



COMISSÃO TÉCNICA NACIONAL DE BIOSSEGURANÇA
PARECER TÉCNICO Nº 70/2022/SEI-CTNBio - Membros
PARECER TÉCNICO
Setoriais Saúde Humana/Animal
Dr. Marcos Dornelas Ribeiro

O Relator declara ter incluído Informação Confidencial no corpo deste Parecer?	
X	SIM
	NÃO

Processo SEI nº: 01245.009850/2021-04.

Requerente: Boehringer Animal Health do Brasil Ltda.

CQB: 048/98.

Assunto: Solicitação de Parecer para Liberação Comercial de OGM presente na vacina Oncept - Vacina de DNA contra melanoma canino de acordo com a RN 21.

Extrato Prévio: 7773/2021, publicado no Diário Oficial da União em 24/08/2021.

Reunião: 247ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 3 de fevereiro de 2022.

Decisão: DEFERIDO.

1. FUNDAMENTAÇÃO TÉCNICA (de acordo com informações do demandante)

A requerente, por meio de seu Representante Legal, Sr. Steffen Zeng, solicitou parecer técnico da CTNBio referente à liberação comercial da Vacina Oncept - Vacina de DNA contra melanoma canino, uma doença progressiva fatal de cães.

A CTNBio informa que de acordo com o parágrafo 5º do Artigo 38 do Regimento interno da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança e instruído pela NOTA TÉCNICA Nº 93/2021/SEI-CTNBio - Membros, o Presidente da CTNBio manteve o sigilo concedido para as informações contidas no volume confidencial.

Esta vacina é um **DNA de plasmídeo altamente purificado, indicada para a imunização terapêutica de cães diagnosticados com melanoma**. Esses animais, em geral, representam indivíduos mais velhos na população canina. Portanto, cães neonatais e jovens não são a classe alvo para essa vacina.

Oncept é uma vacina utilizada como um produto bioterapêutico em animais que já exibem a doença alvo; não há desafio. O benefício terapêutico fornecido pela vacina será confirmado nos estudos clínicos com animais diagnosticados com melanoma com base na estabilização ou remissão da doença caracterizada pelo prolongamento de tempo de sobrevida após a vacinação.

O produto será fabricado na Boehringer Ingelheim Animal Health USA Inc. nos Estados Unidos e será importado em sua apresentação final. Não há nenhum tipo de preparação do produto no Brasil. A vacina deve ser administrada por via transdérmica, no músculo da coxa.

De acordo com a Resolução Normativa n.º 2, de 27 de novembro de 2006 os organismos recombinantes encontram-se na **Classe de Risco 1** (baixo risco individual e baixo risco para a coletividade).

Início das Informações Confidenciais

O parecer de aprovação da CIBio encontra-se no processo e apresenta a seguinte conclusão (**Anexo 1**, do volume confidencial do processo):

"A CIBio declara que o produto é seguro e eficaz para seu destino (administração transdérmica) e sem riscos para saúde humana, o meio ambiente e para os animais."

RESUMO EXECUTIVO (de acordo com informações do demandante)

Introdução

A proposta de liberação comercial compreende a vacina denominada comercialmente como Oncept. **Esta vacina é um DNA de plasmídeo altamente purificado consistindo de vetor de plasmídeo pING com a sequência do gene tirosinase humano inserido (pING/huTyr).** A vacina é indicada para a imunização terapêutica de cães diagnosticados com melanoma.

A tirosinase é a enzima que regula a síntese do pigmento melanina. A enzima fica contida em organelas especializadas chamadas melanossomos. A produção de melanina é, em geral, restrita às células melanocíticas contendo melanossomos. Essas células ocorrem normalmente e são mais comumente encontradas nos tecidos dérmicos e da mucosa. Os melanossomos são abundantes em células típicas do câncer melanoma. **A tirosinase humana é a proteína ligada à membrana do melanossomo** perto do C terminal com a maioria da proteína (N terminal) contida dentro do melanossomo.

