

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
drs. V.L.W.A. Heijnen
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 07 november 2022
KENMERK CGM/221107-01
ONDERWERP Advies inschaling werkzaamheden met FLUAV 5:3 reassortanten

Geachte mevrouw Heijnen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier IG 22-004_2.8-001 getiteld 'Inschaling van recombinant reassorted H3N2-Port Chalmers (PC1) werk op ML-II niveau', ingediend door Intervet International B.V., deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is verzocht te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde (gg-) influenza A virusstammen, afgeleid van de verzwakte influenza A virussen A/Port-Chalmers/1/73 (PC1), A/Puerto Rico/8/34 (PR8) of A/WSN/33 (WSNS33). In deze gg-influenzavirussen zullen drie gensegmenten, die coderen voor de HA-, NA- en NP-eiwitten, worden vervangen door die van een ander influenza A virus (zogenoeten '5:3 reassortanten'). De aanvrager verzoekt de werkzaamheden uit te mogen voeren op inperkingsniveau ML-II, waarbij aanvullende voorwaarden in acht worden genomen.

Het vermogen van influenzavirussen om ernstige ziekte te veroorzaken in vogels, wordt grotendeels bepaald door de aanwezigheid van een polybasische klievingsplaats in het HA-eiwit. De te produceren gg-virussen zijn grotendeels gebaseerd op de sterk verzwakte influenzavirusstammen PC1, PR8 en WSN33. De COGEM is van oordeel dat uitwisseling van de HA, NA en NP segmenten (waarbij géén polybasische klievingsplaats in HA aanwezig is) geen invloed heeft op het geattenuerde fenotype van deze uitgangsstammen. Zij is van oordeel dat de gg-influenzavirussen (5:3 reassortanten) niet pathogener zijn dan de sterk verzwakte stammen PC1, PR8 en WSN33. Het bovenstaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat bij uitvoering van de voorgenomen werkzaamheden op ML-II, onder navolging van de gestelde voorwaarden en voorschriften, 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.

- Drs. Y de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo
- Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG Milieu en Internationaal

Met het oog op eventuele belangenverstrengeling is COGEM lid dr. ir. G.P. Pijlman niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies

Advies inschaling werkzaamheden met gg-Influenza A virus 5:3 reassortanten, afgeleid van A/Port-Chalmers/1/73, A/WSN/33 en A/Puerto Rico/8/34

COGEM advies CGM/221107-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een wijziging van een eerdere vergunning betreffende de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde (gg-) influenza A virussen op inperkingsniveau ML-II (IG 22-004). De aanvraag is afkomstig van Intervet International B.V., en omvat werkzaamheden met reassortanten afgeleid van de humane geattenueerde influenzastammen A/Port-Chalmers/1/73 (H3N2, PC1), A/Puerto Rico/8/34 (H1N1, PR8) of A/WSN/33 (H1N1, WSNS33). In deze reassortanten zijn vijf genoomsegmenten afkomstig van PC1, PR8 of WSN33 en drie heterologe genoomsegmenten, die coderen voor hemagglutinine (HA), neuraminidase (NA), en het nucleoproteïne (NP), van verschillende influenza A virussen. Dit kan alle influenzavirussen betreffen, met uitzondering van de 1918 H1N1 virusstam. Er wordt verzocht de werkzaamheden in te schalen op inperkingsniveau ML-II met inachtneming van enkele aanvullende voorschriften, eender aan de eerder vergunde werkzaamheden met 6:2 reassortanten afgeleid van deze influenza stammen.

2. Influenza A virus

Influenza A virus (FLUAV) behoort tot de familie *Orthomyxoviridae* en het genus *Alphainfluenzavirus*.¹ Het RNA-genoom van *Influenza A virus* bestaat uit acht unieke genoomsegmenten. Deze coderen voor de virale eiwitten PB1, PB2 en PA (deze drie eiwitten vormen het RNA-polymerase), een nucleoproteïne (NP), de matrixeiwitten M1 en M2, haemagglutinine (HA), neuraminidase (NA), en voor de niet-structurele eiwitten NS1 en NEP ('nuclear-export protein', voorheen bekend als NS2).^{2,3}

