

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

DATUM 21 november 2023
KENMERK CGM/231121-01
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie *Nodamura virus* (NoV) en inschaling werkzaamheden met gg-NoV in muizen

Geachte mevrouw Heijnen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier getiteld “Omlaagschaling en inschaling van werkzaamheden” (IG 21-029_2.8-000) van Artemis Bioservices, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van het *Nodamura virus* (NoV) en over de inschaling van werkzaamheden met een replicon RNA-vaccin gebaseerd op NoV, in muizen. In het NoV RNA-vaccin is het gen dat codeert voor het NoV manteleiwit, vervangen door het hemagglutinine (HA-)gen van Influenza A virus of het Spike (S-)gen van SARS coronavirus 2 (SARS-CoV-2). De aanvrager verzoekt de dierproeven uit te mogen voeren op DM-II.

NoV is oorspronkelijk geïsoleerd uit muggen in Japan. Experimentele infectie veroorzaakt in bepaalde insecten en in pasgeboren hamsters en muizen groeiachterstanden en lethale verlammingen van het achterlijf. In varkens zijn antilichamen tegen NoV aangetroffen, dat op mogelijk natuurlijke infectie wijst, maar bij mensen die in contact stonden met deze varkens, zijn geen antilichamen gevonden. Er zijn geen aanwijzingen dat NoV ziekte veroorzaakt in seropositieve varkens, of dat mensen geïnfecteerd kunnen raken met NoV. Het NoV-afgeleide vaccin, dat in de onderhavige vergunningaanvraag zal worden toegediend aan muizen, is biologisch ingeperkt door het ontbreken van de sequentie van het capside-eiwit. Insertie van de HA- of S-genen van influenza A virus of SARS-CoV-2 kan deze biologische inperking niet opheffen.

De COGEM adviseert NoV als strikt dierpathogeen virus in pathogeniteitsklasse 2 in te delen. Daarnaast stemt zij in met de voorgestelde inschaling van de proeven met de NoV-afgeleide repliconvaccins in muizen op DM-II. De COGEM is van oordeel dat op het genoemde inperkingsniveau de risico's voor mens en milieu van de voorgenomen werkzaamheden verwaarloosbaar klein zijn.

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

Hoogachtend,



Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c.

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

Pathogeniteitsclassificatie van het *Nodamura virus* (NoV) en inschaling van vaccinatieproeven met NoV-replicons in muizen

COGEM advies CGM/231121-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren (IG 21-029) over de pathogeniteitsklasse van het *Nodamura virus* (NoV), waarbij tevens gevraagd is of dit virus als strikt dierpathogeen of als dier- en humaan pathogeen beschouwd dient te worden. Ook is zij gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met een replicon RNA-vaccin, gebaseerd op NoV, in muizen. In dit NoV RNA-vaccin is het gen dat codeert voor het capside-eiwit gedeleteerd en vervangen door een codongeoptimaliseerd hemagglutinine (HA-)gen van *Influenza A virus* of het Spike (S-)gen van het *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1). De aanvrager, Artemis Bioservices, verzoekt de dierproeven uit te mogen voeren op DM-II. De COGEM is gevraagd of zij kan instemmen met het voorgestelde inperkingsniveau.

2. Pathogeniteitsclassificatie Regeling genetisch gemodificeerde organismen (ggo)

Onder de ggo-regelgeving¹ worden bij de pathogeniteitsclassificatie van een micro-organisme de risico's voor mens en milieu in ogenschouw genomen. Daartoe worden de micro-organismen ingedeeld in vier pathogeniteitsklassen. Deze indeling start met pathogeniteitsklasse 1, die gevormd wordt door apathogene micro-organismen en loopt op tot pathogeniteitsklasse 4, de groep van hoog pathogene micro-organismen. Iedere pathogeniteitsklasse is gekoppeld aan een inperkingsniveau voor werkzaamheden met ggo's van die klasse.

