

MODELO DE RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE DISTINTOS DE LAS PLANTAS SUPERIORES DE ACUERDO CON EL ARTÍCULO 11 DE LA DIRECTIVA 2001/18/CE

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

a) Estado miembro de la notificación:	España
b) Número de la notificación:	B/ES/18/22
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	27-JUL-2018
d) Título del proyecto:	Combinación de Talimogén Laherparepvec con Atezolizumab en pacientes con cáncer de mama residual tras quimioterapia neoadyuvante (ENSAYO PROMETEO)
e) Período propuesto para la liberación:	1 de Octubre 2018 -31 Enero 2021

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa: SOLTI (promotor del estudio)
--

3. Definición de la OMG

a) Indíquese si el OMG es:	Viroide	<input type="checkbox"/>
	Virus ARN	<input type="checkbox"/>
	Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/>
	Bacteria	<input type="checkbox"/>
	Hongo	<input type="checkbox"/>
	Animal	<input type="checkbox"/>
	- mamíferos	<input type="checkbox"/>
	- insectos	<input type="checkbox"/>
	- peces	<input type="checkbox"/>
	- otro animal	<input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase
Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)		
b) Identidad del OMG (género y especie)	Género: Virus Simple	
	Especie: talimogen laherparepvec es un recombinante de la cepa JS1 del Virus del Herpes simple de tipo 1 (VHS-1) silvestre, con los genes ICP34.5 e ICP47 suprimidos y el hGM-CSF insertado	

c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:

En general, los virus de ADN poseen una mayor estabilidad genética que los virus de ARN. En primer lugar, el ADN es termodinámicamente más estable que el ARN; en segundo lugar, la replicación del ADN es un proceso mucho menos propenso a errores que la replicación del ARN; y en tercer lugar, existen más mecanismos en la célula huésped para reparar errores en el ADN que en el ARN.

La tasa de mutación global para el VHS-1 silvestre es baja y se ha estimado que es de $1,8 \times 10^{-8}$ mutaciones por nucleótido, por replicación genómica (Duffy et al., 2008). Se espera que talimogen laherparepvec tenga la misma estabilidad genética in vivo que el VHS-1 silvestre. Se ha demostrado la estabilidad genética de talimogen laherparepvec en aislamiento (es decir, en ausencia de una cepa coinfectante diferente de VHS-1) y se sigue controlando. La posibilidad de crear variantes genéticas estables con características imprevistas también se minimiza gracias al diseño de la construcción genética de talimogen laherparepvec.

No obstante, la recombinación genómica homóloga puede producirse de forma espontánea en la naturaleza entre los genomas virales de las cepas del VHS-1. Para que esto ocurra, es necesario que una célula (humana) sea infectada simultáneamente por dos cepas distintas.

Existe la evidencia de que esto puede ser un hecho común en infecciones naturales con virus silvestres (Bowden et al, 2004, Norberg et al, 2006).

Sin embargo, todas las cepas del virus VHS-1 que han sido investigadas y que se considera que ha evolucionado potencialmente por este mecanismo se mantuvieron reconocibles como VHS-1 en sus características familiares y patogenicidad.

4. Tiene previsto el mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad (de acuerdo con el apartado 1 del artículo 6)?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo: - Estado miembro de la notificación: - Número de la notificación:	

5. Ha notificado ese mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indique el código del país:	
Estado Miembro de la notificación	BE
Número de la Notificación	B/BE/15/BVW1 (study 265) B/BE/15/BVW2 (study 232) B/BE/17/BVW2 (study 299) B/BE/14/BVW1 (study 325)

Estado Miembro de la notificacion Número de la Notificacion	FR B/FR/15/GT06 (study 325) B/FR/15/GT07 (study 266) B/FR/15/GT01 (study 264)
Estado Miembro de la notificacion Número de la Notificacion	DE B/DE/14/PEI2133 (study 264) B/DE/14/PEI2194 (study 325) B/DE/16/PEI2623 (study 232) B/DE/17/PEI3191 (study 299) B/DE/16/PEI2468 (study 265)
Estado Miembro de la notificacion Número de la Notificacion	ES B/ES/15/04 (study 328) B/ES/14/08 (study 266) B/ES/14/05 (study 325) B/ES/14/06 (study 265) B/ES/16/01 (study 261) B/ES/15/14 (study 232) B/ES/15/07 (study 318)
Estado Miembro de la notificacion Número de la Notificacion	GR Pendiente de Confirmacion
Estado Miembro de la notificacion Número de la Notificacion	HU B/HU/14/01 (325)
Estado Miembro de la notificacion Número de la Notificacion	NL Pendiente de Confirmacion
Estado Miembro de la notificacion Número de la Notificacion	SE B/SE/14/ EU-2014-000185-22 (study 265)
Estado Miembro de la notificacion Número de la Notificacion	AT (CU) Pendiente de Confirmacion
Estado Miembro de la notificacion Número de la Notificacion	IT (CU) Pendiente de Confirmacion
Estado Miembro de la notificacion Número de la Notificacion	PL (CU) Pendiente de Confirmacion
Estado Miembro de la notificacion Número de la Notificacion	GB (CU) Pendiente de Confirmacion
Estado Miembro de la notificacion Número de la Notificacion	PT B/PT/16/03 (265) B/PT/16/01 (232)

6. Ha notificado el mismo notificador u otro la liberación o comercialización de ese mismo OMG fuera de la Comunidad?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
--	-----------------------------

