



*Sveriges lantbruksuniversitet*

Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för Kliniska vetenskaper, Avd. f. reproduktion.

# Plasmacytos (Aleutian disease) hos vild mink i Sverige

Mia Tjernström

*Uppsala*

*2010*

*Examensarbete inom veterinärprogrammet*

*ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2010:52*

SLU  
*Sveriges Lantbruksuniversitet*

# Plasmacytos (Aleutian disease) hos vild mink i Sverige

Mia Tjernström

*Handledare: Ulf Magnusson, Institutionen för kliniska vetenskaper, Avd. f. Reproduktion  
Biträdande handledare: Sara Persson, Institutionen för kliniska vetenskaper, Avd. f. Reproduktion  
Examinator: Bernt Jones, Institutionen för kliniska vetenskaper*

*Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2010  
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för kliniska vetenskaper  
Kurskod: EX0239, Nivå X, 30hp*

*Nyckelord: Mink Mustela Vison ADV Aleutian disease Plasmacytos*

*Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>  
ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2010:52*

<b>INNEHÅLL</b>	
<b>SAMMANFATTNING .....</b>	<b>4</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>5</b>
<b>INTRODUKTION .....</b>	<b>6</b>
<b>Bakgrund och syfte .....</b>	<b>6</b>
<b>Vild mink i Sverige .....</b>	<b>6</b>
<b>Reproduktion hos mink .....</b>	<b>7</b>
<b>Plasmacytos (Aleutian disease) .....</b>	<b>7</b>
Etiologi .....	7
Patogenes .....	8
Kliniska symptom .....	8
Diagnostik .....	9
<b>MATERIAL OCH METODER .....</b>	<b>10</b>
<b>RESULTAT .....</b>	<b>12</b>
<b>DISKUSSION .....</b>	<b>14</b>
<b>SLUTSATS .....</b>	<b>15</b>

## **SAMMANFATTNING**

Plasmacytos är en kronisk, persistent och progressiv virus med hög dödlighet och allvarliga reproduktionsproblem som ofta kallas Aleutian disease (AD). Sjukdomen drabbar i huvudsak mink och är ett stort problem på minkfarmer, men kan även drabba vilda mård- och hunddjur. Undersökningar för att kartlägga utbredningen av plasmacytos i den vilda minkpopulationen har inte tidigare gjorts i Sverige. Nittio minkar från hela Sverige obducerades och provtogs avseende antikroppar mot ADV (Aleutian disease virus) och av dessa var 41 stycken (46%) seropositiva, vilket är en hög siffra jämfört med våra grannländer. Infektionen visade sig vara spridd över hela Sverige, men det förelåg en tydlig säsongsvariation där en högre andel seropositiva minkar påträffades på våren. Huruvida infektionen sprids från vilda till farmade minkar eller tvärtom borde undersökas vidare.

## **SUMMARY**

Plasmacytosis is a chronic, persistent, progressive viral disease with high mortality and severe reproductive problems. It is often referred to as Aleutian disease (AD). The disease affects mainly mink and is a major problem on mink farms but can also affect wild mustelids and canids. Studies to assess the prevalence of plasmacytosis in the wild mink population have not previously been made in Sweden. Ninety minks from all over Sweden were subjected to necropsy and sampled for antibodies to ADV (Aleutian disease virus). Fortyone of these minks (46%) were seropositive which is a high figure compared to our neighbouring countries. The infection appeared to be scattered all over Sweden, but there was a clear seasonal variation, where a higher proportion of seropositive minks were found in the spring. Whether the infection is spread from wild to farmed mink or vice versa should be studied further.

## INTRODUKTION

### Bakgrund och syfte

Examensarbetet ingår som en del i ett större projekt om miljögiftsrelaterade reproduktionsstörningar på vilda minkar (Persson et al. 2009) och syftet är att undersöka förekomsten av antikroppar mot ADV (Aleutian disease virus) och tecken på sjukdomen plasmacytos hos den vilda minken i Sverige.

Plasmacytos är en kronisk, persistent och progressiv sjukdom med hög dödlighet (Bloom et al. 1994, se Steinel et al. 2001) som ofta kallas Aleutian disease (AD). Förutom att orsaka systemisk sjukdom slår viruset även hårt mot minkarnas reproduktion. Farmer där sjukdomen finns har färre dräktigheter och mindre kullar per hona än farmer som är fria från sjukdomen. Experimentella studier har också visat att infektion med ADV hos dräktiga honor är associerat till svaga valpar, embryonal död, aborter och dödfödslar (Hansen & Lund 1988, Padgett et al. 1967, se Broll & Alexandersen 1996).

Antikroppar mot ADV har, förutom hos mink, även hittats hos en rad andra djurarter, till exempel mård (Fournier-Chambrillon et al. 2004), utter (Mañas et al. 2001), iller (Welchman et al. 1993) och rödräv (Ingram & Cho 1974, se Steinel et al. 2001).

Oie et al. (1996) visade i ett försök att tvättbjörn kan smittas av viruset och även återsmitta till mink, men de kunde inte påvisa någon smittöverföring mellan tvättbjörnar. Fournier-Chambrillon et al. (2004) misstänkte att viruset kan vara en av orsakerna till att den europeiska minken (Flodiller, *Mustela lutreola*) blir allt mindre vanlig i Europa. De kunde då visa att virusets spridning i Frankrike till viss del överensstämde med den amerikanska minkens (*Mustela vison*) utbredning i landet, men urvalsmaterialet var inte tillräckligt stort för att dra några precisa slutsatser.

