

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

**DATUM** 07 april 2020

**KENMERK** CGM/200407-03

**ONDERWERP** Advies inschaling werkzaamheden met gg-*Yellow fever virus* vaccinstam 17D met het Spike-eiwit van SARS-CoV-2

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier getiteld 'Evaluatie van coronavirus vaccins in niet-humane primaten' (IG 20-030\_2.8-000), ingediend door het Biomedical Primate Research Centre in Rijswijk, deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met een genetisch gemodificeerd (gg)-vaccin gebaseerd op de *Yellow fever virus* (YFV) vaccinstam YF-17D. In het genoom van dit gg-virus is de sequentie coderend voor het oppervlakte-eiwit van het nieuwe coronavirus (SARS-CoV-2) ingebracht, resulterend in het gg-virus YF-17D-nCoV-S. De aanvrager wil met dit vaccin laboratoriumwerkzaamheden uitvoeren, en vaccinatieproeven in apen.

SARS-CoV-2 heeft zich wereldwijd verspreid en infectie met dit coronavirus kan leiden tot koorts, respiratoire symptomen en longontsteking, met in het ergste geval de dood tot gevolg. Dit virus is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3. Vaccinstam YF-17D wordt al langere tijd toegepast voor vaccinatiedoeleinden en is veilig en effectief gebleken bij mens en dier. Deze vaccinstam is eerder door de COGEM in pathogeniteitsklasse 2 ingedeeld.

Omdat de gegevens ter onderbouwing van de inschaling nog niet aangeleverd zijn, aangezien de daarvoor benodigde experimenten gaande zijn, baseert de aanvrager zich op literatuurgegevens en ervaring met een vergelijkbaar construct waar de COGEM onlangs over heeft geadviseerd (YF-17D-RABV). De aanvrager verzoekt om de werkzaamheden met YF-17D-nCoV-S op ML-III en DM-III te mogen laten plaatsvinden, waarbij aanvullende beschermende maatregelen in acht worden genomen. Op basis van de door de aanvrager aangeleverde informatie en aanvullend literatuuronderzoek, kan de COGEM instemmen met de voorgestelde inschaling van de werkzaamheden. Indien de werkzaamheden op de geadviseerde inperkingniveaus worden uitgevoerd, en de voorgestelde aanvullende maatregelen in acht worden genomen, is de COGEM van oordeel dat de risico's voor mens en milieu, 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. Dr. J. Westra, Hoofd Bureau ggo  
Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en Milieurisico's  
DG Milieu en Internationaal

# Inschaling van *in vitro* en *in vivo* werkzaamheden met gg-*Yellow fever virus* vaccinstam 17D met het gen dat codeert voor het S-eiwit van SARS-CoV-2

## COGEM advies CGM/200407-03

### 1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van *in vitro* en *in vivo* werkzaamheden met een genetisch gemodificeerd (gg-)virusvaccin gebaseerd op de *Yellow fever virus* vaccinstam YF-17D (IG 20-030). De aanvrager, het Biomedical Primate Research Centre (BPRC) in Rijswijk, is voornemens werkzaamheden uit te voeren met het YF-17D vaccin waarin het gen dat codeert voor het Spike (S)-eiwit van het coronavirus SARS-CoV-2, geïnsereerd is. Dit vaccin, YF-17D-nCoV-S, zal aan apen worden toegediend, waarbij na enkele weken een ‘challenge’ met wildtype SARS-CoV-2 zal plaatsvinden.

In februari dit jaar heeft de COGEM een advies uitgebracht over werkzaamheden met combinatievaccins gebaseerd op YF-17D.<sup>1</sup> Deze aanvraag was eveneens afkomstig van het BPRC, en betrof onder meer werkzaamheden met YF-17D-RABV, waarbij de sequentie coderend voor het oppervlakte-eiwit van het *Rabies lyssavirus* (RABV) is ingebracht. Het YF-17D-nCoV-S vaccin in het onderhavige advies is vergelijkbaar met het YF-17D-RABV vaccin uit dit eerdere advies. Omdat er een zeker mate van overlap is tussen de risicobeoordeling beide aanvragen, zal in het onderliggende advies alleen ingegaan worden op aspecten die specifiek zijn voor YF-17D-nCoV-S.

