

**PARECER TÉCNICO Nº 5099/2016**

**Processo nº:** 01200.004528/2015-59. - 3847/15-47

**Requerente:** Laboratório Químico Farmacêutico Bérqamo Ltda.

**CQB:** 0154/01

**Próton:** 60182/2015

**Endereço:** Rua Rafael de Marco, 43 - Jardim das Oliveiras - Taboão da Serra /SP CEP: 06765-000.

Fones: (11) 4787-0198 Fax: (11) 2198-0199.

**Assunto:** Solicitação de Parecer Técnico para avaliação de biossegurança do produto denominado talimogeno laerparepeveque para uso comercial.

**Extrato Prévio:** 4818/15 publicado no DOU em 30 de outubro de 2015.

**Decisão:** deferimento

A CTNBio, após apreciação do processo referente à biossegurança do produto denominado talimogeno laerparepeveque para registro e uso 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.

A CTNBio informa, que de acordo com o parágrafo 5º do artigo 38 do Regimento interno da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança o manteve o sigilo solicitado para algumas informações do processo

**Resumo:** O Presidente da Comissão Interna de Biossegurança - CIBio da empresa Laboratório Químico Farmacêutico Bérqamo Ltda., Dr. Marcelo Vianna de Lima, solicita parecer da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança para avaliação de biossegurança do produto denominado talimogeno laerparepeveque para uso comercial. O produto denominado como talimogeno laerparepeve que é um produto para uso terapêutico de melanoma metastático composto por organismos geneticamente modificados da classe de risco 1. O processo descreve as condições de biossegurança do manuseio do produto, bem como a declaração formal do responsável assegurando a veracidade das informações prestadas a CTNBio.

**PARECER TÉCNICO**

**1) Fundamentação técnica**

O presidente da CIBio do Laboratório Químico Farmacêutico Bergamo, Dr. Marcelo Vianna de Lima e a representante legal da empresa, Heloisa A. Fostinone, solicitam à CTNBio parecer técnico para a análise de biossegurança do produto oncolítico talimogeno laerparepeveque, vírus recombinante derivado do vírus Herpes Simplex tipo 1 que codifica para a proteína *estimuladora* de colônia de granulócitos e monócitos (GM-CSF) para seu uso comercial como imunoterapia.

**2) Descrição do OGM:**

Na descrição contida no projeto os autores afirmam que o Talimogeno Laerparepeveque (OncoVEX<sup>GMCSF</sup>) é uma imunoterapia oncolítica à base de um vírus herpes simplex tipo 1 (HSV-1) modificado, estes dados são encontrados na literatura específica do tema onde estudos verificaram que ensaios fase 1 e 2 obtiveram sucesso no tratamento de tumores, observando redução e/ou estabilização dos quadros, em alguns casos com até 50% dos pacientes respondedores ao tratamento. As dosagens empregadas nos estudos foram bem toleradas e não aparentaram causar efeitos colaterais detectáveis no âmbito destes estudos. Estes vírus são defectivos para o fator de neurovirulência ICP34.5, proteína relacionada à resistência do HSV-1 contra efeitos antivirais de alfa e beta interferons, além de interferir com fosfatases celulares contribuindo para o processo de sequestro da síntese de proteínas celulares por interferência com o fator de iniciação de alongamento (eIF-2 neste caso). Este OGM foi desenhado para replicar seletivamente em tecidos tumorais e evidências mostram que o virus atinge este objetivo por ação lítica e também em combinação com respostas imunes locais e sistêmicas, além de apresentar toxicidade limitada sem neurotoxicidade relatada.

### 3) Segurança do Produto

Diversos estudos clínicos e aplicações em seres humanos foram feitos com o Talimogeno Laerparepeveque (OncoVEX<sup>GMCSF</sup>).