Klinisk sjukdom är även ett stort problem hos iller, men har där ett annat uttryck med framförallt neurologiska symptom. Reproduktionsproblemen förekommer dock hos båda arterna (Welchman et al. 1993). Hos mård, tvättbjörn och rödräv har man ej kunnat bevisa klinisk sjukdom (Fournier-Chambrillon et al. 2004; Ingram & Cho 1974, se Steinel et al. 2001).

Undersökningar för att kartlägga utbredningen av plasmacytos i den vilda minkpopulationen har gjorts i ett antal europeiska länder, bl.a. Spanien (Mañas et al. 2001), Frankrike (Fournier-Chambrillon et al. 2004), England (Yamaguchi & Macdonald 2001) och Danmark (Hammershøj 2004), men ingen liknande studie har ännu gjorts i Sverige. Det är även intressant att bedöma virusets spridning och eventuell sjukdom i förhållande till minkfarmer och, utifrån detta, bedöma riskerna för smitta till och från den vilda populationen.

### Vild mink i Sverige

Det finns två vilda minkarter i Europa, amerikansk mink (*Mustela vison*) och europeisk mink (Flodiller; *Mustela lutreola*), varav den europeiska minken aldrig funnits i Sverige, men tidigare var vanlig i övriga Europa. Den vilda minken i Sverige är av arten amerikansk mink och härstammar från farmad mink. De första minkarna importerades till Sverige och började farmas i slutet på 20-talet och har

sedan i olika omgångar rymt eller blivit utsläppta från farmer och etablerat sig i den svenska faunan. De farmade minkarna skiljer sig något från de vilda och förvildade varianterna. Färgvariationen är t.ex. mycket större hos farmad än vild mink. En typisk ”vild” amerikansk mink är mörkbrun med lite ljusare underull och har oftast en eller flera vita fläckar på buksidan av kroppen, vanligen under hakan och på buken. Hos farmad mink är det önskvärt med en homogen pälsfärg och man kan, förutom den mörkbruna vildtypen, även hitta färger såsom silver, pastel och aleutian. Skulle en mink av denna typ komma ut i det vilda och para sig kommer dock denna färg att försvinna inom några få generationer då färggenen oftast är recessiv. Man ska dock vara försiktig med att döma en mink som vild eller farmad om man möter en mink med annan pälsfärg än vildtyp i naturen, då det vid ett flertal tillfällen visat sig att dessa recessiva anlag kan dyka upp i den vilda populationen igen (Dunstone 1993).

Den vilda minken har ett generellt dåligt anseende i Sverige då den ses som, och i många fall utgör, ett hot mot den naturliga faunan. För att hålla nere det vilda beståndet bedrivs skydds jakt på mink och den får jagas under hela året (Sv. jägarförbundet 2009).

Sedan år 2006 har ca 20 st illegala utsläpp skett från svenska farmer (Personligt meddelande, Jörgen Martinsson, SPR, 2010). Hur många minkar som årligen rymmer från farmer är dock oklart.

### **Reproduktion hos mink**

Parning sker normalt i mars månad (Venge 1973, se Sundqvist et al. 1989) och honan, som har inducerad ägglossning, ovulerar vanligen 48 h efter parning (Hansson 1947, se Sundqvist et al. 1989). Honan kan ovulera flera gånger under samma löpperiod och därmed bli dräktig med flera hanar, sk superfetation (Enders 1957, se Sundqvist et al. 1989). Detta möjliggörs bland annat av det faktum att minken har så kallad fördröjd implantation och på grund av detta varierar också dräktighetslängden mycket (Hansson 1947, se Sundqvist et al. 1989). Dräktighetens medellängd ligger dock på 51 dagar och valpning brukar ske från sista veckan i april till mitten av maj. Medelstorleken på kullarna är fem valpar och kullar med mer än tio valpar är ovanligt (Venge 1973, se Sundqvist et al. 1989). Minken har, precis som andra carnivorer, en endotheliochorial placenta (Broll & Alexandersen 1996).

### **Plasmacytos (Aleutian disease)**

#### ***Etiologi***

Plasmacytos kallas även Aleutian Disease (AD) efter den färgtyp, aleutian, hos vilken sjukdomen först upptäcktes. Sjukdomen orsakas av ett parvovirus som, av samma orsak, kallas Aleutian mink disease parvovirus (ADV eller AMDV) (Gorham et al. 1964, Kenyon et al. 1963, se Mañas et al. 2001). Viruset saknar kapsel och innehåller ett enkelsträngat DNA-genom bestående av 4800 genpar med minst två icke-strukturella proteiner (NS1 + NS2) och två capsidproteiner (VP1 + VP2) (Oleksiewicz et al, 1996). Minkar som infekteras med viruset drabbas olika hårt beroende på vilken virusstam de infekteras med, då patogeneciteten varierar mycket mellan de många olika stammarna (Knuuttila et al. 2009). Även minkens genotyp och ålder spelar roll för vilket uttryck sjukdomen tar sig (Best & Bloom, 2005).

