

Aan de minister van
Infrastructuur en Waterstaat
drs. C. van Nieuwenhuizen-Wijbenga
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 03 juli 2019
KENMERK CGM/190703-02
ONDERWERP Advies inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd replicatiecompetent LCMV

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier getiteld 'Generatie replicatie competente LCMV vaccine vectoren' (IG 19-102_2.8-000), ingediend door Batavia Biosciences B.V., deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg-) *Lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus* (LCMV). De gg-LCMV virussen zijn gebaseerd op de LCMV stam Armstrong. In plaats van het 'eigen' glycoproteïne (GP) brengen de gg-virussen het GP van de LCMV stam WE tot expressie. De LCMV stam Armstrong is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2 en de WE stam is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3. De aanvrager verzoekt om de voorgenomen werkzaamheden uit te mogen voeren op inperkingsniveau II.

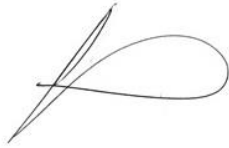
De gg-LCMV virussen kunnen cellen infecteren en nieuwe virussen vormen (repliceren). Door de aangebrachte modificaties zijn de gg-LCMV virussen verzwakt. De COGEM is van oordeel dat de gg-LCMV virussen qua pathogeniteit vergelijkbaar zullen zijn met LCMV Armstrong.

De COGEM adviseert de voorgenomen laboratoriumwerkzaamheden met gg-LCMV op ML-II inperkingsniveau uit te voeren. Onder in acht neming van dit inperkingsniveau en onder de door de vergunningaanvrager gestelde voorwaarde dat zwangere vrouwen worden uitgesloten van deelname aan de werkzaamheden, acht de COGEM de risico's voor mens en milieu bij voorgenomen handelingen verwaarloosbaar klein. De COGEM signaleert dat vanuit ARBO-overwegingen tijdens de werkzaamheden aanvullende veiligheidsmaatregelen genomen moet worden.



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

Hoogachtend,



Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Vorzitter COGEM

c.c. Dr. J. Westra, Hoofd Bureau ggo
Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenW

Inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd replicatiecompetent *Lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus*

COGEM advies CGM/190703-02

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag (IG 19-102) getiteld ‘Generatie replicatie competente LCMV vaccine vectoren’, ingediend door Batavia Biosciences B.V.. Dit betreft de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg-) replicatiecompetent *Lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus* (LCMV). De recombinante LCMV (rLCMV) vectoren zijn gebaseerd op de LCMV stam Armstrong (ARM) en brengen het glycoproteïne (GP) van LCMV stam WE tot expressie in plaats van het autologe GP.

2. *Lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus* (LCMV)

Lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus (LCMV) behoort tot het genus *Mammarenavirus* binnen de familie *Arenaviridae*. Het is een enkelstrengs gesegmenteerd ‘ambisense’ RNA-virus dat met een lipidenmembraan wordt omhuld. In het membraan zijn glycoproteïnen (GP) verankerd. De RNA-segmenten worden door een nucleocapside (NP) eiwit omhuld.¹

2.1 Genomische organisatie van LCMV

Het genoom van LCMV bestaat uit twee ambisense enkelstrengs RNA moleculen, een zogenaamd klein (S) en groot (L) RNA segment. Het Z gen codeert voor het matrixeiwit, bevindt zich op het L-segment, en is gelegen op het 5'-einde van het virale RNA in de sense oriëntatie. Het L gen codeert voor RNA polymerase, bevindt zich op het L-segment, en wordt gecodeerd in de antisense oriëntatie. Het glycoproteïne ‘precursor’ (GPC) gen, bevindt zich op het S-segment, en is gelegen op het 5'-einde van het virale RNA in de sense oriëntatie. Na posttranslationale klieving van GPC worden de GP1 en GP2 eiwitten gevormd. Het NP gen codeert voor het nucleoproteïne, bevindt zich op het S-segment, en is gelegen op het 3'-einde van het virale RNA in de antisense oriëntatie.^{2,3}