En caso afirmativo:	
Estado miembro de la notificación:	EEUU
Número de la notificación:	IND 12412
Estado miembro de la notificación:	Canadá
Número de la notificación:	EAU-741
Estado miembro de la notificación:	Sudáfrica
Número de la notificación:	39.4 (2/11/314-5)
Estado miembro de la notificación:	Sudáfrica
Número de la notificación:	39.4 (2/11/314-5)
Estado miembro de la notificación:	Suiza
Número de la notificación:	Pendiente de Confirmación

7. Resumen del impacto ambiental potencial de la liberación de los OMG

El VHS-1 silvestre es un patógeno humano que se sabe que no está implicado en procesos ambientales. No respira y no interviene en los procesos de producción o descomposición primarios. En su forma de virión, no muestra ninguna actividad metabólica. No existen vectores indígenas conocidos del VHS-1, distintos de los seres humanos. No se ha notificado la presencia de elementos genéticos móviles naturales como provirus, transposones o plásmidos relacionados con el VHS -1. Las modificaciones genéticas realizadas para producir talimogen lahreparepvec no afectan a su impacto ambiental.

B. Información sobre el organismo receptor o sobre los organismos parentales de los que se deriva el OMG

1. Identificación del organismo receptor o parental

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es:

- Viroide
- Virus ARN
- Virus ADN
- Bacteria
- Hongo
- Animal
- mamíferos

- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase)
Otros, (especifíquense):	

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): Herpesvirales
ii) Género: Virus Simple
iii) Especie: Virus del herpes simple de tipo 1 (VHS-1)
iv) Subespecie:---
v) Cepa: JS1 (número de entrada de la ECACC 01010209)
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.):
vii) Nombre vulgar: VHS-1

3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:
Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>
b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:
i) Sí <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:
Atlántico <input checked="" type="checkbox"/>
Mediterráneo <input checked="" type="checkbox"/>

Boreal	<input checked="" type="checkbox"/>
Alpino	<input checked="" type="checkbox"/>
Continental	<input checked="" type="checkbox"/>
Macaronésico	<input checked="" type="checkbox"/>
ii) No	<input type="checkbox"/>
iii) No se sabe	<input type="checkbox"/>
c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:	
Agua	<input type="checkbox"/>
Suelo, en libertad	<input type="checkbox"/>
Suelo, en simbiosis radiculares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con animales	<input type="checkbox"/>
Otros, (especifíquense):	
<p>Los seres humanos son los únicos huéspedes naturales para las infecciones por el VHS-1; Una infección no humana es rara, pero se ha comunicado en varias especies incluyendo roedores, conejos, erizos y primates no humanos, infección por VHS-1. En los informes de los casos disponibles, la infección se produjo posteriormente al contacto cercano con humanos que propagan el virus activamente.</p>	
b) Si es un animal, hábitat natural o ecosistema agrícola habitual:	
No procede	

5.a) Técnicas de detección

El diagnóstico de la infección por VHS-1 normalmente se realiza a partir de la aparición de lesiones y de los antecedentes del paciente. No obstante, si el patrón clínico de las lesiones no es específico del VHS, su diagnóstico se puede realizar mediante cultivo vírico, reacción en cadena de la polimerasa (PCR), detección de antígeno vírico, prueba de Tzanck o serología.

5.b) Técnicas de identificación

Consulte la sección 5(a). La PCR es el método más sensible para identificar el VHS-1 (especificidad del 99% para VHS-1; Whitley et al, 1998).

6. Está clasificado el organismo receptor con arreglo a las normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese:	
El virus del herpes simple tipo 1 silvestre se clasifica en el Grupo de riesgo 2 en la Unión Europea (UE) de conformidad con la Directiva 2000/54/CE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. Un agente biológico del grupo de riesgo 2 se define en la UE como "uno agente patógeno que pueda causar una enfermedad en el hombre y pueda suponer un peligro para los trabajadores; es poco probable que se propague a la colectividad; existen generalmente una profilaxis o un tratamiento eficaces".	

7. ¿Es el organismo receptor, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:		
humanos	<input checked="" type="checkbox"/>	
animales	<input type="checkbox"/>	
plantas	<input type="checkbox"/>	
otros	<input type="checkbox"/>	

b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.

Los seres humanos son los únicos huéspedes naturales para las infecciones por el VHS-1; Una infección no humana es rara, pero se ha comunicado en varias especies incluyendo roedores, conejos, erizos y primates no humanos, infección por VHS-1. En los informes de los casos disponibles, la infección se produjo posteriormente al contacto cercano con humanos que propagan el virus activamente.

El período de incubación de la infección bucolabial por VHS-1 dura de 2 a 12 días, con un promedio de 4 días (Miller y Dummer, 2007). Se pueden producir las siguientes condiciones mediadas por el VHS-1 silvestre: herpes labial/úlceras bucales; panadizo herpético; infecciones oculares; encefalitis; herpes genital.

El VHS-1 también viaja hasta los ganglios sensoriales, donde se establece la latencia. Las infecciones orales por VHS-1 se reactivan a partir de los ganglios sensoriales del trigémino y afectan a las mucosas faciales, orales, labiales, orofaríngeas y oculares (Usatine y Tinitigan, 2010).

Las infecciones recurrentes pueden aparecer por varios estímulos, como estrés, fiebre, exposición a la luz solar, temperaturas extremas, radiación ultravioleta, inmunosupresión o traumatismos. El virus permanece latente durante un tiempo variable. Cuando se reactiva, en general la duración de los síntomas es más corta y los síntomas son menos graves (Usatine y Tinitigan, 2010).