Parvovirusinfektioner hos andra djurslag är känt för att passera placentan, så kallad transplacental överföring. Detta är något som även sker hos mink med ADV, men mekanismen bakom överföringen är dock inte helt utredd (Broll & Alexandersen 1996). Viruset är mycket stabilt i miljön och smittar även fekalt-oralt och mekaniskt (Gorham et al. 1964, Kenyon et al. 1963, se Mañas et al. 2001).

Asymptomatiska bärare kan sprida smitta (Gorham et al. 1964, Kenyon et al. 1963, se Mañas et al. 2001) och eftersom viruset har en lång inkubationstid och sprids mycket lätt i miljön är omfattande smittskyddsåtgärder nödvändiga för att hindra spridning av viruset (Budd et al. 1966). Man bör, av samma anledning, vara försiktig vid inköp av djur till farmen. Har sjukdomen väl fått fäste på en farm sprids den väldigt lätt via utrustning, handskar, saliv, blod, urin, feaces och sprutor (Budd et al. 1966). I en studie påvisade man också virus i mjölkkörtlarna hos infekterade honor, vilket indikerar att spridning även kan ske via modersmjölk (Broll & Alexandersen 1996).

Upprepade försök att utveckla vacciner mot ADV har varit ofrukt samma och i många fall till och med lett till ökad sjukdom och den enda effektiva kontrollen i dagsläget är därför stamping-out av seropositiva djur (Cho & Greenfield 1978; Castelcruiz et al. 2005; Knuutila et al. 2009).

Orsaken till att man inte lyckas tillverka ett fungerande vaccin verkar vara okänd, men att antikroppar mot specifika peptider i virusets kapsid(er) både kan neutralisera viruset och stimulera till ökad infektion kan möjligen förklara misslyckandet med kapsidbaserade vacciner (Bloom et al. 2001). Vacciner baserade på de icke-strukturella proteinerna har fungerat bättre, men har inte gett ett fullständigt skydd (Aasted et al. 1998; Castelcruiz et al. 2005).

### ***Patogenes***

Den virala replikationen på cellnivå och sjukdomens patogenes är starkt sammankopplade (Oleksiewicz et al. 1996). Virusreplikationen sker till största delen i lymfknutornas makrofager och det humoral immunförsvaret spelar där en viktig roll för infektionens patogenes. I lymfknutorna binder antivirala antikroppar till viruset och bildar immunkomplex. Dessa proteinaggregat deponeras sedan i vävnader och leder till en rad immunmedierade fenomen (Best & Bloom 2005).

Mekanismerna bakom den antikroppsmedierade patogenesen är ännu inte helt utrett, men verkar bero på många faktorer. Antikroppar knutet till viruset tros hjälpa ADV in i makrofagerna via antikropps-bindning. Denna process, som förekommer hos andra, liknande virus, kallas ADE (Antibody-Dependent Enhancement of infection) och kan vara en bidragande faktor till den typiska immun-rubning man ser hos mink infekterad med ADV. Genom ett gynnande av immunoglobulinproduktionen samtidigt som det cytotoxiska T-cellssvaret trycks ned får man en persistens av viruset (Best & Bloom 2005).

### ***Kliniska symptom***

Klassisk plasmacytos hos mink karaktäriseras av immunkomplexbildningar med framför allt glomerulonefrit och arterit som följd. Typiska kliniska tecken vid



klassisk plasmacytos är polydipsi, apati, diarré, anorexi, dålig pälskvalité, uremi och blödningar (Bloom et al. 1994, se Steinel et al. 2001; Gorham et al. 1976, se Knuutila et al. 2009). Första tecknet på sjukdom brukar emellertid vara nedsatt reproduktion. Vad man då framför allt ser är högre andel icke-dräktiga honor och onormalt stor förlust av kullar på grund av aborter, dödfödselar och svaga valpar. Överlevande valpar i drabbade kullar blir ofta hämmade i tillväxten (Budd et al. 1966; Hansen & Lund 1988, Padgett et al. 1967, se Broll & Alexandersen 1996). Även känslighet för andra sjukdomar ökar och man ser en hög mortalitet (Bloom et al. 1994, se Steinel et al. 2001). Minkar med klassisk plasmacytos dör vanligen inom 2 mån till 4,5 år efter infektion (Gorham et al. 1976, se Knuutila et al. 2009).

Plasmacytos ger kraftiga störningar i minkens immunsystem på grund av den virala replikationen i lymfoid vävnad (Oleksiewicz et al. 1996). Immunkomplexrelaterade skador uppstår i de flesta av kroppens organ och en ökad stimulans av B-lymfocyter leder till en kraftig plasmacells-proliferation och uttalad hypergammaglobulinemi (Budd et al. 1966; Quinn et al. 2002).

Om valpar under två veckors ålder födda efter seronegativa mödrar infekteras av viruset angrips istället lungornas surfaktantproducerande typ II-pneumocyter. Vid denna variant ses pneumoni som oftast leder till kvävning på grund av det minskade syreupptaget (Oleksiewicz et al. 1996). Valparna dör inom två veckor efter infektion av akut interstitiell pneumoni karakteriserad av parenkymala blödningar och extensivt atelektas (Alexandersen et al. 1994). Försök att lindra eller stoppa sjukdom har visat att valpar som överlever den akuta fasen så småningom utvecklar den kroniska och peristenta formen av plasmacytos (Alexandersen et al. 1989).

