

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
Mevrouw S.A.M. Dijkma
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 13 mei 2016
KENMERK CGM/160513-01
ONDERWERP Advies Inschaling van werkzaamheden met gg-LCMV

Geachte mevrouw Dijkma,

Naar aanleiding van een adviesvraag over vergunning IG 16-004_2.8-000 betreffende de 'In vitro en in vivo recombinant Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) Armstrong stam als model voor bestudering van infectie-gemedieerde B- en T-cel respons' deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van *Lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus* (LCMV) en drie laboratoriumstammen van LCMV. Daarnaast is de COGEM gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg-)LCMV.

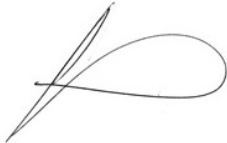
LCMV komt voor bij muizen, maar kan ook verschillende andere diersoorten infecteren. Mensen kunnen met LCMV geïnfecteerd worden door contact met besmette dieren. LCMV kan bij mensen een ernstige ziekte veroorzaken, maar meestal verloopt een infectie mild of zonder ziekteverschijnselen. Overdracht via de placenta en donororganen is mogelijk en veroorzaakt ernstige afwijkingen bij de foetus of ernstige ziekte bij de ontvangers van de donororganen.

Omdat LCMV een ernstige ziekte kan veroorzaken waartegen geen behandeling of vaccinatie beschikbaar is, adviseert de COGEM om de indeling van LCMV in pathogeniteitsklasse 3 te handhaven. Op basis van langdurig veilig gebruik en de attentatie in resusapen acht de COGEM het gerechtvaardigd de laboratoriumstam Armstrong in pathogeniteitsklasse 2 in te delen. Voor omlaagschaling van de andere twee laboratoriumstammen is momenteel onvoldoende basis.

De gg-LCMV deeltjes kunnen eenmalig cellen infecteren, maar er worden na infectie geen nieuwe virusdeeltjes gevormd. Gezien deze zogenaamde biologisch inperking adviseert de COGEM de voorgenomen laboratoriumwerkzaamheden met gg-LCMV op ML-II inperkingsniveau uit te voeren. De werkzaamheden met gg-LCVM in combinatie met muizen adviseert zij op DM-II inperkingsniveau uit te voeren. Op genoemde inperkingsniveaus is de COGEM van mening dat de milieurisico's van de voorgenomen werkzaamheden verwaarloosbaar klein zijn.

De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,



Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c. Drs. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo
 Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenM

Met het oog op eventuele belangenverstremeling is het COGEM lid dr. N.A. Kootstra niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

Inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg-) *Lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus*

COGEM advies CGM/160513-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsclassificatie van *Lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus* (LCMV), voorheen bekend als Lymphocytic choriomeningitis virus, en over de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg-) LCMV. De vergunningsaanvraag is ingediend door het Academisch Medisch Centrum. De aanvrager wil replicatie-incompetente gg-LCMV deeltjes produceren die genen voor de eiwitten ‘enhanced green fluorescent protein’ (eGFP) of ovalbumine bevatten. Deze gg-LCMV deeltjes kunnen cellen infecteren, maar er kan geen nieuw virus gevormd worden. De gg-virusdeeltjes zijn afgeleid van de LCMV laboratoriumstammen Armstrong, Docile en WE. De aanvrager wil de geproduceerde gg-virusdeeltjes toedienen aan muizen en verschillende testen uitvoeren met cellen en weefsels van deze muizen.

1.1 *Lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus*

Het LCMV behoort tot het genus *Mammarenavirus* binnen de familie van de *Arenaviridae*.¹ De natuurlijke gastheer van LCMV is de muis (*Mus musculus*).² LCMV kan daarnaast andere knaagdieren, kippen, honden, apen en mensen infecteren.³ Bij muizen komt LCMV in de natuur meestal voor als persistente infectie (zgn. ‘carrier state’) waarbij de muizen het virus gedurende hun leven uitscheiden in uitwerpselen en lichaamsvloeistoffen zonder dat zij zelf ziektesymptomen hebben.⁴ LCMV is niet vectoroverdraagbaar.⁵ LCMV is enzoötisch in Europa, Afrika, de Verenigde Staten en mogelijk ook op andere continenten.²

