



MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES

PARECER TÉCNICO Nº 5331/2017

Processo nº: 01200.000992/2016-57

Requerente: Vetanco do Brasil Importação e Exportação Ltda.

CQB: 378/14

Próton: 15883/16

Assunto: Solicitação de Liberação Comercial do produto BIOTECH VAC SALMONELLA

Extrato Prévio: 5053/16 publicado em 30/03/16

Reunião: 198ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 08 de dezembro de 2016

Decisão: DEFERIDO

A CTNBio, após apreciação do processo de pedido de Parecer Técnico referente à biossegurança de produto para liberação comercial, concluiu pelo deferimento, nos termos deste Parecer Técnico.

No âmbito das competências dispostas na Lei 11.105/05 e seu decreto 5.591/05, a Comissão concluiu que o presente pedido atende às normas da CTNBio e à legislação pertinente que visam garantir a biossegurança do meio ambiente, agricultura, saúde humana e animal.

PARECER TÉCNICO

EMENTA:

O responsável legal da instituição vem requerer à CTNBio parecer técnico referente à biossegurança do produto denominado “Vacina Biotech Vac Salmonella” com fins de liberação comercial em território nacional. A referida vacina apresenta-se na forma inativada e tem como antígeno vacinal a subunidade proteica ToIB para ser administrada via oral. Tem como objetivo a imunização de aves contra diferentes sorotipos de *Salmonella*.

A vacina é produzida pela Vetanco da Argentina e importada pela Vetanco do Brasil.

1. Informações Gerais:

A Salmonelose é um grave problema de saúde pública em todo o mundo. A bactéria entérica *Salmonella* sp pode ser encontrada amplamente distribuída na natureza, tendo como reservatórios naturais o trato intestinal do homem e de outros animais.

A transmissão ao homem ocorre pela ingestão de alimentos contaminados com fezes de animais portadores (bovinos e aves) e por meio da ingestão de ovos e leite. Sendo as aves, particularmente frangos, portadoras assintomáticas, eliminam constantemente a *Salmonella* pelas fezes o que pode gerar a contaminação de outros alimentos e resultar no acometimento do ser humano.

A vacina em análise deve ser administrada via oral, e tem como objetivo a imunização das aves contra diferentes sorotipos de *Salmonella*, atuando na prevenção de um problema de grande impacto na segurança alimentar e de preocupação prioritária das autoridades sanitárias e da indústria e produtores avícolas.

2. Descrição do OGM:

A vacina é um derivado de OGM, sendo constituída por *Bacillus subtilis* inativado, no qual foi inserido como antígeno vacinal a subunidade proteica ToIB.

Para a construção do derivado de OGM que constitui a formulação final da vacina, foi realizada uma transformação genética que consiste na amplificação do gene ToIB da *Salmonella*, inserido por ligação direta no plasmídeo de expressão pHT01 do vetor *Bacillus subtilis*.

O objetivo de tal alteração é a expressão da subunidade proteica ToIB, que será a responsável pelo efeito imunológico da vacina. Vale lembrar que o *Bacillus subtilis* modificado é inativado após sua multiplicação para produzir a subunidade proteica ToIB, e por este motivo, a vacina não contém microrganismos vivos, e contém a subunidade proteica ToIB superexpressa.

Sendo assim, a BIOTECH VAC SALMONELLA é uma vacina inativada constituída por um derivado de OGM cujo antígeno vacinal é a subunidade proteica ToIB, responsável por seu efeito imunológico.

Sabe-se que as bactérias Gram positivas são bastante conhecidas por seu uso na agricultura, medicina, biotecnologia dos alimentos e para a produção de subunidades proteicas.