La infección neonatal por VHS causa una morbilidad y una mortalidad significativas a pesar de los significativos avances en el tratamiento (revisado en Kimberlin, 2004; Thompson y Whitley, 2011). Las infecciones por VHS en recién nacidos se pueden clasificar en tres patrones que se dan con prácticamente la misma frecuencia:

enfermedad diseminada por distintos órganos viscerales como pulmones, hígado, glándulas suprarrenales, piel, ojos y cerebro; *enfermedad del sistema nervioso central* (SNC), con o sin lesiones cutáneas; y *enfermedad limitada a la piel, los ojos y/o la boca*. Con el uso de altas dosis de aciclovir la mortalidad a 12 meses se ha reducido al 29% para la enfermedad neonatal por VHS diseminada y al 4% para las enfermedades del SNC por VHS (revisado en Kimberlin, 2004; Thompson & Whitley, 2011). La mayoría de las infecciones neonatales por VHS están causadas por el VHS-2, pero se cree que entre el

15 y el 30% aproximadamente están causadas por el virus del herpes simple neonatal VHS-1 (Rudnick y Hoekzema, 2002).

En los huéspedes inmunodeprimidos, incluyendo aquellos con infección por VIH, la enfermedad por VHS puede ser particularmente severa, resultando en una infección crónica, persistente, activa y, en algunos casos, que ponga en peligro la vida (Stewart et al., 1995). Los pacientes inmunodeprimidos, especialmente aquellos con inmunidad de las células T deteriorada, desarrollan lesiones graves que persisten más tiempo que en los huéspedes normales; estas lesiones pueden progresar a enfermedad visceral. Como resultado, casi todos los ejemplos de complicaciones graves de las infecciones por VHS silvestre en humanos se producen en individuos inmunodeprimidos. En estos casos, el sistema inmunitario no puede controlar la infección y esta se disemina. Los individuos inmunodeprimidos susceptibles son los pacientes que reciben terapia citotóxica, los receptores de trasplantes y los pacientes con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (revisado en Brady y Bernstein, 2004).

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: El VHS-1 no persiste en ecosistemas naturales, por lo que depende de un organismo huésped para replicarse de forma asexual durante un corto ciclo reproductivo (~ 18 h).
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: No se produce replicación fuera del organismo huésped (humano) y se sabe que no infecta a otras especies que no sean la humana en circunstancias naturales.
c) Modo de reproducción Sexual <input type="checkbox"/> Asexual <input checked="" type="checkbox"/>
d) Factores que afectan a la reproducción: Consulte el apartado 8(a)

9. Capacidad de supervivencia

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo	
(i) endosporas	<input type="checkbox"/>
(ii) quistes	<input type="checkbox"/>
(iii) esclerocios	<input type="checkbox"/>
(iv) esporas asexuales(hongos)	<input type="checkbox"/>
(v) esporas sexuales (hongos)	<input type="checkbox"/>
(vi) huevos	<input type="checkbox"/>
(vii) pupas	<input type="checkbox"/>
(viii) larvas	<input type="checkbox"/>
(ix) otras (especifíquense)	No procede

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

El VHS-1 silvestre sobrevive en el medio ambiente como una infección persistente en las especies huésped (humanos) o como una infección latente en el núcleo de algunas células infectadas (principalmente las neuronas del ganglio del trigémino), donde puede permanecer inactivo indefinidamente, o bien reactivarse dando lugar a la secreción de virus y a veces (aunque no siempre) a síntomas clínicos.

Fuera del huésped, el VHS-1 es un virus envuelto que es sensible y que se inactiva rápidamente mediante inactivación física (deshidratación, calor, pH bajo) y con desinfectantes (disolventes lipídicos y detergentes suaves). No forma estructuras de supervivencia y su supervivencia fuera del organismo huésped se limita a cortos períodos de tiempo (Chayavichitsilp et al, 2009).

10.a) Vías de diseminación

El modo de transmisión del VHS-1 silvestres a través del contacto directo con secreciones infectadas o membranas mucosas/piel con lesiones de un paciente asintomático o sintomático que esté propagando el virus (Jerome y Morrow 2007, Chayavichitsilp 2009, Whitley 2006). El VHS-1 también puede transmitir a través de gotitas respiratorias (Whitley 2006).

10.b) Factores que afectan a la diseminación

Consultar el apartado 10(a)

11. Modificaciones genéticas previas del organismo receptor o parental de las que ya se ha notificado la liberación en el país notificador (se darán los números de la notificación)

La cepa parental del VHS-1 utilizada en la construcción de talimogen laherparepvec se denominó JS1. Esta cepa era un nueva cepa aislada extraída de un individuo sano y posteriormente depositada (Número de entrada en la ECACC 01010209). No existen modificaciones genéticas anteriores de esta cepa VHS-1.

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

i) Inserción de material genético

ii) Eliminación de material genético

iii) Sustitución de una base

iv) Fusión celular

v) Otro (especifíquese)

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

El resultado que se pretende obtener con la modificación es suprimir funcionalmente las dos copias del gen ICP34.5 y el gen ICP47 del esqueleto vírico del VHS-1 silvestre (cepa JS1) e insertar un casete de expresión que codifica el gen del factor estimulante de las colonias de granulocitos y macrófagos humanos (hGM-CSF) en ambas regiones del gen ICP34.5. La estrategia terapéutica prevista es producir un efecto oncolítico directo mediante la replicación del virus dentro del tumor, y la inducción de una respuesta inmune antitumoral, mejorada por la expresión local del hGM-CSF.