Mensen kunnen geïnfecteerd worden met LCMV door contact met besmette dieren, via beten of door contact met urine, ontlasting, nestmateriaal, speeksel of aerosolen.⁶ Infectie van dier op mens komt regelmatig voor, maar de incidentie is moeilijk in te schatten omdat de symptomen niet altijd opgemerkt worden. Een LCMV infectie veroorzaakt meestal geen of milde ziekteverschijnselen, maar kan ook hersenvliesontsteking veroorzaken. Een derde van de infecties verloopt subklinisch, een derde met milde griepachtige verschijnselen en een derde van de infecties ontwikkelt zich met meer ernstige ziekteverschijnselen zoals meningitis (hersenvliesontsteking) of meningo-encephalitis (hersenen- en hersenvliesontsteking).^{7,8} De mortaliteit in gezonde immunocompetente mensen is minder dan 1%.² Ook in ernstige gevallen treedt volledig herstel op na een LCMV infectie.⁹ Bij immunogecompromitteerde mensen kan een LCMV infectie ernstige en soms fatale gevolgen hebben. Dit komt bijvoorbeeld voor bij patiënten die een met LCMV besmet donororgaan ontvangen.¹⁰ Daarnaast kan verticale transmissie optreden bij zwangere vrouwen waarbij de kans bestaat op abortus, neonatale meningitis of ernstige geboortefwijkingen. Verticale transmissie van moeder op foetus is in 35% van de gevallen fataal voor het ongeboren kind.³

Verschillende serologische studies in Duitsland, Engeland en Argentinië hebben aangetoond dat de seroprevalentie van LCMV infectie bij mensen varieert tussen de 2-10%. In Slowakije werd een seroprevalentie van 37,5% gemeten.¹¹ In de Verenigde Staten wordt de prevalentie geschat op 5%.¹² In een onderzoek naar de overdracht van diervirussen naar veeartsen en varkenshouders in Zuid-Nederland bleek geen van de onderzochte veeartsen antilichamen tegen LCMV te hebben, terwijl 3% van de varkenshouders positief testte.¹³ Er zijn geen aanwijzingen voor mens-op-mens overdracht van LCMV, behalve door orgaantransplantatie van een besmette donor of door verticale transmissie van moeder op foetus.³ Er is geen vaccin of specifieke profylaxe voor LCMV beschikbaar. Antivirale middelen kunnen arenavirus-vermenigvuldiging *in vitro* remmen en er is een casus beschreven waarin een orgaantransplantatiepatiënt succesvol behandeld is.^{10,12}

1.2 Genomische organisatie van LCMV

De virusdeeltjes van LCMV zijn omgeven door een membraan. Het virus heeft een negatief enkelstrengs RNA genoom dat is opgedeeld in twee genoomsegmenten, een zogenaamd klein (S) en een groot (L) RNA segment. Het S segment codeert voor het nucleoproteïne (NP) en een glycoproteïne (GPC) dat later gesplitst wordt (GP1 en GP2). Het L segment codeert voor het polymerase (L) en de matrixeiwitten (Z). De mRNAs die coderen voor de eiwitten L en N wordt direct afgeschreven van het negatieve virale RNA (vRNA), terwijl de mRNAs die coderen voor de eiwitten Z en GPC afgeschreven worden van het tijdens de replicatie gevormde complementaire RNA (vcRNA).^{1,2}

1.3 Inschaling van LCMV door andere beoordelende instanties

In Canada is de soort LCMV ingedeeld in risicogroep 3.³ In België en Zwitserland wordt onderscheid gemaakt tussen neurotrope en niet-neurotrope LCMV stammen. Deze zijn ingedeeld in respectievelijke risicogroep 3 en 2.^{14,15} Door de NIH wordt dezelfde indeling gehanteerd.¹⁶ In Groot-Brittannië is LCMV ingedeeld in risicogroep 3 en is de LCMV Armstrong stam ingedeeld in risicogroep 2.¹⁷ In Duitsland is LCMV ingedeeld in risicogroep 3, maar de stammen Armstrong, Docile, WE, UBC, Traub en Pasteur C1PV76001 ingedeeld in risicogroep 2.¹⁸