2.2 Eigenschappen van LCMV

De natuurlijke gastheer van LCMV is de muis.⁴ LCMV kan daarnaast andere knaagdieren, kippen, honden, apen en mensen infecteren.⁵ In muizenpopulaties wordt het virus verticaal van generatie op generatie via intra-uteriene infectie (in de baarmoeder) overgedragen.¹⁴ Bij muizen kan LCMV een persistente infectie veroorzaken, waarbij de muizen het virus gedurende hun leven uitscheiden in uitwerpselen en lichaamsvloeistoffen zonder dat zij zelf ziektesymptomen vertonen.⁶ LCMV is enzoötisch in Europa, Afrika, de Verenigde Staten en mogelijk ook in andere continenten.^{3,4,7}

Mensen kunnen geïnfecteerd raken met LCMV door direct contact met besmette knaagdieren, via beten of door blootstelling aan besmette urine, ontlasting, nestmateriaal, speeksel of aerosolen van geïnfecteerde knaagdieren.⁸ De seroprevalentie van LCMV onder de humane bevolking ligt rond de 2-5%.⁹ LCMV veroorzaakt geen chronische infectie bij de mens, na een acute fase van de ziekte wordt

het virus geklaard uit het lichaam.⁹ Een LCMV infectie veroorzaakt meestal geen of milde ziekteverschijnselen, maar kan ook hersenvliesontsteking veroorzaken. Een derde van de infecties verloopt subklinisch, een derde leidt tot milde griepachtige verschijnselen en een derde van de infecties veroorzaakt ernstigere ziekteverschijnselen zoals meningitis (hersenvliesontsteking) of meningo-encephalitis (hersenen- en hersenvliesontsteking).^{10,11} Ook in nagenoeg alle ernstige gevallen treedt volledig herstel op na een LCMV infectie.¹² De mortaliteit bij gezonde mensen is minder dan 1%.⁴

Met uitzondering van verticale transmissie en orgaandonatie zijn er geen aanwijzingen dat LCMV van mens op mens kan worden overgedragen.^{5,13,14} Een congenitale LCMV infectie kan optreden als een vrouw tijdens de zwangerschap een primaire LCMV infectie oploopt. Verticale transmissie naar het ongeboren kind kan leiden tot abortus, neonatale meningitis of ernstige geboortefwijkingen. In ongeveer 35% van de gevallen is verticale transmissie van moeder op foetus fataal voor het ongeboren kind.^{5,15} Er is geen vaccin of specifieke profylaxe voor LCMV beschikbaar.

2.3 LCMV stammen Armstrong en WE

Veel bestudeerde isolaten van LCMV zijn de stammen Armstrong (ARM) en WE. LCMV ARM is in 1934 door Charles Armstrong uit een patiënt geïsoleerd.¹⁶ De WE stam is oorspronkelijk geïsoleerd uit een patiënt met de initialen WE in 1935.^{17,18} De nucleotidensequenties van ARM en WE komen voor ongeveer 84% overeen, de aminozuursequenties voor 91%.¹⁹ De ARM stam heeft een neurotropisme en de WE stam heeft een tropisme voor viscera (ingewanden).¹⁹ WE is virulent en ARM 'benign'.²⁰ In tegenstelling tot ARM, veroorzaakt WE leverziekte bij muizen en resusapen, en systemische hemorragische verschijnselen bij apen en cavia's.^{19,21,22} Infectie van resusapen met de ARM stam veroorzaakt geen ziekteverschijnselen.²²

3. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft wildtype LCMV ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3.⁷ In dit advies uit 2016 heeft de COGEM de LCMV stam ARM op basis van langdurig veilig gebruik, en omdat deze stam in tegenstelling tot het wildtype geen ziekte veroorzaakt in resusapen, geherclassificeerd en ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2. Verder adviseerde zij om de indeling van de LCMV stammen Docile en WE in pathogeniteitsklasse 3 te handhaven.⁷

De COGEM heeft eveneens geadviseerd over de inschaling van werkzaamheden waarbij muizen geïnfecteerd werden met replicatie-incompetent gg-LCMV gebaseerd op LCMV ARM, Docile of WE. Hierbij was het gen dat codeert voor het GP eiwit dat zich bevindt op het S-segment, vervangen door eGFP of ovalbumine waardoor er geen replicatiecompetent virus gevormd kon worden. Op basis van de biologische inperking van de betreffende ggo's adviseerde de COGEM de productie van de gg-virussen en de infectie van cellen met gg-LCMV op ML-II inperkingsniveau uit te voeren. De werkzaamheden met gg-LCMV in combinatie met muizen adviseerde zij op DM-II inperkingsniveau uit te voeren.⁷

