



AALBORG UNIVERSITY
DENMARK

Aalborg Universitet

Kronisk plasmacytose (Aleutian mink disease) virusinfektion i mink

Jensen, Trine Hammer; Hammer, Anne Sofie; Chriél, Mariann

Published in:
Dansk Veterinaertidsskrift

Publication date:
2014

Document Version
Tidlig version også kaldet pre-print

[Link to publication from Aalborg University](#)

Citation for published version (APA):
Jensen, T. H., Hammer, A. S., & Chriél, M. (2014). Kronisk plasmacytose (Aleutian mink disease) virusinfektion i mink. *Dansk Veterinaertidsskrift*, 15, 30-34.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal -

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at vbn@aub.aau.dk providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Kronisk plasmacytose (Aleutian mink disease) virusinfektion i mink

TRINE HAMMER JENSE¹, ANNE SOFIE VEDSTED HAMMER² OG MARIANN CHRIÉL³

¹DYRLÆGE, PH.D., AALBORG UNIVERSITET/ZOO (STUDIET ER UDFØRT UNDER ANSÆTTELSE PÅ DTU VETERINÆRINSTITUTTET)

²LEKTOR, PH.D., KU SUND (STUDIET ER UDFØRT UNDER ANSÆTTELSE PÅ DTU VETERINÆRINSTITUTTET)