A infecção por HSV-1 selvagem foi relatada em uma variedade de espécies, incluindo roedores, coelhos e primatas não humanos em estudos de injeção direta do vírus em animais de laboratório, cuja referências dos estudos foram fornecidas pela empresa proponente. Entretanto, uma revisão da literatura em geral não apoia infecção por HSV-1 humano em cães, gatos, cavalos, vacas ou outros animais domesticados comuns, embora eles possam ser infectados por outros membros da família Alphaherpesvirinae. Entretanto a infecção pelo Talimogeno Laerparepeveque (OncoVEX<sup>GMCSF</sup>) é improvável já que no talimogeno laerparepeveque, os genes virais do HSV-1 ICP34.5 (o “fator de neurovirulência” que promove a replicação viral em células normais com uma resposta antiviral intacta, mas não requer replicação no tecido tumoral, em que as respostas antivirais são frequentemente defeituosas) e o ICP47 (que bloqueia a apresentação de antígenos pelas moléculas do complexo principal de histocompatibilidade [MHC] de células infectadas) foram eliminados.

O Talimogeno laerparepeveque não é conhecidamente transmitido para contatos do paciente, hospital ou outro pessoal de assistência (paramédicos). Esta afirmação foi baseada em estudos feitos pela empresa com pacientes que receberam o tratamento (1217 pacientes e 177 famílias de pacientes)

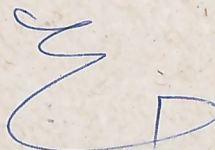
A seletividade tumoral do talimogeno laerparepeveque é conferida pela deleção do ICP34.5. Várias cepas de HSV-1 com falta de ICP34.5 têm sido extensivamente utilizadas sem incidente em vários ensaios clínicos humanos publicados.

Nenhum paciente em qualquer um destes estudos clínicos desenvolveu encefalite por HSV, nenhuma toxicidade foi observada após a administração via Intratecal (IT) de até  $10^5$  UFP de vírus em 21 pacientes com glioma maligno e 5 pacientes com melanoma metastático. Nenhum dos pacientes nesses estudos sofreu quaisquer sintomas adversos atribuíveis à administração do vírus.

O proponente relata diversos estudos feitos com doença recidivante de vários cânceres de tumor sólido, melanoma metastático, câncer de células escamosas da cabeça e pescoço e nenhum evento adverso fatal relacionado ao tratamento foi relatado e nenhum caso confirmado de transmissão secundária para contatos próximos de indivíduos tratados com talimogeno laerparepeveque foi documentado até hoje.

Com relação a possível reversão de uma vacina para o seu estado selvagem, por recombinação ou complementação com outros vírus intracelulares é muito improvável, pois para que isto ocorra, seria essencial para uma célula humana ser infectada simultaneamente por duas cepas diferentes. Experimentalmente, demonstrou-se que a recombinação não homóloga (recombinação entre diferentes regiões de dois genomas do HSV-1) não ocorre em níveis detectáveis. Além disso, é muito pouco provável que um vírus de tipo selvagem estaria no mesmo tecido que talimogeno laerparepeveque, já que este é injetado diretamente nas células de tumor e não pode se difundir eficientemente em tecidos normais, enquanto que o HSV-1 pré-existente estaria nos tecidos da mucosa ou gânglios neurais do paciente.

O talimogene não se mostrou tóxico ou teve qualquer efeito no desenvolvimento do embrião em mulheres grávidas. Os estudos realizados em camundongos, cujo produto foi administrado durante a organogênese em camundongos gestantes em doses de até  $4 \times 10^8$  UFP/kg (60 vezes mais que a dose clínica máxima, em uma base de UFP/kg) mostraram quantidades desprezíveis (<0,001% dos níveis sanguíneos maternos) do DNA de talimogeno laerparepeveque no sangue fetal.



A proponente realizou estudos suficientes para atender a RN 5 e a literatura internacional também mostra que o Talimogeno laerparepeveque é seguro para o uso proposto como uma imunoterapia para tratamento de melanomas.