Apathogene micro-organismen worden ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1. Dergelijke micro-organismen dienen minimaal aan één van de volgende criteria te voldoen:

- a) het micro-organisme behoort niet tot een soort waarvan vertegenwoordigers bekend zijn die ziekteverwekkend zijn voor mens, dier of plant;
- b) het micro-organisme heeft een lange historie van veilig gebruik onder omstandigheden waarbij geen bijzondere inperkende maatregelen worden getroffen;
- c) het micro-organisme behoort tot een soort die vertegenwoordigers bevat van klasse 2, 3 of 4, maar de stam in kwestie bevat geen genetisch materiaal dat verantwoordelijk is voor de virulentie;
- d) van het micro-organisme is het niet-virulente karakter door middel van adequate tests aangetoond.

Een indeling in *pathogeniteitsklasse 2* is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een ziekte kan veroorzaken, waarvan het onwaarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is, alsmede een micro-organisme dat bij planten een ziekte kan veroorzaken.

Een indeling in *pathogeniteitsklasse 3* is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is.

Een indeling in *pathogeniteitsklasse 4* is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een zeer ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er geen effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is.

2.1 Strikt dierpathogene virussen

In 2014 heeft de COGEM in een advies beschreven aan welke criteria een virus moet voldoen om als strikt dierpathogeen virus aangemerkt te worden.² De definitie die zij hiervoor hanteert, luidt als volgt: *Een strikt dierpathogeen virus is een virus met een dier als primaire gastheer waarbij infectie, al dan niet gevolgd door ziekte, bij de mens nooit is waargenomen, tenzij onder uitzonderlijke omstandigheden.*

De overweging die de COGEM hanteert om dierpathogenen te classificeren wijkt op enkele punten af van die van humaanpathogenen. In 2014 heeft de COGEM in een signalering inzicht geboden in haar overweging bij de classificatie van dierpathogene micro-organismen, en aangegeven welke aspecten een rol spelen in haar oordeel.³ De classificatie van dierpathogene micro-organismen is gebaseerd op vier elementen:

- a) het ziekmakende potentieel;
- b) de enzoötische aanwezigheid;
- c) het verspreidingspotentieel van het betreffende micro-organisme;
- d) de mogelijkheden om verspreiding in te perken.

Deze elementen belichten specifieke kenmerken van het betreffende micro-organisme en vormen ieder een onderdeel van de totale classificatie. De COGEM benadrukt hierbij dat geen van de elementen afzonderlijk een doorslaggevende rol heeft, maar altijd in samenhang met elkaar tot een classificatie leidt.

3. Familie Nodaviridae

Het *Nodamura virus* (NoV) is een virusspecies behorende tot het genus *Alphanodavirus*, van de familie *Nodaviridae*.⁴ In de familie *Nodaviridae* worden twee genera onderscheiden; het *Alphanodavirus* en *Betanodavirus*. Van nodavirussen is bekend dat zij kunnen repliceren in cellen van planten, insecten en zoogdieren.^{5,6} Alphanodavirussen zijn uit insecten geïsoleerd. Betanodavirussen staan bekend om het infecteren van vissen. Naast de alpha- en betanodavirussen is er ook een gerelateerde groep virussen die nematoden uit het genus *Caenorhabditis* kunnen infecteren, maar deze groep is nog niet door de ICTV geïdentificeerd of als aparte familie toegekend.⁷

3.1 Het Nodamura virus

Het NoV is in 1956 voor het eerst geïsoleerd uit de muggensoort *Culex tritaeniorhynchus* in Nodamura, Japan.⁸ Er is geen epidemiologisch onderzoek gedaan naar de aanwezigheid van NoV elders. In bepaalde

insecten (honingbijen en wasmotten) en in zogende muizen en hamsters (1 tot 4 dagen oud) kan experimentele infectie met NoV leiden tot groeiachterstanden en verlammingen van het achterlijf met lethale afloop.^{9,10} De ziekteverschijnselen treden niet op bij experimentele infectie van muizen van 3-4 weken oud.^{11,12} Lacterende moedermuizen die een geïnfecteerd jong opeten, kunnen hun immunologische bescherming tegen NoV doorgeven aan de resterende jongen, vermoedelijk via de melk. De moederdieren vertonen hierbij geen ziekteverschijnselen.¹²