³DYRLÆGE, PH.D., DTU VETERINÆRINSTITUTTET

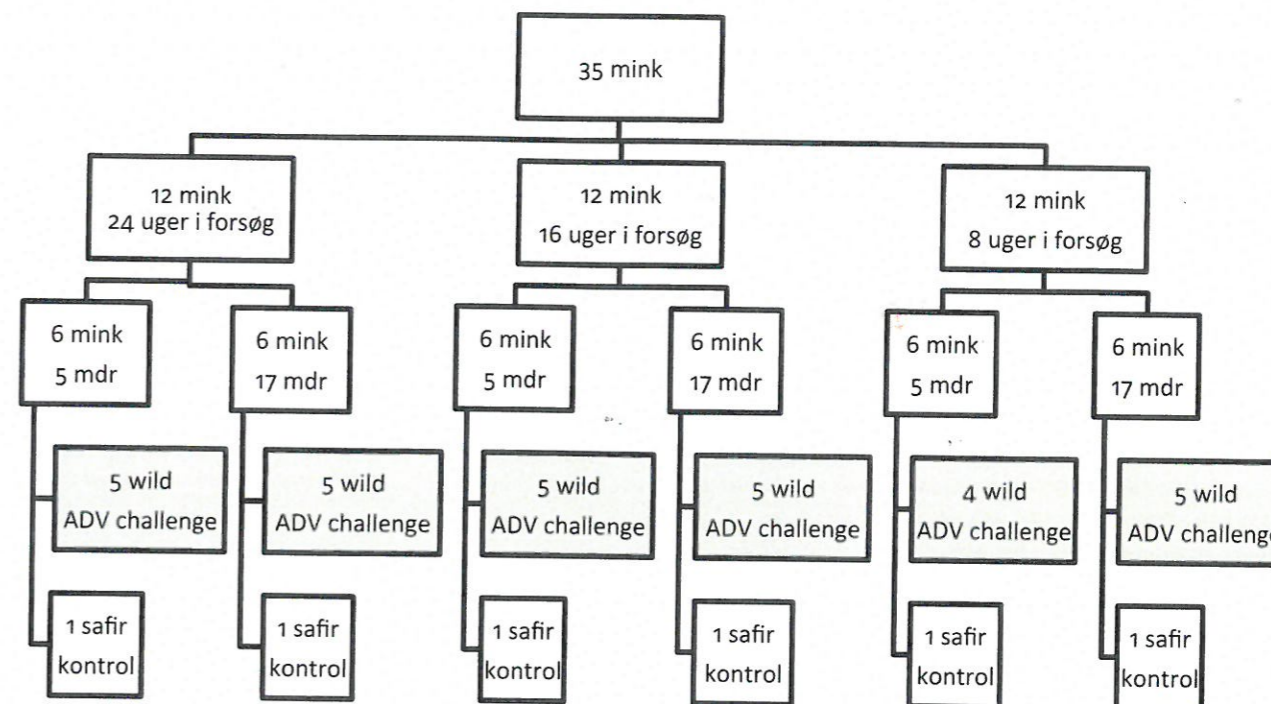


Summary

Aleutian mink disease virus (AMDV) is a major problem in farmed mink causing a variety of clinical symptoms. Experimental infection with a currently circulating Danish AMDV wild type strain showed that mink seroconverted 2-3 weeks after inoculation and remained seroconverted throughout the 24 weeks study period. Viremia and virus excretion in feces and oro-nasal secretions were detected with PCR and found to be intermittent and the length of the periods varied between the 29 experimentally inoculated mink. PCR was also used to detect AMDV DNA in organs of the inoculated mink 8, 16 and 24 weeks after inoculation. Lymph nodes and spleen were found to be the most consistently infected organs irrespective of the time of test.

Sammendrag

Plasmacytose (Aleutian mink disease) er en alvorlig sygdom for farmede mink – symptombilledet kan være meget varierende. En aktuelt cirkulerende dansk plasmacytosevirusstamme blev eksperimentelt inokuleret i 29 wildtype mink. Alle mink serokonverterede 2-3 uger efter inokulation og forblev serokonverterede gennem observationsperioden på 24 uger. Minkene udviklede viræmi 1-3 uger efter inokulation. Viræmien og virusudskillelse i fæces og oronasale sekreter var intermitterende og varigheden forskellig blandt de PCR-undersøgte mink. PCR blev også brugt til at påvise plasmacytosevirus DNA i organer 8, 16 og 24 uger efter inokulation. Lymfeknude og milt var de hyppigst inficerede organer uanset tid efter inokulation.



Figur 1. Design af eksperimentel kronisk AMDV infektion med en aktuelt cirkulerende dansk vildtype AMDV.

Introduktion

Aleutian mink disease virus (AMDV, plasmacytosevirus) er et parvovirus, som forårsager et varieret symptombillede hos mink. Infektionen kan forløbe subklinisk eller forårsage et eller flere af følgende symptomer: Nedsat reproduktion, nedsat pelskvalitet, akut lungebetændelse hos hvalpe, kronisk immunkompleks-medieret sygdom med hypergammaglobulinæmi og glomerulonephritis (Bloom et al. 1994). Sygdomsforløbet afhænger af, hvilken virusstamme minken er inficeret med, minkens genotype og sandsynligvis individuelle immunologiske faktorer hos minken (Hadlow et al. 1983; Alexandersen 1990; Oie et al. 1996).

I Danmark er der en dominerende AMDV-stamme, Sæby/DEN/799.1/05 samt et større antal meget nærtbeslægtede AMDV-stammer. Det vil sige, at de kun afviger fra hinanden med få nukleotider i den konserverede del af genomet (Christensen et al. 2011). AMDV i Danmark udgør primært et problem i Nordjylland, men der er tidligere beskrevet mindre lokale udbrud i den øvrige del af Jylland. Hovedparten af de AMDV-positive besætninger opdages i forbindelse med de serologiske kontrolundersøgelser (Bek 2009). Mange mink på disse farme er subklinisk inficerede, og besætningsproble-

merne viser sig eventuelt ved nedsat reproduktion, ringere pelskvalitet og dårligt immunforsvar over for infektioner.

Patogenesen for AMDV højvirulente stammer var et stort forskningsområde i 1980'erne, hvor immunhistokemi, southern blots og in situ hybridisering samt immunoelektroforese blev anvendt til at beskrive AMDV-infektion (Alexandersen 1990; Bloom et al. 1994). Dette eksperimentelle studie er det første, hvor PCR bliver anvendt til at beskrive forløbet af kronisk AMDV-infektion med en aktuell, dansk cirkulerende AMDV.

Pilotstudie – virustitrering in vivo

Vildtype AMDV kan ikke dyrkes *in vitro*. Det kan kun celleadapterede stammer, som i forbindelse med celleadaptation bliver så forandrede, at de ikke længere kan inficere mink. Derfor var et *in vivo* forsøg med 12 mink nødvendigt for at undersøge, hvor lille koncentration af AMDV der var tilstrækkelig for at inducere kronisk infektion i mink.