### 2. SARS-CoV-2

Sinds december 2019 is er een uitbraak gaande met een nieuw coronavirus uit de species *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus* (genus *Betacoronavirus* en familie *Coronaviridae*), genaamd SARS-CoV-2.<sup>2</sup> De uitbraak is in China begonnen, maar heeft zich snel op wereldwijde schaal verspreid, waarbij Europa ook zwaar getroffen is.<sup>3</sup> Besmetting met SARS-CoV-2 kan leiden tot koorts, respiratoire symptomen en longontsteking, met in het ergste geval de dood tot gevolg. Het ziektebeeld dat dit virus veroorzaakt wordt COVID-19 genoemd. Op basis van de huidige gegevens wordt ongeveer 20-30% van de gediagnostiseerde COVID-19 gevallen opgenomen in het ziekenhuis en heeft 4% een ernstiger verloop van de ziekte.<sup>4</sup> Het virus wordt voornamelijk overgedragen via respiratoire druppeltjes (‘respiratory droplets’) die ontstaan als een geïnfecteerd persoon hoest, niest of praat.<sup>4,5</sup> Er is op dit moment geen vaccin of antivirale therapie voorhanden.

SARS-CoV-2 bezit een enkelstrengs positief RNA genoom (~30 kb), waarop zich 11 ‘open reading frames’ (ORFs) bevinden. De genoomorganisatie is typisch voor coronavirussen: twee grote, deels overlappende ORFs bevinden zich aan het 5’ uiteinde van het genoom, beslaan ongeveer twee derde van het genoom en coderen voor de replicase polyproteïnen die een rol spelen bij RNA-replicatie. De andere ORFs aan het 3’ uiteinde coderen voor de structurele eiwitten S (‘spike’), E (‘envelope’) en M (‘membrane’) en het N eiwit (‘nucleocapsid’) en de zogenoemde ‘accessory’ eiwitten.<sup>6</sup> Het S-eiwit is belangrijk voor het gastheerbereik ofwel tropisme van het virus. Het S-eiwit is geïntegreerd in de virale envelop, waarbij onder meer het ‘receptor-binding domain’ (RBD), verantwoordelijk voor de aanhechting van het virus aan de receptor van de gastheercel, uit het virusdeeltje steekt. Na binding aan

de receptor vinden structurele veranderingen plaats in het S-eiwit, die leiden tot de fusie van de virale envelop met het plasmamembraan van de gastheer, waarna het virale RNA de gastheer cel kan binnendringen. SARS-CoV-2 gebruikt dezelfde receptor als SARS-CoV, namelijk ‘angiotensin convertend enzyme’ (ACE)-2.<sup>6,7,8,9,10</sup>

### 3. Voorgenomen werkzaamheden

De aanvrager wil laboratoriumwerkzaamheden en vaccinonderzoek uitvoeren met een nieuw vaccinconstruct gericht tegen het nieuwe coronavirus (SARS-CoV-2). Hiervoor zullen apen gevaccineerd worden met YF-17D-nCoV-S. Daarna zal ook onderzoek gedaan worden met materiaal afkomstig van deze apen. De aanvrager wil de werkzaamheden uitvoeren op inperkingsniveau ML-III en DM-III.