De HA en NA oppervlakte-eiwitten spelen een belangrijke rol bij de gastheerspecificiteit en de aanmaak van antistoffen tegen het virus.^{4,5} Het NA-eiwit speelt een rol bij het vrijkomen van virusdeeltjes uit een geïnfecteerde cel. Het HA-eiwit is verantwoordelijk voor de aanhechting van het virus aan de gastheercel.^{2,5,6} Het HA-eiwit wordt gesynthetiseerd als één enkele polypeptide (HA0). Alvorens een gastheercel geïnfecteerd kan worden door het virus moet HA0 gekleefd worden door cellulaire proteases in de HA1 en HA2 subunits.²

Het NP eiwit is een belangrijke component van het ribonucleïnecomplex (RNP) dat bestaat uit het virale RNA, het NP en het trimere RNA-polymerase en een rol speelt bij de RNA-replicatie en transcriptie.⁷ Verondersteld wordt dat het NP eiwit ook een rol speelt bij de gastheerspecificiteit.^{2,8}

2.1 Aviaire influenzavirussen

Wilde watervogels zijn de natuurlijke reservoirs voor influenza A virussen.² Van een beperkt aantal subtypen is aangetoond dat deze incidenteel mensen of andere zoogdieren kunnen infecteren. De meeste aviaire influenzavirussen zijn laagpathogeen en veroorzaken in het algemeen geen tot milde symptomen

bij pluimvee en wilde vogels. Bepaalde aviaire influenza A virussen zijn echter hoogpathogeen en veroorzaken een zeer ernstige en besmettelijke ziekte (vogelgriep of vogelpest) bij pluimvee en andere vogelsoorten.^{2,9} Het onderscheid tussen hoogpathogene aviaire influenza (HPAI) en laagpathogene aviaire influenza (LPAI) virussen, is gebaseerd op de aminozuurvolgorde van de proteolytische klievingsplaats van het HA0 eiwit.² Hierbij moet opgemerkt worden dat een voor pluimvee laagpathogeen virus niet altijd laagpathogeen is voor andere dieren of mensen (bijvoorbeeld: LPAI H7N9 kan ernstige ziekte veroorzaken bij de mens).

2.2 Influenza A virussen bij de mens

Influenza A virussen die bij de mens voorkomen, kunnen onderscheiden worden in aan de mens aangepaste (seizoensgebonden) influenzavirussen die de mens als primaire gastheer hebben, en influenzavirussen die circuleren in dieren en sporadisch mensen infecteren, zoals aviaire influenzavirussen of varkensinfluenzavirussen, waarbij nauwelijks tot geen verdere overdracht tussen mensen optreedt. Tevens is het de afgelopen circa honderd jaar een aantal keren voorgekomen dat een 'nieuw' dierlijk of humaan-dierlijk influenza (reassortant) virus in de humane populatie werd geïntroduceerd en een pandemie veroorzaakte.

3. Voorgenomen werkzaamheden

De werkzaamheden betreffen de productie- en infectiewerkzaamheden met gg-FLUAV, waarbij vijf gensegmenten (PA, PB1, PB2, M en NS) afkomstig zijn van de geattenueerde influenza A stammen A/Port-Chalmers/1/73 (PC1), A/Puerto Rico/8/34 (PR8) óf A/WSN/33 (WSN33), en drie heterologe gensegmenten die coderen voor de NA-, HA- en NP-eiwitten afkomstig zijn van andere influenza A virussen die zowel hoog als laagpathogeen kunnen zijn. De aanvrager geeft aan dat de te gebruiken donorvirussen geen polybasische klievingsite in het HA eiwit bevatten, en er worden geen gensegmenten van de pandemische 1918 stam gebruikt. De 5:3 FLUAV reassortanten zullen worden vervaardigd door middel van een op plasmiden gebaseerd 'reverse genetics' systeem. De productie-werkzaamheden zullen worden uitgevoerd in animale cellen. Tevens is de aanvrager voornemens infectiewerkzaamheden met de geproduceerde 5:3 reassortanten uit te voeren in animale cellen en geëmbryoneerde kippeneieren.

De aanvrager verzoekt deze werkzaamheden op inperkingsniveau ML-II uit te voeren, onder toepassing van de volgende aanvullende voorschriften:

- medewerkers zijn gevaccineerd tegen humaan Influenza A virus;
- medewerkers die symptomen van griep vertonen worden uitgesloten van werkzaamheden;
- alle handelingen dienen in een veiligheidskabinet klasse-II uitgevoerd te worden;
- het dragen van handschoenen tijdens de werkzaamheden is verplicht;
- het dragen van een beschermende bril is verplicht.