O *Bacillus subtilis* foi selecionado como vetor para a BIOTECH VAC SALMONELLA. devido às razões citadas abaixo:

- Não é um microorganismo patogênico, sendo reconhecido internacionalmente como seguro (Microorganismo GRAS – Generally Recognized as Safe);
- Não possui predisposição para escolha de códons específicos para a codificação de determinados aminoácidos;
- É capaz de secretar proteínas extracelulares funcionais diretamente no meio de cultivo, ou expressá-las diretamente na superfície de sua membrana externa. Apenas como referência, aproximadamente 60% das enzimas comercialmente disponíveis são produzidas por microrganismos do gênero *Bacillus* spp.;
- Há muitas informações disponíveis a respeito da transcrição, tradução, mecanismos de dobramento das proteínas secretadas, manipulação genética e fermentação em grande escala.

A BIOTECH VAC SALMONELLA é constituída por um derivado de OGM e, o evento de transformação genética consiste na amplificação do gene ToIB da *Salmonella* inserido por ligação direta no plasmídeo de expressão pHT01 do *Bacillus subtilis*. O objetivo do *Bacillus subtilis* modificado é a expressão da subunidade proteica ToIB, responsável pelo efeito imunológico da vacina. O gene introduzido foi Tol B que codifica a proteína de translocação ToI B presente na membrana da célula da *Salmonella*. Este gene tem função essencial para a integridade da membrana celular, portanto, para a sobrevivência do microorganismo.

O processo de obtenção do plasmídeo ocorre quando o gene Tol B é colocado sob controle do promotor indutível (P) contido no plasmídeo de expressão e inserido dentro dos sítios de clonagem múltipla (BamHI/XbaI) do plasmídeo de expressão no marco de leitura 3' (ORF - 3). O plasmídeo de expressão foi então transferido dentro da célula de *E.coli* TOPO 1 para confirmação do gene inserido e a multiplicação do mesmo.

O plasmídeo confirmado multiplicado, foi isolado, concentrado e transferido para dentro do vetor *Bacillus subtilis* 1A6. O vetor completo, com o plasmídeo de expressão, é usado para amplificar a subunidade proteína ToIB para seu uso como antígeno da vacina de uso oral. O gene foi inserido no plasmídeo de expressão e introduzido nos sítios de clonagens múltiplas (BamHI/XbaI) do plasmídeo de expressão no marco de leitura 3' (ORF - 3). Estas sequências não são sequências móveis que permitam a integração do gene no genoma do *Bacillus*. Portanto, o gene não é inserido no genoma, estando apenas em um plasmídeo de expressão. O plasmídeo de expressão é duplicado dentro das bactérias enquanto estas se replicam, e atingem sua descendência. No entanto, como o plasmídeo só pode replicar-se dentro do *Bacillus* e este é inativado ao fim do processo de produção do antígeno, o plasmídeo é totalmente incapaz de ser herdado no ambiente. Como o plasmídeo de expressão não tem a capacidade de inserir-se no genoma da bactéria, efeitos pleiotrópicos e epistáticos não são observados neste caso.

É importante ressaltar que após a produção do antígeno pelo OGM (*Bacillus subtilis*), o mesmo é inativado. Isso ocorre previamente à elaboração da BIOTECH VAC SALMONELLA, sendo que o produto final contém apenas um componente derivado de OGM (antígeno vacinal – subunidade proteica ToIB).

3. Biossegurança do Produto:

Análise do OGM conforme Resolução Normativa Nº 5, 12 de março de 2008 - Anexo III

A BIOTECH VAC SALMONELLA não é, ou contém, OGMs viável em sua composição, sua formulação utiliza um derivado de OGM, o antígeno vacinal - proteína de subunidade ToIB. Esta proteína é produzida por *Bacillus subtilis*, que é inativado previamente à sua formulação final.

Por não conter microorganismos viáveis, não é possível que os componentes da BIOTECH VAC SALMONELLA se disseminem de animais vacinados para os não vacinados, nem mesmo para seres humanos ou para o ambiente, portanto, não pode dispersar-se em água, ar ou solo.

Sendo assim, a BIOTECH VAC SALMONELLA se mostrou segura para uso em animais e ainda, de baixo risco para saúde humana e meio ambiente.