Hierbij signaleerde de COGEM dat eventuele nadelige gevolgen voor de medewerker ten gevolge van een onbedoelde infectie niet geheel uitgesloten kon worden. Om de kans op besmetting van de

medewerker te minimaliseren, gaf de COGEM de aanvrager in overweging om tijdens voorgenomen handelingen handschoenen tot over de mouw te dragen. Voor handelingen met (gg-)muizen voegde de COGEM daaraan toe om de muizen in filtertopkooien te huisvesten en de besmette filtertopkooien alleen te openen in een veiligheidskabinet klasse II.⁷

4. Voorgenomen werkzaamheden

De aanvrager wil met behulp van ‘reverse genetics’ replicatiecompetent rLCMV (artLCMV^{ARM} GP^{WE}) genereren. Deze recombinante virussen zijn gebaseerd op LCMV stam ARM en brengen het GP van stam WE tot expressie in plaats van het autologe GP. De aanvrager maakt gebruik van een 5-plasmidensysteem, zoals beschreven door Emonet *et al.* (2009) en Kallert *et al.* (2017).^{23,24} De te insereren transgene sequenties zijn afkomstig van het *Hepatitis B virus* (HBV), Humaan cytomegalovirus (hCMV), Human immunodeficiency virus (HIV), de mens (korte signaal sequenties) en *Aequorea victoria* (markergenen van een kwal).

4.1 Beschrijving van de rLCMV virussen

De rLCMV virussen zijn gemodificeerd op eenzelfde wijze als de artLCMV vector die is beschreven door Kallert *et al.* (2017).²⁴ De artLCMV vector is replicatiecompetent, geattenuëerd en genetisch stabiel.²⁴

Wildtype LCMV bevat twee RNA-segmenten, L en S, waarbij op het S-segment de NP en GP coderende genen zijn gelokaliseerd. In de artLCMV vector is het S-segment ‘opgesplitst’, waarbij de NP en GP genen over twee artificiële ‘S’-segmenten zijn verdeeld (S_{NP} en S_{GP}). Doordat op elk S-segment één van de virale genen is verwijderd, is er ‘ruimte’ ontstaan. Hierin kan een gen van interesse worden ingebracht.^{23,24}

De twee S-segment constructen zijn daarbij zodanig aangepast, dat de kans op homologe recombinatie – waarbij één functioneel S-segment ontstaat - verwaarloosbaar klein is.²⁴ Het uiteindelijke virus betreft een replicatiecompetent gg-LCMV virus met drie RNA-segmenten (één L- en twee artificiële ‘S’-segmenten) dat twee geïnsereerde transgenen tot expressie brengt.

4.2 Productie van de rLCMV virussen

De aanvrager is voornemens de gg-LCMV virussen te produceren door 5 plasmiden door middel van electroporatie in een HEK293 productiecellijn te brengen. De drie RNA-segmenten zijn verdeeld over drie verschillende plasmiden. Twee helperplasmiden bevatten de coderende sequenties voor het nucleoproteïne (NP) en RNA polymerase van LCMV. Deze eiwitten zijn essentieel voor virusproductie.

- Plasmide 1: bevat de sequentie van het L-segment van LCMV stam ARM.
- Plasmide 2: bevat het S-segment van LCMV stam ARM waaruit de sequentie coderend voor het GP eiwit is verwijderd en een kloneringsplaats is geïntroduceerd voor insertie van een transgen.
- Plasmide 3: bevat de sequentie van het S-segment van LCMV stam ARM waaruit de sequentie coderend voor het NP eiwit is verwijderd en is vervangen door de sequentie coderend voor GP van LCMV stam WE. Ook is een kloneringsplaats geïntroduceerd voor insertie van een transgen.

- Plasmide 4: zorgt voor expressie van het NP eiwit van LCMV stam ARM.
- Plasmide 5: zorgt voor expressie van het L eiwit van LCMV ARM.

Na productie van de rLCMV virussen zal de titer bepaald worden met behulp van titratie op HEK293 cellen. Vervolgens is de aanvrager voornemens HEK293 cellen te infecteren met de geproduceerde rLCMV virussen.

5. Overweging

5.1 Attenuatie artLCMV vectoren en virulentie gg-LCMV virussen

De replicatiecompetente rLCMV vectoren die de aanvrager voornemens is te genereren, zijn gebaseerd op LCMV stam ARM (PG 2) en brengen het GP van de WE stam (PG 3) tot expressie in plaats van het autologe GP.