Het ‘basis-construct’ van het gg-vaccin bestaat uit de *Yellow fever virus* vaccinstam YF-17D. Tussen de E en NS1 coderende genen van YF-17D is de coderende sequentie voor het Spike-eiwit van het SARS-CoV-2 geïnserteerd. De sequentie van het S-eiwit is aangepast, waarbij de eerste 13 aminozuren van de N-terminale signaalpeptidesequentie zijn verwijderd en de C-terminus gefuseerd is met het transmembraandomein 2 van het E-eiwit uit het *West Nile virus* (WNV). De aanvrager geeft aan dat aanwezigheid van het transmembraandomein van WNV noodzakelijk is om de conformatie van het YF-17D polyproteïne in het endoplasmatisch reticulum (ER) te behouden, en voor een juiste verwerking van YFV-eiwitten en het S-eiwit. Een deel van de NS1 sequentie van YF-17D (de eerste 9 aminozuren) bevindt zich vóór de insertie van het S-gen; zo wordt de signaalpeptidase sequentie behouden om de ‘processing’ van het polyproteïne correct te laten verlopen. Hierdoor wordt het S-eiwit in het ER uit het YF-17D polyproteïne geknipt. Hoewel de werkzaamheden met het vaccin niet duidelijk beschreven zijn, lijkt het erop dat de aanvrager gebruik maakt van PPLAV (‘plasmid launched live attenuated virus’), waarbij het virus vanaf een plasmide *in vivo* geproduceerd wordt.

De aanvrager is voornemens de werkzaamheden met het vaccin en het onderzoek met materiaal afkomstig van het DM-III dierversluis uit te voeren in het ML-III laboratorium in het BPRC. Hierbij neemt de aanvrager onder andere de volgende beschermingsmaatregelen in acht:

- Er wordt gewerkt met infectieus materiaal in een veiligheidswerkbank van minimaal klasse 2A, welke jaarlijks wordt onderhouden en gecontroleerd;
- Het gebruik van ‘sharps’ wordt tot een minimum beperkt;
- Bij werkzaamheden op ML-III na experimentele infectie met het door de lucht overdraagbare pathogeen (i.e., SARS-CoV-2), dragen alle medewerkers in deze ruimte disposable werkkleding en schoeisel dat na afloop in de tussensluis wordt achtergelaten;
- Bij werkzaamheden op ML-III na experimentele infectie met het door de lucht overdraagbare pathogeen (i.e., SARS-CoV-2), is het dragen van een volgelaatsmasker met hepafilter verplicht voor de betrokken medewerker.

De aanvrager is voornemens apen (resusapen, Java-ape of penseelaapjes) te vaccineren met YF-17D-nCoV-S, en drie tot vier weken later te infecteren met wildtype SARS-CoV-2. Voor werkzaamheden in

dierverblijven op DM-III in het BPRC neemt de aanvrager de volgende beschermingsmaatregelen in acht:

- Er is een douche aanwezig;
- Bij werkzaamheden vóór experimentele infectie is het dragen van mond- en neuskapje (P2 of hoger) en beschermende bril verplicht;
- Bij werkzaamheden vóór experimentele infectie wordt apart schoeisel gedragen. Het schoeisel wordt na afloop van de werkzaamheden in de besmette zijde van de sluis achtergelaten;
- Tijdens en na experimentele infectie met dit door de lucht overdraagbare pathogeen (i.e., SARS-CoV-2) is het dragen van een volgelaatsmasker met hepafilter verplicht voor de betrokken medewerker;
- Na experimentele infectie dragen alle medewerkers in deze ruimte werkkleding (overall, laarzen, handschoenen) en wordt het gebruik van 'sharps' tot een minimum beperkt.

#### 4. Eerdere COGEM adviezen

De COGEM heeft de geattenueerde vaccinstam YF-17D ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2,<sup>11</sup> en SARS-CoV-2 in pathogeniteitsklasse 3.<sup>12</sup> Recent (februari 2020) heeft de COGEM advies uitgebracht over *in vitro* werkzaamheden met combinatievaccins gericht tegen RABV en verschillende flavivirussen (YFV, JEV en ZIKV). Het YF-17D-nCoV-S vaccin is op een vergelijkbare manier ontwikkeld als het YF-17D-RABV vaccin. De COGEM heeft destijds geoordeeld dat de RABV- en flaviviruscombinatievaccins tenminste zo geattenuerd zijn als YF-17D, en adviseerde de voorgenomen werkzaamheden met de combinatievaccins uit te voeren op ML-II niveau.<sup>1</sup>

