solicitadas na diligência datada de 5 de maio de 2021, indicando a baixa probabilidade de danos ao meio ambiente. Também conforme publicação no periódico New England Journal of Medicine, a vacina demonstrou eficácia de 80,2% contra a dengue em um estudo de Fase 3 em áreas endêmicas da doença. Pela análise das informações contidas nos documentos que instruem esta solicitação, e considerando o plano de trabalho de entrega de resultados complementares e o plano de monitoramento detalhado a ser apresentado, concluímos que este pedido de liberação comercial da Vacina TDV contra o vírus da dengue não é potencialmente causadora de significativo prejuízo à saúde humana/animal e atende ao disposto na Resolução Normativa 21 da CTNBio. Portanto somos favoráveis ao deferimento da solicitação aqui apresentada.

**Dra. Erna Geessien Kroon**  
**Membro CTNBio**