Vissa stammar av viruset kan också ge neurologiska symptom då drabbade minkar får en icke-suppurativ meningoencephalit (Dyer et al. 2000).

Fox et al (1999) visade att vuxen mink kan bli persistent infekterad med vissa stammar av ADV och utveckla antikroppar, men fortfarande inte utveckla tecken på progressiv sjukdom. Det är dock okänt om subtila infektioner som dessa också leder till minskad fruktsamhet. Broll och Alexandersen (1996) såg emellertid, i en experimentell undersökning, att det totala antalet implantationsplatser i livmodern hos persistent infekterade honor var mycket lägre än förväntat, ca hälften så många som hos akut infekterade och friska kontrollgrupper. Även antalet döda och resorberade foster var högre i den persistent infekterade gruppen (ca 50 %) än i övriga grupper (ca 12 %).

### **Diagnostik**

Vid rutindiagnostik kan man i serum se en tydlig ökning av gammaglobuliner med relativ minskning av albumin, något som anses karakteristiskt – men inte patognomont – för plasmacytos hos mink (Budd et al. 1966). Det är därför bättre att använda sig av mer specifika metoder för att detektera antikroppar i serum. Antikroppar mot ADV kan detekteras i serum tidigast 5 dagar efter infektionstillfället (Best & Bloom 2005). Serologi används i dagsläget i stor omfattning vid screening av minkfarmer (Knuutila et al. 2009).

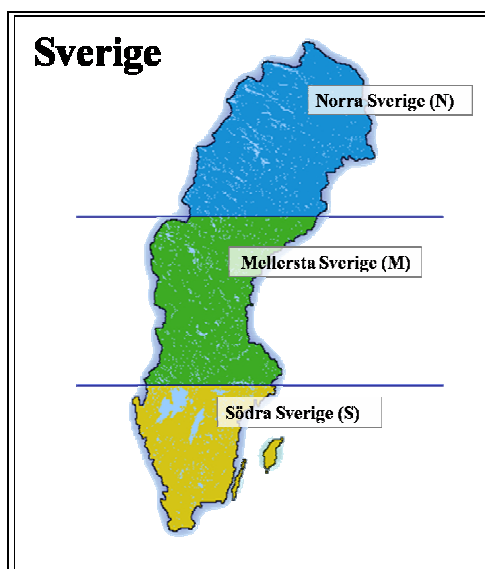
Genom åren har ett antal olika tester för serum-diagnostik utvecklats, men vanligast inom rutindiagnostiken i dagsläget är counterimmunoelktrofores (CIE), som baseras på visuell detektion av immunkomplex på en agaros-gel efter elektrofores (Gorham et al. 1976, se Knuutila et al. 2009). I Finland har man utvecklat ett ELISA-test som kan identifiera antikroppar mot ADV oberoende av virusstam, vilket även möjliggör detektion av eventuella, i dagsläget, okända stammar (Knuutila et al. 2009).

Man kan även påvisa virus direkt genom PCR (Polymerase Chain Reaction) eller immunohistokemi (IH), men detta är dyra och tidsödande processer som sällan används inom rutindiagnostiken.

Vid makroskopisk och histologisk diagnostik kan man också söka tecken på manifest sjukdom. Makroskopiskt kan man då se mjältförstoring och njurförändringar som, beroende på stadium av sjukdom, varierar från bleka och svullna med petechier till atrofierade med insänkningar (Budd et al. 1966). Histologisk ses i njurarna en extensiv proliferation av plasmaceller. I kroniska långtgående fall ses även hyalina förändringar i glomeruli och renala tubuli samt arterit. Hyalina förändringar kan även hittas i gallgångsepitel och urinblåsa (Budd et al. 1966). Plasmacells-hepatit med gallgångsproliferation, uveit och hyperplastisk intrapulmonär lymfvävnad kan också ses i vissa fall (Dyer et al. 2000).

## MATERIAL OCH METODER

Sverige delades in i tre delar för att representera områden med olika farmtätheter (se figur 1). Det södra området, som sträcker sig från södra Skåne till norra delen av Vänern, representerar det farmtätaste området. Det mellersta området har en lägre farmtäthet och i det norra området, som sträcker sig från norra Västerbotten till Trekröset, finns inga minkfarmer. Farmtätheten baserades på statistik från Svenska Pälsdjursuppfödarens Riksförbund (SPR), till vilket större delen av Sveriges minkfarmer är anslutna. Fördelningen av farmer per område redovisas i tabell 1.



Figur 1.

Tabell 1. Antal farmer i Sverige åren 2006 och 2009 (SPR, 2009)

Område	År	
	2006	2009
Norra	0	0
Mellersta	3	2
Södra	120	78
Hela Sverige	123	80

Prover togs från 74 slumpvis utvalda minkar ur ett djurmaterial som samlats in under åren 2006-2009 i samband med forskning om miljögiftsrelaterade reproduktionsstörningar hos mink (Persson 2007; Persson et al. 2009). Då det ej fanns tillräckligt med minkar från det södra området upprättades kontakt med lokala jägare för insamling. 16 minkar samlades in på detta vis och obducerades i september 2009. Totalt analyserades således blod från 90 st minkar; 30 st från södra, 30 st från mellersta och 30 st från norra Sverige.