#### 5. Overwegingen

##### 5.1 Virulentie van YF-17D-nCoV-S

De aanvrager stelt dat insertie van het S- gen van SARS-CoV-2 in YF-17D-nCoV-S leidt tot een verdere attenuatie van vaccinstam YF-17D. Aangezien het onderzoek hiernaar nog gaande is, zijn de experimentele data niet door de aanvrager aangeleverd. Echter, de aanvrager stelt dat preliminaire resultaten van onderzoek met YF-17D-nCoV-S zijn dat er *in vitro* een verminderde replicatiesnelheid wordt gemeten, lagere eindtiters behaald worden, en dat er kleinere plaques gevormd worden door YF-17D-nCoV-S constructen ten opzichte van ouderstam YF-17D. Daarnaast verwijst de aanvrager naar voorbeelden in de wetenschappelijke literatuur, waarin melding wordt gemaakt dat chimere virussen afgeleid van YF-17D een verminderde virulentie hebben. Het betreft hier ChimeriVax vaccins; YF-17D vaccinconstructen waarbij de sequentie van de prM en E-eiwitten zijn uitgewisseld met die van JEV, WNV, of Dengue virus.<sup>13,14,15,16</sup>

Voor het vergelijkbare YF-17D-RABV vaccin heeft de aanvrager resultaten van virulentie-experimenten aangeleverd. De COGEM heeft toen geoordeeld dat, hoewel de informatievoorziening summier was, de resultaten van deze experimenten voldoende aantoonde dat YF-17D-RABV geattenuerd is ten opzichte van YFV-17D omdat het gg-virus zich *in vitro* minder goed repliceert, en *in vivo* minder virulent is (muizenexperimenten).<sup>1</sup>

Op basis van de preliminaire experimentele gegevens die vergelijkbare resultaten opleveren als voor het vergelijkbare vaccinconstruct YF-17D-RABV, en op basis van gegevens uit de wetenschappelijke literatuur met chimere YF-17D afgeleide virussen, acht de COGEM het zeer aannemelijk dat YF-17D-nCoV-S minder pathogeen en geattenuëerd is ten opzichte van YF-17D.

### **5.2 Pseudotypering YF-17D-nCoV-S**

Onder verwijzing naar de opbouw van het gemaakte construct stelt de aanvrager dat het tropisme van het YF-17D-nCoV-S beperkt zal blijven tot cellen die door YFV geïnfecteerd kunnen worden. De aanvrager stelt dat het S-eiwit ‘intern gelokaliseerd’ zal zijn in het virusdeeltje, en dus afgeschermd aanwezig en niet in staat is te binden aan de ACE-2 receptor in de gastheer.

Eender aan het gg-YF-17D-RABV advies verwijst de aanvrager verder naar eerdere publicaties waarbij pseudotypering met oppervlakte-eiwitten van virussen uit de familie *Flaviviridae* nooit gemeld zijn in de wetenschappelijke literatuur.<sup>17,18,19</sup> Daarnaast wordt verwezen naar de literatuur waaruit blijkt dat de biodistributie van chimere YF-17D afgeleide virusvaccins (ChimeriVax-WN02 en JE-CV) vergelijkbaar is met YF-17D.<sup>20</sup>

De aanvrager heeft nog geen experimentele gegevens aan kunnen leveren om zijn beweringen te onderbouwen. De aanvrager heeft een figuur van het construct aangeleverd en aanvullende informatie over de opbouw van het construct. De COGEM is van oordeel dat de aanvraag op verschillende punten onduidelijk, onvolledig en mogelijk zelfs incorrect is, met name wanneer het de opmerkingen over de internalisatie van het S-eiwit betreft.