Muggen van de soort *Aedes aegypti* kunnen geïnfecteerd raken met NoV, wanneer zij zich voeden met bloed van geïnfecteerde muizen. Vervolgens kan NoV via *Ae. aegypti* worden overgedragen naar andere muizen.^{8,13} Daarnaast is aangetoond dat NoV kan repliceren in verschillende zoogdier- en gistcellen.^{8,13,12,14,15} Serologisch onderzoek duidt op een mogelijke natuurlijke infectie van varkens, en mogelijk ook reigers.^{11,13} In hetzelfde onderzoek zijn geen antilichamen tegen NoV gedetecteerd bij mensen die in contact stonden met mogelijk geïnfecteerde varkens.¹¹ Het is niet bekend of NoV ziekte veroorzaakt in varkens. Tevens is niet bekend of de aanwezigheid van antilichamen een indicatie is van daadwerkelijke infectie, of veroorzaakt is door blootstelling aan het virus.

3.2 Genomische organisatie NoV

NoV is een virus met een enkelstrengs positief RNA-genoom dat bestaat uit twee segmenten.¹⁶ Dit bi-gesegmenteerde RNA-genoom is ingepakt in manteleiwitten. Het virusdeeltje bevat geen virale envelop en is ca 30 nm in diameter. Replicatie vindt plaats in het cytoplasma van geïnfecteerde cellen. NoV vormt hiervoor een replicatiecomplex dat zich in zoogdiercellen lokaliseert op het membraan van mitochondriën.¹⁷ Het grootste RNA segment, RNA1 (3,2 kb), kan autonoom repliceren in afwezigheid van RNA2 en codeert onder andere voor het virale RNA-afhankelijke RNA-polymerase. RNA2 (1,4 kb), dat codeert voor het structurele manteleiwit (capside), is afhankelijk van aanwezigheid van RNA1 voor replicatie.¹⁸ Zowel de aanwezigheid van RNA1 als RNA2 is vereist voor infectiviteit en de RNA's worden tezamen in het virusdeeltje ingepakt.^{6,19}

Na infectie wordt ook een subgenomisch RNA geproduceerd, het sgRNA3, dat niet in het uiteindelijke virusdeeltje terecht komt. Het sgRNA3 van NoV codeert voor twee varianten van het B2 eiwit die een verschillende N-terminus sequentie hebben. Het B2 eiwit fungeert in verschillende gastheren (insecten, planten en zoogdiercellen) als suppressor van RNA-interferentie (RNAi).^{13,20} Het sgRNA3 codeert ook voor een klein B1 eiwit, waarvan de functie nog onbekend is.

4. Voorgenomen werkzaamheden

De aanvrager is voornemens muizen te vaccineren met een replicon RNA-vaccin gebaseerd op NoV, en verzoekt de werkzaamheden uit te mogen voeren op inperkingsniveau DM-II. Hierbij zal het RNA1 van het bi-gesegmenteerde NoV-genoom ongewijzigd blijven. In het RNA2 zal de genetische informatie voor het capsid-eiwit gedeleteerd worden, en vervangen worden door het transgen van interesse: een codon-geoptimaliseerd HA-gen van *Influenza A virus* (stam California/07/09) of het S-gen van SARS-CoV-2-Wuhan-Hu-1. Het RNA-vaccin betreft een synthetisch vaccin dat door *in vitro* transcriptie wordt geproduceerd. De aanvrager stelt dat er geen productieceldlijn of 'vector backbone' gebruikt wordt en enkel het mRNA aan de muizen zal worden toegediend.