De aanvrager verwacht dat de artLCMV virussen (drie RNA-segmenten) geattenuerd zullen zijn ten opzichte van wildtype LCMV (PG 3) (twee RNA-segmenten) en verwijst hierbij onder meer naar een studie van Kallert *et al.* (2017).²⁴

In deze studie zijn BHK-21 cellen geïnfecteerd met een artLCMV vector (artLCMV-GFP) of met wildtype LCMV ARM. Na infectie werd na 24, 48, 72 en 96 uur de hoeveelheid ‘plaque forming units’ (PFU) per ml bepaald. De artLCMV-GFP vector produceerde in vergelijking tot wildtype LCMV ARM significant minder plaques.²⁴

Verder hebben de auteurs *in vivo* experimenten uitgevoerd met zowel wildtype als AGR muizen. AGR muizen zijn T- en B-cel deficiënt en hebben deleties in de interferon genen type I en type II. Infectie van AGR muizen met artLCMV-GFP veroorzaakte minder viremie dan wildtype LCMV ARM. Infectie van wildtype muizen met artLCMV-GFP veroorzaakte helemaal geen viremie in tegenstelling tot wildtype LCMV ARM. Ook replicateerde artLCMV-GFP tot lagere virustiters dan wildtype LCMV ARM. Verder was artLCMV-GFP na 7 dagen niet meer te detecteren in de milt en lever, terwijl wildtype LCMV ARM tot minimaal 10 dagen nog aanwezig was in beide organen.²⁴

De auteurs concluderen dat de artLCMV vector geattenuerd is ten opzichte van wildtype LCMV ARM. Op basis van ‘flow cytometry’ experimenten concluderen de auteurs dat de attenuatie van artLCMV gedeeltelijk wordt veroorzaakt doordat de ‘S_{NP}’ en ‘S_{GP}’-segmenten inefficiënt in hetzelfde virusdeeltje worden ingepakt (‘co-packaging’).²⁴

De COGEM merkt met betrekking tot deze studie op dat artLCMV-GFP en wildtype LCMV ARM niet alleen verschillen in aantal RNA-segmenten (drie versus twee), maar dat artLCMV daarnaast ook twee GFP genen bezit die niet aanwezig zijn in wildtype LCMV ARM. Het kan daarom niet geheel worden uitgesloten dat de aanwezigheid van de GFP genen (mede) de oorzaak is van de attenuatie van artLCMV-GFP. De transgenen die de aanvrager voornemens is te insereren zijn afkomstig van HBV, hCMV, HIV, de mens en *A. victoria*. De COGEM heeft geen redenen om aan te nemen dat deze transgenen zullen leiden tot een verhoogde virulentie, maar zeer waarschijnlijk – net als de GFP genen – zullen bijdragen aan de attenuatie van de artLCMV^{ARM} vectoren. Alles in ogenschouw nemende is

de COGEM van oordeel dat de artLCMV^{ARM} vectoren die de aanvrager voornemens is te genereren, geattenuerd zullen zijn ten opzichte van wildtype LCMV (PG 3).

De aanvrager verwacht dat het uitwisselen van GP van de stam ARM (PG 2) voor het GP van de stam WE (PG 3) geen invloed zal hebben op de virulentie van de artLCMV^{ARM} vectoren. Hij onderbouwt dit met eigen vertrouwelijke data en gepubliceerde data. De door de aanvrager aangeleverde vertrouwelijke data bevestigen gegevens uit de literatuur.

De aanvrager verwijst naar eerdere studies waarin genetische reassortanten zijn gemaakt tussen het S- en L-segment van ARM en WE.^{25,26} Deze studies wijzen er op dat de virulentie van LCMV voor een belangrijk deel bepaald wordt door factoren gelegen op het L-segment en niet door het GP of andere elementen op het S-segment.^{25,26}