Op basis van eigen expertise, ervaring en informatie uit de wetenschappelijke literatuur, acht de COGEM de kans op ‘pseudotypering’ van YFV-17D met het SARS-CoV-2 S-eiwit verwaarloosbaar klein. In het virale vectorconstruct is het S-eiwit geplaatst tussen de E en NS1 sequenties van YF-17D en is de C-terminus van het S-eiwit gefuseerd met het transmembraandomein 2 van het E-eiwit van WNV. Dit leidt ertoe dat S-eiwit naar alle waarschijnlijkheid afgesplitst wordt van het polyproteïne en via het ER en Golgi-apparaat uitgescheiden wordt.

Bij de COGEM zijn geen publicaties bekend waarin beschreven wordt dat pseudotypering van flavivirussen, met oppervlakte-eiwitten van virussen buiten het genus *Flavivirus*, mogelijk is. Verder is recent beschreven dat ‘pseudotypering’ zelfs niet altijd mogelijk is wanneer gebruik gemaakt van verschillende virussoorten binnen het genus *Flavivirus*.<sup>21</sup>

### **5.3 Recombinatie tussen YF-17D-nCoV-S en wildtype virus SARS-CoV-2**

Het YF-17D-nCoV-S vaccin zal getest worden in resusapen, Java-apen of penseelapen. Het vaccinconstruct (YF-17D-nCoV-S) wordt geïnjecteerd in de bovenarmen en benen van de apen en de immuunrespons van de apen wordt gemonitord. Drie tot vier weken na de laatste vaccinatie zullen de apen geïnfecteerd worden met een wildtype SARS-CoV-2 stam waarvan ook het S-gen in het YF-17D-nCoV-S construct is afgeleid. Infectie met het wildtype coronavirus zal gebeuren via de neus of keel, of een combinatie hiervan.

De aanvrager stelt dat replicatie van SARS-CoV-2 lokaal zal plaatsvinden, i.e., in de luchtwegen en longen van de apen, mede omdat de ACE-2 receptor veel voorkomt in respiratoir weefsel. Op basis van eerdere ervaring met vaccinstudies met YF-17D en op basis van literatuurgegevens over detectie van een commercieel YFV vaccin (YF-VAX) en ChimeriVax-WWN02 en JE-CV, waarbij de vaccinvirussen binnen 7 dagen niet meer gedetecteerd werden in bloed, en na 14 dagen niet meer in weefsel gedetecteerd werden,<sup>20,22</sup> stelt de aanvrager dat YF-17D vaccinvirussen binnen 14 dagen uit het lichaam van de apen zijn verdwenen. Daarnaast vertoont de proefopzet gelijkenissen met eerdere pre-klinische studies,<sup>22</sup> zoals de gebruikte apensoort en de te inoculeren dosering van het vaccin.

De aanvrager acht de kans op recombinatie tussen YF-17D-nCoV-S en wildtype SARS-CoV-2 tijdens het vaccinatie-challenge experiment verwaarloosbaar klein, aangezien er drie tot vier weken zit tussen de vaccinatie en de ‘challenge’ met het wildtype virus. Daarnaast zorgen de wijze en de plek van toediening voor een andere lokale verspreiding van het vaccin in vergelijking met het ‘challenge’ virus.