3.a) ¿Se ha usado un vector en el proceso de modificación?

Sí

No

No existe ningún vector genético móvil en talimogen laherparepvec. Se utilizaron vectores transportadores (plásmidos) para construir el virus recombinante, que posteriormente se purificó en placa.

En caso negativo, pase a la pregunta 5.

3.b) En caso afirmativo, ¿está presente el vector, total o parcialmente, en el organismo modificado?

Sí

No

En caso negativo, pase a la pregunta 5

4. Si ha contestado afirmativamente a la pregunta 3 b), aporte la información siguiente

a) Tipo de vector	
plásmido	<input type="checkbox"/>
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	
b) Identidad del vector:	
c) Gama de organismos huéspedes del vector:	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Resistencia a los antibióticos	<input type="checkbox"/>
Otras, (especifíquense)	
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:	
e) Fragmentos constituyentes del vector	
f) Método de introducción del vector en el organismo receptor	
i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) electroporación	<input type="checkbox"/>
iii) macroinyección	<input type="checkbox"/>
iv) microinyección	<input type="checkbox"/>
v) infección	<input type="checkbox"/>

vi) otros, (especifíquense)

5. Si las repuestas a C. 3) a) y b) son negativas, ¿qué método se siguió en el proceso de modificación?

i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) microinyección	<input type="checkbox"/>
iii) macroencapsulación	<input type="checkbox"/>
iv) macroinyección	<input type="checkbox"/>
v) otros, (especifíquense)	Recombinación Homologa

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:	
El casete de expresión del hGM-CSF contiene un promotor inmediato-temprano del citomegalovirus humano (hCMV IE), el gen del hGM-CSF y una señal de poliadenilación de hormona de crecimiento bovino (bGH poliA)	
b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:	
La secuencia del promotor hCMV IE se derivó de pcDNA3, un plásmido comercial de Invitrogen. Se obtuvo un clon IMAGE del gen hGM-CSF del Human Genome Mapping Project Resource Center (HGMP), Reino Unido. La señal de bGH poliA se derivó de pcDNA3, un plásmido comercial de Invitrogen.	
c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG	
El promotor del hCMV se utiliza para activar la expresión del gen hGM-CSF. hGM-CSF aumenta la respuesta inmune a antígenos tumorales liberados, ya que ayuda a la diferenciación y a la proliferación de precursores de células dendríticas dentro y alrededor del tumor inyectado. La señal de bGH poliA facilita el transporte y la estabilidad del ARNm del hGM-CSF.	
d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:	
- en un plásmido libre	<input type="checkbox"/>
- integrado en el cromosoma	<input type="checkbox"/>
- Otros especifíquense):	Integrado en el genoma del VHS-1

e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?

Sí No

En caso afirmativo, especifíquese:

D. Información sobre el organismo u organismos de los que se deriva el fragmento de inserción (donante)

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input checked="" type="checkbox"/> Humanos
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase):
Otros (especifíquense)	

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales):	Primate
ii) Familia (plantas):	
iii) Género:	Homo
iv) Especie:	Homo Sapiens
v) Subespecie:	Homo Sapiens Sapiens

vi) Cepa:	
vii) Cultivar/línea de reproducción:	
viii) Patovar:	
ix) Nombre vulgar:	Humanos

3. ¿Es el organismo vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese		
(a) ¿para cuál de los organismos siguientes?	Humanos <input type="checkbox"/>	
No aplica	animales <input type="checkbox"/>	
	plantas <input type="checkbox"/>	
	otros <input type="checkbox"/>	
(b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del Anexo III A:		

4. ¿Está clasificado el organismo donante con arreglo a normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente como, por ejemplo, la Directiva 90/679/ CEE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese:	

5. ¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
-----------------------------	--	-------------------------------------

E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

1. Rasgos genéticos y características fenotípicas del organismo receptor o parental que hayan sufrido algún cambio como resultado de la modificación genética

<p>a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere? Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese</p>
<p>b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción? Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p> <p>La proteína ICP34.5 del VHS-1 normalmente fomenta la neurovirulencia por la superación de las vías de defensa del huésped y permitiendo que el virus se replique en células no divisibles como las neuronas. Ambas copias de ICP34.5 se suprimen funcionalmente de talimogen laherparepvec para evitar que el virus se replique de forma eficaz en células que no se están dividiendo.</p>
<p>c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación? Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p> <p>La supresión funcional del ICP34.5 en talimogen laherparepvec reduce significativamente la capacidad del virus de replicarse en células que no se están dividiendo.</p>
<p>d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad? Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p> <p>La supresión funcional del ICP34.5 en talimogen laherparepvec reduce significativamente la virulencia en comparación con el VHS-1 silvestre. Por tanto, talimogen laherparepvec se atenúa significativamente en las células normales. Por consiguiente, la toxicidad mediada por virus es probable que sea mínima.</p> <p>Las cepas de HSV-1 que carecen de ICP34.5 se han utilizado ampliamente sin incidentes y se ha encontrado que no son patógenas en una variedad de modelos animales y también en varios ensayos clínicos en humanos.</p>

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

Se espera que talimogen laherparepvec tenga la misma estabilidad genética que el VHS-1 silvestre, es decir, que sea estable en aislamiento pero que tenga un potencial de recombinación similar al de otros virus del VHS-1 si infectan simultáneamente la misma célula (humana).