A BIOTECH VAC SALMONELLA não possui componentes ou elementos teratogênicos, sendo constituída por polissacarídeos naturais, subunidade antigênica TolB, água acidificada, caldo de cultivo, parede de levedura e formol em quantidade suficiente para inativação, de acordo com os limites e legislações pertinentes e, a mesma foi testada em reprodutoras sem apresentar efeitos adversos.

Ressaltamos também que o produto já está licenciado e em comercialização na Argentina desde 2014 sem ocorrências de reclamações quanto à sua qualidade ou segurança.

De acordo com o protocolo de vacinação da BIOTECH VAC SALMONELLA, são administradas duas doses para frangos de corte e três doses para poedeiras e matrizes. A primeira administração deve ser realizada entre os primeiros 3 dias de idade, e a segunda administração é feita 14 dias após a primeira. No caso de matrizes e poedeiras, a terceira administração é realizada na semana anterior ou imediatamente após a transferência das aves para a produção (entre 14 e 22 semanas de idade). Estudos demonstraram que uma semana após a primeira administração da BIOTECH VAC SALMONELLA já detectam-se anticorpos específicos por ELISA contra a proteína ToIB. Aos 21 dias após a primeira imunização já existe um nível significativo de anticorpos específicos contra TolB, que é mantido durante todo o ciclo de produção (42 dias).

A resposta imune gerada contra BIOTECH VAC SALMONELLA é específica contra a proteína de subunidade TolB, fato este que determina a não interferência da BIOTECH VAC SALMONELLA com outras vacinações/imunizações.

Não é recomendada a aplicação simultânea da vacina BIOTECH VAC SALMONELLA com nenhuma vacina viva, via oral, devido à possibilidade de incompatibilidade com os componentes de seus excipientes.

Estima-se que seja necessário um período de tempo de 2 horas para o consumo total da dose da vacina BIOTECH VAC SALMONELLA em água de bebida dos animais, portanto, recomenda-se respeitar um período mínimo de 2 horas para novas administrações.

4. Segurança Alimentar:

Não se aplica.

5. Avaliação de Risco ao Meio Ambiente

A bactéria *Bacillus subtilis* foi utilizada apenas para produzir a proteína TolB de *Salmonella* (antígeno vacinal), encontrando-se inativada (morta) no produto final. A vacina possui em sua composição um derivado de OGM, que é a proteína antigênica TolB. Mesmo antes da inativação, devido à presença do gene codificador de *tolB*, o *Bacillus subtilis* perde sua capacidade de produzir esporos, possivelmente devido a que a proteína TolB expressada na superfície celular interfere com as proteínas que recobrem a bactéria, impedindo a formação do esporo.

Na elaboração da vacina, o microrganismo utilizado (*Bacillus subtilis*) para a produção da proteína TolB de *Salmonella* é inativado utilizando-se formol 40%, em uma concentração final menor ou igual a 0,05%. Portanto, a vacina não possui *Bacillus subtilis* vivo e sim um derivado de OGM (proteína recombinante TolB). Desta maneira, não há risco de mutagênese mesmo na presença de agentes esterilizantes ou antimicrobianos.

A vacina não possui OGM viável em sua composição, pois é uma vacina inativada. Assim, não apresenta riscos ou efeitos sobre a qualidade da água, do ar e do solo. Por se tratar de uma vacina inativada, não há

OGM viável que possa sobreviver e dispersar-se na água, ar ou solo.

6. Plano de Monitoramento Pós-Liberação Comercial:

Para monitoramento no campo, tanto do uso da vacina BIOTECH VAC SALMONELLA quanto de qualquer evento relacionado ao uso de seus produtos, a Vetanco do Brasil possui plenamente implementados procedimentos que fazem parte de seu Sistema de Gestão Qualidade. Nestes procedimentos são previstas inúmeras ações preventivas, de investigação e contenção de riscos referentes ao uso de seus produtos.