Onderzoek naar het klaren van YF-17D-nCoV-S uit het lichaam ontbreekt nog, en de aanvrager stelt dat er nog een mogelijkheid is dat reservoirs elders in gevaccineerde dieren niet worden gedetecteerd met RT-PCR. Alles in overweging nemende acht de COGEM de kans op recombinatie tussen YF-17D-nCoV-S en wildtype SARS-CoV-2 tijdens de ‘challenge’ zeer klein, maar theoretisch niet geheel uitgesloten. Er zijn echter geen redenen om aan te nemen dat een recombinatie resulteert in een gg-SARS-CoV-2 dat een verhoogde virulentie of verspreidingsvermogen heeft, aangezien homologe recombinatie binnen het S-gen resulteert in een SARS-CoV-2 virus met de wildtype sequentie. Het S-gen in YF-17D-nCoV-S is immers afgeleid van de wildtype SARS-CoV-2 stam waarmee de ‘challenge’ wordt uitgevoerd. Daarbij zijn de aanvullende maatregelen die de aanvrager neemt wanneer de ‘challenge’ met SARS-CoV-2 wordt uitgevoerd (het dragen van een volgelaatsmasker met hepafilter) zodanig dat ook een recombinant virus (dat dezelfde eigenschappen zal hebben als SARS-CoV-2) zich niet uit de ingeperkte ruimte kan verspreiden.

## **6. Conclusie en advies**

Alle bovenstaande overwegingen in ogenschouw nemende, kan de COGEM instemmen met de voorgestelde inschaling op ML-III voor werkzaamheden met YF-17D-nCoV-S en met materiaal afkomstig uit het diervverblijf, en inschaling op DM-III voor vaccinatie en ‘challenge’ experimenten met apen. De COGEM acht geen extra aanvullende maatregelen noodzakelijk, anders dan de aanvullende maatregelen die de uitvoerder voornemens is toe te passen. De COGEM merkt hierbij op dat zij geen aanleiding ziet om na de ‘challenge’ met wildtype SARS-CoV-2 bij een eventuele recombinatie tussen YF-17D-nCoV-S en wildtype SARS-CoV-2 aanvullende maatregelen te adviseren anders dan de maatregelen die gelden voor werkzaamheden met wildtype SARS-CoV-2. De COGEM is namelijk van oordeel dat het ‘gg-virus’ dat hierbij ontstaat niet te onderscheiden is van het wildtype virus en dezelfde verspreidingskarakteristieken zal hebben en de voorgenomen inperkingsmaatregelen voor de werkzaamheden met het wildtype virus derhalve afdoende zijn.

Op de genoemde inperkingsniveaus en met de door de aanvrager voorgestelde beschermingsmaatregelen, acht de COGEM de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

## 7. Signalering

De vergunningverlenende instantie heeft de COGEM expliciet gevraagd of de kans op recombinitie tussen gg-YF-17D-nCoV-S en wildtype 2019-nCoV al dan niet verwaarloosbaar klein is. Dit omdat bij een niet verwaarloosbare kleine kans, de challenge-experimenten als ggo-activiteit beschouwd moeten worden omdat er een gg-virus zou ontstaan. Aangegeven is dat dit zou betekenen dat er stringentere of aanvullende voorschriften van toepassing zouden zijn. Dit ondanks het feit dat recombinitie tussen het vaccivirus en het wildtype virus niet zal resulteren in een virus met nieuwe eigenschappen of genomsequentie.

Eerder is door de vergunningverlener op vergelijkbare gronden besloten om het COGEM advies betreffende de omlaagschaling van werkzaamheden met replicatiedeficiënte adenovirale vectoren niet te volgen.<sup>23</sup> Ook hierbij was er een theoretische mogelijkheid dat er recombinitie zou optreden, waarbij de zogenaamde recombinant gelijk is aan het al aanwezige (en ingesleepte) wildtype virus.

De COGEM signaleert dat aanpassing van Besluit en Regeling ggo hier dringend gewenst is. Het doel van de ggo-regelgeving is om de veiligheid van mens en milieu te waarborgen. In de bovenstaande gevallen is (bij eventuele recombinitie) geen sprake van een verhoogd risico voor mens en milieu, omdat de als dusdanig aangemerkte recombinante virussen gelijk aan en niet te onderscheiden zijn van de al aanwezige wildtype virussen. Hier is sprake van een kloof tussen de juridische en feitelijke werkelijkheid. De COGEM wijst erop dat draagvlak voor regelgeving en opgelegde maatregelen in het werkveld essentieel zijn om de veiligheid te waarborgen. Dit draagvlak wordt ondergraven als de juridische werkelijkheid leidt tot het opleggen van overbodige en onbegrepen maatregelen.