5. Eerdere COGEM adviezen

De COGEM heeft uit hetzelfde genus als NoV (*Alphanodavirus*) eerder het *Flock House virus* geclassificeerd en als insect-specifiek virus in pathogeniteitsklasse 2 ingedeeld.^{21,22} Tevens heeft zij een vijftal nodavirussen uit het genus *Betanodavirus* geclassificeerd (*Barfin flounder nervous necrosis virus*, *Redspotted grouper nervous necrosis virus*, *Striped jack nervous necrosis virus*, *Tiger puffer nervous necrosis virus* en het nog niet door ICTV geclassificeerde turbo betanodavirus).^{22,23} Deze visvirussen zijn alle als strikt dierpathogeen ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2. Tenslotte heeft de COGEM het Orsay virus, dat nematoden infecteert en gelijkenissen vertoont met nodavirussen maar nog niet geclassificeerd is door de ICTV, eveneens als strikt dierpathogeen virus in pathogeniteitsklasse 2 ingedeeld.^{22,24} De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over replicon RNA-vaccins afgeleid van nodavirussen.

6. Pathogeniteitsclassificaties door andere beoordelende instanties

De Canadese 'Public Health Agency' heeft NoV als humaan pathogeen in risicogroep 3 ingedeeld, en als dierpathogeen in risicogroep 2.²⁵ De 'American Type Culture Collection' (ATCC) heeft werkzaamheden met NoV ingeschaald op BSL-2.²⁶ De 'Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit' (ZKBS) heeft NoV in pathogeniteitsklasse 2 ingedeeld.²⁷ De inschaling door deze buitenlandse instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

7. Overweging en advies

De onderhavige vergunningaanvraag betreft een verzoek tot classificatie van het *Nodamura virus* (NoV) en de inschaling van vaccinatie-experimenten in muizen met een replicon RNA-vaccin afgeleid van NoV, waarin het HA- of S-gen als transgen zijn geïnsereerd. In de onderstaande paragrafen zal de COGEM ingaan op de elementen die bepalend zijn voor de pathogeniteitsclassificatie en de inschaling van de vaccinproeven in muizen.

7.1 Pathogeniteitsclassificatie *Nodamura virus*

Het *Nodamura virus* (NoV) is oorspronkelijk geïsoleerd uit muggen in Japan. Experimentele infectie met NoV veroorzaakt in bepaalde insecten en in pasgeboren hamsters en muizen, groeiachterstanden en lethale verlammingen van het achterlijf. In muizen ouder dan 3 à 4 weken worden geen ziekteverschijnselen waargenomen. Er zijn bij de COGEM geen aanwijzingen bekend dat mensen geïnfecteerd kunnen worden met NoV. Serologisch onderzoek wijst erop dat varkens mogelijk op natuurlijke wijze geïnfecteerd kunnen raken met NoV, waarbij het virus mogelijk overgedragen wordt via muggen. Bij mensen die in contact stonden met seropositieve varkens, werden geen antilichamen tegen NoV aangetroffen. Er zijn geen aanwijzingen dat NoV ziekte veroorzaakt in seropositieve varkens.

Op basis van bovenstaande overwegingen, adviseert de COGEM het *Nodamura virus* als strikt dierpathogeen in pathogeniteitsklasse 2 in te delen en op te nemen in Bijlage 4, lijst 4.1 van de Regeling ggo.

7.2 Inschaling werkzaamheden met gg-NoV in muizen

Het NoV-afgeleide repliconvaccin, dat bij de voorgenomen dierexperimenten zal worden gebruikt, bestaat uit het RNA1 en RNA2, waarbij alleen het RNA2 genetisch gemodificeerd is. Het RNA2 codeert normaliter voor het capside-eiwit, dat het bi-gesegmenteerde RNA-genoom omsluit. In het NoV-afgeleide repliconvaccin is het gen voor het capside-eiwit op het RNA2 verwijderd en vervangen door het gen van interesse: het HA-gen van influenza A virus, of het S-gen van SARS-CoV-2. Door afwezigheid van het NoV capside-eiwit kunnen geen infectieuze virusdeeltjes gevormd worden. Expressie van de HA- of S-eiwitten in de geïnoculeerde gastheer kan niet leiden tot de productie van virusdeeltjes, omdat deze glycoproteïnen zich alleen in een virale envelop kunnen verankeren, dat niet aanwezig is bij Nodamuravirussen. Ook kunnen deze eiwitten de ontbrekende functie van het capside-eiwit niet complementeren. De COGEM is van oordeel dat het NoV repliconvaccin door de aangebrachte modificatie biologisch ingeperkt is.