2. Voorgenomen werkzaamheden

De aanvrager wil replicatie-incompetente gg-LCMVs gebruiken om muizen te infecteren. Deze gg-LCMVs zijn gebaseerd op de LCMV stam Armstrong, Docile of WE. De gg-LCMVs die op Docile en WE zijn gebaseerd, worden op de volgende manier geproduceerd.^{19,20} BHK-21 (Baby hamster kidney cellen) die vrij zijn van LCMV worden getransfecteerd met een plasmide die het glycoproteïne (GP) van de betreffende stammen tot expressie brengt. Vervolgens worden de cellijnen getransfecteerd met vier plasmiden die specifiek zijn voor de Docile stam of de WE stam. Twee plasmiden coderen voor de eiwitten NP en L, die noodzakelijk zijn voor het opstarten van de replicatie van LCMV. Van de twee andere plasmiden worden de negatief-strengs RNA segmenten S en L afgeschreven. In het L segment is het gen dat codeert voor de glycoproteïnen vervangen door eGFP of ovalbumine. Volgens de aanvrager kan productie van gg-LCMV alleen plaatsvinden met de bijbehorende BHK cellen. De aanvrager wil de replicatie-incompetente gg-LCMV

gebruiken om zowel wild-type als genetisch gemodificeerde muizen te infecteren. Hij geeft hierbij in de aanvraag aan dat de muizen vrij zijn van LCMV. Vervolgens wil de aanvrager werkzaamheden verrichten met cellen afkomstig van de met gg-LCVM geïnfecteerde muizen. De aanvrager geeft aan dat zwangere vrouwen en personen met een verminderd immuunsysteem uitgesloten worden van de werkzaamheden met wild-type LCMV en gg-LCMV. Het gg-LCMV dat is afgeleid van de Armstrong stam is elders op dezelfde manier geproduceerd.

3. Eerder COGEM advies

In 2011 heeft de COGEM geadviseerd over de pathogeniteitsclassificatie van LCMV en de inschaling van werkzaamheden met gg-LCMV in associatie met dieren en dierencellijnen.²¹ Op basis van de ernst en aard van de ziekte, de wijze van verspreiding en het ontbreken van een effectief vaccin of profylaxe tegen LCMV heeft de COGEM geadviseerd LCMV in te delen in pathogeniteitsklasse 3. Zij adviseerde de werkzaamheden met replicatiecompetent gg-LCMV in te schalen op ML-III/DM-III inperkingsniveau omdat de attenuatie van de gg-LCMV onvoldoende onderbouwd was.

4. Overweging en advies

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsclassificatie van de soort LCMV in het algemeen en de LCMV stammen Armstrong, Docile en WE in het bijzonder. Daarnaast is de COGEM gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met replicatie-incompetent gg-LCMV.

4.1 Classificatie van LCMV

LCMV is van oorsprong een dierpathogeen dat bij muizen een persistente infectie veroorzaakt zonder ziekteverschijnselen, waardoor deze muizen gedurende hun leven een bron van infectie vormen. Het virus heeft zoönotisch potentieel en kan ziekte veroorzaken in de mens. LCMV wordt overgedragen door contact met uitwerpselen en lichaamsvloeistoffen van geïnfecteerde muizen en enkele andere knaagdieren. Besmetting van dier op mens kan gemakkelijk plaatsvinden en komt regelmatig voor door contact met besmette (huis)dieren. Ook zijn er verschillende laboratoriuminfecties met wild-type LCMV via proefdieren of cellijnen beschreven.²² Ziektesymptomen variëren van mild en subklinisch tot ernstig waarbij hersenvliesontsteking kan ontstaan. De mortaliteit van LCMV is laag (<1%). Met uitzondering van verticale transmissie en orgaandonatie zijn er geen aanwijzingen dat LCMV van mens op mens kan worden overgedragen. De gevolgen van infectie door verticale transmissie kunnen ernstig (neonatale meningitis of ernstige geboortefwijkingen) of zelfs fataal (35%) zijn voor het ongeboren kind. Er bestaat geen vaccin of specifieke behandeling voor LCMV infecties.

De COGEM concludeert dat het virus gemakkelijk van dier-op-mens overgedragen kan worden en een infectie tot ernstige ziekte kan leiden. De gevolgen voor het ongeboren kind bij een eventuele infectie van zwangere vrouwen kunnen ernstig of zelfs fataal zijn en er is geen effectief vaccin of

prohylaxe voorhanden. Op basis hiervan adviseert de COGEM de soort LCMV als een klasse 3 pathogeen te beschouwen.

