

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA, INOVAÇÕES E
COMUNICAÇÕES
PARECER TÉCNICO Nº 6055/2018

Processo nº: 01250.008866/2016-55

Requerente: Merial Saúde Animal Ltda

CQB: 048/98

Assunto: Liberação comercial de OGMs – Vacina vírus vivo recombinante contra a Doença de Newcastle e Boubá Aviária - TROVAC-NDV

Extrato Prévio nº 5507/2017, publicado no DOU em 08 março de 2017.

Reunião: 212ª Reunião Ordinária da CTNBio, realizada em 10 de maio de 2018.

Decisão: DEFERIDO

A CTNBio, após apreciação da Solicitação de parecer técnico para Liberação comercial de OGMs – Vacina vírus vivo recombinante contra a Doença de Newcastle e Boubá Aviária - TROVAC-NDV, concluiu pelo seu 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 Presidente da Comissão Interna de Biossegurança da empresa Merial Saúde Animal Ltda., Dra. Luciana Fernandes Matias Soares, solicita à CTNBio parecer técnico para Liberação Comercial Vacina vírus vivo recombinante contra a Doença de Newcastle e Boubá Aviária - TROVAC-NDV.

Fundamentação técnica:

A empresa enviou a documentação sobre a biossegurança do produto necessária ao exame pela Comissão, nos termos da Resolução Normativa Nº5 de 12 de março de 2008. O responsável declara que as informações prestadas são completas, acuradas e verdadeiras, no limite do conhecimento disponível.

A empresa Merial Saúde Animal Ltda. solicita a CTNBio parecer técnico relativo a liberação comercial de organismo geneticamente modificado presente na vacina TROVAC-NDV — Vacina de vírus vivo recombinante contra a Doença de Newcastle e Boubá Aviária. A vacina TROVAC-NDV é indicada para a vacinação de pintos saudáveis de um dia por via subcutânea para auxiliar na prevenção da doença de Newcastle e da Boubá aviária. As vacinas são fabricadas pela MERIAL em Gainesville, Estados Unidos. A TROVAC-NDV será importada em sua apresentação final, todas as etapas de

fabricação ocorrerão nos Estados Unidos e, portanto, o produto não será manipulado no Brasil.

A doença de Newcastle (DNC), também conhecida como pseudo peste aviária, pneumoencefalite aviária, desordem respiratório-nervosa e a nível internacional - Newcastle disease é uma enfermidade viral, aguda, altamente contagiosa que acomete aves silvestres e comerciais, com sinais respiratórios, frequentemente seguidos por manifestações nervosas, diarreia e edema da cabeça. A manifestação clínica e a mortalidade variam segundo a patogenicidade da amostra do vírus. Essa patogenicidade pode variar de muito alta (amostra velogênica), para intermediária (amostra mesogênica) a muito baixa (amostra lentogênica).

A Boubá Aviária é uma doença que afeta vários tipos de aves entre elas galinhas, perus, pombos e pássaros (marrecos, patos, gansos, galinhas e outras aves não as contraem), causada por um Poxvirus. Tem sido constatada desde o início da domesticação de galinhas. Em 1929, mostrou-se ser causada por um vírus. Vacinas comerciais eficazes com vírus vivo tornaram-se disponíveis durante a década de 60 e cepas suaves, seguras o suficiente para serem aplicadas em pintos de apenas um dia de vida, foram desenvolvidas em meados da década de 70. Embora a boubá aviária não seja uma doença respiratória, está incluída como tal porque causa sintomas respiratórios e asfixia. Existe apenas um sorotipo de vírus de boubá aviária, o que torna a vacinação contra boubá aviária simples e eficiente.

O organismo parental é composto pelo vírus da boubá aviária (FPV); Família Poxviridae, Subfamília Chordapoxviridae, Gênero Avipox. O FPV é um vírus de DNA de fita dupla, envelopado, que causa infecções produtivas unicamente em espécies aviárias. O organismo parental da vacina TROVAC-NDV FP-1 é uma cepa vacinal atenuada do FPV originalmente isolada de pústula de boubá em galinha na França (vírus-semente denominado TROVAC).

Foram introduzidos cassetes de expressão dos genes F e HN oriundos do vírus da doença de Newcastle sob um promotor do vírus Vaccínia. O Vírus Vaccínia (Família Poxviridae, Subfamília Chordapoxviridae, Gênero - Orthopoxvirus) é um vírus envelopado contendo um genoma grande com DNA de fita dupla de tamanho aproximado de 187 kbp.