De aanvrager merkt op dat in het theoretische geval er co-infectie optreedt met wildtype NoV in de gastheer, er geen risico bestaat dat het virusdeeltje zowel het aangepaste RNA2, als wildtype RNA2 (en RNA1) zal bevatten, omdat de grootte en opnamecapaciteit van de virusdeeltjes de aanwezigheid van meer dan één kopie uitsluit. Voor de infectiviteit van wildtype NoV is zowel de aanwezigheid van RNA1, dat verantwoordelijk is voor de genoomrePLICATIE, als RNA2, dat betrokken is bij de verspreiding van het virusdeeltje, vereist. Hoewel het exacte mechanisme achter het inkapselen van beide RNA-segmenten niet geheel duidelijk is, lijken interacties tussen de capside-eiwitten en de individuele RNA segmenten een rol te spelen.²⁸ De COGEM is niet bekend met literatuur dat (experimenteel) uitsluit dat zowel een wildtype RNA2 als het aangepaste RNA2 gezamenlijk met RNA1 in een virusdeeltje ingepakt kunnen worden. Zij is echter van oordeel dat mede gezien de grootte van de virusdeeltjes dit onwaarschijnlijk is en een dergelijk samengesteld nodavirusdeeltje onstabiel zal zijn, en acht de kans op verdere verspreiding zeer onwaarschijnlijk. Daarbij zal tevens geen verandering in tropisme of pathogeniteit optreden.

Vanwege het bi-gesegmenteerde RNA genoom, kan bij nodavirussen ‘reassortment’ plaatsvinden, waarbij het RNA1 en RNA2 van verschillende nodavirussen ingepakt kunnen worden. Dit is beschreven voor enkele alphanodavirus-combinaties.²⁹ Infectieuze reassortanten van NoV en *Flock House virus* konden echter niet verkregen worden: de RNA-polymerases van de afzonderlijke virussen lijken het RNA2 van het andere virus niet te herkennen als template.²⁸ Voor ‘reassortment’ is het noodzakelijk dat co-infectie optreedt. Aangezien NoV een uitzondering vormt onder de alphanodavirussen met betrekking tot de mogelijkheid om zoogdieren te infecteren, is de COGEM van oordeel dat de kans op een reassortant met het gg-RNA2 afgeleid van NoV, verwaarloosbaar klein is. In het theoretische geval een dergelijke reassortant gevormd wordt (RNA1 van een ander nodavirus en het gg-RNA2), zal vanwege het ontbreken van het capside-eiwit geen virusdeeltjes gevormd kunnen worden en is verdere verspreiding niet mogelijk.

Gezien de biologische inperking van het NoV-afgeleide repliconvaccin, kan de COGEM instemmen met de voorgestelde inschaling van de *in vivo* werkzaamheden op DM-II.