För en detaljerad beskrivning av obduktionsproceduren hänvisas till Persson, 2007 (s.14). I stora drag registrerades djurets förruttelsegrad, vikt, kön, längd och hull vid obduktionen. Förruttelsegraden registrerades enligt skalan "lindrigt", "måttligt" eller "kraftigt". Längden mättes från nos till svansbas och hullet bedömdes som "under medelgott", "medelgott" eller "över medelgott". För att bestämma om minken var valp eller vuxen gjordes en okulär bedömning baserad på tändernas kondition, kroppsstorlek och könsorganens utseende. Lever, mjälte, njurar och subkutant fett från caudala delen av buken vägdes. Vidare registrerades eventuella makroskopiska förändringar och i förekommande fall sparades förändrade organ nedfrusna till  $-20^{\circ}\text{C}$ . Subkutant fett, muskel, lever och reproduktionsorgan sparades nedfruset till  $-20^{\circ}\text{C}$  för eventuella framtida undersökningar. Även blod sparades och frystes ned till  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Blod, nedfruset till  $-70^{\circ}\text{C}$  tinades i rumstemperatur och fördes, med hjälp av engångspipett, över till speciella provtagningskammare enligt instruktioner från Pälsdjurslaboratoriet, Finlands Pälsdjursuppfödarens Förbund i Vasa. Från de 16 stycken minkar som obducerades i september 2009 togs blodprov direkt i samband med obduktionerna. Blodet samlades då med hjälp av pipett från hjärta, vena cava caudalis och/eller aorta. Även från dessa fördes blod över till provtagningskammarna med engångspipett. Proven från varje mink delades i två delar och för varje mink analyserades ett duplikat.

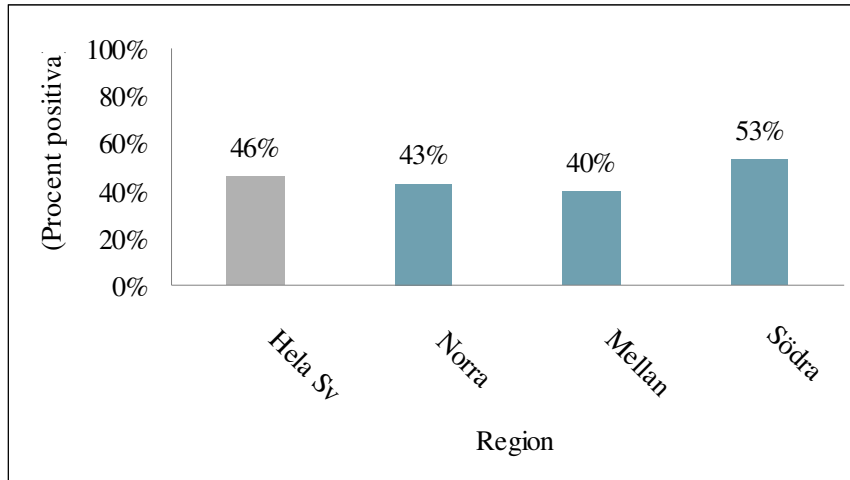
Det insamlade blodet analyserades sedan med antikropps-ELISA avseende antikroppar mot ADV (Knuutila et al. 2009). Metoden har en sensitivitet på 99 % och en specificitet på 97 % och analyserna utfördes av Pälsdjurslaboratoriet, vid Finlands Pälsdjursuppfödarens Förbund i Vasa.

För samtliga minkar bedömdes makroskopiska obduktionsdata utifrån tecken på sjukdom. Effekterna av kön, ålder insamlingstidpunkt på året och insamlingsområde på seropositivitet för ADV analyserades med en multivariat modell för kategoriska data (GLIMMIX, SAS Institute). Effekterna av seropositivitet för ADV, kön, ålder, insamlingstidpunkt på året och insamlingsområde på de registrerade kropps- och organvikterna analyserades med en multivariat modell (Proc GLM, SAS Institute).

Vi har, i arbetet, valt att betrakta de minkar med avvikande pälsfärg som vilda, då det inte går att avgöra om de är farmade eller viltfödda. Man har i studier också visat att en ursprungligen farmad mink som överlevt i det vilda längre än två månader inte längre kan skiljas från en vild mink (Hammershøj 2004).

## RESULTAT

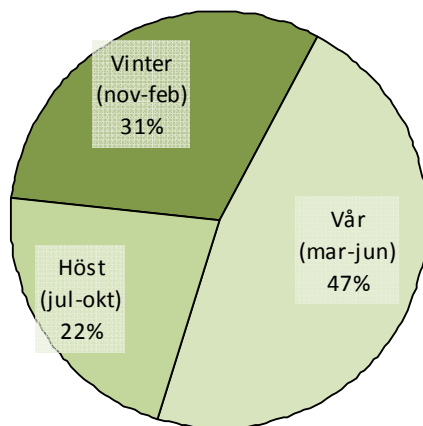
Blodproverna visade att 41/90 minkar hade antikroppar mot ADV, d.v.s. 46 %. Det var ingen skillnad mellan de olika regionerna avseende andelen seropositiva djur (figur 2).



Figur 2. Förekomsten, i procent (%), av antikroppar mot ADV hos vild mink i Sverige under åren 2006-2009.