Verder verwijst de aanvrager naar een studie van Bergthaler *et al.* (2007).¹⁹ In deze studie is een recombinante LCMV ARM gegenereerd waarin het autologe GP is vervangen door het GP van stam WE (rARM/WEGP). Vervolgens zijn muizen intraveneus geïnfecteerd met rARM/WEGP, wildtype LCMV WE of wildtype LCMV ARM. In tegenstelling tot wildtype WE veroorzaakte rARM/WEGP en wildtype ARM niet of nauwelijks leverpathogeniteit bij de geïnfecteerde muizen. Bij wildtype WE-geïnfecteerde muizen trad langdurige viremie op (>14 dagen), terwijl bij muizen die geïnfecteerd werden met wildtype ARM of rARM/WEGP het virus na 9 dagen was geklaard. De titer van wildtype ARM en rARM/WEGP in bloed, lever en milt van de muizen was vergelijkbaar. Met titratie-experimenten hebben de auteurs bepaald dat de dosisafhankelijke pathogeniteit van wildtype WE ongeveer het 100-voudige is in vergelijking tot wildtype ARM en rARM/WEGP.¹⁹

In dezelfde studie laten de auteurs zien dat infectie van muizen met een van ARM-afgeleid virus met mutaties in het op het L-segment gelegen polymerasegen (rCL.6), hogere titers veroorzaakt in bloed, milt, lever en nieren van de geïnfecteerde muizen in vergelijking tot infectie met wildtype ARM. Uitwisseling van GP^{ARM} voor GP^{WE} in deze achtergrond (rCL.6) leidt licht verhoogde titers in bloed, lever en nieren van geïnfecteerde muizen. Hieruit concluderen de auteurs dat de virulentie van LCMV hoofdzakelijk door factoren op het L-segment wordt bepaald, en dat het GP ook een verhogend effect heeft op de virulentie.¹⁹

Gezien bovenstaande gegevens kan de COGEM niet geheel uitsluiten dat het uitwisselen van GP^{ARM} voor GP^{WE} van invloed zal zijn op de virulentie van de artLCMV^{ARM} vectoren. Echter, de COGEM is van oordeel dat dit effect kleiner zal zijn dan de eerder beschreven attenuerende modificaties (drie RNA segmenten en geïnsereerde transgenen) die zijn aangebracht in de gg-LCMV virussen uit de onderhavige aanvraag.

Alles in ogenschouw nemende acht de COGEM de kans dat replicatiecompetente rLCMV virussen uit onderhavige aanvraag virulenter zullen zijn dan LCMV stam ARM (PG 2) verwaarloosbaar klein. De COGEM is van oordeel dat de gg-LCMV virussen qua pathogeniteit vergelijkbaar zullen zijn met wildtype LCMV ARM (een klasse 2 virus).

5.2 Risico van blootstelling aan gg-LCMV virussen

Infectie bij de mens met wildtype LCMV kan optreden door direct contact met besmette knaagdieren, via beten of door blootstelling aan besmette urine, ontlasting, nestmateriaal, speeksel of aerosolen van geïnfecteerde knaagdieren.

Bij de voorgenomen laboratoriumwerkzaamheden bestaat de mogelijkheid dat een medewerker als gevolg van besmetting door aerosolen geïnfecteerd raakt met replicatiecompetente gg-LCMV virussen. De COGEM wijst erop dat, indien een medewerker onbedoeld wordt blootgesteld aan replicatiecompetent gg-LCMV, dit mogelijk nadelige gevolgen kan hebben voor de medewerker. Er zijn geen aanwijzingen dat LCMV van mens op mens kan worden overgedragen, met uitzondering van verticale transmissie en orgaandonatie. Verticale transmissie naar het ongeboren kind kan leiden tot abortus, neonatale meningitis of ernstige geboortefwijkingen. De aanvrager sluit zwangere medewerkers daarom uit van de voorgenomen werkzaamheden met gg-LCMV.

6. Advies

De COGEM adviseert de voorgenomen werkzaamheden met replicatiecompetent gg-LCMV (artLCMV^{ARM} GP^{WE}) uit te voeren op ML-II inperkingsniveau. Onder in acht neming van dit inperkingsniveau en onder de door de vergunningaanvrager gestelde voorwaarde dat zwangere vrouwen worden uitgesloten van deelname aan de werkzaamheden, acht de COGEM de risico's voor mens en milieu bij voorgenomen handelingen verwaarloosbaar klein.

De COGEM signaleert dat tijdens de voorgenomen werkzaamheden een medewerker als gevolg van besmetting door aerosolen onbedoeld geïnfecteerd zou kunnen raken met replicerend gg-LCMV. De COGEM signaleert daarom dat vanuit ARBO-overwegingen ter bescherming van de medewerker tijdens de werkzaamheden additionele veiligheidsmaatregelen, zoals het dragen van handschoenen tot over de mouw van de werkkleding, genomen moeten worden.