8. Conclusie

Concluderend adviseert de COGEM het *Nodamura virus* als strikt-dierpathogeen in pathogeniteitsklasse 2 in te delen, en stemt zij in met de voorgestelde inschaling van de experimenten met NoV-afgeleide repliconvaccins in muizen op DM-II. De COGEM is van oordeel dat op het genoemde inperkingsniveau de risico's voor mens en milieu van de voorgenomen werkzaamheden verwaarloosbaar klein zijn.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2023-10-01> (bezocht op 8 november 2023)
2. COGEM (2014). Inventarisatie van strikt dierpathogene virussen. COGEM advies CGM/141216-02
3. COGEM (2014). Criteria voor de classificatie van dierpathogene micro-organismen. COGEM signalering CGM/141013-02
4. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Virus Taxonomy: 2022 Release. <https://ictv.global/taxonomy> (bezocht: 8 november 2023)
5. Jiwaji M *et al.* (2019). Providence virus: An animal virus that replicates in plants or a plant virus that infects and replicates in animal cells? PLoS One. 14: e021749
6. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Family: *Nodaviridae*. <https://ictv.global/report/chapter/nodaviridae/nodaviridae> (bezocht: 7 november 2023)
7. Félix MA & Wang D (2019). Natural viruses of *Caenorhabditis Nematodes*. Annu. Rev. Genet. 53: 313-326
8. Scherer WF, Hurlbut HS (1967). *Nodamura virus* from Japan: a new and unusual arbovirus resistant to diethyl ether and chloroform. Am. J. Epidemiol. 86: 271-285
9. Bailey L & Scott HA (1973). The pathogenicity of *Nodamura virus* for insects. Nature 241: 545
10. Tesh RB (1980). Infectivity and pathogenicity of *Nodamura virus* for mosquitoes. J. Gen. Virol. 48: 177-182
11. Ball LA & Johnson KL (1998). *Nodaviruses* of Insects. In: The Insect Viruses 225-267. Ed. Miller LK & Ball LA. New York: Plenum
12. Ball LA *et al.* (1992). Replication of *Nodamura virus* after transfection of viral RNA into mammalian cells in culture. J. Virol. 66: 2326-2334
13. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Genus: *Alphanodavirus* <https://ictv.global/report/chapter/nodaviridae/nodaviridae/alphanodavirus> (bezocht: 7 november 2023)
14. Garzon S *et al.* (1990). Implication of mitochondria in the replication of *Nodamura virus* in larvae of the *Lepidoptera*, *Galleria mellonella* (L.) and in suckling mice. Arch. Virol. 113: 165-176
15. Price BD *et al.* (2005). *Nodamura virus* RNA replication in *Saccharomyces cerevisiae*: heterologous gene expression allows replication-dependent colony formation. J. Virol. 79: 495-502

16. Friesen PD (2013). Insect viruses. *Nodaviridae*. In: Fields virology, volume 2, sixth edition. Ed. Knipe DM et al., Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia
17. Gant VU *et al.* (2014). Two membrane-associated regions within the *Nodamura virus* RNA-dependent RNA polymerase are critical for both mitochondrial localization and RNA replication. *J. Virol.* 88: 5912-5926
18. Lu R *et al.* (2005). Animal virus replication and RNAi-mediated antiviral silencing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 436: 1040-1043
19. Friesen PD (20xx). Chapter 73: Insect viruses. *Nodaviridae*. In: Fields Virology, 6th edition. Edited by Knipe DM & Howley PM, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
20. Schuster S *et al.* (2019). Antiviral RNAi in Insects and Mammals: Parallels and Differences. *Viruses* 11: 448
21. COGEM (2020). Pathogeniteitsclassificatie van het *Flock House virus* (FHV). COGEM advies CGM/200212-01
22. COGEM (2023). Actualisatie van de pathogeniciteitsclassificatielijsten met humaan- en dierpathogene DNA- en RNA-virussen (2023). COGEM advies CMG/230929-01
23. COGEM (2017). Pathogeniteitsclassificatie van negen visvirussen. COGEM advies CGM/170322-02
24. COGEM (2021). Pathogeniteitsclassificatie van drie virussen: *Mayaro virus*, Orsay virus en *Badu Phasivirus*. COGEM advies CGM/210902-01
25. Public Health Agency of Canada. ePATHogen - Risk Group Database. <https://health.canada.ca/en/epathogen> (bezoekt op 8 november 2023)
26. American Type Culture Collection. Microbe products. *Nodamura virus*. <https://www.atcc.org/products/vr-679> (bezoekt op 8 november 2023).
27. Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit' (ZKBS, 2023). Bekanntmachung der Liste risikobewerteter Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten. https://www.zkbs-online.de/ZKBS/EN/Databases/Microorganisms/Microorganisms_node.html (bezoekt: 8 november 2023)
28. Gopal R, Venter PA & Schneemann A (2014). Differential segregation of nodaviral coat protein and RNA into progeny virions during mixed infection with FHV and NoV. *Virology* 454-455: 280-290
29. Price BD *et al.* (2005). *Nodamura Virus* RNA replication in *Saccharomyces cerevisiae*: heterologous gene expression allows replication-dependent colony formation. *J. Virol.* 79: 495-502