Se ha demostrado la estabilidad genética de talimogen laherparepvec en aislamiento (es decir, en ausencia de una cepa coinfectante diferente del VHS-1) y se sigue investigando.

Una variante genética de aparición espontánea de talimogen laherparepvec requeriría un acontecimiento de recombinación inicial que llevara a crear una variante genética propia. Es poco probable que un virus silvestre se encuentre en el mismo tejido que talimogen laherparepvec en los sujetos, ya que este último se inyecta directamente en las células tumorales y no puede propagarse eficazmente por el tejido normal, mientras que el VHS-1 preexistente se encuentra en los tejidos de la mucosa o en los ganglios neuronales del paciente. La posibilidad de crear variantes genéticas estables con características imprevistas también se minimiza gracias al diseño de la construcción genética de talimogen laherparepvec.

3. ¿Es el OMG, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?		
	humanos	<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A		

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG en el medio ambiente:

Las mismas técnicas utilizadas para detectar el organismo parental se pueden usar para detectar talimogen laherparepvec.

El cultivo vírico (ensayo con placas, Dulbecco, 1952) es rutinariamente usado para detectar talimogen laherparepvec en hisopos u otras muestras, aunque este ensayo

solo detecta virus vivos y no distingue entre talimogen laherparepvec y el VHS-1 silvestre.

Se ha desarrollado un ensayo PCR cuantitativa o en tiempo real (qPCR) que se puede utilizar para detectar específicamente talimogen laherparepvec.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

En el ensayo clínico se utilizará el análisis por qPCR para la detección e identificación de Talimogen Laherparepvec en muestras humanas especificadas.

F. Información sobre la liberación

1. Finalidad de la liberación (incluido todo beneficio ambiental potencial significativo esperado)

El objetivo de la liberación es evaluar la eficacia de Talimogen Laherparepvec con atezolizumab comparando la expresión de un gen sigma rastreando células T CD8 activadas en cirugía con enfermedad residual después de quimioterapia neoadyuvante (QNA) en mujeres pre y posmenopáusicas con cáncer de mama primario resecable y presencia de enfermedad residual después de la quimioterapia neoadyuvante. (protocolo SOLTI 1503 PROMETEO).

2. ¿Es diferente el lugar de liberación del hábitat natural o del ecosistema en el que se utiliza, se mantiene o se encuentra regularmente el organismo receptor o parental?

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese:

El sitio de liberación será en las instalaciones médicas aprobadas para llevar a cabo el ensayo clínico.

3. Información relativa a la liberación y a la zona circundante

a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):

- Nombre del Centro

- Dirección

Hopital Universitario de la Vall d' Hebrón

Passeig de la Vall d'Hebron,
119-129, 08035 Barcelona

Hospital Clínico universitario de Valencia

Av.de Blasco Ibáñez, 17, 46010
Valencia

Hospital Clínic de Barcelona

C/ Villarroel, 170, 08036
Barcelona

Hospital HM Universitario Sanchinarro
(CIOCC)

C/ Oña, 10, 28050 Madrid

b) Área del lugar (m²):

(i) lugar real de la liberación (m²):

(ii) área de liberación más amplia (m²):

El tamaño de cada centro variará, pero es importante tener en cuenta que la contaminación del centro en el que se realiza la administración sea mínima, siempre que adopten las precauciones adecuadas.

c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:

Dada la naturaleza de la administración del producto directamente en los tumores del sujeto, y los procedimientos para el tratamiento de residuos, se prevé que la exposición a biotipos significativos, áreas protegidas y suministros de agua potable sea mínima. Dado que el organismo parental es un patógeno imprescindible de humanos sin un vector conocido, la proximidad a otros biotipos no es una preocupación. Las modificaciones genéticas realizadas al virus parental durante la construcción de talimogen laherparepvec no afectan a la especificidad por el huésped.

La estabilidad del talimogen laherparepvec en el medio ambiente tampoco difiere con la del VHS-1 silvestre, y perderá rápidamente la viabilidad fuera de las especies objetivo.

d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:

Dado que el organismo parental es un patógeno imprescindible de humanos sin un vector conocido, la proximidad a otra flora y fauna no supone un problema.

4. Método y amplitud de la liberación

a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse:

Se suministrarán viales con 1.15 mL de talimogen laherparepvec a las farmacias de los centros del estudio en dos concentraciones: 10⁶ PFU/mL o 10⁸ PFU/mL. El volumen máximo de talimogen laherparepvec administrado a cualquier dosis es de hasta 4.0 ml para cualquier lesión individual. La dosis máxima para cualquier tratamiento individual es de hasta 4.0 mL.

b) Duración de la operación:

Se espera que el procedimiento de administración completo desde la preparación de la dosificación en la jeringa hasta realización de la inyección lleve unas 2 horas.

(b) Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación:

Todo el personal involucrado en el centro del estudio será formado en las mejores prácticas de bioseguridad que apliquen para el almacenamiento y durante la

preparación en la farmacia, transporte al lugar de la administración, precauciones durante la administración y eliminación de cualquier deshecho biológico. Dicha información incluye, entre otros, llevar una vestimenta adaptada y protectora, guantes y gafas, la permanente existencia de un equipo de derrame y descontaminación de desechos antes de la eliminación.

Talimogen laherparepvec será suministrará directamente al centro del estudio y se crearán registros/trazabilidad adecuados y se realizarán seguimientos de los envíos de acuerdo con las normas de buena práctica clínica (BPC).