Seropositivitet för ADV hade signifikant ( $p < 0.01$ ) effekt på vikten på mjälten och njurarna. Hos de seropositiva respektive seronegativa minkarna var medelvikten för mjältarna  $3.5 \pm 1.1$  g och  $2.9 \pm 1.4$  ; för njurarna var motsvarande siffror  $4.6 + 1.5$  g och  $3.8 \pm 1.9$  g.

Vilken tid på året minkarna fångats in hade betydelse för andelen seropositiva djur. Den största skillnaden ( $P < 0.003$ ) i seropositivitet observerades mellan vårsäsong (mars-juni) och höstsäsong (juli-okt) (Figur 3). Skillnaden mellan höst- och vintersäsong (juli-okt/nov-feb) var även den signifikant ( $P < 0.038$ ). Ingen signifikant ( $P > 0.10$ ) skillnad kunde ses mellan vinter- och vårsäsong.



Figur 3. Andel seropositiva minkar per säsong (procent).

Det fanns ingen indikation ( $P=0,84$ ) på att seropositivitet påverkas av minkens kön. 45 % av honorna och 46 % av hanarna var positiva. Andelen seropositiva valpar var inte skiljd ( $P=0,28$ ) från andelen seropositiva vuxna.

Vid analysen av obduktionsprotokollen visade det sig att tio av de 41 st seropositiva och sex av de 59 st seronegativa minkarna hade makroskopiska förändringar (tabell 2).

*Tabell 2. Makroskopiska förändringar hos 16 minkar obducerade åren 2006-2009 (notera att organen från vissa minkar uppvisade flera förändringar)*

Makroskopiska förändringar	Antal minkar	
	Seropositiva (n=10)	Seronegativa (n=6)
Njurar	6	3
Konturförändringar	2	0
Svullnad	2	3
Granulering	2	0
Hemorrhagisk	1	0
Cystor	0	1
Lever	7	3
Svullen + blek	5	3
Hemorrhagisk	1	0
Ökad lobulär teckning	1	0
Fettlever	1	0
Mjälte	2	2
Petechiella blödningar	1	1
Hemorrhagisk	1	0
Svullen	2	2
Kröslymnuta	3	0
Förstorad	3	0
Lungor	1	2
Stående	1	1
Pleurit	0	1
Gallblåsa	1	0
Förtjockad	1	0
Päls	0	1
Dålig kvalitet	0	1

Vid obduktion uppmärksammades också att vissa av minkarna hade en päls som skiljde sig från den vilda färgtypen, med mörkare och tjockare underull och ibland total avsaknad av vita fläckar. En av minkarna hade silverblå pälsfärg.

## DISKUSSION

Blodproverna visade att närmare hälften av minkar hade antikroppar mot ADV, d.v.s. 46 %. Detta är ganska överraskande siffror, då man t. ex. i en dansk undersökning från 2004 endast sett 4,3 % seropositiva (Hammershøj 2004). Anledningen till den stora skillnaden kan vara att den metod med ak-ELISA vi använt i vårt försök har en högre känslighet för olika stammar medan den elektrofores man använt i den danska studien endast identifierar vissa kända stammar. Dock kunde Yamaguchi och Macdonald (2001) i en mindre studie utförd i södra England se en seropositivitet på 51,9 %. De använde samma analysmetod som i det danska försöket, så därför verkar det troligare att den stora skillnaden mellan Sverige och Danmark har andra orsaker. Till exempel har de i Danmark ett välutvecklat bekämpningsprogram för ADV på danska farmer och detta skulle möjligen kunna påverka virusets spridning även i det vilda. Det skulle vara intressant att typbestämma stammarna från minkarna i vårt försök för att se huruvida endast en stam är spridd i Sverige eller om det skiljer sig mellan de olika regionerna.

Det fanns också en tendens ( $P < 0,086$ ) till något högre förekomst av seropositivitet i det farmtätaste området, södra Sverige. Detta kan innebära att det föreligger en högre risk för dessa farmer att dra på sig smitta utifrån. Självfallet är läget också det omvända att exempelvis illegala utsläpp av minkar från farmerna kan sprida sjukdomen i den svenska naturen, då det ju i tidigare undersökningar visats att ett flertal andra arter kan smittas av sjukdomen. I dagsläget (2009) finns, enligt SPR, högst 10 stycken plasmacytosfria farmer i Sverige.

Att seropositiviteten hade en signifikant effekt på mjältens och njurarnas vikt är ett tecken på att en stor del av minkarna i försöket faktiskt hade en påverkan av seropositiviteten, trots att endast 10 st, d.v.s. omkring en femtedel, av de seropositiva minkarna uppvisade makroskopiska förändringar som skulle kunna spegla manifest sjukdom. Karaktären på förändringarna var dessutom alltför allmän och diffus för att man, utan vidare histologisk undersökning eller PCR, skulle kunna säga att dessa är plasmacytosorsakade. En annan orsak till att endast 10 st av de seropositiva minkarna hade makroskopiska förändringar kan vara att de infekterade minkarna inte hunnit utveckla synlig sjukdom, då detta kan ta upp till 4,5 år från infektionstillfället (Gorham et al. 1976, se Knuuttila et al. 2009). Det kan också vara så att den virusstam de infekterats med har en låg patogenicitet och endast ger subklinisk eller mild sjukdom. Ytterligare en möjlighet skulle kunna vara medfödd immunotolerans, som då skulle innebära en persistent infektion utan allvarligare symptom. Detta är en fråga som bland annat Broll och Alexandersen (1996) ställde sig, då de kunde se att valpar födda efter mödrar som antingen var persistent infekterade eller infekterades akut under dräktigheten verkade utveckla någon form av immunotolerans. Det är dock ej bevisat och är alltså något som kräver vidare forskning.