O desenvolvimento do melanoma ocorre devido à falha do sistema imune em reconhecer as proteínas expressadas nas células malignas como estranhas ao animal hospedeiro. A indução de uma resposta imune contra uma ou mais dessas proteínas é desejável para induzir doença estável ou iniciar a regressão tumoral. Pode envolver a indução de uma resposta imune contra uma proteína de outro modo considerada como "própria" pelo animal hospedeiro (uma resposta autoimune). Neste caso, **é desejável visar uma proteína que não resulta em um impacto sistêmico ou fisiológico adverso principal no hospedeiro.**

A tirosinase canina apresenta aproximadamente 85% de homologia com a tirosinase humana. A diferença entre as duas proteínas é suficiente para **induzir uma resposta imune em cães contra a proteína tirosinase**, mas é semelhante o suficiente de forma que tirosinase canina nas células melanocíticas serão visadas. Com relação a isso, **uma condição autoimune é realizada para beneficiar o hospedeiro.**

O efeito colateral hipotetizado poderia envolver a despigmentação dos tecidos normais enriquecidos com melanina. Em um estudo clínico publicado (Bergman, et. al., Clinical Cancer Research, v 9:1284, Apr 2003) com a vacina **pING/huTyr** em cães com melanoma, este fenômeno **não foi identificado como um problema.** Bergman (comunicação pessoal, abril de 2004) administrou o plasmídeo pING expressando a tirosinase humana, tirosinase murina, GP75 murina (proteína semelhante à tirosinase) e/ou a citocina GM-CSF em aproximadamente 85 cães. Dois desses cães exibiram a despigmentação leve (orelha e queixo). **De outro modo, toxicidades significantes não foram observadas.** Se ocorrer despigmentação, **o risco associado com esse efeito colateral é mínimo em consideração do curto tempo de sobrevida e alta mortalidade do melanoma.**

O produto será fabricado na Boehringer Ingelheim Animal Health USA Inc. nos Estados Unidos e será importado em sua apresentação final.

Todas as etapas de fabricação ocorrerão nos Estados Unidos.

Fórmula

O antígeno da fórmula é o DNA de plasmídeo altamente purificado consistindo de vetor de plasmídeo pING com a sequência do **gene tirosinase humano** inserido (pING/huTyr).

Programa de Vacinação

A vacina deve ser administrada na dose de 0,4mL por via transdérmica, no músculo da coxa, região medial – caudal em relação ao fêmur, independentemente do tamanho do animal.

Primovacinação:

- O tratamento inicial exige a administração de 4 doses da vacina em intervalos de 2 semanas entre as aplicações.

Revacinação:

- Deve ser administrada uma dose única da vacina, 6 meses após a primovacinação.

Caracterização do OGM

Identificação do evento de transformação genética

Caracterização da célula hospedeira bacteriana (replicação).

A célula hospedeira de multiplicação da *E. coli* é a cepa **DH5 α** , adquirida comercialmente pela Althea Technologies (San Diego, CA) da Invitrogen, Estados Unidos. A Althea Technologies transformou o plasmídeo pINGhT purificado, fornecido pela Merial (atual Boehringer), na cepa hospedeira DH5 α em meio de cultura de sem ingredientes de origem animal. Essa semente foi exportada aos laboratórios de Pesquisa e Desenvolvimento da Merial França, e expandido para passagem MCB + 4 em meio de cultura definido quimicamente, sem ingredientes de origem animal e, depois, foi adaptado no mesmo meio de cultura em concentrações crescentes de canamicina (variando de 200 mg/L a 9600 mg/L de canamicina) até o nível da passagem MCB + 11. A semente foi congelada em um meio de cultura líquido usando 9600 mg/L de canamicina, conservada com glicerol de origem vegetal a 50% (v/v). A semente mãe foi produzida a partir da pré-semente mãe em meio de cultura quimicamente definido sem ingredientes de origem animal (três passagens sequenciais), colocada em alíquotas em criofrascos e congelada em 08 de outubro de 2004 a -70oC em solução de 20% de glicerol estéril (origem vegetal)/sacarose 0,15M.

