

**Processo:** 01200.001967/2007-08

**Pleito:** Liberação Comercial

**Data de Protocolo:** 19/04/07

**Requerente:** Fort Dodge Saúde Animal Ltda.

**CQB:** em análise

**CNPJ:** 43.5880.045/0001-31

**Endereço:** Fort Dodge Saúde Animal Ltda. Avenida Luiz Fernando Rodrigues, 1701. Vila Boa Vista, Campinas – SP.

**Presidente da CIBio:** Matusalem Pereira Santos

**Descrição do OGM:** Vacina Inativada contra Circovirose Suína – Suvaxyn PCV 2 One Dose

**Uso proposto:** importação, armazenamento e comercialização.

## **1. Fundamentação Técnica da Decisão do Relator:**

A circovirose suína é uma doença infecto contagiosa de etiologia viral ocasionada pelo circovirus suíno tipo 2 (PCV-2 porcine circovirus type 2), classificado na família Circoviridae, gênero *Circovirus*. A infecção dos leitões na fase de creche e de crescimento (5 a 12 semanas de idade) pode determinar o comportamento de sua síndrome. O circovirus suíno foi relatado primeiramente por Tischer e col. 1974: (Zbl. Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene, Reihe A 226(2): 153-167) mediante microscopia eletrônica, como um contaminante de cultivo celular, que causava infecções persistentes em cultivo celular de rim suíno (PK-15). Posteriormente, demonstrou que esse vírus possuía um genoma composto de DNA de fita simples e circular, razão pela qual foi denominado de circovirus suíno (Tischer e col. 1982: Nature 295: 64-66; Castro e col. 2007: Arq. Inst. Biol. São Paulo 74(3):281-291)

Infecções experimentais com PCV em suínos permitiram verificar a eliminação do agente nas fezes e na secreção nasal dos animais mas os animais não apresentaram sinal clínico de doença ou alterações morfológicas (Tischer e col., 1986: Archs Virol. 91(3-4): 271-276).

Em 1991, na região sul do Canadá descreveu-se a síndrome de Refugagem Multissistêmica dos Suínos (SRM). Nos animais acometidos pela síndrome da Refugagem Multissistêmica dos Suínos verificou-se a presença de anticorpos anti PCV (Castro e col. 2007, Arq. Inst. Biol. São Paulo 74(3): 281-291)

Os prejuízos econômicos ocasionados pela circovirose podem ser consideráveis e são divididos, principalmente, ao emagrecimento progressivo dos animais infectados, redução no ganho de peso. Infecções mistas (co-infecção) do PCV-2 com outros microorganismos causadores de infecções respiratórias, entéricas e reprodutivas são observadas (França e col, 2005, (Pesquisa Vet. Bras. 25(2), 59-72, 2005); Fachinger e col., 2007: Vacine 2007- doi 10.1016/J. Vacine 2007.11.053; Zanella (VII – Simp. Goiano de Avicultura e II Simp. de Suinocultura, Avesni – Centro-Oeste – Goiânia/GO, 2005); (França e col., 2005: Pesq. Vet. Bras. 25(2): 59-72).

### **Características moleculares do organismo recombinante**

A vacina é produzida a partir da multiplicação do vírus em células PK – 15 e subsequentemente inativação com BEI (etil amina binária).

### **Organismo receptor**

O PCV1-2 Quimera foi construído utilizando-se como recipiente estrutura genômica do Circovirus Suíno Tipo 1 (PCV-1).

A análise molecular do vírus demonstrou que o PCV-1 é um vírus de mamíferos pequenos, não envelopados, icosaédrico, que possui um genoma de DNA (1.758 pb) de fita simples e morfologia circular, identificado como membro da família Circoviridae. O genoma do PCV-1 é composto por dois quadros de leitura aberta (ORF):

- **orf1:** que codifica a proteína replicase responsável pela replicação viral
- **orf2:** que codifica a proteína imunogênica do capsídeo viral

(Allan, G.M. e Ellis, J.A. Porcine Circovirus: a review. J. Vet. Diagn. Invest 12:3-14.2000) .

Na construção da Quimera extraiu-se o DNA do PCV-1 de células PK-15 (ATCC CCL-33- cultivos celulares de células renais de suíno da linhagem PK-15) permanentemente infectados com PCV-1.