Kön och ålder hade inte någon signifikant inverkan på seropositiviteten. Däremot har man i andra undersökningar visat att åldern har betydelse för vilket uttryck sjukdomen tar sig (Best & Bloom 2005).

Ett överraskande fynd var att det förelåg en tydlig säsongsvariation i seropositiviteten. Varför en mycket högre andel av de minkar som fångats in på

våren var seropositiva är oklart och borde undersökas vidare. En teori är att minkarna har ett ökat stresspåslag under parnings- och dräktighetssäsongen, vilket då ökar känsligheten för infektion. Vid parningen träffas ju dessutom minkar i högre utsträckning, vilket ökar infektionsrisken mellan individer. En annan teori är att det finns någon annan art som kan fungera som en typ av vektor i sammanhanget och som är aktiv under denna period, men det verkar mindre troligt.

Det visade sig vara svårt att korrelera andelen positiva minkar till farmtätheten i de valda områdena, då många faktorer såsom infångstplats, tidigare farm i området o.s.v. måste tas i beaktande och arbetets omfång inte tillåter detta.

## **SLUTSATS**

Studien visar att en stor andel av den vilda minkpopulationen i Sverige är eller har varit infekterad med ADV. Infektionen visade sig också vara spridd över hela Sverige. En svårförklarlig men tydlig säsongsvariation påvisades också med en högre andel seropositiva minkar under våren. Viktiga framtida forskningsfrågor är huruvida infektionen sprids från vilda till farmade minkar eller tvärtom och om infektionen är spridd till andra besläktade arter i den vilda faunan.

## REFERENSER

- Aasted, B., Alexanderson, S., Christensen, J. (1998) Vaccination with Aleutian mink disease parvovirus (AMDV) capsid proteins enhances disease, while vaccination with the major nonstructural AMDV protein causes partial protection from disease. *Vaccine* 16: 1158–1165.
- Alexandersen, S., Larsen, S., Cohn, A., Uttenthal, A., Race, R.E., Aasted, B., Hansen, M., Bloom, M.E. (1989) Passive Transfer of Antiviral Antibodies Restricts Replication of Aleutian Mink Disease Parvovirus In Vivo. *Journal of Virology* Vol. 63 (1): 9-17.
- Alexandersen, S., Larsen, S., Aasted, B., Uttenthal, A., Bloom, M.E., Hansen, M. (1994) Acute interstitial pneumonia in mink kits inoculated with defined isolates of Aleutian mink disease parvovirus. *Veterinary pathology* 31:216-228.
- Best, S.M., Bloom, M.E. (2005) Pathogenesis of Aleutian Mink Disease Parvovirus and Similarities to B19 Infection. *J. Vet. Med. B* 52:331-334.
- Bloom, M. E., Kanno, H., Mori, S. and Wolfingbanger, J.B. (1994) Aleutian mink disease: Puzzles and paradigms. *Infectious Agents and Disease* 3: 279–301.
- Bloom, M.E., Best, S.M., Hayes, S.F., Wells, R.D, Wolfinbanger, J.B., McKenna, R., Agbandje-McKenna, M. (2001) Identification of Aleutian Mink Disease Parvovirus Capsid Sequences Mediating Antibody-Dependent Enhancement of Infection, Virus Neutralization, and Immune Complex Formation. *Journal of Virology* Vol. 75, No. 22: 11116-11127.
- Broll, S., Alexandersen, S. (1996) Investigation of the Pathogenesis of Transplacental Transmission of Aleutian Mink Disease Parvovirus in Experimentally Infected Mink. *Journal of Virology*, Vol. 70, No. 3: 1455-1466.
- Budd, J., Pridham, T.J., Karstadt, L.H.A. (1966) Common diseases of fur bearing animals I. Diseases of Mink. *The Canadian Veterinary Journal* Vol. 7, No. 2:25-31.
- Castelcruiz, Y., Blixenkroner-Møller, M., Aasted, B. (2005) DNA vaccination with the Aleutian mink disease virus NS1 gene confers partial protection against disease. *Vaccine*, Vol 23, 10: 1225-1231.
- Cho, H.J., Greenfield, J. (1978) Eradiction of Aleutian disease of mink by eliminating positive counterimmunoelectrophoresis test reactors. *Journal of clinical microbiology* 7:18-22.
- Dunstone, N. (1993) *The mink*. London: T. and A. D. Poyser Ltd.
- Dyer, N., Ching, W.B., Bloom, M.E. (2000) Non-suppurative meningoencephalitis associated with Aleutian mink disease parvovirus infection in ranch mink. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 12:159–162.
- Enders, A.C. (1957) Histological observations on the chorio-allantoic placenta of the mink. *Anat. Rec.* 127:231-245.
- Fournier-Chambrillon, C., Aasted, B., Perrot, A., Pontier, D., Sauvage, F., Artois, M., Cassiede, J.M., Chauby, X., Dal Molin, A., Simon, C., Fournier, P. (2004) Antibodies to Aleutian mink disease parvovirus in free-ranging European mink (*Mustela lutreola*) and other small carnivores from southwestern France. *Journal of Wildlife Diseases* 40: 394-402.
- Fox, J.M., McCrackin Stevenson, M.A., Bloom, M.E. (1999) Replication of Aleutian Mink Disease Parvovirus in Vivo is Influenced by Residues in the VP2 Protein. *Journal of Virology* 73: 8713-8719.