5. Descripción resumida de las condiciones ambientales medias (clima, temperatura, etc.)

Las condiciones medioambientales que pueden afectar a la supervivencia de talimogen laherparepvec fuera del huésped, son la temperatura, el pH y la humedad ambiental, así como para el VHS-1 silvestre.

6. Datos pertinentes sobre liberaciones anteriores del mismo OMG. si los hubiera, específicamente relacionados a las repercusiones potenciales de la liberación en el medio ambiente y la salud humana

La biodistribución y la eliminación del talimogen laherparepvec administrado por vía intralesional están siendo investigado en un estudio de melanoma. Los resultados de 60 pacientes muestran que el ADN de talimogen laherparepvec se detectó a concentraciones transitorias y bajas en sangre en el 98% de los pacientes y en la orina en el 32% de los pacientes en el estudio. Se detectó ADN de Talimogen laherparepvec en hisopos de lesiones inyectadas en el 100% de los pacientes. Sin embargo, solo el 12% de los pacientes dieron positivo para el virus infeccioso mediante el ensayo TCID50, todo dentro de los 8 días de la administración del tratamiento. Diecinueve por ciento de las muestras del exterior del vendaje cerrado dieron positivo para ADN de talimogen laherparepvec, pero ninguna dio positivo para detectar la presencia de virus infeccioso. Entre las muestras de mucosa oral, solo el 1% de la muestra tenía ADN de talimogen laherparepvec detectable durante el estudio, pero las muestras no presentaron resultados positivos para la presencia de virus infeccioso. Ninguna muestra de la mucosa oral o región anogenital tenía ADN de talimogen laherparepvec detectable después del final del tratamiento.

Basándonos en el nivel bajo de propagación del virus observado y en la naturaleza atenuada del talimogen laherparepvec, la probabilidad de una infección persistente o sistémica de los contactos personales de los pacientes y del personal sanitario es considerada baja. Si esto ocurriera, no se espera que ninguna manifestación clínica significativa sea evidente ya que no se han observado los efectos en el tejido no tumoral en pacientes tratados con talimogen laherparepvec.

G. Interacciones del OMG con el medio ambiente y repercusiones potenciales sobre este, si es apreciablemente diferente del organismo receptor o parental

1. Nombre del organismo objeto de investigación (si procede)

i) Orden y taxón superior (animales):	Primate
ii) Familia (plantas):	---
iii) Género:	Homo
iv) Especie:	Homo Sapiens
v) Subespecies:	Homo Sapiens Sapiens
vi) Cepa:	
vii) Cultivar/Línea de reproducción:	
viii) Patovar:	
ix) Nombre vulgar:	Humanos

2. Mecanismo previsto y resultado de la interacción entre los OMG liberados y el organismo diana (si procede)

Talimogen laherparepvec ha sido diseñado para replicarse selectivamente en tumores, matar las células tumorales mediante lisis vírica y posteriormente propagarse por el tumor y llevar a cabo la lisis de las células tumorales. Además, la oncolisis de las células tumorales mediante talimogen laherparepvec también libera y expone una gran variedad de antígenos para iniciar una respuesta inmune sistémica, lo que aumenta con la expresión de una proteína estimuladora inmune, el hGM-CSF del virus. Se prevé que los antígenos tumorales liberados sean captados por las células presentadoras de antígeno (CPA), que los conducirán hasta los ganglios linfáticos y estarán presentes en las células T, lo que induce una respuesta inmune. El hGM-CSF aumenta la actividad de las CPA y mejora las respuestas inmunes. Está previsto que esta respuesta inmune proporcione un efecto antitumoral sistémico, como la reducción de los tumores que no entran en contacto directo con talimogen laherparepvec, la reducción de la enfermedad micrometastásica y la protección contra futuras recaídas.

3. Otras interacciones potencialmente significativas con otros organismos en el medio ambiente

Talimogen laherparepvec es una versión atenuada del VHS-1, modificada para que la replicación se produzca de forma selectiva en las células tumorales de la población humana objetivo, por lo que es autolimitante. Al igual que con el VHS-1 silvestre, no se sabe si coloniza otras especies ni si existen otras especies conocidas que sean portadoras o vectores en condiciones naturales. Existe un gran número de publicaciones científicas en las que se recoge que los virus VHS-1 en los que se ha eliminado ICP34.5 no son patógenos para animales y humanos.

4. ¿Es probable que se dé una selección posterior a la liberación del OMG como, por ejemplo, una competencia mayor? un carácter más invasivo, etc.?

Sí	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe
----	--	------------

Especifíquese:

Talimogen laherparepvec se ha modificado para que la replicación se produzca de forma selectiva en células tumorales de la población humana objetivo, por lo que es autolimitante.

5. Tipos de ecosistemas a los que puede extenderse el OMG desde el lugar de liberación y en los cuales puede quedar establecido

No se espera que se vean afectados ecosistemas y hábitats debido a la naturaleza humana obligada del virus y la rápida inactivación del mismo fuera de los huéspedes.

6. Nombre completo de los organismos que no son el organismo diana, pero que (teniendo en cuenta la naturaleza del medio ambiente receptor) pueden sufrir accidentalmente daños importantes por la liberación del OMG

i) Orden y taxón superior (animales):

ii) Familia (plantas):

iii) Género:

iv) Especie:

v) Subespecie:

vi) Cepa:

vii) Cultivar/línea de reproducción:

viii) Patovar

ix) Nombre vulgar:

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:

Los seres humanos son los únicos huéspedes naturales para las infecciones por el VHS-1 silvestre. No se prevé la transferencia a ningún otro organismo.