Com relação a segurança ambiental, considero o produto seguro baseado nos seguintes aspectos:

- a) A sensibilidade de talimogeno laerparepeveque foi avaliada em relação a vários agentes de limpeza. Os resultados obtidos mostraram sensibilidade do vírus em relação a vários agentes de limpeza disponíveis frequentemente. O talimogeno laerparepeveque é inativado dentro de 1 minuto após o tratamento com Septihol (álcool isopropílico 70%), Vesphene (0,8% v/v), LPH (0,8% v/v) e alvejante (2,5% v/v). Fora do hospedeiro, o HSV-1 é um vírus envelopado que é sensível e rapidamente inativado por ambas inativações físicas (desidratação, calor, pH baixo) e desinfetantes (solventes de lipídeos e detergentes suaves).
- b) Nenhum ecossistema é alvo no uso de talimogeno laerparepeveque. Não espera-se que ecossistemas sejam afetados, devido ao fato de que os seres humanos são o hospedeiro natural e o vírus não é estável fora do hospedeiro.
- c) Pretende-se usar talimogeno laerparepeveque em instalações médicas controladas cuidadosamente para o tratamento de pacientes com melanoma com doença irresssecável ou metastática.
- d) Não se espera que o talimogeno laerparepeveque sobreviva no ambiente. A estabilidade do talimogeno laerparepeveque e/ou vírus herpes simplex 1 (HSV-1) tipo selvagem foi avaliada sob diferentes condições ambientais, incluindo o frasco do medicamento, superfícies de contato, assim como a sensibilidade a agentes químicos e virucidas.
- e) Vários estudos da Amgen examinaram a biodistribuição de talimogeno laerparepeveque após administração em camundongos. Os estudos seguindo a administração s.c. de talimogeno laerparepeveque em doses de até  $1 \times 10^7$  UFP demonstraram eliminação completa do vírus a partir de tecidos principais.

Conclusão:

Considerando os dados apresentados pelos estudos feitos com o talimogeno laerparepeveque, conclui-se que há baixo potencial a sua propagação no ambiente, já que o tratamento se dá por injeção direta no tumor. Esta conclusão se baseia nos seguintes aspectos:

- Os dados apresentados foram sustentados com testes clínicos e com 70 artigos da literatura científica internacional;
- Necessidade do vírus ser hospedeiro específico em humanos para realizar a sua replicação e infecção natural, sendo muito rara em outras espécies;
- No talimogeno laerparepeveque, os genes virais do HSV-1 ICP34.5 (o “fator de neurovirulência” que promove a replicação viral em células normais com uma resposta antiviral intacta, mas não requer replicação no tecido tumoral, em que as respostas antivirais são frequentemente defeituosas) e o ICP47 (que bloqueia a apresentação de antígenos pelas moléculas do complexo principal de histocompatibilidade [MHC] de células infectadas) foram eliminados;
- Atenuação do vírus torna-o altamente restrito para replicação em células normais;
- Administração diretamente nos tumores de pacientes elegíveis; a replicação no paciente será auto-limitante, dependente da carga tumoral;
- Baixa incidência de disseminação de vírus infeccioso a partir de indivíduos tratados e
- Baixa persistência e viabilidade fora do organismo hospedeiro; alta sensibilidade a agentes físicos e químicos.

A empresa apresentou todas as informações solicitadas na RN5 o que possibilitou uma avaliação de risco adequada. Com base nos dados apresentados no relatório e dos conhecimentos descritos na literatura científica, as indicações práticas e a base teórica nos levam a concluir que as modificações genéticas utilizadas no desenvolvimento do produto Talimogeno Laerparepeveque (OncoVEX<sup>GMCSF</sup>) não resultaram em alterações significativas na capacidade reprodutora ou na disseminação do vírus. Sendo assim, a produto Talimogeno Laerparepeveque (OncoVEX<sup>GMCSF</sup>) não apresenta risco à saúde humana, animal, das plantas e ao meio ambiente.