O Vírus da doença de Newcastle (NDV), Família Paramyxoviridae, é um vírus envelopado que contém um genoma de RNA de fita simples, polaridade negativa e não segmentado. Foi demonstrado que tanto o gene F como o HN são responsáveis pela indução de anticorpos vírusneutralizantes e fornecem imunidade protetora.

Clones de CDNA para o cassete HN/F do NDV foram derivados de NDV velogênico, cepa Texas. Os plasmídeos com os clones de cDNA dos genes F e HN foram obtidos da Rhone Merieux, Lyon, França.

Um plasmídeo doador, pJCA024, foi construído de forma que os genes F e HN sob o promotor de vírus vaccinia foram inseridos entre braços flanqueadores do FPV. A recombinação *in vitro* entre sequências do FPV no pJCA024 e no vírus parental direcionou a substituição das sequências do F8 entre as posições 779 e 1926 pelo cassete de expressão dos genes F e HN do NDV. O promotor H6 do vírus vaccinia foi ligado à montante tanto ao CDNA-HN como ao CDNA-F para formar os cassetes de CDNA-HN-H6 e CDNA-F-H6, respectivamente. A orientação dos genes no cassete de expressão é de tal ordem, que as extremidades 3' são adjacentes.

O locus de inserção definido pela Virogenetics como F8 é uma sequência de leitura aberta (ORF) contida em um fragmento Pvu II-EC RV do par de bases 3659. A sequência de leitura aberta se inicia na posição 495 e termina na posição 1887. O local de inserção foi criado com a deleção da posição 779 para a posição 1926. A posição da ORF F8 no genoma do FPV que representa o mapa Hind 111 do genoma da boubá aviária. A ORF F8 é de aproximadamente 118 kbp a partir da fração terminal direita do genoma viral, conforme determinado por análise de restrição enzimática.

A estabilidade genética do Vírus-Semente TROVAC-NDV e do maior nível de passagem X+5 foi demonstrada por hibridização em placa, com o uso de sondas específicas para F/NDV e HN/NDV.

A estabilidade fenotípica *in vitro* (expressão tanto do gene HN/NDV como do F/NDV) do MSV + 5 foi demonstrada por análise de imunotriagem em placa. A expressão do gene HN/NDV *in vivo* demonstrou ser instável após cinco retropassagens em galinhas. A expressão do gene F/NDV demonstrou ser estável após dez retropassagens em galinhas.

A cepa vacinal parental a partir da qual esta vacina experimental foi derivada vem sendo utilizada como vacina comercial desde 1975, sem quaisquer efeitos adversos ou riscos para a saúde pública. Os riscos de segurança para meio ambiente são baixos. A capacidade de propagação/excreção da vacina experimental é limitada. A especificidade de hospedeiro/leque de hospedeiros deste vírus vacinal aparentemente não foi alterada a partir da cepa vacinal parental. Não há relato sobre a demonstração de cepas vacinais da boubá aviária no meio ambiente. Estudos para avaliação da capacidade de sobrevivência do vírus vacinal experimental sob várias condições adversas indicam que é sensível à temperatura, pH e secagem. Não são conhecidos organismos biológicos, fatores físico-químicos ou substâncias químicas tóxicas que contribuiriam para a demonstração do vírus vacinal no meio

ambiente. Pela própria característica do OGM, isto é, um vírus, a possibilidade de produção de esporos é inexistente. Não se conhece a ocorrência de transferência horizontal de genes entre diferentes vírus do gênero Avipox (por exemplo, boubá aviária, boubá dos canários, boubá dos pombos e boubá dos perus) ou outros vírus (ou seja, vírus da boubá em geral). Não são previstos efeitos adversos associados ao uso desta vacina no meio ambiente.

A vacina TROVAC-ND consiste em um vírus da boubá aviária que atua como vetor de dois genes que codificam as porções não infectantes do vírus da doença de Newcastle. Ela foi submetida a teste de segurança em duas espécies de mamíferos (camundongos e gatos) que são hospedeiros restritos para infecção pelo vírus da boubá aviária. Foram utilizadas espécies aviárias não-alvo, inclusive pombos, periquitos, patos, codornizes e perus, para avaliar a segurança da vacina TROVAC-ND. Não foram observados sinais de doença clínica nem outras reações adversas.