Minkene blev opdelt i 4 grupper, som hver blev inokuleret intraperitonealt (ip) med forskellige koncentrationer af virus: Ufortyndet, 1:100, 1:1.000, 1:10.000. Virusfortyndingerne var et organhomogenat bestående af milte fra mink naturligt

inficeret med Sæby/DEN/799.1/05. Disse mink blev testet negative for andre infektioner. Alle mink, der indgik i forsøget, blev bedøvet med ketamin og xylazin intramuskulært før inokulation og aflivet med pentobarbital intracardialt. De 12 mink blev blodprøvet ugentligt og undersøgt for AMDV antistoffer med modstrøms-elektroforese (CIEP) og AMDV-virus DNA med PCR. Efter 2 uger blev 6 mink aflivet og de øvrige 6 blev aflivet efter 1 måned. Ingen mink blev klinisk syge, og alle var inficeret. Derfor blev det besluttet at anvende en fortynding af organhomogenatet på 1:10.000 til at inducere kronisk infektion i det efterfølgende 24 uger lange eksperimentelle infektionsstudie.

Kronisk infektion

I alt 36 mink blev opdelt i 3 grupper med 12 mink i hver gruppe, hvoraf 10 wildtype mink blev inokuleret med AMDV, og 2 safirmink blev opstaldet ved siden af som sentineller (figur 1). Minkene var opstaldet i 2 isolationsstalde med 12 mink i hver stald på Lindholm. Alle mink blev dagligt klinisk evalueret. I de første 8 uger blev der taget blodprøver, oro-nasale svaber- og fæcesprøver en gang ugentlig, herefter blev prøvefrekvensen reduceret til hver anden uge. Efter de første 8 uger

blev 11 mink aflivet (1 mink udgik ved forsøgets begyndelse pga. skader ved ankomst til forsøgsstalden). 16 uger efter forsøgsstart blev 12 mink aflivet og de sidste 12 blev aflivet 24 efter forsøgets start (figur 1). Alle mink blev obduceret og lunge, lever, milt, tarmlymfeknude, nyre, knoglemarv og hjerne blev udtaget og senere undersøgt med PCR (Jensen et al. 2011). Ligeledes blev alle svaberprøver, fæcesprøver og EDTA-stabiliserede blodprøver undersøgt med PCR. Serum blev undersøgt for AMDV-antistoffer ved CIEP (Uttenthal, A 1992, København Diagnostik). Forsøget er detaljeret beskrevet i Jensen et al. 2013.

Statistik

To aldersgrupper af mink blev undersøgt samtidigt, idet hhv. 5 og 17 måneder gamle mink blev inokuleret. Endvidere blev 12 safirmink indsat som kontrol af mulig naturlig horisontal smitte (figur 1). Både alders og minkgenotypens mulige indflydelse på udvikling af AMDV-antistoffer, viræmi og AMDV virusudskillelse blev sammenlignet med non-parameterisk (Wilcoxon) test med kontinuert korrektion på 5, p-værdien er udregnet for 2-sidet test.

Resultater, kronisk infektion

Alle AMDV-inokulerede mink (n=29) serokonverterede 2-3 uger efter inokulation med en enkelt undtagelse efter 4 uger (figur 2A). Alle mink forblev seropositive gennem hele forsøgsperioden. I alt 4 af de 6 ikke-inokulerede safirmink serokonverterede 6-7 uger efter forsøgets begyndelse. Også disse mink forblev serokonverterede gennem 24 uger (figur 2A), og 2 safirmink serokonverterede ikke og blev heller ikke inficerede (figur 2B). Alle de AMDV-inokulerede mink (n=29) udviklede viræmi detekteret som PCR-positive EDTA-stabiliserede blodprøver (figur 2B). Den viræmiske periode varierede fra 1 til 24 uger i længde, men kun 2 ud af 11 mink havde persisterende viræmi i 24 uger (figur 2B). Alle mink (n=29) udskilte virus 2-3 uger efter inokulation i fæces, hvilket primært var detekterbart inden for de første 8 uger og derefter intermitterende i 1-2 uger (n=11, figur 2C). AMDV-udskillelsen i oro-nasale sva-

ber blev detekteret i 21 ud af 29 AMDV-inokulerede mink fra 2-10 uger efter forsøgsstart (figur 2D).

AMDV viralt DNA blev fundet i alle undersøgte organer fra mink, der serokonverterede, hyppigst blev DNA påvist i milt (32 ud af 35 mink) og lymfeknude (30 ud af 35 mink, tabel 1).