Bibliografia consultada:

1. Armien AG, Hu S, Little MR, Robinson N, Lokensgard JR, Low WC, Cheeran MC-J (2010) Chronic Cortical and Subcortical Pathology with Associated Neurological Deficits ensuing Experimental Herpes Encephalitis. *Brain Pathol.* 20(4): 738-750.
2. Baiocchi RA, Ward JS, Carrodegua L, Eisenbeis CF, Peng R, Roychowdhury S, Vourganti S, Sekula T, O'Brien M, Moeschberger M, Caligiuri MA (2001) GM-CSF and IL- 2 induce specific cellular immunity and provide protection against Epstein-Barr virus lymphoproliferative disorder. *The Journal of clinical investigation* 108: 887-894.
3. Bendandi M, Gocke CD, Kobrin CB, Benko FA, Sternas LA, Pennington R, Watson TM, Reynolds CW, Gause BL, Duffey PL, Jaffe ES, Creekmore SP, Longo DL, Kwak LW (1999) Complete molecular remissions induced by patient-specific vaccination plus granulocyte-monocyte colony-stimulating factor against lymphoma. *Nature medicine* 5: 1171-1177
4. Bolovan CA, Sawtell NM, Thompson RL (1994) ICP34.5 mutants of herpes simplex virus type 1 strain 17syn+ are attenuated for neurovirulence in mice and for replication in confluent primary mouse embryo cell cultures. *Journal of virology* 68: 48-55
5. Brown SM, Harland J, MacLean AR, Podlech J, Clements JB (1994) Cell type and cell state determine differential *in vitro* growth of non-neurovirulent ICP34.5-negative herpes simplex virus types 1 and 2. *The Journal of general virology* 75 ( Pt 9): 2367-2377
6. Cassady KA, Gross M, Roizman B (1998a) The herpes simplex virus US11 protein effectively compensates for the gamma1(34.5) gene if present before activation of protein kinase R by precluding its phosphorylation and that of the alpha subunit of eukaryotic translation initiation factor 2. *Journal of virology* 72: 8620-8626
7. Cassady KA, Gross M, Roizman B (1998b) The second-site mutation in the herpes simplex virus recombinants lacking the gamma134.5 genes precludes shutoff of protein synthesis I blocking the phosphorylation of eIF-2alpha. *Journal of virology* 72: 7005-7011
8. Chou J, Kern ER, Whitley RJ, Roizman B (1990) Mapping of herpes simplex virus-1 neurovirulence to gamma 134.5, a gene nonessential for growth in culture. *Science* 250: 1262-1266
9. Croughan WS, Behbehani AM (1988) Comparative study of inactivation of herpes simplex virus types 1 and 2 by commonly used antiseptic agents. *Journal of clinical microbiology* 26: 213-215
10. Daud AI, Mirza N, Lenox B, Andrews S, Urbas P, Gao GX, Lee JH, Sondak VK, Riker AI, Deconti RC, Gabrilovich D (2008) Phenotypic and functional analysis of dendritic cells and clinical outcome in patients with high-risk melanoma treated with adjuvant granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 26: 3235-3241