4.2 Classificatie van de LCMV stammen Armstrong, Docile en WE

De aanvrager verzoekt om LCMV stammen Armstrong, Docile en WE in een lagere pathogeniteitsklasse in te delen. Hij geeft daarbij aan dat er weinig gegevens zijn waaruit blijkt dat deze stammen geattenuerd zijn. De aanvrager geeft aan dat de laboratoriumstammen van LCMV alleen getest worden in experimentele diermodellen, terwijl de informatie van wild-type stammen alleen beschikbaar is uit epidemiologische en anekdotische casus studies. Daarnaast zijn er volgens de aanvrager geen infecties bekend bij laboratoriummedewerkers met LCMV Armstrong, Docile en WE.

In de wetenschappelijke literatuur zijn verschillende infecties van laboratoriummedewerkers met wild-type LCMV beschreven.^{22,23,24} Sinds de jaren 80 is er veel onderzoek gedaan met de LCMV stammen Armstrong, Docile en WE. Na intraveneuze toediening van wild-type LCMV in resusapen kregen de dieren hemorragische koorts, terwijl toediening van het virus via het maagdarmkanaal geen ziekteverschijnselen veroorzaakte.²⁵ Ongeacht de route van toediening van LCMV stam WE kregen resusapen een leverziekte. Infectie van resusapen met de Armstrong stam veroorzaakte geen ziekteverschijnselen.²⁶ Er zijn voor zover bekend geen onderzoeken uitgevoerd met resusapen die geïnfecteerd zijn met LCMV Docile. Tot op heden is er in de wetenschappelijke literatuur geen melding gemaakt van laboratoriumbesmettingen van mensen met de LCMV stammen Armstrong, Docile en WE.

Gezien het langdurig veilige gebruik van de Armstrong stam en omdat deze in tegenstelling tot het wild-type geen ziekte veroorzaakt in resusapen adviseert de COGEM de Armstrong stam in te delen in pathogeniteitsklasse 2. Gezien de beperkte informatie over de vermeende attenuatie acht de COGEM het niet gerechtvaardigd om de stammen Docile en WE ook in pathogeniteitsklasse 2 in te delen. Zij adviseert voor deze stammen een indeling in pathogeniteitsklasse 3 te handhaven.

4.3 Inschaling van werkzaamheden met gg-LCMV

De aanvrager is voornemens om gg-LCMV te produceren en te gebruiken om zowel animale cellen als (gg-)muizen te infecteren. Daarnaast wil de aanvrager handelingen uitvoeren met cellen van deze dieren. Vanwege het extra gezondheidsrisico bij een eventuele besmetting van medewerkers die zwanger zijn of waarvan het immuunsysteem niet goed functioneert, geeft de aanvrager aan dat deze worden uitgesloten van de voorgenomen werkzaamheden.

4.3.1 Productie van replicatie-incompetent gg-LCMV

De aanvrager wil verschillende celtypen gebruiken voor de productie van gg-LCMV. Deze cellen zijn vrij van LCMV en worden getransfecteerd met een plasmide waarvan het GP eiwit geproduceerd kan worden. Vervolgens worden de plasmiden die coderen voor de L en NP eiwitten van de laboratoriumstammen Docile of WE getransfecteerd samen met de plasmiden waarvan de

bijbehorende genoomsegmenten L en S afgeschreven kunnen worden. Omdat het gen dat codeert voor het GP eiwit op het S genoomsegment vervangen is door eGFP of ovalbumine kan er geen replicatiecompetent virus ontstaan.

De aanvrager geeft aan dat er geen overlap is tussen het plasmide dat codeert voor GP en de plasmiden die de genoomsegmenten tot expressie brengt. Daarnaast wordt er tijdens de replicatie van LCMV geen DNA tussenvorm geproduceerd waardoor de kans op recombinatie volgens de aanvrager verwaarloosbaar klein is. De plasmiden van LCMV Docile en WE worden alleen in combinatie met elementen uit de eigen stam toegepast, waardoor er geen nieuwe ggo's kunnen ontstaan. Recombinatie tussen de twee stammen is volgens de aanvrager uitgesloten omdat deze niet samen in de cellen geïntroduceerd worden. De COGEM is van mening dat de procedure die de aanvrager volgt, resulteert in een replicatie-incompetent gg-LCMV en de kans op het ontstaan van een replicatiecompetent LCMV verwaarloosbaar klein is. Een andere mogelijke route voor recombinatie ontstaat wanneer de medewerker geïnfecteerd is met LCMV en via aerosolen of een beschadigde huid geïnfecteerd wordt met gg-LCMV. De COGEM is van mening dat het virus wat hieruit zou kunnen ontstaan niet virulenter is dan het wild-type LCMV.