Hasta la fecha, no se han realizado estudios que evalúen el potencial genotóxico (o mutagénico) o carcinogénico del talimogen laherparepvec. Sin embargo, el HSV-1 es un virus no integrativo, lo que supone un bajo riesgo de mutagénesis insercional, y los estudios epidemiológicos no han asociado la infección por HSV-1 con un riesgo carcinogénico identificado en humanos a pesar de una infección endémica amplia. El potencial carcinogénico del talimogen laherparepvec en animales de laboratorio, si hay, es desconocido.

b) De otros organismos al OMG:

Altamente improbable. Consulte la sección G.7 (a) anterior.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

El diseño de la construcción genética de talimogen laherparepvec es tal que el gen insertado se ubica en la región de las deleciones ICP 34.5. Por lo tanto, la restauración de ICP34.5 provocará una eliminación simultánea de la inserción de

hGM-CSF (y viceversa). Se considera que cualquier producto estable (homocigoto) producido de esta manera no representará un peligro mayor que la coinfección de VHS-1 silvestre en sí misma.

8. Referencias de los resultados pertinentes (si los hay) de estudios sobre el comportamiento y las características del OMG sobre su repercusión ecológica llevados a cabo en ambientes naturales simulados (por ejemplo, microcosmos, etc.)

Talimogen laherparepvec es una versión atenuada del VHS-1 silvestre. Las modificaciones genéticas no afectan a su gama de huéspedes natural, que está restringida a los seres humanos.

No se han llevado a cabo estudios específicos sobre la transmisión del talimogen laherparepvec entre seres humanos, ya que estos estudios no serían éticos.

9. Posibles interacciones ambientalmente significativas con procesos biogeoquímicos (si son diferentes del organismo receptor o parental)

No se conocen o se han previsto.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

El control de los efectos directos e indirectos del talimogen laherparepvec en los sujetos se logrará mediante las evaluaciones clínicas definidas en el protocolo del ensayo clínico. Los investigadores del estudio supervisarán a los sujetos durante el tratamiento e informarán los eventos adversos a SOLTI, al responsable de farmacovigilancia (Dynamic Solutions) y a Amgen (Fabricante) de acuerdo con los requisitos estipulados en el protocolo.

Amgen llevará a cabo un programa de vigilancia para ayudar a la evaluación de cualquier riesgo potencial para terceros de sujetos que sigan el tratamiento con talimogen laherparepvec.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

Como los seres humanos son los únicos huéspedes naturales para las infecciones por el VHS-1 silvestre, se propone no hacer más seguimiento de los efectos del ecosistema.

3. Métodos de detección de la transferencia del material genético donado del OMG a otros organismos

Consulte el apartado E.4

4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

No procede

5. Duración del seguimiento

Se realizará un seguimiento mientras el sujeto participe en el estudio, incluido un período de seguimiento de seguridad, tal como se define en el protocolo del estudio, tras la interrupción permanente del estudio

6. Frecuencia del seguimiento

Se realizarán evaluaciones clínicas de acuerdo con el programa predefinido que se detalla en el protocolo del estudio. En cada visita, se debe preguntar al sujeto si conoce cualquier posible exposición o acontecimiento que se haya podido producir entre sus contactos cercanos.

El investigador es el responsable de garantizar que todos los SAE (Acontecimientos adversos graves) y AE (Acontecimientos Adversos) observados por él o notificados por el sujeto que se produzcan después de firma el consentimiento informado hasta un período predefinido posterior a la última dosis de la medicación del estudio se registrarán en la historia clínica del sujeto y se envíen al responsable de farmacovigilancia (Dynamic Solutions) y a SOLTI. Cualquier SAE debe enviarse a SOLTI dentro de las 24 horas desde que el investigador tenga conocimiento del acontecimiento.

I. Información sobre el tratamiento posliberación y el tratamiento de residuos

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

No será necesario tratar las instalaciones del centro del estudio después de su uso, siempre que se sigan las precauciones de manipulación recomendadas al administrar el producto o en caso de derramamientos y roturas accidentales. Sin embargo, las superficies de trabajo deben descontaminarse con un desinfectante químico con capacidad viricida tras la preparación y la administración de talimogen laherparepvec

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Consulte el apartado I.3. (b).

3(a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Los residuos generados por la administración intralesional de talimogen laherparepvec se limitan a:

- Viales y agujas usadas
- Hisopos y elementos utilizados para limpiar la zona de inyección.
- Vendajes usados aplicados a las zonas de inyección.
- Equipo de protección personal utilizado en el punto de administración y al reemplazar o retirar el apósito utilizado.

Los viales con 1,15 ml de talimogen laherparepvec suministrados a las farmacias se proporcionarán en dos concentraciones; 10^6 PFU/mL o 10^8 PFU/mL.

La dosis máxima total para un paciente individual es de hasta 5 ml (o 4 viales) por tratamiento, con una duración total del tratamiento de 11 semanas (5 dosis) por sujeto.

Cada administración generará los residuos máximos posibles mencionados más arriba.

3(b) Tratamiento de residuos

Talimogen laherparepvec es sensible a la inactivación por una gran variedad de métodos físicos y químicos habitualmente disponibles (consulte el apartado F.4.(c)). Como talimogen laherparepvec se administrará en un centro médico, todos los residuos asociados se deberán desechar de acuerdo a los procedimientos de seguridad de los centros participantes y las instrucciones facilitadas por el fabricante y el promotor del ensayo.

