

Technical University of Denmark



## Mink kan også have influenza

**Hjulsager, Charlotte Kristiane; Krog, Jesper Schak; Larsen, Gitte; Chriél, Mariann; Larsen, Lars Erik**

*Published in:*  
Faglig Årsberetning

*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., Larsen, G., Chriél, M., & Larsen, L. E. (2017). Mink kan også have influenza. Faglig Årsberetning, 2017, 102-105.

## 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.



# MINK KAN OGSÅ HAVE INFLUENZA

Charlotte K. Hjulsager, Jesper S. Krog, Gitte Larsen, Mariann Chriél & Lars E. Larsen.  
National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, Kemitorvet B202, 2800 Kgs. Lyngby, Denmark

## Sammendrag

De senere år er der i flere tilfælde fundet influenzavirus i mink med kompliceret og dødelig lungebetændelse. I Danmark rekvireres undersøgelse for influenzavirus imidlertid kun sjældent i forbindelse med diagnostiske indsendelser fra syge mink. Derfor undersøges der i reglen kun for influenzavirus, hvis der opstår mistanke om influenza ved obduktionen, eller hvis der er alvorlige langvarige udbrud. For at kunne iværksætte foranstaltninger, der begrænser forekomsten af influenza hos mink, er det nødvendigt at kende udbredelsen af influenzavirus blandt farmede mink i Danmark.

Formålet med denne undersøgelse var at gennemføre en systematisk overvågning af forekomsten af influenzavirus i lungerne fra mink indsendt til diagnostisk undersøgelse på DTU Veterinærinstituttet uanset årsag. Der blev indsamlet materiale i 2016 i perioden fra sommer til pelsning og desuden indgik mink anvendt til et minkobduktionskursus, samt vilde mink. Der blev påvist influenza A virus i mink fra otte farme. Genetiske analyser indikerede, at disse virus stammede fra både danske svin og mennesker. For at forebygge udbrud af influenza i farmede mink anbefales det, at undgå kontakt mellem mink og influenza-syge personer, samt sikre at minkfoder indeholdende biprodukter fra slagtesvin er varmebehandlet eller inaktiveret på anden vis.

**Hjulsager, C.K., Krog, J.S., Larsen, G., Chriél, M., Larsen, L.E. 2018.** Mink kan også have influenza. Faglig Årsberetning 2017, 102-105. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

## Abstract

Influenza virus has been detected in mink with complicated and lethal pneumonia on several occasions in recent years. Test for influenza virus is only rarely requested in diagnostic submissions from diseased mink in Denmark. Thus, test for influenza virus is performed only if suspicion is raised based on autopsy findings, or if a known outbreak of influenza is ongoing. To initiate measures to control influenza in farmed mink, knowledge about the prevalence of influenza virus in farmed mink in Denmark is a prerequisite.

The aim of this study was to perform a systematic survey of influenza virus in the lungs from mink submitted for diagnostic examinations. Farmed mink submitted in 2016 to the National Veterinary Institute at DTU for diagnostic examinations, regardless of the reason, and samples collected at a mink autopsy course as well as from wild mink, were included in the study. Influenza A virus was detected in mink from eight different farms. Genetic analyses sug-

gested these to be of both swine and human origin. To prevent transmission of influenza virus to mink, it is recommended to avoid contact between mink and humans with influenza-like symptoms and to ensure that mink feed containing swine byproducts are properly heat treated or otherwise inactivated.

**Hjulsager, C.K., Krog, J.S., Larsen, G., Chriél, M., Larsen, L.E. 2018.** Mink may also have the flu. Annual Report 2017, 102-105. Copenhagen Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark

**Keywords:** Influenza A virus, mink, zoonose.

## Introduktion

Influenza A virus (IAV) er en almindelig årsag til luftvejslidelser i mange dyrearter, mest kendt i mennesker, svin og fugle. IAV klassificeres i subtyper på basis af viruspartiklernes overfladeproteiner hæmagglutinin (HA) og neuraminidase (NA). Der kendes 18 forskellige varianter af HA og 11 varianter af NA, der adskiller sig genetisk og antigen (Alexander, 2007). Seksten af HA og 9 af NA varianterne findes i fugle, og vilde vandfugle anses som det naturlige reservoir for IAV. De resterende 2 HA og 2 NA varianter er kun påvist i flagermus (Ciminski et al., 2017). IAV kan smitte mellem arter, men oftest vil virus tilpasse sig den nye art og hurtigt udvikle artsspecificitet, så de mister evnen til at smitte mellem individer af den oprindelige art. Det seneste pandemiske influenzavirus i mennesker var af subtypen H1N1 og kaldes H1N1pdm09. Dette virus er nu årsag til sæsoninfluenza i mennesker, og blev allerede i 2009 fundet i svin som følge af smitte fra mennesker. H1N1pdm09 virus subtypen er nu også udbredt i svin i mange lande inklusiv Danmark (Simon et al., 2014). I Danmark cirkulerer endvidere virus med subtyperne H1N2 og H3N2 samt en ældre svinevariant af H1N1 i danske svin (DTU-VET unpublished). Siden 2009 hvor H1N1pdm09 blev påvist første gang i mennesker og dernæst i svin, har viruset udviklet sig i forskellig retning, så det nu er muligt ved genetisk sekvensanalyse at se forskel på om det kommer fra mennesker eller fra svin (DTU-VET, unpublished).