Op basis van de biologische inperking van betreffende ggo's adviseert de COGEM genoemde werkzaamheden uit te voeren op ML-II inperkingsniveau.

4.3.2 Infectie van cellen met gg-LCMV

De aanvrager is voornemens om verschillende celtypen te infecteren met replicatie-incompetent gg-LCMV. Het gg-LCMV van de stammen Docile en WE wordt door de aanvrager geproduceerd en het gg-LCMV van de stam Armstrong wordt elders verkregen. De COGEM is van mening dat wanneer het replicatie-incompetente gg-LCMV geproduceerd is in cellijnen die vrij zijn van LCMV en de cellijnen die geïnfecteerd worden met gg-LCMV vrij zijn van LCMV het risico van het ontstaan van replicatiecompetent gg-LCMV verwaarloosbaar klein is.

Op basis van de biologische inperking van de betreffende ggo's adviseert de COGEM deze werkzaamheden op ML-II inperkingsniveau in te schalen.

4.3.3 Infectie van (gg-)muizen met gg-LCMV

Voor de infectie van muizen met replicatie-incompetente gg-LCMV worden volgens de aanvrager dieren gebruikt die vrij zijn van LCMV. Hierdoor is het uitgesloten dat er replicatiecompetent gg-LCMV ontstaat.

Conform de inschaling van dierproeven met ggo's die op ML-II moeten worden gehanteerd, in de Regeling ggo, adviseert de COGEM om deze werkzaamheden in te schalen op DM-II inperkingsniveau.

4.3.4 Handelingen met cellen van met gg-LCMV geïnfecteerde (gg-)muizen

De cellen van de geïnfecteerde (gg-)muizen worden door de aanvrager gebruikt om laboratoriumtesten mee uit te voeren. Aangezien de dieren vrij zijn van LCMV en er in het gg-LCMV geen wild-type LCMV aanwezig is, acht de COGEM de kans op de aanwezigheid van replicatiecompetent virus verwaarloosbaar klein.

Conform de inschaling van activiteiten met animale cellen afkomstig uit dierproeven met ggo's in de Regeling ggo, adviseert de COGEM bovenstaande werkzaamheden uit te voeren op ML-II inperkingsniveau.

5. Signalering

Als de voorgenomen werkzaamheden met gg-LCMV worden uitgevoerd op het geadviseerde inperkingsniveau en onder de daarvoor geldende standaard werkvoorschriften acht de COGEM de kans klein dat een medewerker met gg-LCMV geïnfecteerd wordt. Zoals aangegeven, acht de COGEM het milieurisico van een onbedoelde infectie van een medewerker verwaarloosbaar klein. Zij kan eventuele nadelige gevolgen voor de medewerker ten gevolge van een dergelijke besmetting echter niet geheel uitsluiten. Om de kans op besmetting van de medewerker te minimaliseren, geeft de COGEM de aanvrager in overweging om tijdens voorgenomen handelingen handschoenen tot over de mouw te dragen. De COGEM voegt daar voor de handelingen met (gg-)muizen aan toe om de muizen in filtertopkooien te huisvesten en de besmette filtertopkooien alleen te openen in een veiligheidskabinet klasse II.

6. Referenties

1. Virus Taxonomy: 2014 Release. Zoekterm: Lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp> (bezoekt: 1 mei 2016)
2. Buchmeier MJ *et al.* (2013). Arenaviridae. In: Fields virology, 6th edition. Ed. Knipe DM *et al.*, Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia
3. Public Health Agency Canada (2011). Lymphocytic choriomeningitis virus. Pathogen Safety Data Sheet – Infectious Substances. www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/lymp-cho-eng.php (bezoekt: 3 mei 2016)
4. Salvato MS *et al.* (2012). Family *Arenaviridae*. In Virus taxonomy, ninth report of the international committee on taxonomy of viruses. Ed. King AMQ *et al.*, Elsevier Inc., Amsterdam
5. Acha PN & Szyfres B (2003). Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals (3rd ed.). Pan American Health Organization, Washington DC
6. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCMV). www.rivm.nl/Onderwerpen/W/Wilde_knaagdieren_en_zo%C3%B6nosen/Ziekteverwekkers/Lymphocytic_Choriomeningitis_Virus_LCMV (bezoekt: 3 mei 2016)
7. Bonthius DJ (2012). Lymphocytic choriomeningitis virus: an underrecognized cause of neurologic disease in the fetus, child, and adult. *Semin. Pediatr. Neurol.* 19: 89-95