Tevens zal de aanvrager voor infectiewerkzaamheden met geëmbryoneerde kippeneieren in associatie met gg-influenza A virussen aanvullende voorschriften hanteren:

- De geïnfecteerde eieren worden in een gesloten vloeistofdichte doos in een stoof bebroed;
- De dozen worden uitsluitend in een veiligheidskabinet van klasse II geopend en bij eventuele breuk van een ei wordt de gesloten doos in zijn geheel geautoclaveerd.

4. Eerder COGEM advies

In het verleden zijn alle influenza A virussen ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3¹⁰, maar in oktober 2020 heeft de COGEM de pathogeniteitsclassificatie van influenza A virussen heroverwogen.¹¹ Zij heeft toen geadviseerd om alle influenza A virussen omlaag te schalen naar pathogeniteitsklasse 2, met uitzondering van: de HPAI virussen van de subtypen H5 en H7, omdat zij systemische infecties met ernstige symptomen en hoge mortaliteit bij pluimvee veroorzaken; 1918 H1N1 ‘Spaanse griep’ en 1957 H2N2 ‘Aziatische griep’, omdat er tegen deze pandemische virulente virussen geen afdoende populatie-immuniteit onder de humane populatie bestaat; humaanpathogene LPAI H7N9 virussen, omdat deze aviaire influenzavirussen een ernstig ziektebeeld en hoge mortaliteit bij de mens kunnen veroorzaken; en ‘Nieuwe’ influenza A virussen met een pandemisch potentieel (d.w.z. een dierlijk of humaan-dierlijk influenza (reassortant) virus dat door de WHO opgenomen is in ‘pandemische paraatheidsfase’ 3, 4, 5 of 6). De COGEM heeft geadviseerd deze virulentere virussen te handhaven in pathogeniteitsklasse 3. De geattenueerde FLUAV stammen A/Puerto Rico/8/34, A/WSN/33 en A/Port Chalmers/1/73 zijn ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.^{12,13}

In het advies over de heroverweging van de pathogeniteitsclassificatie van Influenza A virussen¹¹ zijn voor werkzaamheden op inperkingsniveau ML-II met gg-influenza A virussen die samengesteld zijn uit klasse 2 ingedeelde influenza A virussen, de volgende aanvullende voorschriften geadviseerd:

- Voor heterologe HA-coderende genoomsegmenten moet een polybasische klievingsplaats in het geproduceerde eiwit uitgesloten zijn;
- Met sequentie-analyse moet vastgesteld zijn dat de genoomsegmenten afkomstig zijn van klasse 2 ingedeelde influenza A virussen;
- Open handelingen vinden plaats in een veiligheidskabinet klasse-II;
- Medewerkers met griepsymptomen dienen te worden uitgesloten van deelname aan de werkzaamheden;
- Het dragen van handschoenen is verplicht;
- Medewerkers dienen een mond- en neuskapje (Europees CE gecertificeerd EN143 P2 of EN149 FFP2) te dragen óf zijn gevaccineerd tegen de actueel circulerende humane FLUAV stammen.

Specifiek voor werkzaamheden met kippeneieren heeft de COGEM daar in het verleden de volgende voorschriften aan toegevoegd:

- de geïnfecteerde eieren worden in een gesloten vloeistofdichte doos in een stoof bebroed;
- de dozen worden uitsluitend in een veiligheidskabinet klasse-II geopend en bij eventuele breuk van een ei wordt de gesloten doos in zijn geheel geautoclaveerd.

In een vervolgadvis dat naar aanleiding van de herziene pathogeniteitsclassificatie is uitgebracht, is aangegeven dat de COGEM van oordeel is dat werkzaamheden met reassortanten van laagpathogene

vaccinstammen (zoals A/Puerto Rico/8/34 (H1N1)) met een haemagglutinine (HA) van een HPAI virus waarin de polybasische klievingssite is verwijderd, generiek op ML-II kunnen worden ingeschaald met de aanvullende maatregelen zoals hierboven genoemd.¹⁴

De COGEM heeft in het verleden vaker geadviseerd dat werkzaamheden met 6:2 reassortanten afgeleid van de geattenuerde influenza stammen, waaronder PR8 en WSN33,¹⁵ op ML-II kunnen plaatsvinden met inachtname van enkele aanvullende voorwaarden en voorschriften. Begin 2022 heeft de COGEM geadviseerd dat ook werkzaamheden met een 6:2 reassortant afgeleid van de PC1 stam plaats kunnen vinden op ML-II onder navolging van enkele voorwaarden en voorschriften.¹⁶

In 2019 heeft de COGEM positief geadviseerd over werkzaamheden met een 5:3 reassortant, waarbij 5 gensegmenten afkomstig waren van de geattenuerde stam A/Leningrad/134/17/57, en de HA-, NA- en NP-gensegmenten afkomstig waren van hoog- en laagpathogene influenza A virussen zonder polybasische klievingssite en met uitzondering van de 1918 stam. De COGEM was van oordeel dat uitwisseling van de drie gensegmenten geen invloed had op het geattenuerde fenotype van de Leningrad stam. Zij heeft geadviseerd de werkzaamheden met de 5:3 reassortant in te schalen op inperkingsniveau II, met inachtneming van enkele aanvullende voorschriften.¹⁷

5. Overweging en advies

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met gg-influenza A virus reassortanten op inperkingsniveau ML-II. In deze reassortanten zullen vijf gensegmenten afkomstig zijn van de geattenuerde stammen A/Port-Chalmers/1/73, A/Puerto Rico/8/34 óf A/WSN/33, en drie gensegmenten (NA, HA en NP) zullen afkomstig van andere influenza A virussen, met uitzondering van de 1918 stam. De aanvrager hanteert hierbij als voorwaarde dat het HA-segment geen polybasische klievingsplaats bevat. De aanvrager is van mening dat de toevoeging van een heteroloog NP gensegment in deze 5:3 reassortanten geen invloed heeft op de virulentie, en de inperking op ML-II de veiligheid waarborgt. Ter onderbouwing heeft de aanvrager wetenschappelijke publicaties aangeleverd waarin virulentiefactoren van influenza A virussen beschreven worden en waaruit geen aanwijzingen naar voren komen dat het NP-eiwit een belangrijke rol speelt bij de virulentie van influenza A virussen.^{18,19,20}

De COGEM beschouwt A/Puerto Rico/8/34, A/WSN/33 en A/Port-Chalmers/1/73 als geattenuerde influenza A virussen.^{12,15,16} In 2021 heeft de COGEM geoordeeld dat werkzaamheden met reassortanten van de geattenuerde vaccinstammen (zoals A/Puerto Rico/8/34 (H1N1)) met een HA van een HPAI virus waarin de polybasische klievingssite is verwijderd, generiek op ML-II kunnen worden ingeschaald wanneer aanvullende voorwaarden in acht worden genomen.¹⁴ Eerder heeft zij geadviseerd 6:2 reassortanten afgeleid van PR8, WSN33 en PC1 op ML-II plaats te laten vinden, met inachtneming van enkele aanvullende voorschriften.^{15,16} Ook heeft zij positief geadviseerd over 5:3 reassortanten op basis van A/Leningrad/134/17/57 met uitwisseling van HA, NA en NP gensegmenten.¹⁷

Het NP-eiwit speelt een belangrijke rol bij de replicatie van het virale genoom, waarbij het een verbinding vormt tussen de virale gensegmenten en het RNA-polymerase; het RNP complex. Hoewel het NP relatief geconserveerd is binnen de influenza A virussen (<11% variatie in aminozuren)²¹, is op

basis van fylogenetische analyses een tweedeling zichtbaar van het NP-gen. Hierbij wordt een onderverdeling gemaakt in NP sequenties uit virussen die aan mensen en varkens aangepast zijn, en uit virussen die in vogels en paarden circuleren.²² Verondersteld wordt dat het RNP, waaronder het NP, op evolutionaire schaal geadapteerd is aan de gastheer en daarmee mogelijk betrokken is bij de gastheerspecificiteit. In de wetenschappelijke literatuur is gerapporteerd dat er verschillen zijn in gevoeligheid tegen bepaalde antivirale eiwitten (interferon-geïnduceerde Mx eiwitten) tussen influenzavirussen die in vogels voorkomen en aan de mens aangepaste influenzavirussen, die voornamelijk worden toegeschreven aan variatie in het NP eiwit.^{23,24,25} Het NP van influenzavirussen die uit vogels worden geïsoleerd, is gevoeliger voor de antivirale Mx eiwitten dan de aan de mens aangepaste influenzavirussen en verondersteld wordt dat dit ook wel als een additionele barrière voor transmissie tussen soorten (van vogel naar mens) kan fungeren.²³ Door selectiedruk in een nieuwe gastheer (zoals de mens) is het waarschijnlijk dat in de loop van de evolutie adaptieve mutaties in het NP zijn ontstaan waardoor deze minder gevoelig wordt voor antivirale eiwitten in de nieuwe gastheer.²⁶ In de wetenschappelijke literatuur zijn dan ook mutaties in het NP eiwit beschreven die een mogelijke rol spelen bij de gastheer-switch van dierlijke influenza stammen naar de mens.^{26,27} Er zal echter verdere adaptatie nodig zijn voordat een dergelijk virus zich efficiënt kan vermenigvuldigen en verspreiden in mensen. Dit zal onder laboratoriumomstandigheden niet gebeuren.^a

De stammen A/WSN/33, A/Puerto Rico/8/34 en A/Port Chalmers/1/73 zijn geattenuerde humane influenza A virusstammen. In de pandemische 1918 en 2009 stammen zijn enkele adaptieve mutaties geïdentificeerd in het NP eiwit die voor een verminderde gevoeligheid voor Mx eiwitten hebben gezorgd. Deze mutaties zijn geconserveerd gebleven in de aan mensen aangepaste influenza virussen (H1N1/H1N2/H2N2/H3N2).²⁶ Hieronder valt ook de A/Puerto Rico/8/34 stam; van PR8 is beschreven dat het NP eiwit voor 96% overeenkomt met die van de 1918 stam en dat de adaptieve mutaties in de pandemische 1918 stam ook in de geattenuerde PR8 stam aanwezig zijn. PR8 heeft dan ook een verminderde gevoeligheid voor Mx eiwitten²⁷ en een ander antiviraal eiwit (BTN3A3).²⁵ Uit de vergelijking kan geconcludeerd worden dat het NP geen significante rol speelt bij de pathogeniteit. De stam WSN heeft een intermediair fenotype; de stam is minder gevoelig voor Mx eiwitten dan de aviaire stammen, maar gevoeliger dan andere humane stammen.²³

Alles in ogenschouw nemende is de COGEM van oordeel dat het NP geen virulentiefactor betreft, en de mutaties die voor een verminderde gevoeligheid zorgen voor bepaalde antivirale eiwitten, reeds aanwezig zijn in de NP segmenten van de geattenuerde stammen. Zij is derhalve van oordeel dat uitwisseling van HA, NA, en NP gensegmenten voor heterologe segmenten van een ander influenzavirus (waarbij géén polybasische klievingsplaats in HA aanwezig is), geen noemenswaardige invloed heeft op het geattenuerde fenotype van de influenzastammen A/Puerto Rico/8/34, A/Port-Chalmers/1/73 en A/WSN/33.

^a Hierbij dient opgemerkt te worden dat laboratoriumwerkzaamheden die gericht zijn op het verhogen van de pathogeniteit of virulentie van een in klasse 2 ingedeeld influenza A virus (bijvoorbeeld door het inbrengen van sequenties waarvan bekend is dat deze de pathogeniteit/virulentie verhogen), op inperkingsniveau III uitgevoerd moeten worden, zoals geadviseerd door de COGEM in het generieke advies over de herclassificering van influenza A virussen.¹¹

De COGEM stemt in met de inschaling van werkzaamheden met 5:3 reassortanten gebaseerd op A/Port-Chalmers/1/73, A/Puerto Rico/8/34, en A/WSN/33 op inperkingsniveau ML-II, onder toepassing van de voorgestelde aanvullende inperkingsmaatregelen, zoals in haar eerdere advies (2020)¹¹ geadviseerd:

- Open handelingen vinden plaats in een veiligheidskabinet van klasse II;
- Medewerkers met griepsymptomen dienen te worden uitgesloten van deelname aan de werkzaamheden;
- Het dragen van handschoenen is verplicht;
- Medewerkers dienen een mond- en neuskapje (Europees CE gecertificeerd EN143 P2 of EN149 FFP2) te dragen óf zijn gevaccineerd tegen humane FLUAV stammen.

De COGEM gaat er in haar beoordeling vanuit dat de heterologe genoomsegmenten geen ongedefinieerde mutaties bevatten, zoals ook in de eerdere vergunning, waarop deze aanvraag een aanvulling is,¹⁶ is aangegeven. Hierbij geldt voor infectiewerkzaamheden met geëmbryoneerde kippeneieren dat:

- De geïnfecteerde eieren in een gesloten vloeistofdichte doos in een stoof worden bebroed;
- De dozen uitsluitend in een veiligheidskabinet van klasse II geopend worden en bij breuk van een ei wordt de gesloten doos in zijn geheel geautoclaveerd.