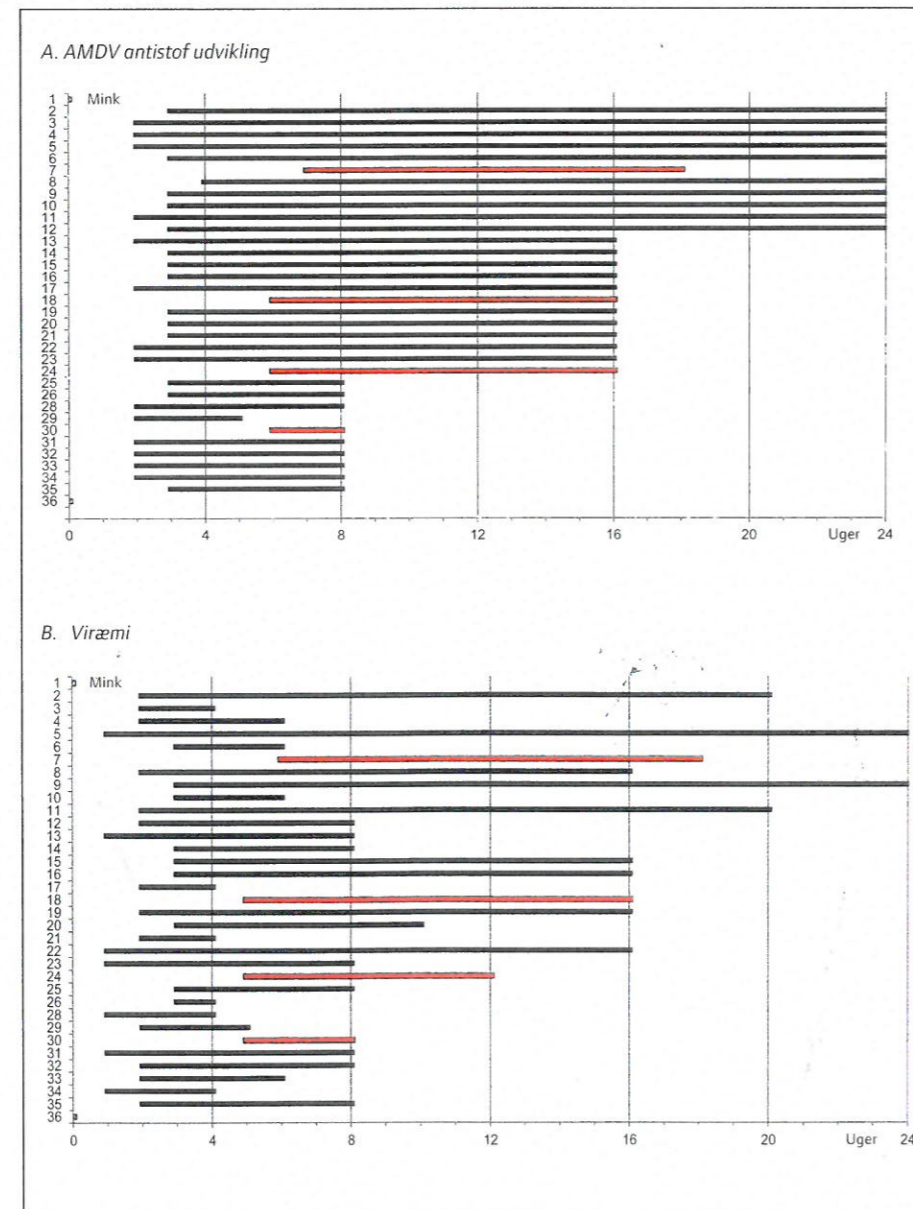
Der fandtes ingen statistisk signifikant forskel på de 5 og 17 måneder gamle mink med hensyn til udvikling af antistoffer (p=0,93), viræmi (p=0,68), virusudskillelse i fæces (p=0,83) eller i

oro-nasal svabere (0,61). Ej heller var der signifikant forskel mellem wildtype og safirmink i forhold til viræmi (p=0,34), virusudskillelse i fæces (p=0,29) eller oro-nasale svabere (p=0,72).