Para praticar este monitoramento, a Vetanco possui uma equipe de suporte técnico própria composta por 19 profissionais experientes, sendo 17 deles médicos veterinários que visitam regularmente seus clientes, auxiliando-os nos principais desafios da produção a campo e investigando as principais causas de problemas. A equipe de suporte técnico auxilia os seus clientes através da realização de monitorias que compreendem análise de dados, necropsias e envio de materiais para exames laboratoriais. Com isso, os profissionais atualizam um banco de dados com informações sobre os eventos de sanidade de cada estabelecimento/cliente visitado, definindo assim um mapa sanitário utilizado tanto para detecção quanto para colaborar no controle de riscos dos estabelecimentos atendidos pelo suporte técnico.

Este monitoramento realizado a campo se complementa com os procedimentos definidos pelo Sistema de Gestão da Qualidade da Vetanco, tais como as Reclamações de Mercado e SAC implementados tanto pela Garantia da Qualidade da Vetanco do Brasil, como pelo fabricante, a Vetanco S.A. A Vetanco do Brasil conjuntamente com a Vetanco S.A. registra reclamações, informação, perguntas e comentários de clientes, dando sequência aos processos de investigações para todas as ocorrências. Tais ações estão descritas nos POPs - Procedimentos Operacionais Padrão de Gestão de Reclamações (GQ- 016 Vetanco do Brasil, e AC- 007 Vetanco S.A.). É importante ressaltar que a Vetanco do Brasil disponibiliza em seus rótulos um número de telefone para contato direto de seus clientes, para tratar de reclamações e desvios de qualidade que possam ocorrer.

Apesar de a vacina BIOTECH VAC SALMONELLA não apresentar riscos aos animais, seres humanos e ambiente, caso o monitoramento próprio detecte ou haja reclamação de clientes, a Vetanco do Brasil aplicará uma classificação de gravidade ao acontecimento. Sendo evidenciada alguma ocorrência de média a alta gravidade referente ao uso do produto BIOTECH VAC SALMONELLA, será iniciada uma série de ações para mitigar riscos e possíveis problemas, tais como a realização de uma investigação aprofundada, rastreabilidade de vendas/lote dos produtos, notificação às autoridades sanitárias competentes e até mesmo o recolhimento e retirada dos produtos do mercado, sempre seguindo os procedimentos de boas práticas vigentes no sistema de qualidade (POPs Recolhimento de produto, GQ-012 -Vetanco do Brasil e AC-005-Vetanco Argentina).

7. Parecer Final:

Concluimos que a liberação comercial da Biotech Vac Salmonella não representa risco para a saúde humana, animal, vegetais ou o meio ambiente. Portanto, o parecer é pelo deferimento da liberação

comercial desta vacina.

8. Bibliografia:

<http://www.vetanco.com/wp-content/uploads/sites/5/2016/02/Tellez-Salmonella-Summit-2013.pdf>

www.vetanco.com/wp-content/uploads/sites/5/2016/02/Barton-Why-We-Havent-Fixed-The-Salmonella-Problem.pdf

Desin, T.S., Köster, W., Potter, A.A. Salmonella vaccines in poultry: past, present and future. Expert Review of Vaccines, v.12, n., p.87-96, 2013. doi: 10.1586/erv.12.138

Shinohara, N.K.S., Barros, V.B., Jimenez, S.M.C., Machado, E.C.L., Dutra, R.A.F., Lima Filho, J.L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. Ciência & Saúde Coletiva, v.13, n.5, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232008000500031>

Dr. Edivaldo Domingues Velini

Presidente da CTNBio



Documento assinado eletronicamente por **Edivaldo Domingues Velini, Pesquisador**, em 13/01/2017, às 08:57, conforme art. 3º, III, "b", das Portarias MC nº 89/2014 e MCTIC nº 34/2016.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <http://sei.mc.gov.br/verifica.html> informando o código verificador **1612318** e o código CRC **78B25DA4**.