8. Barton LL & Mets MB (2001). Congenital lymphocytic choriomeningitis virus infection: decade of rediscovery. *Clin. Infect. Dis.* 33: 370-374
9. Verhaegh EM et al. (2014). Meningitis na muizenbeet. *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 158: A7033
10. Fischer SA *et al.* (2006). Transmission of lymphocytic choriomeningitis virus by organ transplantation. *N. Engl. J. Med.* 354: 2235-2249
11. Reiserova L *et al.* (1999). Identification of MaTu-MX agent as a new strain of lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) and serological indication of horizontal spread of LCMV in human population. *Virology* 257: 73-83
12. Peters CJ (2006). Lymphocytic choriomeningitis virus - An old enemy up to new tricks. *N. Engl. J. Med.* 354: 2208-2211
13. Elbers AR *et al.* (1999). Low prevalence of antibodies against the zoonotic agents *Brucella abortus*, *Leptospira* spp., *Streptococcus suis* serotype II, hantavirus, and lymphocytic choriomeningitis virus among veterinarians and pig farmers in the southern part of The Netherlands. *Vet. Q.* 21: 50-54
14. Wetenschappelijk Instituut voor de Volksgezondheid/ Institut Scientifique de Santé Public (WIV-ISP) (2008). List of viruses and unconventional agents presenting at the wild state a biological risk for immunocompetent humans and/or animals and corresponding maximum biological risk. www.biosafety.be/PDF/2009_classification_lists/H_A_virus.pdf (bezoekt: 10 mei 2016)
15. Federal Office for the Environment FOEN (2013). Classification of Organisms. Part 2: Viruses. Status January 2013. www.bafu.admin.ch/publikationen/publikation/01614/index.html?lang=en (bezoekt: 10 mei 2016)
16. National Institutes of Health (NIH), NIH Guidelines for Research Involving Recombinant of Synthetic Nucleic Acid molecules (NIH GUIDELINES) April 2016 http://osp.od.nih.gov/sites/default/files/NIH_Guidelines.html (bezoekt: 10 mei 2016)
- 17 Health and Safety Executive. (2013) The Approved List of biological Agents. www.hse.gov.uk/pubns/misc208.pdf (bezoekt: 10 mei 2016)
18. Central Biosafety Commission (2009). Position statement of the Central Biosafety Commission (ZKBS) on the risk assessment of laboratory strains of the lymphocytic choriomeningitis virus as donor or recipient organisms in genetic engineering operations according to § 5 paragraph 1 of the Genetic Engineering Safety Regulations http://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Downloads/06_Gentechnik/ZKBS/02_Allgemeine_Stellungnahmen_englisch/09_viruses/zkbs_viruses_LCMV_2009.pdf?__blob=publicationFile&v=1. (bezoekt: 9 mei 2016)
19. Flatz L *et al.* (2006). Recovery of an arenavirus entirely from RNA polymerase I/II-driven cDNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 103: 4663-4668
20. Flatz L *et al.* (2010). Development of replication-defective lymphocytic choriomeningitis virus vectors for the induction of potent CD8+ T cell immunity. *Nat. Med.* 16: 339-345
21. COGEM (2011). Omlaagschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg)-Vesicular stomatitis Indiana virus. COGEM advies CGM/160310-01
22. Hotchin J *et al.* (1974). Lymphocytic choriomeningitis in a hamster colony causes infection of hospital personnel. *Science* 185: 1173-1174

23. Baum SG *et al.* (1966). Epidemic nonmeningitic lymphocytic-choriomeningitis-virus infection. An outbreak in a population of laboratory personnel. *N. Engl. J. Med.* 274: 934-936
24. Dykewicz CA *et al.* (1992). Lymphocytic choriomeningitis outbreak associated with nude mice in a research institute. *JAMA* 267: 1349-1353
25. Lukashevich IS *et al.* (2002). Hemorrhagic fever occurs after intravenous, but not after intragastric, inoculation of rhesus macaques with lymphocytic choriomeningitis virus. *J. Med. Virol.* 67: 171-186
26. Lukashevich IS *et al.* (2004). LCMV-mediated hepatitis in rhesus macaques: WE but not ARM strain activates hepatocytes and induces liver regeneration. *Arch Virol.* 149: 2319-2336