Diskussion

Den beskrevne infektionsmodel viser, at mink kan blive kronisk smittet med AMDV fortyndet 1:10.000, hvilket er væsentligt mindre, end man kan detektere med PCR (Jensen et al. 2011). Dette understreger væsentligheden af den

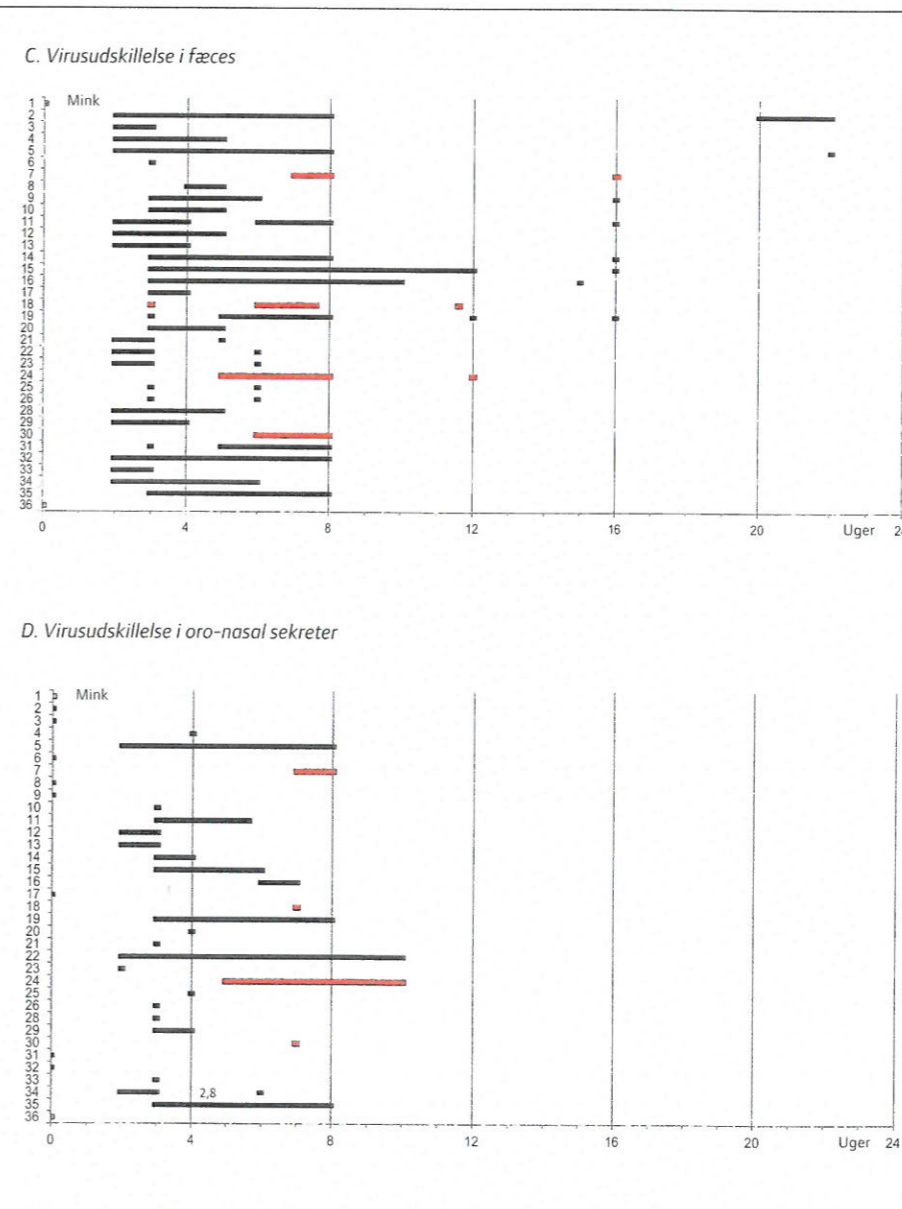
Figur 2. Udvikling af plasmacytosevirus antistoffer (A), viræmi (B), virusudskillelse i fæce (C) og i oro-nasale sekreter (D) i op til 24 uger efter inokulation med AMDV. Wildtype mink er markeret med sorte linjer og safirmink er markeret med røde linjer



Tabel 1. AMDV DNA påvist med PCR 8, 16 and 24 uger efter eksperimentel AMDV inokulation.