O primeiro uso inócuo do organismo receptor ocorreu quando foi construída a PCV1-2.

Para construir o PCV1-2 clonou-se o gene imunogênico do capsídeo do PCV-2 e o inseriu na estrutura genômica do PCV não patogênico. Os estudos indicaram que o PCV1-2 induziu imunidade protegendo suínos contra infecções com o PCV-2. Esta construção foi utilizada como fonte primária para o preparo da semente principal cPCV1-2 MSV 2117-63-052004.

#### **Características do doador**

Para a construção do cPCV1-2 utilizou-se como organismo doador o Circovirus Suíno Tipo 2 (isolado viral PCV-2 n°. 40895) isolado a partir de uma amostra de tecido do baço de um suíno diagnosticado com SRMS (Síndrome da Refugagem Multissistêmica Suína) adquirida naturalmente. A análise da sequência do DNA indicou que o genoma do isolado viral PCV n°. 40895 era composto por um DNA de fita simples 1.768-pb (n°./acesso ao banco genético NCBI: AF264042) formado por uma estrutura genômica principal e um gene capsídeo.

#### **DNA doador ou gene doador**

O DNA doador é um orf2 com 702-pb do isolado viral PCV-2 n°. 40895 que codifica a proteína imunogênica do capsídeo.

#### **Construção do organismo recombinante**

Durante o processo de construção do PCV1-2 o orf2 gene do capsídeo do PCV1 foi submetido pelo orf2 gene do capsídeo do PCV2 patogênico na estrutura primária do PCV-1.

#### **Características da semente principal**

- Denominação da semente principal:

A semente principal do vírus vacinal PCV tipo1 – tipo2 quimera foi designado cPCV1-2 MSV2117-63-052004.

- Métodos e Protocolos Usados para Determinar a Identidade do Vírus Semente Principal

O vírus semente principal do cPCV1-2 MSV 2117- 63-052004 foi identificado através de:

- testes de PCR específicos para cPCV1-2 e PCV-2
- imunofluorescência indireta para a expressão da proteína do capsídeo utilizando soro hiperimune de coelho anti-PCV-2.
- clonagem e sequenciamento do genoma cPCV1-2 do vírus principal amplificado por PCR.

- Teste de Pureza e Inocuidade do Vírus Semente Principal

Os testes de verificação da pureza foram realizados de acordo com nomes da Farmacopéia Européia, tanto para a detecção de contaminação por bactérias ou fungos e micoplasma.

Os testes de inocuidade do vírus semente principal foram conduzidos em camundongos e suínos.

Testes para verificar a presença de agentes estranhos do vírus.

A estabilidade do organismo semente principal em passagens de nível X, X+5 e X+7 indicou a estabilidade genética e fenotípica.

### **Virulência**

Os testes realizados indicam que a vacina contendo o cPCV1-2 vivo atenuado que pode prevenir a viremia induzida pelo PCV-2 é inócua.

### **Espécies diferentes da espécie alvo**

Não há relatos da doença natural associada ao PCV-1 em qualquer espécie diferente da suína. Assim sendo, a cepa recombinante também não deverá causar doença em animais diferentes da espécie alvo, pois o genoma de replicação estrutural do vírus semente é do PCV-1.

No entanto há relatos de anticorpos reagentes do circovirus suíno foram encontrados no soro de humanos, camundongos e cavalos.

### **Sobrevida do organismo no meio ambiente**

A sobrevida desse organismo (cPCV1-2 MSV 2117052004) em condições laboratoriais ainda é pouco conhecida. Como os organismos dos quais é derivado (PCV-1 e PCV-2) o cPCV1-2 é um vírus DNA fita simples e, como tal espera-se que apresente boa estabilidade em condições normais.

### **Biossegurança**

O PCV-1 é patogênico e o genoma estrutural primário do PCV-1 é classificado na classe de risco 1.

O gene do capsídeo isolado do gene replicante não é infeccioso e a proteína do capsídeo não é tóxica. Portanto, a cPCV1-2 atenuada (composta pelo genoma estrutural primário do CPV-1 e o gene do capsídeo CPV-2) é classificado como organismo da classe de risco 1.