11. Davis TA, Monroy RL, Skelly RR, Donahue RE, MacVittie TJ (1990) Differential augmentation of in vivo natural killer cytotoxicity in normal primates with recombinant human interleukin-1 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. Clin Exp Immunol 79: 436-442.
12. Doi Y, Ninomiya T, Hata J, Yonemoto K, Tanizaki Y, Arima H, Liu Y, Rahman M, Iida M, Kiyohara Y (2009) Seroprevalence of herpes simplex virus 1 and 2 in a population-based cohort in Japan. Journal of epidemiology / Japan Epidemiological Association 19: 56-62
13. Dranoff G, Jaffee E, Lazenby A, Golumbek P, Levitsky H, Brose K, Jackson V, Hamada H, Pardoll D, Mulligan RC (1993) Vaccination with irradiated tumor cells engineered to secrete murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulates potent, specific, and long-lasting anti-tumor immunity. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 90: 3539-3543
14. Drew WL (2004) Herpesviruses. In Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases, 4th edn, pp 555-576. Toronto (ON): McGraw Hill Medical
15. Dulbecco R (1952) Production of Plaques in Monolayer Tissue Cultures by Single Particles of an Animal Virus. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 38: 747-752.
16. Epstein JH and Price JT. (2009) The significant but understudied impact of pathogen transmission from humans to animals. Mt Sinai J Med. 76(5):448-455.
17. Feldman LT, Ellison AR, Voytek CC, Yang L, Kause P, Margolis TP (2002) Spontaneous molecular reactivation of herpes simplex virus type 1 latency in mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 99(2): 978-983.
18. Grest P, Albicker P, Hoelzle L, Wild P and Pospischil A (2002) Herpes simplex encephalitis in a domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). J Comp Pathol. 126(4):308- 311.
19. Gupta R, Warren T, Wald A (2007) Genital herpes. Lancet 370: 2127-2137
20. Harrington KJ, Hingorani M, Tanay MA, Hickey J, Bhide SA, Clarke PM, Renouf LC, Thway K, Sibtain A, McNeish IA, Newbold KL, Goldsweig H, Coffin R, Nutting CM (2010) Phase I/II study of oncolytic HSV GM-CSF in combination with radiotherapy and cisplatin in untreated stage III/IV squamous cell cancer of the head and neck. Clin Cancer Res 16: 4005-4015
21. Harrow S, Papanastassiou V, Harland J, Mabbs R, Petty R, Fraser M, Hadley D, Patterson J, Brown SM, Rampling R (2004) HSV1716 injection into the brain adjacent to tumour following surgical resection of high-grade glioma: safety data and long-term survival. Gene therapy 11: 1648-1658

22. Hashido M, Kawana T, Matsunaga Y, Inouye S (1999) Changes in prevalence of herpes simplex virus type 1 and 2 antibodies from 1973 to 1993 in the rural districts of Japan. *Microbiology and immunology* 43: 177-180
23. Hashido M, Lee FK, Nahmias AJ, Tsugami H, Isomura S, Nagata Y, Sonoda S, Kawana T (1998) An epidemiologic study of herpes simplex virus type 1 and 2 infection in Japan based on type-specific serological assays. *Epidemiology and infection* 120: 179-186
24. He B, Chou J, Brandimarti R, Mohr I, Gluzman Y, Roizman B (1997) Suppression of the phenotype of gamma(1)34.5- herpes simplex virus 1: failure of activated RNA-dependent protein kinase to shut off protein synthesis is associated with a deletion in the domain of the alpha47 gene. *Journal of virology* 71: 6049-6054
25. Hill A, Jugovic P, York I, Russ G, Bennink J, Yewdell J, Ploegh H, Johnson D (1995) Herpes simplex virus turns off the TAP to evade host immunity. *Nature* 375: 411-415
26. Hu JC, Coffin RS, Davis CJ, Graham NJ, Groves N, Guest PJ, Harrington KJ, James ND, Love CA, McNeish I, Medley LC, Michael A, Nutting CM, Pandha HS, Shorrocks CA, Simpson J, Steiner J, Steven NM, Wright D, Coombes RC (2006) A phase I study of OncoVEXGM-CSF, a second-generation oncolytic herpes simplex virus expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Clin Cancer Res* 12: 6737-6747.
27. Huemer HP, Larcher C, Czedik-Eysenberg T, Nowotny N and Reifinger M (2002) Fatal infection of a pet monkey with Human herpesvirus. *Emerg Infect Dis.* 8(6):639-642.
28. Hudson SJ, Dix RD, Streilein JW (1991) Induction of encephalitis in SJL mice by intranasal infection with herpes simplex virus type 1: a possible model of herpes simplex encephalitis in humans. *The Journal of infectious diseases* 163: 720-727
29. Jager E, Ringhoffer M, Dienes HP, Arand M, Karbach J, Jager D, Ilsemann C, Hagedorn M, Oesch F, Knuth A (1996) Granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor enhances immune responses to melanoma-associated peptides in vivo. *Int J Cancer* 67: 54-62
30. Jerome KA, RA (2007) Herpes simplex viruses and Herpes B virus. In *Manual of Clinical Microbiology*, Murray P (ed), 9th edn, pp 1523-1536. Washington (DC): ASM Press
31. Kitamura T, Tange T, Terasawa T, Chiba S, Kuwaki T, Miyagawa K, Piao YF, Miyazono K, Urabe A, Takaku F (1989) Establishment and characterization of a unique human cell line that proliferates dependently on GM-CSF, IL-3, or erythropoietin. *J Cell Physiol.* 140(2):323-34.
32. Kramer, A., Schwebke, I., & Kampf, G. (2006). How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infectious Diseases*, 6: 130.
33. Lawson DH LS, Tarhini AA, Margolin KA, Ernstoff MS and Kirkwood JM (2010) E4697: Phase III cooperative group study of yeast-derived granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) versus placebo as adjuvant treatment of patients with completely