Organ	Antal AMDV DNA positive organer ved obduktion						Total positive n=35
	8 uger		16 uger		24 uger		
	wt, n=9	s, n=1	wt, n=10	s, n=2	wt, n=10	s, n=1	
Milt	9	1	9	2	10	1	32
Lymfeknude	9	1	8	2	9	1	30
Tarm	7	1	6	2	6	1	23
Lunge	7	1	5	1	6	1	21
Nyre	5	1	5	2	7	1	21
Knoglemarv	5	1	4	2	4	1	17
Lever	4	1	4	2	3	1	15
Hjerne	3	1	4	2	3	1	14

wt - wildtype mink eksperimentelt inokuleret med AMDV (challenge)
 s - safir mink, sentineller (kontrol)



serologiske overvågning til påvisning af AMDV smitte (Bek 2009). Minkene forblev serokonverterede gennem forsøgets 6 måneder i modsætning til både viræmi og virusudskillelse, som var intermitterende og varede mellem mink (Figur 2A-D). Det bekræfter, at den sikreste diagnostiske test til påvisning af AMDV-infektion er serologi fx CIEP, da antistofferne er til stede gennem hele forløbet. Samtidig tydeliggør det, at en kronisk smittet farm – selv uden kliniske symptomer – udgør en tidsmæssig uforudsigelig smitterisiko. I forsøget fandtes ikke nævneværdige kliniske symptomer bortset fra 3 mink, der blev syge og aflivet efter hhv. 6, 12 og 18 uger (data ikke vist). Det bekræfter, at der på minkfarme med udbrud af AMD ofte observeres lav mortalitet.

Virus fandtes i alle organerne både 8, 16 og 24 uger efter AMDV-inokulation, men hyppigst i lymfeknuder og milt, hvilket bekræfter tidligere undersøgelser (Jensen et al. 2011, Knuttila et al. 2009). Rent praktisk betyder det, at disse organer er de sikreste at teste for diagnostisk at bekræfte en infektion. Netop derfor er det væsentligt, at der ikke er forskel på viruspåvisning i organer 8, 16 og 24 uger efter AMDV inokulation.

Safirmink blev brugt som sentineller, da mink med Aleutian genet er mere modtagelige for plasmacytose end andre mink. Hypotesen var, at disse mink nemt ville blive smittet fra de inokulerede mink, og dermed kunne også forløbet af en naturlig infektion følges. Imidlertid var der 2 af disse 4 mink, som ikke blev smittet til trods for, at den ene var sidst i rækken af 12 mink. Ikke alle individer i en risikogruppe bliver sædvanligvis smittet, det er også kendt fra andre plasmacytosestudier (Hadlow et al. 1983; Oie et al. 1996), og der er desværre ingen forklaring på, hvorfor disse 2 mink ikke blev smittet.

Spørgsmålet om, hvordan plasmacytose smitter, har angiveligt mange svar. I denne undersøgelse fandtes AMDV både i fæces, i oro-nasal svaber og i ikke-hygiejniseret gylle (data ikke vist). Så både selve minken, og hvad der har været i berøring med en smittet mink udgør en potentiel smitterisiko.

Konklusion

Minkene serokonverterede 2-3 uger efter infektion med aktuelt cirkulerende AMDV og forblev serokonverterede i forsøgets 6 måneder. Minkene udviklede viræmi 1-3 uger efter infektion og viræmien var intermitterende og af varierende længde, ligesom AMDV-udskillelsen var i både fæces og oro-nasal sekreter.

Tak til Kopenhagen Fur, som finansierede projektet. Tak til Jens Nielsen og Åse Uttenthal for værdifulde kommentarer til forsøget samt tak til dyrepassere på DTU-VET Lindholm. Tak til Line Haaning, Dorte Jensen og Bodil Kruuse for hjælp i laboratoriet på DTU-VET Århus. ■