## Referenties

1. COGEM (2020). Inschaling werkzaamheden met combinatievaccins gebaseerd op *Yellow fever virus* stam 17D. COGEM advies CGM/200203-01
2. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses (2020). The species *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* 5: 536-544
3. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Situation update worldwide, as of 29 March 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/en/geographical-distribution-2019-ncov-cases> (bezoekt: 30 maart 2020)
4. European Centre for Disease Prevention and Control. Q&A on COVID-19. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/questions-answers> (bezoekt: 2 april 2020)
5. World Health Organisation (WHO). Q&A on coronaviruses (COVID-19) <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/q-a-coronaviruses> (bezoekt: 2 april 2020)
6. Zhou P *et al.* (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>



7. Michael C & Letko VM (2020). Functional assessment of cell entry and receptor usage for lineage B  $\beta$ -coronaviruses, including 2019-nCoV. [www.biorxiv.org](http://www.biorxiv.org).
8. Wan Y *et al.* (2020). Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J. Virol.* JVI.00127-20; DOI: 10.1128/JVI.00127-20
9. Letko M *et al.* (2020). Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nat. Microbiol.* 5: 562-569
10. Walls AC *et al.* (2020). Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*. pii: S0092-8674(20)30262-2
11. COGEM (2019). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal humaan- en dierpathogene RNA en DNA virussen (2019). COGEM advies CGM/190905-02
12. COGEM (2020). Pathogeniteitsclassificatie en inschaling van werkzaamheden met het nieuwe coronavirus 2019-nCoV uit Wuhan. COGEM advies CGM/200211-01
13. Arroyo J *et al.* (2001). Molecular basis for attenuation of neurovirulence of a Yellow fever virus/Japanese encephalitis virus chimera vaccine (ChimeriVax-JE). *J. Virol.* 75: 934-942
14. Arroyo J *et al.* (2004). ChimeriVax-West Nile virus live-attenuated vaccine: preclinical evaluation of safety, immunogenicity and efficacy. *J. Virol.* 78: 12497-12507
15. Dayan GH *et al.* (2013). Preclinical and clinical development of a YFV 17D-based chimeric vaccine against West Nile virus. *Viruses* 5: 3048-3070
16. Monath TP *et al.* (2005). Safety testing for neurovirulence of novel live, attenuated flavivirus vaccines: infant mice provide an accurate surrogate for the test in monkeys. *Biologicals* 33: 131-144
17. Zavada J (1982). The pseudotypic paradox. *J. Gen. Virol.* 63: 15-24
18. King B *et al.* (2016). Technical considerations for the generation of novel pseudotyped viruses. *Future Virol.* 11: 47-59
19. Molenkamp R *et al.* (2003). Yellow fever virus replicons as an expression system for Hepatitis C virus structural proteins. *J. Virol.* 77: 1644-1648
20. Guy B *et al.* (2010). Preclinical and clinical development of YFV 17D-based chimeric vaccines against dengue, West Nile and Japanese encephalitis viruses. *Vaccine* 28: 632-649
21. Hobson Peters J *et al.* (2019). A recombinant platform for flavivirus vaccines and diagnostics using chimeras of a new insect-specific virus. *Sc. Translat. Med.* 11: doi:10.1126/scitranslmed.aax7888 <https://stm.sciencemag.org/content/11/522/eaax7888> (bezoekt: 2 april 2020)
22. Monath TP *et al.* (2006). A live, attenuated recombinant West Nile virus vaccine. *PNAS* 103: 6694-6699
23. Reactie op COGEM adviezen CGM/180316-01 en CGM/180724-01 <https://cogem.net/publicatie/vervolgadvies-over-laboratoriumwerkzaamheden-met-replicatie-deficiente-adenovirale-vectorsystemen/> (bezoekt: 2 april 2020)