El folleto informativo que se proporciona a cada sujeto indica que los apósitos sucios deben desecharse a través del hospital del estudio en su próxima visita programada. Se proporcionan al sujeto más vendajes, guantes desechables y bolsas con cierre e instrucciones específicas que se deben seguir para minimizar el riesgo de exposición accidental en el medio ambiente.

J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia

1. Métodos y procedimientos de control de la diseminación del OMG o de los OMG en caso de dispersión imprevista

El único organismo que puede actuar como un mecanismo de propagación de talimogen laherparepvec son los seres humanos, ya que el organismo parental es patógeno específico de los seres humanos y es no zoonótico en condiciones naturales.

En el caso poco probable de que talimogen laherparepvec se transmita a un receptor

humano no deseado, el paciente afectado puede tratarse con antivíricos aprobados, como aciclovir, si está clínicamente indicado para aliviar los síntomas de la infección primaria y las posibles recurrencias (si se considera necesario). Se pueden mitigar nuevas propagaciones del virus con materiales educativos que permitan tomar conciencia de la infección y conocer las medidas de prevención que se pueden adoptar para prevenir la transmisión a las personas cercanas. Cualquier propagación de talimogen laherparepvec a receptores humanos no deseados es probable que se limite a casos aislados. El riesgo de infección generalizada se considera insignificante.

2. Métodos de eliminación del OMG o de los OMG de las áreas potencialmente afectadas

Talimogen laherparepvec no puede persistir fuera de su organismo huésped durante largos períodos de tiempo ni mantener su viabilidad. Como es sensible incluso en condiciones relativamente adversas, se considera muy poco probable que se produzca una propagación en el medio ambiente a través de fómites, y talimogen laherparepvec rápidamente dejaría de ser viable en las condiciones predominantes.

En el caso de una exposición accidental laboral por salpicadura a los ojos o membranas mucosas, enjuagar con agua limpia al menos 15 minutos. En el caso de exposición a heridas abiertas o pinchazos de aguja, limpiar la zona a fondo con jabón y agua y/o un desinfectante como hipoclorito de sodio 1% o Virkon®. Los vertidos deben ser tratados con un agente viricida y absorbente.

Se pueden descontaminar las zonas que ha frecuentado un paciente recién tratado (su hogar o la sala de tratamiento) aplicando desinfectantes químicos con capacidad viricida a las áreas con las que haya podido entrar en contacto.

3. Métodos de eliminación o saneamiento de plantas, animales, suelos, etc. que pudieran ser expuestos al organismo durante la dispersión o después de la misma

No se espera la descontaminación de plantas, animales (no-humanos) y terrenos

4. Planes de protección de la salud humana y del medio ambiente en caso de que se produzca un efecto no deseable

No se esperan consecuencias no deseables.

Literatura de Referencia

- Boivin G, Goyette N, Sergerie Y, et al. Longitudinal evaluation of herpes simplex virus DNA load during episodes of herpes labialis. J Clin Virol. 2006;37(4):248-251.
- Brady and Bernstein. Treatment of herpes simplex virus infections. Antiviral Research. 2004;61(2):73-81.

- Chayavichitsilp P, Buckwalter JV, Krakowski AC, et al. Herpes simplex. *Pediatrics in Review*. 2009;30(4):119-129.
- Croughan WS & Behbehani AM. Comparative study of inactivation of herpes simplex virus types 1 and 2 by commonly used antiseptic agents. *Journal of Clinical Microbiology*. 1988;26(2):213-215.
- Drew WL Herpesviruses. In K. J. Ryan, & C. G. Ray (Eds.), *Sherris medical microbiology: An introduction to infectious diseases* (4th ed., pp. 555-576). USA: McGraw Hill. 2004.
- Duffy et al. Rates of evolutionary change in viruses: patterns and determinants. *Nature Reviews Genetics*. 2008;9:267-276.
- Dulbecco R. 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*. 1952;38:747-752.
- Jerome KR & Morrow RA. Herpes simplex viruses and Herpes B virus.
- In Murray PR (Ed.), *Manual of clinical microbiology* Washington, D.C.: ASM Press. 2007;(9th ed):1523-1536.
- Kimberlin DW. Neonatal herpes simplex infection. *Clin Microbiol Rev*. 2004.
- Miller GG & Dummer JS. Herpes simplex and varicella zoster viruses: forgotten but not gone. *American Journal of Transplantation*. 2007;7(4):741-747.
- Prince HN & Prince DL. Principles of viral control and transmission. In S. S. Block (Ed.), *Disinfection, sterilization and preservation*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins. 2001;5th ed:543-571.
- Rozenberg F, Deback C, Agut H. Herpes simplex encephalitis : from virus to therapy. *Infectious disorders drug targets*. 2011;11(3):235-250.
- Rudnick and Hoekzema. Neonatal Herpes Simplex Virus Infections. *Am Fam Physician*. 2002;15,65(6):1138-1142.
- Stewart et al. Herpesvirus infections in persons infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect. Dis*. 1995;21(Suppl 1):S114-S120.
- Thompson C, Whitley R. Neonatal herpes simplex virus infections: where are we now? *Adv Exp Med Biol*. 2011;697:221-230.
- Usatine PA and Tinitigan R. Nongenital Herpes Simplex Virus. *American Family Physician*. 2010;82(9).
- Whitley RJ, Kimberlin DW, Roizman B. Herpes simplex viruses. *Clin Infect Dis*. 1998;26:541-55.
- Whitley RJ. Herpes simplex encephalitis: adolescents and adults. *Antiviral Research*. 2006;71(2-3):141-148.