Referencer

- Alexandersen, S., 1990. Pathogenesis of disease caused by Aleutian mink disease parvovirus. *APMIS Suppl* 14, 1-32.
- Bloom, M.E., Kanno, H., Mori, S., Wolfenbarger, J.B., 1994. Aleutian mink disease: puzzles and paradigms. *Infect. Agents Dis.* 3, 279-301.
- BEK nr 1447 af 15/12/2009. Bekendtgørelse om plasmacytose hos pelsdyr.
- Christensen, L.S., Gram-Hansen, L., Chriel, M., Jensen, T.H., 2011. Diversity and stability of Aleutian mink disease virus during bottleneck transitions resulting from eradication in domestic mink in Denmark. *Vet. Microbiol.* 149, 64-71.
- Hadlow, W.J., Race, R.E., Kennedy, R.C., 1983. Comparative pathogenicity of four strains of Aleutian disease virus for pastel and sapphire mink. *Infect. Immun.* 41, 1016-1023.
- Jensen TH, Hammer AS, Chriel M. Monitoring chronic infection with a field strain of Aleutian mink disease virus. *Vet Microbiol* 2013 Dec 16 pii: S0378-1135(13)00567-1. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.11.041
- Jensen, T.H., Christensen, L.S., Chriel, M., Uttenthal, A., Hammer, A.S., 2011. Implementation and validation of a sensitive PCR detection method in the eradication campaign against Aleutian mink disease virus. *J. Virol. Methods* 171, 81-85.
- Knuutila, A., Uzategui, N., Kankkonen, J., Vapalahti, O., Kinnunen, P., 2009. Molecular epidemiology of Aleutian mink disease virus in Finland. *Vet. Microbiol.* 133, 229-238.
- Oie, K.L., Durrant, G., Wolfenbarger, J.B., Martin, D., Costello, F., Perryman, S., Hogan, D., Hadlow, W.J., Bloom, M.E., 1996. The relationship between capsid protein (VP2) sequence and pathogenicity of Aleutian mink disease parvovirus (ADV): a possible role for raccoons in the transmission of ADV infections. *J. Virol.* 70, 852-861.
- Uttenthal, A., 1992. Screening for antibodies against Aleutian disease virus (ADV) in mink. Elucidation of dubious results by additive counterimmunoelectrophoresis. *Appl.Theor.Electrophor.* 3 (2), 83-84.

Agner Neimann-Sørensen 1924 – 2014

Professor, dr.med.vet., dr.agro. h.c. A. Neimann-Sørensen døde onsdag den 29. oktober 2014 90 år gammel.

Neimann-Sørensen blev dyrlæge i 1951, og herefter begyndte han en bemærkelsesværdig videnskabelig karriere med ansættelser/studieophold i Skotland, USA, Sverige og Danmark. I 1962 blev han udnævnt til professor i kvægets avl og fodring ved Den kgl. Veterinær- og Landbohøjskole, og samtidig til forstander for Afd. for forsøg med kvæg og får ved Statens Husdyrbrugsforsøg.

Efter udnævnelsen påbegyndte Neimann-Sørensen straks en reform af undervisning, forskning og videnformidling inden for kvægområdet. Hans forelæsninger var meget inspirerende, og de tiltrak mange studerende. Han skaffede bevilinger til at ansætte unge, nyuddannede forskere, og under Neimann-Sørensens ledelse udviklede de nye avlsplaner, fodringsstrategier og produktionssystemer, som blev præsenteret for og senere implementeret i praksis.

Forskningsafdelingen voksede i kompetence og størrelse, og det internationale samarbejde blev efterhånden meget omfattende. Derfor blev faciliteterne på Frederiksberg og Hillerød for små og utidssvarende, og Neimann-Sørensen blev foregangsmand i bestræbelserne på etablering af Forskningscenter Foulum og udflytningen hertil i 1982/83. Her var han efterfølgende med til at skabe et forskningsmiljø på højeste internationale plan.

Efter sin pensionering i 1994 kunne Neimann-Sørensen nyde et velfortjent otium med sin familie, og samtidig se tilbage på 32 år, hvor han på markant og dygtig vis havde sat sit præg på udviklingen i dansk husdyrbrug og husdyrforskning. Han havde været forbilledet og inspirator for et stort antal studerende og medarbejdere, som gennem årene efterhånden var blevet ansat i nøglepositioner inden for forskning, rådgivning eller husdyrrelaterede virksomheder. Neimann-Sørensen havde desuden beklædt en række forskningspolitiske tillidshverv, ligesom hans internationale netværk var blevet meget omfattende.

Æret være A. Neimann-Sørensens minde.

Svend Martin Nielsen og
Bernt Bech Andersen

Hold øje med din arbejdstid

Har du en ansættelseskontrakt, hvoraf det fremgår, at du er ansat på jobløn, skal du ikke konstant arbejde 50 timer eller mere om ugen. Det samme gælder, hvis det er aftalt, at du honoreres for arbejde udover 37 timer om ugen. Det fremgår af arbejdstidsloven, som sætter en grænse for, hvor mange timer en medarbejder må arbejde. Ifølge loven må en medarbejder ikke arbejde mere end 48 timer om ugen i gennemsnit over en periode på 4 måneder.