Referenties

1. https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/negative-sense-rna-viruses/bunyavirales/w/arenaviridae/1117/genus-mammarenavirus
2. King AMQ *et al.* (2012). Family *Arenaviridae*. In *Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of Viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Ed. King AMQ *et al.*, Elsevier Academic Press, Amsterdam
3. COGEM (2019). Klinische studie met gg-vaccin (HB-101) ter bescherming van niertransplantatiepatiënten tegen infectie met cytomegalovirus. COGEM advies CGM/190624-01
4. Buchmeier MJ *et al.* (2013). *Arenaviridae*. In: *Fields virology*, 6th edition. Ed. Knipe DM *et al.*, Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia
5. 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 (bezocht: 01 juli 2019)

6. 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
7. COGEM (2016). Inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg-) Lymphocytic choriomeningitis mammarenavirus. COGEM advies CGM/160513-01
8. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). Lymphocytic Choriomeningitis Virus (LCMV). <https://www.rivm.nl/wilde-knaagdieren-en-zo-nosen/ziekteverwekkers/lymphocytic-choriomeningitis-virus-lcmv> (bezoekt: 01 juli 2019)
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Lymphocytic Choriomeningitis (LCM). <https://www.cdc.gov/vhf/lcm/pdf/factsheet.pdf> (bezoekt: 01 juli 2019)
10. Bonthius DJ (2012). Lymphocytic choriomeningitis virus: an underrecognized cause of neurologic disease in the fetus, child, and adult. *Semin. Pediatr. Neurol.* 19: 89-95
11. Barton LL & Mets MB (2001). Congenital lymphocytic choriomeningitis virus infection: decade of rediscovery. *Clin. Infect. Dis.* 33: 370-374
12. Verhaegh EM *et al.* (2014). Meningitis na muizenbeet. *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 158: A7033
13. Fischer SA *et al.* (2006). Transmission of lymphocytic choriomeningitis virus by organ transplantation. *N. Engl. J. Med.* 354: 2235-2249
14. Bonthius DJ (2012). Lymphocytic choriomeningitis virus: an underrecognized cause of neurologic disease in the fetus, child, and adult. *Semin. Pediatr. Neurol.* 19: 89-95
15. Wright R *et al.* (1997). Congenital lymphocytic choriomeningitis virus syndrome: a disease that mimics congenital toxoplasmosis or Cytomegalovirus infection. *Pediatrics* 100:E9
16. Armstrong C & Lillie RD (1934). Experimental Lymphocytic Choriomeningitis of Monkeys and Mice Produced by a Virus Encountered in Studies of the 1933 St. Louis Encephalitis Epidemic. *Public Health R.* 49: 1019-1027
17. Rivers TM & Scott TF (1935). Meningitis in man caused by a filterable virus. *Science* 81: 439-440
18. Rivers TM & Scott TF (1936). Meningitis in man caused by a filterable virus. II. Identification of the etiological agent. *J. Exp. Med.* 63: 415-432
19. Bergthaler A *et al.* (2007). Contributions of the lymphocytic choriomeningitis virus glycoprotein and polymerase to strain-specific differences in murine liver pathogenicity. *J. Gen. Virol.* 88: 592-603
20. Zapata JC *et al.* (2011). Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV) infection of macaques: a model for Lassa fever. *Antiviral Res.* 92: 125-138
21. 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
22. 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
23. Emonet SF *et al.* (2009). Generation of recombinant lymphocytic choriomeningitis viruses with trisegmented genomes stably expressing two additional genes of interest. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106: 3473-3478
24. Kallert SM *et al.* (2017). Replicating viral vector platform exploits alarmin signals for potent CD8+ T cell-mediated tumour immunotherapy. *Nat. Commun.* 8: 15327

25. Djavani *et al.* (2005). The proline-rich homeodomain (PRH/HEX) protein is down-regulated in liver during infection with lymphocytic choriomeningitis virus. *J. Virol.* 79: 2461-2473
26. Riviere Y *et al.* (1985). Genetic mapping of lymphocytic choriomeningitis virus pathogenicity: virulence in guinea pigs is associated with the L RNA segment. *J. Virol.* 55: 704-709