### **Identificação de risco**

No estudo de inocuidade em campo, 1100 suínos com 4 semanas de idade receberam uma única dose da vacina inativada PCV e foram observados por um período de duas semanas após a aplicação das vacinas. Não foram observadas reações adversas locais ou sistêmicas indicando a inocuidade para suínos em condições ambientes.

As vacinas PCV inativadas quando testadas em camundongos e cobaias foram inócuas nas condições laboratoriais.

### **Risco para a Saúde Humana**

Segundo a literatura, a vacina não foi testada diretamente em humanos. O antígeno cPCV1-2 é totalmente inativo antes da liberação do produto.

A vacina PCV inativada não é infecciosa ou patogênica.

### **Patogenicidade do Microorganismo Vacinal em Seres Humanos**

O cPCV1-2, composto pelo genoma estrutural PCV-1 não patogênico e pelo capsídeo do CPV-2 imunogênico, é classificado como organismo da classe de risco 1.

## **Foi apresentado uma análise de Caracterização do Risco**

### **- Razão de verossimilhança**

Razões de verossimilhança são atribuídas ao risco para animais, para saúde pública e para o meio ambiente baseado nos critérios de probabilidade de ocorrer um evento adverso – e a probabilidade do cPCV1-2 inativado escapar e se dispersar no meio ambiente é considerada baixa.

### **- Índice de consequência**

Este índice também foi atribuído ao risco para animais, para saúde pública e para o meio ambiente baseado na eventual ocorrência de um evento adverso. Este índice de consequência associado a um escape e dispersão do cPCV1-2 inativado no meio ambiente é considerado baixo.

### **- Grau de confiança**

Graus de confiança são atribuídos ao risco para animais, para a saúde pública e para o meio ambiente como certo, moderadamente certo e incerto, dependendo da corroboração por evidência científica direta. O grau de confiança é certo, pois é corroborado por evidência científica direta (cinética de inativação pela etilenamina binária). Trata-se de uma vacina inativada PCV, e a probabilidade de um cPCV1-2 morto escapar e de dispersar no meio ambiente é baixa.

### **- Cálculo do Risco Esperado para o Potencial de Escape e de Dispersão no Meio Ambiente**

Baseado nestes índices é possível calcular o risco esperado para a possibilidade de escape e dispersão no meio ambiente. O grau de risco foi calculado de acordo com “Análise de Risco para Biologia Veterinária” (Gay, C.G, Orr. R.L., 1994). Com um risco esperado de 1,00 o grau de risco calculado é baixo.

Segundo um dos pareceristas “ad hoc” seria conveniente garantir a ausência de contaminantes potencialmente causadores de encefalopatias transmissíveis no produto. Ou seja, se os cultivos celulares são multiplicados em meio contendo soro de origem animal, tal soro deveria ser obtido de animais livres de encefalopatias transmissíveis, visto que isso pode representar um fator de risco, embora provavelmente muito baixo. Até o momento ainda não foram relatadas doenças causadas por príons em suínos.

### **Possível Consequência da Exposição de Seres Humanos**

O vírus semente principal cPCV1-2 MSV 2117-63-052004 ainda não foi testado diretamente em humanos. Entretanto, baseado nos estudos realizados em suínos, camundongos e cobaias, não são esperados riscos decorrentes da exposição de seres humanos (por exemplo: manipulação da vacina e manejo de animais vacinados). Não há relato de doenças humanas associadas ao circovírus suíno.

### **Risco ao Meio Ambiente**

Por ser um produto inativado e como não há probabilidade de o vírus morto de estabelecer no meio ambiente o produto não oferece impacto negativo ao meio ambiente.

### **Inativação com a Etilenamina binária**

O procedimento de inativação descrito indica que o vírus é adequadamente inativado, quando realizado segundo o protocolo proposto. Assim a vacina preparada com a suspensão inativada não deve apresentar vírus infeccioso.

## **2. Parecer Final do Relator:**

Assim não há indicações de que a vacina inativada contra a circovirose suína tenha efeito danoso quando usada como prevenção e controle da circovirose em suínos ou venha causar problemas para a alimentação humana ou para o meio ambiente, sou pelo deferimento.

**Data: 12/03/2008**

**Dr. Antônio Euzébio Goulart Sant'Ana**  
**Membro da CTNBio**