Det er din arbejdsgiver, som er ansvarlig for, at du overholder loven, som er gældende, uanset om du selv ønsker at udføre arbejdet, om du aflønnes for det, eller din arbejdsgiver har pålagt dig det.

Landsretterne har adskillige gange taget stilling til arbejdstidsloven og tilkendt medarbejdere mellem 1-2 måneders løn i godtgørelse. Godtgørelsesniveauet er afhængigt af antallet af timer, som overstiger 48 timer om ugen, samt om medarbejderen har samtykket til at arbejde de mange timer, eller det er blevet pålagt.

Derfor er det vigtigt, at du registrerer din arbejdstid og får den godkendt af din arbejdsgiver. Nærmer du dig grænsen, bør du tage en snak med din chef, så I kan finde en fornuftig løsning.

Er du i tvivl så kontakt sekretariatet.

Aktuelt

NYT OM LØN, ANSÆTTELSE OG KARRIERE

Få en konsulent på besøg

Hvis du og dine privatansatte kolleger - både på samme arbejdsplads eller forskellige ansættelsessteder - er i tvivl om jeres ansættelsesvilkår eller blot gerne vil høre mere om jeres rettigheder og pligter i forhold til jeres arbejdsgiver, skal I blot kontakte sekretariatet. Så kan I aftale en dag, hvor DDDs konsulent kommer forbi.

Hvad nu?

Er det nu, du skal fokusere på din videre karriere eller bare se på dit job med nye øjne?

Stil dig selv følgende spørgsmål:

JA NEJ

- Efterspørger jeg feedback og input fra andre for at blive klogere på mig selv og min karriere?
- Er jeg klar over, om mine kompetencer kan være værdifulde i andre jobs?
- Søger jeg aktivt ny viden om mine karriere- og udviklingsmuligheder?
- Er jeg stadigvæk begejstret for mit arbejde?
- Er der mere nyt at lære i mit arbejde?

- Er mit CV præcist og klart?
- Bruger jeg aktivt mit netværk til at udvikle mig selv fx til at få information, udvikle nye kompetencer, opsøge lærerige situationer osv.?

Tager jeg ansvar for mig selv og min karriere?

Overvejer jeg jævnligt, hvor jeg er i karrieren?

Arbejder jeg aktivt på at forstå min egen motivation og adfærd i forhold til karrieren?

Hvis du overvejende svarede nej til disse spørgsmål, er det måske på tide at fokusere på dig selv og din karriere.

Læs mere på www.karrierenavigation.dk - hvor du også finder inspiration og flere værktøjer, som kan bruges til at udvikle din karriere.

Fokus på omplaceringspligt for arbejdsgivere

Hvis en arbejdsgiver vælger at opsiges en medarbejder pga. besparelser, er hovedreglen, at det er situationen på tidspunktet for opsigelsen, der skal bedømmes i forhold til, hvorvidt opsigelsen var saglig begrundet. I opsigelsesperioden kan der således godt ske ændringer i medarbejderstaben, uden at arbejdsgiveren skal tilbyde den opsagte medarbejder et andet arbejde.

Det har hidtil også været gældende for gravide medarbejdere, men nu har Vestre Landsret truffet en afgørelse, som ændrer dette forhold.

Sagen handlede om en medarbejder, der i september måned blev opsagt i forbindelse med en driftsmæssig begrundet opsigelsesrunde. Arbejdsgiveren havde inden opsigelsen forgæves prøvet at omplacere medarbejderen til anden stilling. I oktober måned oplyste medarbejderen, at hun er gravid.

I opsigelsesperioden blev en relevant stilling ledig og besat til anden side, uden at den blev tilbudt den opsagte, gravide medarbejder.

Vestre Landsret tilkendte den opsagte medarbejder en godtgørelse, fordi arbejdsgiveren havde overtrådt ligebe-

handlingsloven. Retten lagde til grund for afgørelsen, at medarbejdere beskyttet af ligebehandlingsloven har ret til omplacering i hele opsigelsesperioden.

Hvis du opsiges, når du er omfattet af beskyttelse i henhold til ligebehandlingsloven, dvs. hvis du er gravid, på barsel, handicappet o.l. skal du være opmærksom på, om der bliver relevante stillinger ledige i virksomheden. Hvis du ikke tilbydes en sådan stilling, anbefales det, at du kontakter sekretariatet.