IAV er de senere år påvist flere gange i mink (fx [Åkerstedt et al., 2012]), herunder også gentagne gange i danske farmede mink (Larsen et al., 2012; Hjulsager et al., 2015). De kliniske symptomer, der er observeret i forbindelse med påvisning af IAV i farmede mink under danske forhold, er nysen og hoste, samt blødning fra næsen. Obduktionsfundene ligner hæmorrhagisk lungebetændelse og ofte isoleres der hæmolytiske *E. coli*. Øget dødelighed på farmen er også karakteristisk.

Flere forskellige IAV subtyper har været årsag til udbrud i mink. Det første dokumenterede tilfælde af IAV i mink var svensk, hvor H10N4 fra fugle smittede mink (Klingeborn et al., 1985; Berg et al., 1990). I Danmark var et hidtil ukendt H3N2 virus, med gener af både svine- og human oprindelse, årsag til et stort udbrud af IAV i danske farmede mink i 2009 (Larsen et al., 2012). I flere tilfælde er der påvist svineinflenzavirus (SIV) i mink, fx H1N2 i USA i 2010 (Yoon et al., 2012), og H3N2 i Canada i 2007 (Gagnon et al., 2009), og almindelig svine H1N1 og H1N2 i Danmark i 2014 (Hjulsager et al., 2015). H1N1pdm09 virus er påvist i mink i Norge (Åkerstedt et al., 2012) og Holland i 2011 (Guus Koch, personlig kommunikation), og gentagne gange i Danmark siden 2010 (Hjulsager et al., 2015 og unpublished data).

Formålet med denne undersøgelse var at gennemføre en systematisk overvågning af forekomsten af influenzavirus i lungerne fra mink indsendt til diagnostisk undersøgelse på DTU Veterinærinstituttet.

## Materiale og metoder

### Dyr/prøver

Farmede mink (Neovison vison) indsendt til diagnostisk undersøgelse på DTU Veterinærinstituttet (DTU VET) i perioden 4/7-2016 til 23/12-2016 eller indsamlet af 12 praktiserende dyrlæger i løbet af andet halvår 2016 til brug ved et minkobduktionskursus, samt vilde mink indsamlet af vildtkonsulenter i 2016. Alle fra Danmark.

### Undersøgelse for influenza A virus (IAV)

Undersøgelsen for IAV blev foretaget på lungevævsprøver. Prøver af mink fra samme indsendelse og minkfarm blev testet i pools af op til 5 mink. Alle vilde mink blev testet enkeltvist.

Lungevævet blev homogeniseret i RLT-buffer med 1%  $\beta$ -mercaptoethanol. Total RNA blev ekstraheret fra 600  $\mu$ l 5 % vævshomogenat med RNeasy Mini Kit (QIAGEN, Denmark) med Animal tissues and cells, Large sample protocol version 2, automatiseret på QIAcube (QIAGEN, Denmark), som foreskrevet af leverandøren. Influenza A

virus blev påvist med real-time RT-PCR rettet mod matrix-genet (Trebbien et al., 2013).

### Subtypning

Alle positive IAV prøver blev testet for H1pdm09 subtypen med specifik real-time RT-PCR rettet mod HA-genet. Desuden blev gen-sekvensen af HA og NA generne bestemt ved SANGER sekventering af PCR produkter fra fuldlængde HA og NA RT-PCR. Subtypen blev bestemt ved Standard Nucleotide BLAST analyse af mink HA og NA nukleotidsekvenserne mod influenzavirussekvenser med kendt subtype i GenBank (NCBI, 10.02.2017) og danske svine IAV sekvenser.

### Resultater

Der blev i alt undersøgt 447 prøver: 58 diagnostiske indsendelser fra farmede mink (133 prøver), 57 vilde mink (57 prøver) og prøver fra 30 farme (257 prøver) indsamlet i forbindelse med et obduktionskursus for dyrlæger.

IAV blev påvist i indsendelser fra 8 forskellige farme (tabel 1). Alle 8 havde indsendt materiale til diagnostisk undersøgelse, men kun 5 blev undersøgt for IAV som en del af den rekvirerede diagnostiske undersøgelse. Ingen vilde mink var positive for IAV.

På 6 farme blev der påvist virus med subtypen H1N1pdm09. Genetisk karakterisering viste, at varianten var nært beslægtet med virus isoleret fra mennesker i 2016. I to tilfælde var der tale om subtypen H1N2 ("avian-like" H1, svine N2), som kun er påvist i svin, og som er den mest almindelige influenzavirus i den danske svinepopulation. Prøver fra 6 af de influenzavirus positive farme var inkluderet i projektet via indsendelse til rutinediagnostiske undersøgelser, heraf blev 3 indsendelser ikke testet for influenza i forbindelse med de rutinediagnostiske undersøgelser.

Der blev fundet hæmolytiske *E. coli* i renkultur i mink fra alle de influenzavirus positive indsendelser, og når hele kadavere var indsendt, kunne ofte observeres blod omkring snuden.

FIGUR 1 MINKVALP MED INFLUENZA MED BLODIGT NÆSEFLÅD. VETERINