COMMISSIE
COGEM
GENETISCHE
MODIFICATIE

BEZOEKADRES:
A. VAN LEEUWENHOEKLAAN 9
3721 MA BILTHOVEN

POSTADRES:
POSTBUS 578
3720 AN BILTHOVEN

TEL.: 088 689 2777
INFO@COGEM.NET
WWW.COGEM.NET

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

DATUM	28 maart 2023
KENMERK	CGM/230328-01
ONDERWERP	Advies omlaagschaling werkzaamheden met cellen afkomstig van gg-HAdV5 geinfecteerde muizen

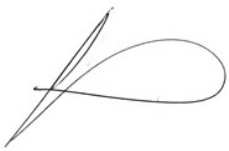
Geachte mevrouw Heijnen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier over ‘Working with tissues from mice that have been injected with adenoviral vectors’ (IG 22-169_2.8-000), ingediend door het Academisch Medisch Centrum (AMC), deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:
De COGEM is gevraagd te adviseren over de omlaagschaling van werkzaamheden met cellen en weefsels afkomstig van muizen die geïnfecteerd zijn geweest met genetisch gemodificeerde (gg-) humane adenovirus serotype 5 (HAdV5) vectoren, van ML-II naar ML-I. De COGEM is specifiek gevraagd of uitgesloten kan worden dat zeven dagen na toediening van de gg-HAdV5 vectoren nog adenovirale deeltjes aanwezig zijn, ook wanneer bij de toediening aan de muizen mogelijk onbedoeld replicatie-competent adenovirus (RCA) in het preparaat aanwezig is.
Muizen zijn niet-permissief voor humane adenovirussen; dit betekent dat humane adenovirussen wel muizen(cellen) kunnen infecteren en dat genoomreplicatie kan optreden, maar dat de synthese van de eiwitten die nodig zijn om nieuwe virusdeeltjes te vormen, in de muizencel geblokkeerd is. Verschillende studies tonen aan dat het aantal toegediende humane adenovirus-vectoren snel afneemt in bloed van muizen. Ook vernietigt het immuunsysteem van muizen HAdV-geïnfecteerde cellen, waardoor verspreiding van HAdV gelimiteerd blijft.
De bovenstaande factoren in overweging nemende, acht de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat er een week na infectie van (gg-)muizen met gg-HAdV5 vectoren nog gg-HAdV5 vectoren aanwezig zullen zijn in de gg-muizen, ook wanneer de vectorbatch mogelijk RCA bevatte. De COGEM is derhalve van oordeel dat omlaagschaling van de voorgenomen werkzaamheden van ML-II naar ML-I een verwaarloosbaar klein risico oplevert voor mens en milieu.

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. A.T. Das niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

Omlaagschaling van werkzaamheden met cellen of weefsels afkomstig van muizen 7 dagen na infectie met gg-HAdV5

COGEM advies CGM/230328-01

1. Inleiding

Naar aanleiding van het dossier IG 22-169, getiteld 'Working with tissues from mice that have been injected with adenoviral vectors' ingediend door het Academisch Medisch Centrum (AMC), is de COGEM gevraagd te adviseren over de omlaagschaling van werkzaamheden met cellen en weefsels afkomstig van muizen die geïnfecteerd zijn geweest met genetisch gemodificeerde (gg-)humane adenovirus serotype 5 (HAdV5) vectoren van ML-II naar ML-I. De COGEM is specifiek gevraagd of de aanwezigheid van adenovirale deeltjes uitgesloten kan worden 7 dagen na toediening van de gg-HAdV5 vectoren, ook wanneer in de gebruikte vectorbatch mogelijk replicatiecompetent adenovirus (RCA) aanwezig was.

2. Adenovirussen

Adenovirussen behoren tot de familie van de *Adenoviridae* en komen voor bij gewervelde dieren. De familie *Adenoviridae* omvat zes genera (*Atadenovirus, Aviadenovirus, Ichtadenovirus, Mastadenovirus, Siadenovirus* en *Testadenovirus*) en 87 soorten.[1] Humane adenovirussen (HAdV) behoren samen met adenovirussen van andere zoogdieren tot het genus *Mastadenovirus*. Dit genus omvat 51 soorten, waaronder 7 soorten HAdV genaamd *Human mastadenovirus A* tot en met *G*, en 9 adenovirussoorten afkomstig van niet humane primaten (SAdV), genaamd *Simian mastadenovirus A* tot en met *I*.[1] Binnen de species worden adenovirussen verder onderverdeeld in serotypen of typen, die met een nummer worden aangegeven. Van HAdV worden meer dan 100 verschillende typen onderscheiden.[2]

2.1 Structuur en genomische organisatie adenovirussen

Het genoom van adenovirussen bestaan uit een lineair dubbelstrengs DNA molecuul omgeven door een icosahedrische eiwitmantel.[3,4,5] De eiwitmantel is opgebouwd uit drie 'major' capside-eiwitten: proteïne II (hexon), III (pentonbase) en IV (fiber). Daarnaast zijn er meerdere 'minor' capside-eiwitten aanwezig, zoals het IIIa, VI, en VIII. In het virusdeeltje van veel mastadenovirussen zit ook het structurele eiwit IX.[4,5] De hexonen, pentonbasen en fibers bezitten antigene determinanten, en spelen een belangrijke rol bij de herkenning door het immuunsysteem.[6]

De 'core' van het virusdeeltje bestaat uit het DNA-genoom, met aan beide 5'-einden het covalent-gebonden 'terminal protein'(TP), dat samen met de eiwitten V (alleen aanwezig in mastadenovirussen), VII, X (ook wel Mu of µ genoemd), IVa2, en het virale protease een complex vormt.[3,4] Het dubbelstrengs DNA-genoom van een adenovirus kan onderverdeeld worden in verschillende regio's: het 'packaging' signaal ψ (psi), de zogenaamde 'vroege' (Early of E) en 'late' (Late of L) regio's, en de 'inverted terminal repeats' (ITR's) aan beide uiteinden van het genoom die functioneren als 'origin of replication', vanwaar DNA-replicatie van het genoom start.

De E-regio komt kort na binnenkomst van het virus in de cel tot expressie en bestaat uit verschillende transcriptie-units die elk voor meerdere eiwitten coderen: E1A, E1B, E2A, E2B, E3 en E4.[3,7] De E1A-

eiwitten zijn betrokken bij de inductie van de virusreplicatie en expressie van de overige E-genen, en bij het controleren van de celcyclus. De E1B-eiwitten remmen de geprogrammeerde celdood (apoptose) van de geïnfecteerde cel.[3,6,7] De aanwezigheid van de E1-regio in het virale genoom is essentieel voor replicatie van het virale genoom. De E2A- en E2B-eiwitten zijn noodzakelijk voor replicatie van het virale genoom.[3,7] E2A codeert voor het enkelstrengs DNA bindende eiwit (DBP), en E2B voor het DNA-polymerase en de 'precursor' van het TP eiwit (pTP).[3,7] De E3-eiwitten inhiberen de antivirale respons van de gastheer die optreedt na infectie en blokkeren de ontstekingsreactie tegen het virus, onder meer door de functie van 'natural killer' cellen, cytotoxische T-lymfocyten en 'tumor necrosis factor' tegen te werken. De E4-regio codeert voor eiwitten die betrokken zijn bij het controleren van de celcyclus en bij de expressie van de L-regio.[3,6] De L-regio bevat genen die coderen voor structurele eiwitten die nodig zijn voor de opbouw van het virusdeeltje.[3,6] Het 'packaging' signaal ψ is betrokken bij het inpakken van het virale genoom in het virusdeeltje.[3]

Een groot deel van de adenovirale infectiecyclus vindt plaats in de celkern van de gastheer, waaronder de expressie van de E-regio, virale DNA-replicatie, expressie van de 'late' virale genen, alsook de assemblage en maturatie van het nieuwe virusdeeltje. De nieuwe virusdeeltjes komen vrij na lysis van de cel.[3,6]

2.2 Pathogeniteit en transmissie van adenovirussen

Adenovirussen kunnen verspreiden door direct contact, via hoesten of niezen, of via geïnfecteerde objecten of oppervlakten. Sommige adenovirussen kunnen ook via de oraal/fecale route verspreiden. Adenovirussen kunnen ook via water verspreiden (bijvoorbeeld in zwembaden), maar dit komt minder vaak voor.[8]

Adenovirussen worden in het algemeen alleen pathogeen geacht voor hun specifieke gastheer.[6] HAdV infecteren in het algemeen de bovenste en lagere luchtwegen, maar ook conjunctivitis en infecties van het maagdarmkanaal komen regelmatig voor. In mindere mate worden blaas en lever geïnfecteerd.[6] Meer dan 80% van de gediagnosticeerde infecties wordt waargenomen in kinderen jonger dan 4 jaar.[9] Een infectie met HAdV is meestal zelf-limiterend en leidt tot milde klachten, hoewel er gevallen van ernstige ziekte met soms fatale afloop zijn gerapporteerd.[10] In immuungecompromitteerden is HAdV infectie geassocieerd met verhoogde morbiditeit en mortaliteit.[6,10] Soms kan HAdV persistent aanwezig blijven, waarbij gedurende een lange periode een lage hoeveelheid virus uitgescheiden wordt.[11] Er is geen specifieke therapie tegen adenovirale infecties voorhanden.

3. Voorgenomen werkzaamheden

De aanvrager beschikt reeds over een bestaande kennisgeving waarmee productie van gg-HAdV5 vectoren en infectie van (al dan niet gg-) muizen met deze vectoren op DM-II plaats kan vinden. Deze handelingen maken derhalve geen onderdeel uit van onderhavige vergunningaanvraag. In dit advies zal uitsluitend ingegaan worden op de inschaling van werkzaamheden met cellen en weefsels afkomstig van deze met gg-HAdV5-geïnfecteerde (gg-)muizen.

De gg-HAdV5 vectoren die de aanvrager voornemens is te gebruiken, worden vervaardigd door middel van eerste generatie, tweede generatie of helperafhankelijke ('helper dependent', HD) productie-

systemen. Donorsequenties die in de onderhavige vergunningaanvraag gebruikt worden, betreffen de HIV-Env en VSV-G sequenties, of sequenties van willekeurige oligonucleotiden met een maximale lengte van 25 bp. Ook kunnen gekarakteriseerde sequenties uit groepen van gelijk risicoprofiel gebruikt worden.[12] Het betreft hier groepen I, II, VI, VII, VIII, IX en X:

I: Gekarakteriseerde sequenties, inclusief regulatoire sequenties van zoogdieren; land- en tuinbouwgewassen; *Arabidopsis thaliana*; organismen van bijlage 2 lijst A1 van de Regeling ggo 2013; vogels; vissen: *Danio rerio*; Insecten: *Drosophila*; *Xenopus* en *C. elegans*
II: Marker-en reportergenen (fluorescerend, bioluminescent, LacZ);
VI: Tag-sequenties van niet-virale oorsprong (His, FLAG, GST, MBP, CBP, Myc-tag, Strep-tag, protein C-tag, E-tag, Fc-tag);
VII: Tag-sequenties van virale oorsprong afkomstig van virussen van pathogeniteitsklasse 2 en 3 genoemd op bijlage 4 van de Regeling ggo 2013 (HA, V5-tag, VSV-G tag);
VIII: Recombinatiegenen en -sequenties (Cre, LoxP, FRT en Gateway sequenties);
IX: Antibiotica resistentiegenen (ampicilline, neomycine, kanamycine, geneticine, erythromycin, gentamicine, tetracycline, bleomycine/phleomycine, chloramphenicol, streptomycine, hygromycine B, nourseothricine, blasticidine, puromycine);
X: miRNA, shRNA en siRNA gericht tegen genen van container I.

Tenslotte kunnen ook donorsequenties coderend voor een enkel genproduct of regulatoire sequenties van bacteriën, schimmels en parasieten van pathogeniteitsklasse 2 worden toegepast.

De aanvrager vermeldt dat er geen donorsequenties gebruikt zullen worden die een immuunrespons moduleren (de COGEM verstaat hieronder genen die aangrijpen op de immuunrespons) of een toxisch, carcinogeen, allergeen of pathogeen effect hebben, de pathogeniteit of de virulentie van de vector verhogen, dan wel sequenties die kunnen bijdragen aan de verspreiding van ingebracht genetisch materiaal of tot antibioticumresistentie kunnen leiden waardoor de behandeling van ziekteverwekkers in gevaar wordt gebracht. Tevens stelt de aanvrager dat het niet aannemelijk is dat de gebruikte transgenen invloed hebben op de fysieke eigenschappen van het HAdV5 virusdeeltje.

De gg-HAdV5 vectoren worden onder een eerdere kennisgeving intratracheaal, intraperitoneaal en intraveneus aan muizen toegediend met een maximale dosis van 10^9 virusdeeltjes. De aanvrager verzoekt in onderhavige vergunningaanvraag een week na de infectie van de muizen met de gg-HAdV5 vectoren, uit de geïnfecteerde muizen cellen en weefsels te isoleren en hiermee op inperkingsniveau ML-I werkzaamheden te verrichten. Op basis van wetenschappelijke literatuur beargumenteert de aanvrager dat er na 7 dagen geen adenovirale vectoren meer in de muizen aanwezig zijn, zelfs wanneer RCA aanwezig was in de vectorbatch die gebruikt is om de muizen te infecteren.

4. Eerdere COGEM adviezen

De COGEM heeft alle adenovirussen waarover zij tot nu toe advies heeft uitgebracht, ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.[13] In 2018 heeft de COGEM op basis van de resultaten van een in opdracht van de COGEM uitgevoerd onderzoeksrapport,[14] een generiek advies uitgebracht over de inschaling van

werkzaamheden (productie van en *in vitro* en *in vivo* handelingen) met replicatie-deficiënte adenovirale vectorsystemen onder ingeperkt gebruik.[15] Daarbij heeft de COGEM de *in vitro* laboratorium-werkzaamheden met vectorsystemen in afwezigheid van RCA ingeschaald op ML-I niveau. Met betrekking tot *in vivo* experimenten heeft de COGEM geadviseerd dat deze op DM-I plaats kunnen vinden wanneer een proefdier niet-permissief is voor de toe te dienen vector. Indien het proefdier (semi-)permissief is, adviseerde zij een inschaling op DM-I met aanvullend voorschrift dat de dieren voorafgaand aan het experiment geen verschijnselen van een acute adenovirusinfectie vertonen. Tevens achtte de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat proefdieren een week na de toediening nog infectieuze replicatie-deficiënte AdV deeltjes uitscheiden, waardoor omlaagschaling van DM-I naar D-I na deze termijn gerechtvaardigd is.[16]

5. Overweging

De aanvrager is voornemens een week na toediening van gg-HAdV5 vectoren aan (al dan niet gg-) muizen handelingen met cellen of weefsels van deze dieren uit te voeren, en verzoekt deze op ML-I plaats te laten vinden. Er wordt geen melding gemaakt of de vectorbatch voorafgaand aan de toediening aan muizen getest is op aanwezigheid van replicatiecompetent adenovirus (RCA), waardoor aanwezigheid van RCA bij toediening van de gg-HAdV5 vectoren aan de (gg-)muizen niet uitgesloten kan worden. De COGEM is gevraagd of na 7 dagen de aanwezigheid van gg-HAdV5 in cellen en weefsels van de geïnfecteerde muizen uitgesloten kan worden, ook wanneer er eventueel RCA aanwezig was tijdens de toediening. De aanvrager heeft hiervoor verschillende wetenschappelijke publicaties aangeleverd die betrekking hebben op de permissiviteit van (gg-)HAdV5 in muizen en de biodistributie en clearance in deze dieren.

5.1 Mogelijkheid tot productieve infectie

Muizen worden beschouwd als niet-permissief voor humane adenovirussen. Dit houdt in dat humane adenovirussen muizen en muizencellijnen wel kunnen infecteren en dat ook genoomreplicatie in de cellen van deze gastheer kan optreden, maar de synthese van de L-eiwitten die nodig zijn om nieuwe virusdeeltjes te vormen, wordt in de gastheer geblokkeerd.[17,18,19,20] Blootstelling van muizen(cellen) aan humane adenovirussen leidt derhalve niet tot een productieve infectie. Uitzonderingen die in de weten-schappelijke literatuur beschreven zijn, betreffen bepaalde muizentumorcellijnen die semi-permissief kunnen zijn voor HAdV5, waaronder muizen-epidermiscellen waarin wel infectieus virus gevormd kan worden maar in hoeveelheden die 25 tot 100 keer lager zijn dan in humane cellen, en enkele levercellen van muizen waarin de eerste 48 uur na intraveneuze toediening van een hoge dosering HAdV5 een toename in het aantal virusdeeltjes is waargenomen.[19,21,22] Met betrekking tot de laatstgenoemde studie merkt de COGEM op dat niet uit te sluiten is dat de gebruikte buffer (glycerol) van invloed is geweest op de bevindingen, omdat dit leverschade kan veroorzaken waardoor levercellen kunnen gaan regenereren, wat replicatie van het adenovirus kan faciliteren. Ook is in de wetenschappelijke literatuur beschreven dat de L-eiwitten in muizencellen gecomplementeerd kunnen worden door co-infectie met een muizen adenovirus (MAV-1), of dat translatie hersteld wordt door overexpressie van het *in trans* aangeboden AdV5 eiwit L4-100K.[17]

5.2 Biodistributie en clearance van hAdV5 (vectoren)

Verschillende studies tonen aan dat humane adenovirus-vectoren snel worden geklaard uit bloed in muizen.[23,24] Na toediening van adenovirale vectoren worden deze door Kupffer cellen (KC, lever macrofagen) of lever sinusoïdale endotheelcellen uit het bloed opgenomen en vernietigd.[23,24,25] Ook kan het aangeboren en adaptieve immuunsysteem van muizen HAdV-geïnfecteerde cellen elimineren, waardoor verspreiding van HAdV gelimiteerd blijft.[26] In een studie waar wildtype HAdV5 intranasaal geïnoculeerd werd met 10^8 particle forming units (pfu), werd geen vermenigvuldiging van virus in de longen waargenomen, en kon met een 'fluorescentie focus assay' na 5 dagen geen HAdV5 meer gedetecteerd worden (titer: $<10^3$ fluorescent focus units) in long-homogenaat van deze dieren.[20] In muizen is een halfwaardetijd van een gg-HAdV5 vector (waarvan de E3-regio is vervangen door een GFP-expressiecassette) beschreven van minder dan 2 minuten, waarbij één uur na intraveneuze toediening van het gg-adenovirus (10^{10} transduceerbare eenheden) 0,01% van de oorspronkelijke hoeveelheid virus in het bloed gedetecteerd werd.[23] Vergelijkbare resultaten werden behaald met wildtype HAdV5. Ander onderzoek toonde aan dat 5 en 20 minuten na toediening van replicatie-deficiënt adenovirus (rHAdV5), een afname van respectievelijk ~70% en ~90% werd waargenomen in het bloed met behulp van qPCR. Na autopsie bleek dat vijf minuten na intraveneuze inoculatie zich 86% van het toegediende virus in de lever bevond, 2% in de longen en 1% in de milt. Tien minuten na de toediening van replicatie-deficiënt HAdV5 kon er weinig adenovirus in de lever worden aangetoond.[24]

Uit een studie naar biodistributie in Syrische hamsters (goudhamsters), die wel permissief zijn voor adenovirale infectie, blijkt dat twee dagen na intraveneuze injectie met wildtype HAdV5, een oncolytische Ad-vector en een replicatie-deficiënte vector, de infectieuze replicatie-deficiënte vector niet meer gedetecteerd kon worden in lever- of longhomogenaat. Wildtype HAdV5 en de oncolytische Ad-vector werden nog wel aangetroffen in de lever (en in mindere mate in de long) 7 dagen na infectie, maar het volgende meetpunt op 29 dagen na toediening was negatief.[27]

De aanvrager stelt dat het genetisch materiaal van de adenovirale vectoren voor langere tijd kan persisteren en dat expressie van adenovirale vectoren 2 tot 3 weken in immuuncompetente muizen kan aanhouden,[28,29] maar dat dit niet-infectieus genetisch materiaal betreft. Bekend is dat na intramusculaire toediening gedurende langere tijd DNA aantoonbaar is.[e.g.,30,31] Voor zover bij de COGEM bekend, is de productie van replicatie-deficiënte virusdeeltjes in muizen nooit aangetoond.