- resected stage III-IV melanoma. . Journal of Clinical Oncology, 2010 ASCO Annual Meeting Proceedings 28: 8504.
34. Lefaux B, et al. Nonhuman primates might be highly susceptible to cross-species infectivity by human alpha-herpesviruses (2004) Vet Pathol. 41(3):302-304.
  35. Liu BL, Robinson M, Han ZQ, Branston RH, English C, Reay P, McGrath Y, Thomas SK, Thornton M, Bullock P, Love CA, Coffin RS (2003a) ICP34.5 deleted herpes simplex virus with enhanced oncolytic, immune stimulating, and anti-tumour properties. Gene therapy 10: 292-303
  36. Liu X, Tian PK, Ju DW, Zhang MH, Yao M, Cao XT, Gu JR (2003b) Systemic genetic transfer of p21WAF-1 and GM-CSF utilizing of a novel oligopeptide-based EGF receptor targeting polyplex. Cancer Gene Ther 10: 529-539.
  37. Longa CS, Bruno SF, Pires AR, Romijn PC, Kimura LS, Costa CH (2011) Human herpesvirus 1 in wild marmosets. Emerg Infect Dis. 17(7):1308-1310.
  38. Mace AT, Ganly I, Soutar DS, Brown SM (2008) Potential for efficacy of the oncolytic Herpes simplex virus 1716 in patients with oral squamous cell carcinoma. Head Neck 30: 1045-1051
  39. McGeoch DJ, Rixon FJ, Davison AJ (2006) Topics in herpesvirus genomics and evolution. Virus Res. 117(1):90-104.
  40. MacKie RM, Stewart B, Brown SM (2001) Intralesional injection of herpes simplex virus 1716 in metastatic melanoma. Lancet 357: 525-526
  41. MacLean AR, ul-Fareed M, Robertson L, Harland J, Brown SM (1991) Herpes simplex virus type 1 deletion variants 1714 and 1716 pinpoint neurovirulence-related sequences in Glasgow strain 17+ between immediate early gene 1 and the 'a' sequence. The Journal of general virology 72 ( Pt 3): 631-639
  42. Markert JM, Liechty PG, Wang W, Gaston S, Braz E, Karrasch M, Nabors LB, Markiewicz M, Lakeman AD, Palmer CA, Parker JN, Whitley RJ, Gillespie GY (2009) Phase Ib trial of mutant herpes simplex virus G207 inoculated pre-and post-tumor resection for recurrent GBM. Mol Ther 17: 199-207
  43. Markert JM, Medlock MD, Rabkin SD, Gillespie GY, Todo T, Hunter WD, Palmer CA, Feigenbaum F, Tornatore C, Tufaro F, Martuza RL (2000) Conditionally replicating herpes simplex virus mutant, G207 for the treatment of malignant glioma: results of a phase I trial. Gene therapy 7: 867-874
  44. Mellerick DM and Fraser NW. Physical state of the latent herpes simplex virus genome in a mouse model system: evidence suggesting an episomal state. Virology. 1987; 158(2):265-275.