Caracterização do plasmídeo precursor

A estrutura do plasmídeo (pING) foi construída no Memorial Sloan Kettering Cancer Center (MSKCC) usando os seguintes componentes: **um promotor eucariótico e um aprimorador do citomegalovírus humano (hCMV), uma região poliligante para facilitar a clonagem de uma variedade de fragmentos de DNA, locais de corte do doador e acceptor e uma sequência de sinal de poliadenilação do gene do hormônio de crescimento bovino, a origem de replicação ColE1 e um gene promovendo resistência à canamicina.** Com a exceção do gene de resistência à canamicina, que foi clonado como um fragmento Pst-I do plasmídeo pUC4, todos os outros segmentos gênicos foram amplificados pela reação em cadeia da polimerase (PCR). O plasmídeo pUC4 é um plasmídeo criado por Vieira e Messing, Gene 19:259-268 (1982) e fornecido pela Pharmacia, Kalamazoo, MI.

O gene de resistência à canamicina é clonado em orientação oposta do cDNA da tirosinase e, portanto, não pode ser transcrito do promotor hCMV nas células humanas. O promotor/aprimorador de hCMV no pING é completamente funcional in vivo, conforme mostrado pela indução das respostas de anticorpo e células T citotóxicas após a imunização de DNA dos camundongos C57BL/6 com vetor pING expressando os genes de tirosinase, proteína 2 relacionada à tirosinase e ovalbumina.

Informações adicionais relativas ao OGM, incluindo o mapa genético utilizado no processo de transformação, os vetores utilizados, as construções para a obtenção do OGM e as técnicas de detecção gerais e específicas do OGM encontram-se no **Anexo 4 (páginas 1 a 8)**, constante do volume confidencial do processo.

Segurança

a. Classificação do risco do OGM

De acordo com a Resolução Normativa n.º 2, de 27 de novembro de 2006 os organismos recombinantes encontram-se na **Classe de Risco 1** (baixo risco individual e baixo risco para a coletividade).

b. Estabilidade genética

A sequência de nucleotídeo do plasmídeo será confirmada (nas duas fitas) na semente principal de bactéria (MSB) e em um lote clínico de vacina, assim demonstrando estabilidade genética.

A Boehringer Ingelheim considera que o risco de pontos de mutação durante o processo de produção (fermentação) é remoto. Portanto, a verificação da sequência de plasmídeo para a liberação em série não será necessária na rotina.

A estabilidade fenotípica da vacina de DNA para melanoma será demonstrada pelo ensaio de liberação da potência. Como o plasmídeo pING/huTyr é o princípio ativo na vacina de DNA para melanoma, e como será um plasmídeo bem-definido e altamente purificado, a Boehringer propõe que a potência da vacina de DNA pING/huTyr possa ser avaliada com base nos parâmetros bioquímicos in vitro.

Os parâmetros destinados são:

Quantificação do plasmídeo na vacina (massa de plasmídeo ≥ 100 μg por dose) e

Quantificação da razão superenrolada (sc)/circular aberto (oc) (razão sc/oc $\geq 70\%$).

Expressão do gene in vitro por IFA.

c. Capacidade de propagação do organismo vacinal em animais e seres humanos

O plasmídeo não codifica um agente infeccioso. A probabilidade de uma molécula de DNA em integrar o cromossomo das células musculares após a injeção intramuscular é pelo menos 3000x menor do que a taxa de mutação natural em um organismo.

As avaliações de segurança dos locais de injeção foram realizadas. Foi descoberto que DNA de plasmídeo persiste no músculo no local da injeção. No entanto, nenhuma patologia aberrante do músculo, toxicidade do músculo ou patologia imunomediada foi observada nos músculos injetados. O pING/huTyr só pode se replicar na E. coli. Ele não pode se replicar dentro do animal vacinado. A possível replicação em outras bactérias é desconhecida.

A expressão da resistência à canamicina pode ocorrer somente na bactéria hospedeira visto que está sob controle do promotor bacteriano.

