

Technical University of Denmark



## Overvågning af aviær influenza i vilde fugle i Danmark 2016

Hjulsager, Charlotte Kristiane; Krog, Jesper Schak; Madsen, Jesper J.; Thorup, Kasper; Larsen, Lars Erik

*Publication date:*  
2017

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link back to DTU Orbit](#)

*Citation (APA):*  
Hjulsager, C. K., Krog, J. S., Madsen, J. J., Thorup, K., & Larsen, L. E. (2017). Overvågning af aviær influenza i vilde fugle i Danmark 2016. Frederiksberg C: Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet.

## DTU Library

Technical Information Center of Denmark

---

### 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

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

## Overvågning af aviær influenza i vilde fugle i Danmark 2016

Rapport, endelig version, august 2017

Af

Charlotte K Hjulsager, DTU Veterinærinstituttet

Jesper S Krog, DTU Veterinærinstituttet

Jesper J Madsen, Statens Naturhistoriske Museum, Københavns Universitet

Kasper Thorup, Statens Naturhistoriske Museum, Københavns Universitet

Lars E Larsen, DTU Veterinærinstituttet

Copyright: Hel eller delvis gengivelse af denne publikation er tilladt med kildeangivelse.

Forsidefotos: Oversigt over resultater fra den passive overvågning 2016, <http://fvst.gis34.dk/>.

Gråænder, af Nana Hjulsager Mathiesen. Håndtering af prøver i klasse 3 laboratorie, DTU-VET.

Udgivet af: Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet, Bülowsvej 27, 1870 Frederiksberg C.

### Abstract

Overvågning af fugleinfluenza, aviær influenza (AI), på EU niveau går tilbage til 2002, og Danmark er underlagt EU kommissionens bestemmelser for udformning af overvågningen, der har skiftet gennem årene i takt med indhøstede erfaringer.

I 2016 blev der udført passiv overvågning af døde vilde fugle, der blev fundet i naturen. Der blev testet 204 fugle. Der blev for første gang i Danmark påvist højpatogen aviær influenza (HPAI) virus subtype H5N8. Det første fund var i en død trolldand fundet den 7. november i Stadsgraven ved Christiania, København, og var første fund i et efterfølgende større udbrud af HPAI i vilde fugle. H5N8 HPAI blev i alt påvist i 65 døde vilde fugle (1 duehøg, 1 ederfugl, 3 havørne, 1 hættemåge, 8 knopsvaner, 5 musvåger, 1 ravn, 1 sangsvane, 3 stormmåger, 9 svartbags, 4 sølvmåger, 28 trolldænder) fordelt over hele landet i 2016. Desuden blev influenza A virus, som ikke var H5 eller H7 subtype, påvist i en stormmåge. De øvrige 138 prøver var negative for AI virus.

HPAI H5N8 blev også påvist i en hobby besætning i november 2016. Fund af HPAI H5N8 i vilde fugle fortsatte i 2017.

Molekylærfylogenetisk analyse af HA genet i HPAI H5N8 virus fundet i Danmark i 2016 viste, at disse virus var nært beslægtede med samtidige HPAI H5 virus fra andre europæiske lande. Virus adskilte sig imidlertid genetisk fra HPAI H5N8 fra vinteren 2014/2015, hvor der var enkelte fund af HPAI i fjerkræ og/eller døde vilde fugle i England, Tyskland, Holland, Italien, Ungarn og Sverige.

Der blev også udført en aktiv overvågning af AI virus i vilde fugle i Danmark i 2016. Denne blev udført i samarbejde mellem Veterinærinstituttet, Danmarks Tekniske Universitet (DTU-VET), Fødevarestyrelsen (FVST) og Statens Naturhistoriske Museum, Københavns Universitet (SNM) i henhold til "Projektplan vedr. overvågning af aviær influenza i vilde fugle i Danmark i 2016" (bilag 4). I forhold til tidligere år var antallet af fugle reduceret fra 1000 til 900, og molekylær karakterisering af fundne virus var også reduceret. For den molekylære karakterisering betød det at kortlægning af andre subtyper udover H5/H7 var reduceret til

subtypning af isolater. Kortlægning af andre subtyper end H5/H7 giver en øget viden om forekomsten af virus af andre subtyper under danske forhold, hvilket er vigtigt i forhold til at være forberedt på nye emerging AI virus.

I den aktive overvågning af levende vilde fugle blev i alt testet 921 fugle som 243 pools af kloaksvabere fra op til 5 fugle af samme art, fundet på samme sted og på samme tid. I lighed med proceduren i 2013-2015, blev prøverne udtaget fra enkeltdyr og sendt til laboratoriet, hvor de blev poolet inden test. Prøverne blev indsamlet i Jylland, på Fyn, Lolland, Sjælland og i Hovedstadsregionen. FVST varetog udtagelse af prøver fra 377 fugle fra nedlagte ænder og gæs, der var indleveret på vildthåndteringsvirksomhederne Kivan Food, Alpevej Vildtbehandling og Klosterheden Vildt. Statens Naturhistoriske Museum (SNM) koordinerede indsamling af prøver fra 544 vildtlevende fugle.

De poolede prøver fra den aktive overvågning blev testet for AI virus på DTU-VET. I alt 50 pools (21 %) blev fundet positive for AI virus ved PCR. Af disse var 12 (24 %) lavpatogen AI (LPAI) H5 og 1 (2 %) LPAI H7. Andelen og antallet af positive pools i 2016 var på niveau med tidligere år. AI virus kunne dyrkes fra 11 (22 %) af de PCR positive pools, hvilket er på niveau med tidligere år.