45. Mester JC & Rouse BT (1991) The mouse model and understanding immunity to herpes simplex virus. *Rev Infect Dis.* 11:S935-45.
46. Mineta T, Rabkin SD, Yazaki T, Hunter WD, Martuza RL (1995) Attenuated multi-mutated herpes simplex virus-1 for the treatment of malignant gliomas. *Nat Med.* 1(9):938-43.
47. Mohr I, Gluzman Y (1996) A herpesvirus genetic element which affects translation in the absence of the viral GADD34 function. *The EMBO journal* 15: 4759-4766
48. Mohr I, Sternberg D, Ward S, Leib D, Mulvey M, Gluzman Y (2001) A herpes simplex virus type 1 gamma34.5 second-site suppressor mutant that exhibits enhanced growth in cultured glioblastoma cells is severely attenuated in animals. *Journal of virology* 75: 5189-5196.
49. Muller K, Fuchs W, Heblinski N, Teifke JP, Brunnberg L, Gruber AD, Klopffleisch R (2009) Encephalitis in a rabbit caused by human herpesvirus-1. *J Am Vet Med Assoc.* 235(1):66-69.
50. Nahmias AJ, Lee FK, Beckman-Nahmias S (1990) Sero-epidemiological and - sociological patterns of herpes simplex virus infection in the world. *Scandinavian journal of infectious diseases Supplementum* 69: 19-36
51. Nemunaitis J, Singer JW, Buckner CD, Mori T, Laponi J, Hill R, Storb R, Sullivan KM, Hansen JA, Appelbaum FR (1991) Long-term follow-up of patients who received recombinant human granulocyte-macrophage colony stimulating factor after autologous bone marrow transplantation for lymphoid malignancy. *Bone Marrow Transplant* 7: 49-52
52. Orvedahl A, Alexander D, Talloczy Z, Sun Q, Wei Y, Zhang W, Burns D, Leib DA, Levine B (2007) HSV-1 ICP34.5 confers neurovirulence by targeting the Beclin 1 autophagy protein. *Cell host & microbe* 1: 23-35
53. Papanastassiou V, Rampling R, Fraser M, Petty R, Hadley D, Nicoll J, Harland J, Mabbs R, Brown M (2002) The potential for efficacy of the modified (ICP 34.5(-)) herpes simplex virus HSV1716 following intratumoural injection into human malignant glioma: a proof of principle study. *Gene therapy* 9: 398-406.
54. Prince, H. N., & Prince, D. L. (2001). Principles of viral control and transmission. In S. S. Block (Ed.), *Disinfection, sterilization and preservation* (5th ed., pp. 543-571).
55. Rampling R, Cruickshank G, Papanastassiou V, Nicoll J, Hadley D, Brennan D, Petty R, MacLean A, Harland J, McKie E, Mabbs R, Brown M (2000) Toxicity evaluation of replication-competent herpes simplex virus (ICP 34.5 null mutant 1716) in patients with recurrent malignant glioma. *Gene therapy* 7: 859-866
56. Roizman B, Jenkins FJ (1985) Genetic engineering of novel genomes of large DNA viruses. *Science* 229: 1208-1214