A expressão da proteína tirosinase não pode ocorrer na bactéria hospedeira, visto que está sob controle de um promotor eucariótico. No entanto, ocorrerá dentro das células dos animais vacinados dentro das quais o plasmídeo foi administrado.

Informações adicionais sobre a **Avaliação de Risco à Saúde Humana e Animal** encontram-se no **Anexo 4 (páginas 9 a 14)**, constantes do volume confidencial do processo.

d. Efeitos do OGM na qualidade do ar, do solo e da água

De acordo com a literatura, o risco de disseminação de plasmídeos no ambiente dos animais vacinados é extremamente baixo visto que **o plasmídeo não pode se replicar dentro dos animais vacinados.**

Ademais, a liberação acidental de plasmídeos na natureza não teria efeito adverso visto que o risco de os plasmídeos serem coletados pelas bactérias no solo é muito remoto. Caso isso ocorra, **o plasmídeo não seria mantido na ausência da pressão de canamicina.** Como esse antibiótico não é usado nas aplicações de agricultura, o risco de ter um plasmídeo disseminado por bactérias é extremamente baixo. Quantidades mínimas de plasmídeo, que poderiam ser acidentalmente ingeridos pelos animais, serão **degradadas no estômago e não teriam consequência.**

Informações adicionais sobre a **Avaliação de Risco ao Meio Ambiente** encontram-se no **Anexo 4 (páginas 15 a 18)**, constantes do volume confidencial do processo.

Fim das Informações Confidenciais

Plano de Monitoramento: Não mencionado nos documentos apresentados.

2. PARECER:

Trata-se de uma solicitação de Liberação Comercial (LC) de uma vacina de DNA contra melanoma canino, nome comercial **Oncept**, apresentado pela Boehringer Animal Health do Brasil Ltda. A análise foi realizada conforme a RN 21 da CTNBio. Todo o processo de fabricação da vacina será realizado pela solicitante nos Estados Unidos sendo importado para o Brasil posteriormente.

Inicialmente, ao se analisar o processo, o mesmo foi colocado em diligência, pois foi considerado a necessidade de complementação com informações essenciais. A instituição respondeu às diligências em 21 de janeiro de 2022. Em relação aos questionamentos e necessidades levantados por esse parecerista, e às respostas da instituição, se esclare:

1) O processo submetido possui sua maior parte, documento "Nucleic Acid-Mediated (Genetic) Vaccines Risk Analysis for Melanoma DNA Vaccine, (Product Code 9240.D0, Unlicensed), Version 2", com a data de 28 de janeiro de 2005. Solicita-se que os dados da literatura sejam atualizados apresentando as últimas informações sobre o estado da arte;

Foram enviados os artigos publicados e as informações solicitadas estão presentes nos Anexo III e IV.

2) Solicita-se que a instituição apresente dados sobre a análise de eficiência do tratamento proposto.

As informações solicitadas estão presentes nos Anexo II e III.

3) Pede-se que a instituição forneça os dados de segurança do tratamento em avaliação.

As informações solicitadas estão presentes nos Anexo V, III e IV.

4) Solicita-se que a forma de administração do tratamento seja descrita no processo de forma detalhada.

As informações solicitadas estão presentes no ofício de resposta e no Anexo IV.

5) Pede-se que a instituição apresente ainda os dados sobre a submissão e aprovação do tratamento em outros países e/ou regiões bem como a sua atual situação.

As informações solicitadas estão presentes no ofício de resposta e no Anexo IV, V e VI.

Diante de todas as informações apresentadas, incluindo aquelas presentes na resposta aos questionamentos da diligência, sou pelo **DEFERIMENTO** de Liberação Comercial da Vacina Oncept - Vacina de DNA contra melanoma canino, uma doença progressiva fatal de cães.

Dr. Marcos Dornelas Ribeiro
Membro CTNBio



Documento assinado eletronicamente por **Marcos Dornelas Ribeiro, Membro da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, representante do Ministério da Defesa**, em 01/06/2022, às 10:11 (horário oficial de Brasília), com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.mcti.gov.br/verifica.html>, informando o código verificador **9299613** e o código CRC **60C6F8E9**.