Samenvattend, is de COGEM van oordeel dat bij uitvoering van de voorgenomen werkzaamheden op inperkingsniveau ML-II, onder navolging van de gestelde voorwaarden en voorschriften, de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.

Referenties

1. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (bezoekt: 8 februari 2022)
2. Wright PF *et al.* (2013). Chapter 41 Orthomyxoviruses. In: Fields Virology, volume 1, sixth edition. Edited by Knipe DM *et al.* Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia
3. McCauley JW *et al.* (2012). The Negative Sense Single Stranded RNA viruses. Family *Orthomyxoviridae*. 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
4. Shaw ML & Palese P (2013). Chapter 40 *Orthomyxoviridae*. In: Fields Virology, volume 1, sixth edition. Edited by Knipe DM *et al.* Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia
5. Brown EG (2000). Influenza virus genetics. Biomed. Pharmacother. 54: 196-209
6. Long JS *et al.* (2019). Host and viral determinants of influenza A virus species specificity. Nat. Rev. Microbiol. 17: 67-81
7. Lo C-Y *et al.* (2018). Chapter 5. Structure and function of influenza virus ribonucleoprotein. Subcell Biochem 88: 95-128

8. Naffakh N *et al.* (2008). Host restriction of avian influenza viruses at the level of the ribonucleoproteins. *Annu. Rev. Microbiol.* 62: 403-424
9. Avian influenza <http://www.fao.org/avianflu/en/qanda.html#4> (bezoekt: 8 februari 2022)
10. COGEM (2004). Inschaling van Influenza A virusstammen. COGEM advies CGM/040326-03
11. COGEM (2020). Heroverweging pathogeniteitsclassificatie influenza A virussen. COGEM advies CGM/201006-02
12. COGEM (2006). Ontwikkeling van recombinante influenza virussen met behulp van een 'reverse genetics' systeem. COGEM advies CGM/060724-03
13. COGEM (2021). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificatielijsten met humaan- en dierpathogene RNA- en DNA-virussen (2021). COGEM advies CGM/211117-01
14. COGEM (2021). Vervolgadvies heroverweging pathogeniteitsclassificatie Influenza A virussen. COGEM advies CGM/210618-01
15. COGEM (2005). Pathogeniteitstudies met recombinante Influenza A virussen. COGEM advies CGM/050201-01
16. COGEM (2022). Advies inschaling werkzaamheden met gg-Influenza A virus H3N2 A/Port-Chalmers/1/73 (6:2 reassortant). COGEM advies CGM/220216-01
17. COGEM (2019). Inschaling werkzaamheden met genetisch gemodificeerde Influenza A virus (FLUAV) 5:3 reassortanten. COGEM advies CGM/191107-01
18. Hu J *et al.* (2018). PA-X: a key regulator of influenza A virus pathogenicity and host immune responses. *Med. Microbiol. Immunol.* 207: 255–269
19. Chen-Yu Hsu A (2018). Influenza virus: A master tactician in innate immune evasion and novel therapeutic interventions. *Front Immunol.* 9: 743
20. Basler CF *et al.* (2008). Progress in identifying virulence determinants of the 1918 H1N1 and the Southeast Asian H5N1 influenza A viruses. *Antiviral Res.* 79: 166–178
21. Gorman OT *et al.* (1990). Evolution of the nucleoprotein gene of influenza A virus. *J. Virol.* 64: 1487-1497
22. Naffakh N *et al.* (2008). Host restriction of avian influenza viruses at the level of the ribonucleoproteins. *Annu. Rev. Microbiol.* 62: 403-424
23. Dittmann J *et al.* (2008). Influenza A virus strains differ in sensitivity to the antiviral action of Mx-GTPase. *J. Virol.* 82: 3624-3631
24. Zimmerman P *et al.* (2011). The Viral nucleoprotein determines Mx sensitivity of influenza a viruses. *J. Virol.* 85: 8133-8140
25. Pinto RM *et al.* (2022 preprint). Zoonotic avian influenza viruses evade human BTN3A3 restriction. *BioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2022.06.14.496196>*
26. Mänz B *et al.* (2013). Pandemic influenza a viruses escape from restriction by human MxA through adaptive mutations in the nucleoprotein. *PLoS Pathog.* 9: 01003279
27. Riegger D *et al.* (2015). The nucleoprotein of newly emerged H7N9 influenza a virus harbors a unique motif conferring resistance to antiviral human MxA. *J. Virol.* 89: 2241-2252