Ved subtypning af AI virusisolaterne fra den aktive overvågning i vilde fugle blev der fundet virus med følgende subtyper: H2N3 (n=2), H3N8 (n=3), H4N6 (n=1), H6N2(n=3), H6N? (n=1) og H12N5 (n=1). Alle isolaterne var fra svømmeænder, og repræsenterer tidligere påviste subtyper. Subtyperne H3N8, H4N6 og H6N2 er de subtyper, der oftest er påvist i vilde fugle i den danske overvågning gennem årene.

De poolede prøver fra den aktive overvågning blev ikke specifikt testet for tilstedeværelsen af aviær paramyxovirus (PMV), men ved dyrkning i æg for at isolere AI virus fra AI PCR positive pools, blev der isoleret PMV fra 10 pools. Ligesom de foregående år viste mange pools sig at indeholde en blanding af flere virus, enten flere AI virus og/eller både AI og PMV virus.

For 2016 var det muligt at sammenligne et udbrud af HPAI med indsamlingen af prøver fra levende vilde fugle. I 4. kvartal blev over 186 dødfundne fugle testet, hvoraf der blev påvist H5N8 HPAI i 65 fugle (35%). I samme periode blev indsamlet prøver fra 678 levende vilde fugle, hvoraf der ikke blev fundet HPAI i én eneste prøve. Overvågningen har ikke afsløret, hvorvidt der indgår vilde fuglearter som raske smittebærere, muligvis fordi der kun er testet et meget begrænset antal fugle og fuglearter. Det er muligt at i det mindste nogle fuglearter dør hurtigt efter, de har fået H5N8 HPAI i udbrud, og dermed ikke kan flyve over større afstande, mens andre fuglearter kan være mindre modtagelige for udvikling af sygdom og dermed kan virke som smittebærere.

Fylogenetisk analyse af LPAI H5 gener fra virus påvist i 2016 viste, at disse var nært beslægtede med H5 gener fra virus i prøver fra vilde fugle, der blev indsamlet i Danmark de foregående år, samt med virus fra vilde fugle og fjerkræ i Europa. De var fjernere beslægtet med HPAI H5N8 fundet i Europa i 2014/2015 og 2016. Fylogenetisk analyse af HA fra LPAI H7 virus viste at de danske H7 virus ikke er nært beslægtede med den humanpatogene H7N9 virus variant fra Asien, der smitter fra fugle til mennesker. Danske LPAI H7 virus fundet i vilde fugle og fjerkræ de senere år er imidlertid nært beslægtede med hinanden og med LPAI H7 virus fra øvrige Europa.

Sekventering af H5 generne gav mulighed for at undersøge, hvor godt de anvendte RT-PCR assays, som er de samme der anvendes til diagnostik, matcher nutidige AI virus. Resultaterne fra analysen af de tre H5 specifikke RT-PCR assays viste, at de overordnet set er anvendelige overfor de virus, der cirkulerer i Danmark i dag, men for nogle af de anvendte tests var der kritisk mange mutationer i primer og/eller probe regionen. Dette understreger at det i rutinediagnostikken er nødvendigt at kombinere assays for at sikre

påvisning af hele spektret af H5 virus. Endvidere understreger analysen vigtigheden af, at der foretages en løbende monitorering af drift i sekvenserne, så de anvendte assays kan opdateres ved behov.

Formålet med den aktive overvågning var at foretage en screening for LPAI virus og at karakterisere de identificerede virus. Kortlægning af andre subtyper udover H5/H7 giver en øget viden om forekomsten af virus af andre subtyper under danske forhold, hvilket er vigtigt i forhold til at være forberedt på nye emerging AI virus. Som de foregående år, viste resultaterne fra overvågningen i 2016, at fuglearten er den mest betydende faktor for, at en given prøve er positiv. Den største andel af positive prøver blev som i tidligere år fundet i svømmeænder og hyppigst hos gråænder.

I lighed med 2014 og 2015, var overvågningen i 2016 udvidet med en molekylær karakterisering af de virus, der blev påvist både i vilde fugle og i fjerkræ, og dette bidrog til en dybere og mere præcis karakterisering af virus, så vi ret præcist ved hvilke virus varianter, vi har påvist. Dermed er opnået en god indikation af hvilke AI virus, der cirkulerer i Danmark, og en viden om at disse virus pt. ikke udgør en øget trussel mod den humane sundhed. Overvågningen viser dog, at der til stadighed cirkulerer LPAI H5 og H7 virus i den vilde fauna, som potentielt kan true dyresundheden, så der er fortsat et behov for at overvåge forekomsten af AI virus i fjerkræflokke.

2016 har på europæisk plan især været præget af udbrud med HPAI H5N8 i vilde fugle og fjerkræ i en lang række lande, og udveksling af virus mellem disse segmenter. Dette gælder også Danmark. Derudover havde vi fund af LPAI H7 og LPAI H5 i to gråandeflokke på hhv. Fyn (juli 2016) og i Nordjylland (august 2016), men der blev ikke observeret sekundære udbrud i den forbindelse. LPAI H5/H7 i fjerkræ er et sjældent fund i Danmark. Det seneste forrige udbrud var med LPAI H7N7 i 2013 i en gråandeflok ved Viborg. Alle disse tilfælde blev opdaget i forbindelse med virologisk screening af rutine overvågningsprøver i fjervildtopdræt.