- Gorham, J.R., Leader, R.W., Henson, J.B. (1964) The experimental transmission of a virus causing hypergammaglobulinemia in mink: Sources and modes of infection. *Journal of Infectious Disease* 114: 341–345.
- Gorham, J.R., Henson, J.B., Crawford, T.B. and Padgett, G.A. (1976) The epizootiology of Aleutian disease, p. 135–158. In Kimberlain, R.H. (ed.), *Slow virus diseases of animals and man*. *Frontiers of Biology*, North-Holland Publishing Co., Amsterdam, The Netherlands.
- Hammershøj, M. (2004) Population ecology of free-ranging American mink *Mustela vison* in Denmark, PhD thesis – National Environmental Research Institute, Kalø, Denmark, 30pp. [Http://afhandling.dmu.dk](http://afhandling.dmu.dk)
- Hansen, M. and Lund, E. (1988) Pregnancy rate and foetal mortality in Aleutian disease virus infected mink. *Acta Vet. Scand.* 29:271-272.
- Hansson, A. (1947) The physiology of reproduction in mink (*Mustela vison*, Schreb.) with special reference to delayed implantation. *Acta zool. (Stockh.)* 28: 1-136.
- Ingram, D.G., and Cho, H.J. (1974) Aleutian disease in mink: Virology, immunology and pathogenesis. *Journal of Rheumatology* 1: 74–92.
- Kenyon, A. J., Helmboldt, C.F., Nielsen, S.W. (1963) Experimental transmission of Aleutian disease with urine. *American Journal of Veterinary Research* 24: 1066–1067.
- Knuutila, A., Aronen, P., Saarinen, A., Vapalahti, O. (2009) Development and Evaluation of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Based on Recombinant VP2 Capsids for the Detection of Antibodies to Aleutian Mink Disease Virus. *Clinical and Vaccine Immunology* Vol. 16, No. 9: 1360-1365.
- Mañas, S., Cena, J.C., Ruiz-Olmo, J., Palazon, S., Domingo, M., Wolfenbarger, J.B., Bloom, M.E. (2001) Aleutian mink disease parvovirus in wild riparian carnivores in Spain. *Journal of Wildlife Diseases* 37: 138-44.
- Oie, K.L., Brant, G.D., 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 raccoon in the transmission of ADV infections. *Journal of Virology* 70:852-861.
- Oleksiewicz, M.B., Costello, F., Huhtanen, M., Wolfenbarger, J.B., Alexandersen, S., Bloom, M.E. (1996) Subcellular Localization of Aleutian Mink Disease Parvovirus Proteins and DNA during Permissive Infection of Crandell Feline Kidney Cells. *Journal of Virology* 70: 3242-3247.
- Padgett, G.A., Gorham, J.R., Henson, J.B. (1967) Epizootiologic studies of Aleutian disease. 1. Transplacental transmission of the virus. *J. Infect. Dis.* 117: 35-38.
- Persson, Sara (2007) The mink (*Mustela vison*) as an indicator of environmental reproductive toxicology. Dept. of Clinical Sciences, SLU. Examensarbete (Sveriges lantbruksuniversitet, Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap, Veterinärprogrammet) vol. 2007:50.
- Persson S., Kindahl H, Bäcklin B-M, Brunström B and Magnusson U (2009). Influence of age, nutritional status and season on the reproductive system in wild male mink (*Mustela vison*), in Manuscript.
- Quinn, P.J. (ed), Markey, B.K., Carter, M.E., Donnelly, W.J., Leonard, F.C. (2002) *Veterinary microbiology and microbial diseases*. p346. Oxford: Blackwell Science.
- Steinel, A., Parrish, C.R., Bloom, M.E., Truyen, U.(2001) Parvovirus Infections in Wild Carnivores. *Journal of Wildlife Diseases* 37(3):594-607.

- Sundqvist, C., Amador, A.G., Bartke, A. (1989) Reproduction and fertility in the mink (*Mustela vison*). *J. Reprod. Fert.* 85: 413-441.
- Svenska jägarförbundet. Hemsida. [online] (2009-09-11) Tillgänglig:  
<http://www.jagareforbundet.se/Viltet/ViltVetande/Artpresentationer/Mink/> [091111].
- Venge, O. (1973) Reproduction in the mink. *K. vet.-og Landbohojsk. Arsskr.* 1973: 95-146.
- Welchman, D. de B., Oxenham, M., Done, S.H. (1993) Aleutian disease in domestic ferrets: Diagnostic findings an survey results. *The Veterinary Record* 125: 232-235.
- Yamaguchi, N. and Macdonald, D.W. (2001), Detection of Aleutian disease antibodies in feral American mink in southern England. *The Veterinary Record* 149: 485-488.