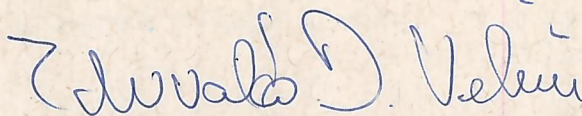
57. Rowe JM, Andersen JW, Mazza JJ, Bennett JM, Paietta E, Hayes FA, Oette D, Cassileth PA, Stadtmauer EA, Wiernik PH (1995) A randomized placebo-controlled phase III study of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in adult patients (> 55 to 70 years of age) with acute myelogenous leukemia: a study of the Eastern Cooperative Oncology Group (E1490). *Blood* 86: 457-462
58. Sato T, Eschelmann DJ, Gonsalves CF, Terai M, Chervoneva I, McCue PA, Shields JA, Shields CL, Yamamoto A, Berd D, Mastrangelo MJ, Sullivan KL (2008) Immunoembolization of malignant liver tumors, including uveal melanoma, using granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 26: 5436-5442
59. Schmittl A, Keilholz U, Max R, Thiel E, Scheibenbogen C (1999) Induction of tyrosinase-reactive T cells by treatment with dacarbazine, cisplatin, interferon-alpha +/- interleukin-2 in patients with metastatic melanoma. *Int J Cancer* 80: 39-43
60. Senzer NN, Kaufman HL, Amatruda T, Nemunaitis M, Reid T, Daniels G, Gonzalez R, Glaspy J, Whitman E, Harrington K, Goldsweig H, Marshall T, Love C, Coffin R, Nemunaitis JJ (2009) Phase II clinical trial of a granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-encoding, second-generation oncolytic herpesvirus in patients with unresectable metastatic melanoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 27: 5763-5771
61. Smith J, Thomas SK, Coffin RS, Latchman DS (2003) Examination of the potential interactions between herpes simplex virus vectors and replication-competent virus *in vitro* and *in vivo*. *Gene Therapy and Regulation* 2: 29-47
62. Smith JS, Robinson NJ (2002) Age-specific prevalence of infection with herpes simplex virus types 2 and 1: a global review. *The Journal of infectious diseases* 186 Suppl 1: S3- 28
63. Soiffer R, Lynch T, Mihm M, Jung K, Rhuda C, Schmollinger JC, Hodi FS, Liebster L, Lam P, Mentzer S, Singer S, Tanabe KK, Cosimi AB, Duda R, Sober A, Bhan A, Daley J, Neuberg D, Parry G, Rokovich J, Richards L, Drayer J, Berns A, Clift S, Cohen LK, Mulligan RC, Dranoff G (1998) Vaccination with irradiated autologous melanoma cells engineered to secrete human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor generates potent antitumor immunity in patients with metastatic melanoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95: 13141-13146
64. Spitler LE, Weber RW, Allen RE, Meyer J, Cruickshank S, Garbe E, Lin HY, Soong SJ (2009) Recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF, sargramostim) administered for 3 years as adjuvant therapy of stages II(T4), III, and IV melanoma. *J Immunother* 32: 632-637.
65. Wang L, Qi X, Sun Y, Liang L, Ju D (2002) Adenovirus-mediated combined P16 gene and GM-CSF gene therapy for the treatment of established tumor and induction of antitumor immunity. *Cancer Gene Ther* 9: 819-824.

66. Webre JM, Hill JM, Nolan NM, Clement C, McFerrin HE, Bhattacharjee PS, Hsia V, Neumann DM, Foster TP, Lukiw WJ, Thompson HW (2012) Rabbit and mouse models of HSV-1 latency, reactivation, and recurrent eye diseases. J Biomed Biotechnol. 2012; 2012:612316.
67. Weissenbock H, Hainfellner JA, Berger J, Kasper I and Budka H (1997). Naturally occurring herpes simplex encephalitis in a domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). Vet Pathol. 34(1):44-47.
68. WHO (2004) Laboratory Biosafety Manual, 3rd edn. Geneva, Switzerland: World Health Organization (WHO).
69. Wohlsein P, Thiele A, Fehr M, Haas L, Henneicke K, Petzold DR, Baumgartner W (2002) Spontaneous human herpes virus type 1 infection in a chinchilla (*Chinchilla lanigera f. dom.*). Acta Neuropathol. 104(6):674-678.
70. Wood, A., & Payne, D. (1998). The action of three antiseptics/disinfectants against enveloped and non-enveloped viruses. Journal of Hospital Infection, 38(4), 283-295

A CTNBio informa, que de acordo com o parágrafo 5º do artigo 38 do Regimento interno da Comissão Técnica Nacional de Biossegurança o manteve o sigilo do aprovado para as informações contidas nas páginas 49 a 112 do processo.

### **Parecer**

Ante aos dados apresentados pela proponente e a literatura consultada concluímos que esse microrganismo geneticamente modificado não oferece riscos ao meio ambiente, sendo tão seguro quanto seu equivalente convencional. 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 Laboratório Químico Farmacêutico Bérghamo Ltda. de liberação comercial do produto Talimogeno Laerparepeveque (OncoVEX<sup>GMCSF</sup>) para a finalidade de registro comercial do medicamento para imunoterapia tratamento de melanomas.



**DR. EDIVALDO DOMINGUES VELINI**  
Presidente da CTNBio