

# PARECER TÉCNICO Nº 5861/2018

Este Processo e Parecer NÃO POSSUEM Informações Confidenciais

**Processo SEI nº:** 01250.033053/2017-84

**Requerente:** Merial Saúde Animal Ltda.

**CQB:** 048/98

**Assunto:** Solicitação de Liberação Comercial de OGM

**Extrato Prévio:** 5716/17

**Reunião:** 211ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 05 de abril de 2018

**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:

A instituição solicitou a liberação comercial de organismo geneticamente modificado presente na vacina Newxxitek HVT+ND. Esta é uma vacina viva contra Doença de Marek e Doença de Newcastle. O organismo geneticamente modificado é destinado à vacinação de ovos de 18 a 19 dias ou de pintos de um dia de vida.

Este OGM, denominado vHVT19-NDV, é constituído de um vetor HVT do vírus da doença de Marek, Sorotipo 3, com um cassete gênico da proteína F (fusão) do vírus da doença de Newcastle (NDV), derivado da cepa Texas. O vírus vetor é a cepa FC-126 do herpesvirus de perus (HVT). Essa cepa foi isolada em perus pelo USDA, em 1970 e vem sendo amplamente utilizada como vacina contra a doença de Marek (MD) em frangos desde 1971. Bilhões de aves já foram vacinadas com este vírus parental sem nenhuma ocorrência relevante para saúde humana ou animal e a vacina que faz parte deste requerimento foi aprovada pelo USDA para comercialização em 2016.

### 1. Informações Gerais:

#### **Classificação taxonômica**

#### **Organismo receptor**

Família: Herpesviridae

Subfamília: Alphaherpesvirinae

Gênero: Meleagrid herpesvirus

Espécie: Meleagrid herpesvirus 1 ou herpesvirus dos perus (HVT)

Cepa: FC126O

## **Organismos doadores do inserto gênico**

Inserto gênico: gene F procedente do vírus da doença de Newcastle (NDV)

Família: Paramyxoviridae

Subfamília: Paramyxovirinae

Gênero: Avulavirus

Espécie: Paramixovírus Aviário 1 (APMV1) ou Vírus da Doença de Newcastle (NDV)

Cepa: Texas

Promotor: do principal gene precoce imediato do citomegalovírus murino (MCMV).

Família: Herpesviridae

Subfamília: Betaherpesvirinae

Gênero: Muromegalovirus

Espécie: Herpesvirus murídeo tipo 1 ou Citomegalovírus murino (MCMV)

Cepa: Smith (ATCC VR-194)

### **1. Descrição do OGM:**

Agente Biológico Controlado (RBA) da vacina viva, denominado vHVT19-NDV, contém um vetor FC-126 /HVT causador da doença de Marek, Sorotipo 3, contendo a inserção de um cassete gênico da proteína F (fusão) do vírus da doença de Newcastle (NDV) derivado da cepa velogénica Texas, inserido na região denominada locus "intergene1" sob ação do promotor precoce imediato do citomegalovírus murino (MCMV). O locus intergene 1 está situado entre 2 sequências de leitura aberta (HVT065 e HVT066) no sentido cauda-cauda, localizado entre os possíveis sinais de poliadenilação (poli-A) dessas 2 ORFs. Portanto, não se considera que as regiões adjacentes possuam elementos reguladores que poderiam moderar a expressão do DNA doador inserido.

A RBA foi obtida por recombinação homóloga entre o HVT parental e um plasmídeo doador (pEL198). O plasmídeo doador possui a seguinte estrutura: Braço do flanco esquerdo - cassete de expressão - Braço do flanco direito. O cassete de expressão possui a seguinte estrutura: Promotor MCMV IE (precoce imediato) - gene F a partir do NDV - sinal de Poli-A do SV40. A recombinação homóloga ocorreu após co-transfecção de CEFs com o vírus HVT parental e o DNA do plasmídeo doador. Não é inserido DNA de origem bacteriana no vírus recombinante. A seleção é realizada por imunofluorescência indireta, com o uso de anticorpo que reconhece o produto do gene inserido (F). Não são usados fatores de resistência como meio de seleção. A estabilidade genética da RBA in vivo foi demonstrada por meio de cinco retropassagens em estudos sobre reversão à virulência em galinhas. A estabilidade fenotípica da MSV da RBA in vivo foi pesquisada em um estudo sobre reversão à virulência por meio de cinco retropassagens em galinhas. A expressão do gene F foi mantida em 100%.

## **1. Biossegurança do Produto:**

### **Biossegurança da vacina viva GM para aves**

Não há relato de transferência horizontal de genes entre o HVT e outros vírus da doença de Marek (MDV). Isso provavelmente se deve ao baixo percentual de homologia entre os 3 sorotipos do MDV. Além disso, o gene F do NDV não tem efeito tóxico conhecido quando inserido em um do vírus da doença de Marek e, portanto, mesmo se houve transferência horizontal de genes, ele não deve aumentar a virulência do vírus receptor. Vários estudos indicados no relatório da Merial indicam que não se espera que a inserção do gene F do NDV contribuía para as propriedades de excreção/propagação do vírus usado como vetor. O vírus HVT não é eficaz em se propagar, tendo apresentado apenas capacidade de propagação muito limitada para contatos no meio ambiente. A excreção limitada ocorre principalmente por meio dos folículos de penas e a inserção do gene F em sítio não essencial do HVT não afeta o padrão de excreção do vírus HVT. Os resultados dos estudos indicam que a capacidade de excreção/propagação da RBA não foi diferente da do vírus parental. Esta avaliação foi parte do estudo 10-016 sobre reversão à virulência.

Os controles colocados em cada um dos grupos de galinhas que receberam o vírus de retropassagem não apresentaram recuperação do vírus no baço nem foram observadas lesões na necropsia. Nos estudos em espécies aviárias não-alvo, não foram relatados eventos adversos atribuídos ao HVT nas aves vacinadas nem nos controles. Todas as tentativas de recuperação do HVT em swabs da traqueia e da cloaca das aves vacinadas e de contato apresentaram

resultado negativo. O potencial de transmissão da RBA esperado é mínimo. As características de excreção/propagação limitada do vírus deve reduzir a probabilidade de transmissão mecânica pós-vacinação. Mesmo se houvesse transmissão, as características atenuadas da RBA não devem ser alteradas. Não há riscos para a saúde pública.

### **Biossegurança relacionada a outras espécies**

Não há relatos de que o vírus HVT cause infecção produtiva em nenhuma outra espécie além da aviária nem em seres humanos, a não ser que ocorra a inoculação acidental durante a administração da vacina. A cepa vacinal do HVT parental de que foi derivada essa vacina experimental vem sendo utilizada como vacina de HVT comercializada para uso em galinhas na Europa e EUA, sem quaisquer efeitos adversos ou riscos para a saúde pública. Não foram identificados problemas de segurança para os animais com esta vacina experimental. As características de segurança da vacina experimental em espécies aviárias não-alvo aparentemente não foram alteradas em relação à do vírus receptor derivado de uma cepa de vacina HVT de uso comercial. Os resultados dos estudos de segurança indicam que a especificidade (da gama) de hospedeiros da MSV da RBA não foi alterada em relação à da cepa vacinal parental FC-126 e que a vacina recombinante é segura em espécies aviárias não-alvo. Foi também demonstrada segurança em uma espécie de mamíferos não-alvo (camundongos). Em estudos sobre a proliferação do vírus, ele não foi recuperado em amostras de tecido de camundongos inoculados com a RBA. A quantidade muito limitada de vírus excretado pelos folículos via pena podem potencialmente sobreviver por meses no meio ambiente, da mesma forma que o vírus HVT parental e outras vacinas vetor HVT registradas. Porém, esse vírus excretado não é infeccioso para galinhas pela via natural. Ele pode potencialmente infectar perus não vacinados com HVT. No entanto, a prevalência de infecção por HVT em perus é próxima a 100%, e demonstramos que perus infectados com HVT não conseguem ser infectados com a RBA por transmissão horizontal. A vacina experimental de galinhas vacinadas não se propaga para perus infectados por HVT, perus não vacinados, galinhas infectadas por HVT ou galinhas não vacinadas (Estudo 12-027). Os resultados do estudo também mostraram que não houve propagação do vírus HVT das galinhas infectadas para as tratadas com placebo, mas houve propagação para um percentual limitado de perus não vacinados (~38%). Não se prevê que a existência de condições fora do laboratório que contribuam para a perpetuação do vírus recombinante.

#### **1. Avaliação de risco ao meio ambiente:**

O uso da administração subcutânea e inoculação in ovo minimiza a possibilidade de escape para o meio ambiente. Mesmo assim, a capacidade de sobrevivência de vHVT19-NDV no meio ambiente deve ser semelhante à do HVT parental. A vacina vHVT19-NDV será congelada em forma associada às células que é pouco resistente no meio ambiente, pois depende basicamente da viabilidade das células. A capacidade de propagação/excreção da vacina RBA é limitada. Alguns vírus podem se propagar para o meio ambiente através das penas de galinhas vacinadas, mas o vírus excretado não é capaz de infectar outras galinhas, o que indica que a inserção do gene F do NDV não gera maior capacidade de propagação do vírus. Aparentemente a especificidade (da gama) de hospedeiros da vacina experimental não foi alterada em relação ao HVT do tipo selvagem, que está restrito a espécies aviárias. Não se conhecem substâncias químicas tóxicas ou metabólitos a serem produzidos pelo vírus que possam prejudicar o meio ambiente.

#### **1. Parecer Final:**

##### **Considerando que a vacina viva Newxxitek HVT+ND:**

1. Utiliza como vetor a cepa FC-126 do herpesvírus de perus (HVT), que não se replica em células de espécies não-aviárias;
2. Este vetor HVT é altamente atenuado e vem sendo utilizado como vacina contra a doença de Marek em frangos desde 1971;
3. Bilhões de aves já foram vacinadas com este vírus parental sem nenhuma ocorrência relevante para saúde humana ou animal;
4. A vacina tem capacidade insignificante para sobreviver, se estabelecer e disseminar no ambiente, e capacidade negligenciável para transferência genética;
5. A vacina demonstrou ser não-patogênica em todas as espécies testadas;
6. A vacina deve ser inoculada em aves (frangos) em condições assépticas, sob estrito acompanhamento de médico veterinário;
7. A vacina é fornecida como preparação líquida em dose única, hermeticamente fechada;
8. A vacina foi aprovada pelo USDA para comercialização em 2016.

Concluimos que a probabilidade de ocorrerem eventos que coloquem em risco a segurança tanto dos seres humanos, como de animais e do meio ambiente é bastante limitada. Além disso, a modificação genética inserida não tem potencial de alterar as propriedades do vírus parental atenuado (equivalente

não GM), sugerindo que o evento GM é tão seguro quanto a vacina parental não modificada geneticamente.

Assim, frente ao exposto, somos pelo deferimento do pedido de liberação comercial do produto Newxxitek HVT+ND.

DRA. MARIA SUELI SOARES FELIPE

**Presidente da CTNBio**