Portanto, a inserção dos cassetes do CDNA-HN-H6 e do CDNA-F-H6 do vírus da Doença de Newcastle no genoma viral de TROVAC deve resultar apenas na expressão de ambas as proteínas F e HN pelo organismo recombinante.

Capacidade de disseminação em animais e seres humanos: O risco de segurança para animais é baixo. Estudos em espécies aviárias não-alvo indicam que a vacina também é segura para perus, codornizes, patos, pombos cinza e pombas brancas. Esses estudos sugerem que a vacina seria segura em caso de exposição de outras espécies aviárias não-alvo. O risco de segurança para a saúde pública é baixo. O vetor de boubá aviária se replica no citoplasma da célula do hospedeiro de modo com que o gene estranho não é inserido no genoma do hospedeiro.

A exposição humana será restrita ao pessoal responsável pela administração da vacina e pela observação das aves pós-vacinação. Não há relatos de vírus da boubá aviária do tipo selvagem causar infecção produtiva em nenhuma espécie além das aviárias e não há relato de infecção no homem. A cepa vacinal parental a partir da qual esta vacina experimental foi derivada vem sendo utilizada como vacina comercial desde 1975, sem quaisquer efeitos adversos ou riscos para a saúde pública.

Efeitos do OGM sobre a qualidade da água, do ar e do solo: A especificidade de hospedeiro/leque de hospedeiros deste vírus vacinal aparentemente não foi alterada a partir da cepa vacinal parental. Não há relato sobre a demonstração de cepas vacinais da boubá aviária no meioambiente. Estudos para avaliação da capacidade de sobrevivência do vírus vacinal experimental sob várias condições adversas indicam que é sensível à

temperatura, pH e secagem. Não são conhecidos organismos biológicos, fatores físico-químicos ou substâncias químicas tóxicas que contribuiriam para a demonstração do vírus vacinal experimental no meio ambiente. Não são previstos efeitos ecológicos adversos associados ao uso desta vacina experimental a campo. O MGM não produz esporos, o vírus vacinal é sensível a temperatura, pH e secagem, a vacina líquida não é liberada no ar na forma de partícula ou gotícula e não se prevê a ocorrência de contato direto com superfícies do solo ou de água. A vacina não contém substâncias tóxicas, de forma que não representa nenhuma ameaça para o meio ambiente.

A existência de interações com efeitos adversos, quando dois ou mais genes forem introduzidos:

A vacina TROVAC-ND consiste em um vírus da boubá aviária que atua como vetor de dois genes que codificam as porções não infectantes do vírus da doença de Newcastle. Ela foi submetida a teste de segurança em duas espécies de mamíferos (camundongos e gatos) que são hospedeiros restritos para infecção pelo vírus da boubá aviária. Foram utilizadas espécies aviárias não-alvo, inclusive pombos, periquitos, patos, codornizes e perus, para avaliar a segurança da vacina TROVAC-ND. Não foram observados sinais de doença clínica nem outras reações adversas {rFP/ND-08-93}.

Considerando que:

1. A classificação de risco é do tipo risco 1 (baixo risco individual e baixo risco para a coletividade);
2. Os dados apresentados mostram que esta vacina não implica em riscos adicionais a saúde humana, ao meio ambiente e a produção animal.

É de se esperar que a vacina TROVAC-NDV destinada à imunização ativa de pintos contra a Doença de Newcastle e Boubá Aviária não seja potencialmente causadora de degradação ao meio ambiente ou prejudicial à saúde humana, animal e das plantas.

Parecer:

Ante aos dados apresentados pela proponente e a literatura consultada concluímos que esse evento geneticamente modificado não oferece riscos à saúde humana, animal e ao meio ambiente. Considerando ainda que o presente pedido de liberação comercial atende às normas e às legislações vigentes que visam garantir a biossegurança ambiental, vegetal, animal e do homem, a CTNBio é de parecer favorável a solicitação da empresa Merial Saúde Animal Ltda de Liberação Comercial de microorganismo geneticamente modificado (MGM) presente na vacina TROVAC-NDV - Vacina de vírus vivo recombinante contra a Doença de Newcastle e Boubá Aviária.

Dra. Maria Sueli Soares Felipe
Presidente da CTNBio