***5.3 Complementatie en recombinatie* in vivo**

In de aanvraag is aangegeven dat de te gebruiken transgenen geen modificatie van het capside of expositie van epitopen op of in het virus betreft, en dat het niet aannemelijk is dat het transgen invloed heeft op de fysieke eigenschappen van een virusdeeltje. De COGEM onderschrijft de bewering van de aanvrager dat het onwaarschijnlijk is dat te gebruiken transgenen een functionele invloed hebben op de overleving, opruiming of uitscheiding in muizen. Het capside van HAdV5 wordt niet aangepast, muizen blijven niet-permissief voor HAdV5, en verwacht wordt dat het transgen geen effect zal hebben op het immuunsysteem van deze dieren.

Niet-permissieve proefdieren kunnen adenovirussen bij zich dragen. De COGEM heeft hierover eerder opgemerkt dat de sequentiehomologie tussen het wildtype adenovirus in het niet-permissieve proefdier en een toegediende HAdV vector zeer beperkt zal zijn. Zij acht derhalve het risico op homologe recombinatie voor *in vivo* toepassingen met replicatie-deficiënte adenovirale vectoren in niet-permissieve proefdieren verwaarloosbaar klein.[15] Overigens merkt de COGEM op dat in dierverblijven in Nederland muizen adenovirus niet of slechts bij uitzondering wordt aangetroffen.

De COGEM merkt op dat in de vergunningaanvraag niet inzichtelijk is wat er onder 'al dan niet gg-muizen' verstaan wordt. De COGEM gaat er in haar advisering voor onderhavige vergunningaanvraag van uit dat de gg-muizen onveranderd zijn met betrekking tot de niet-permissiviteit voor humane adenovirussen.

6. Advies

Op basis van de gegevens uit de wetenschappelijke literatuur met betrekking tot de gerapporteerde clearance van wildtype HAdV5 en afgeleide vectoren, en het feit dat de geïnfecteerde muizencellen niet-permissief zijn en geen infectieus virus produceren, acht de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat er een week na injectie van (gg-)muizen met gg-HAdV5 vectoren nog gg-HAdV5 vectoren aanwezig zullen zijn in de gg-muizen, ook wanneer de vectorbatch mogelijk RCA bevatte. In zeldzame gevallen kunnen vectordeeltjes geassocieerd met de extracellulaire matrix langer aanwezig blijven, maar deze hoeveelheden zijn minimaal en de kans dat dit RCA betreft dat potentieel in kleine hoeveelheden aanwezig is in de gebruikte vectorbatch, acht de COGEM verwaarloosbaar klein.

Alles in overweging nemende kan de COGEM instemmen met omlaagschaling naar ML-I van werkzaamheden met cellen en weefsels afkomstig van de geïnfecteerde (gg-)muizen een week na infectie met de gg-HAdV5. De COGEM is van oordeel dat omlaagschaling van de voorgenomen werkzaamheden naar het geadviseerde inperkingniveau een verwaarloosbaar klein risico oplevert voor mens en milieu.

Referenties

1. International Committee on Taxonomy of Viruses. Virus Taxonomy: 2019 Release. https://ictv.global/taxonomy (bezocht: 23 maart 2023)
2. Human Adenovirus Workgroup. http://hadvwg.gmu.edu/ (bezocht: 23 maart 2023)
3. Berk AJ (2013). Chapter 55 *Adenoviridae*. In: Fields virology, volume 2, sixth edition. Ed. Knipe DM et al., Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia
4. Harrach B *et al*. (2012). Family *Adenoviridae*. 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
5. Greber UF (2019). Adenovirus entry: From infection to immunity. Annu. Rev. Virol. 6: 177-197
6. Wold WSM & Ison MG (2013). Chapter 56 Adenoviruses. In: Fields virology, volume 2, sixth edition. Ed. Knipe DM et al., Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia
7. Bergmans JEN *et al*. (2017). Omlaagschaling van werkzaamheden met replicatie-defectieve AAV- en adenovirale vectoren. COGEM rapport CGM 2017-4

8. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). About adenoviruses- transmission. https://www.cdc.gov/adenovirus/about/transmission.html (bezocht: 23 maart 2023)
9. Lynch JP & Kajon AE (2016). Adenovirus: Epidemiology, global spread of novel serotypes, and advances in treatment and prevention. Semin. Respir. Crit. Care Med. 37: 586-602
10. Lion T. (2014). Adenovirus infections in immunocompetent and immunocompromised patients. Clin. Microbiol. Rev. 27: 441-462
11. King CR *et al.* (2016). The persistent mystery of adenovirus persistence. Trends Microbiol. 24: 323-324
12. Project oplossen knelpunten Besluit ggo (2016). Groepen van gastheren, vectoren en donorsequenties met een gelijk risicoprofiel – Rapport onderdeel A. https://www.ggo-vergunningverlening.nl/sites/default/files/2023-02/190304%20Rapport%20Onderdeel%20A.pdf (bezocht: 21 februari 2023)
13. COGEM (2021). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificatielijsten met humaan- en dierpathogene RNA- en DNA-virussen (2021). COGEM advies CGM/211117-01
14. COGEM (2017). Omlaagschaling van werkzaamheden met replicatie-defectieve AAV-en adenovirale vectoren. COGEM Onderzoeksrapport CGM 2017-04
15. COGEM (2018). Generiek advies inschaling replicatie-deficiënte adenovirale vectorsystemen. COGEM advies CGM/180316-01
16. COGEM (2018). Vervolgadvies over laboratoriumwerkzaamheden met replicatie-deficiënte adenovirale vectorsystemen. COGEM advies CGM/180724-01
17. Young AM *et al.* (2012). Failure of translation of human adenovirus mRNA in murine cancer cells can be partially overcome by L4-100K expression in vitro and in vivo. Mol. Ther. 20: 1676-1688
18. Blair GE *et al.* (1989). Restricted replication of human adenovirus type 5 in mouse cell lines. Virus Res. 14: 339-346
19. Ganly I *et al.* (2000). Productive replication of human adenoviruses in mouse epidermal cells. J. Virol. 74: 2895-2899
20. Ginsberg HS *et al.* (1991). A mouse model for investigating the molecular pathogenesis of adenovirus pneumonia. Proc. Natl. Acad. Sci. 88: 1651-1655
21. Jogler C *et al.* (2006). Replication properties of human adenovirus in vivo and in cultures of primary cells from different animal species. J. Virol. 80: 3549-3558
22. Duncan SJ *et al.* (1978). Infection of mouse liver by human adenovirus type 5. J. Gen. Virol. 40: 45-61
23. Alemany R *et al.* (2000). Blood clearance rates of adenovirus type 5 in mice. J. Gen. Virol. 81: 2605-2609
24. Ganesan LP *et al.* (2011). Rapid and efficient clearance of blood-borne virus by liver sinusoidal endothelium. PLoS Pathog. 7: e1002281
25. Khare R *et al.* (2011). Generation of a Kupffer cell-evading adenovirus for systemic and liver-directed gene transfer. Mol. Ther. 19: 1254-1262
26. Atasheva S *et al.* (2019). Innate immunity to adenovirus: lessons from mice. FEBS Letters 593: 3461-3483
27. Ying B *et al.* (2009). INGN 007, an oncolytic adenovirus vector, replicates in Syrian hamsters but not mice: comparison of biodistribution studies. Cancer Gene Ther. 16: 625-637

28. Yang Y *et al.* (1994). Cellular immunity to viral antigens limits E1-deleted adenoviruses for gene therapy. Proc. Natl. Acad. Sci 91: 4407-4411
29. Liu Q *et al.* (2017). Biodistribution and residence time of adenovector serotype 5 in normal and immunodeficient mice and rats detected with bioluminescent imaging. Scientific Reports 7: 3597
30. Erhardt A *et al* (2003). Episomal persistence of recombinant adenoviral vector genomes during the cell cycle in vivo. J. Virol. 77: 7689-7695
31. Cao B *et al.* (2002). Adenovirus mediated gene transfer to skeletal muscle. Microsc. Res. Tech. 58: 45-51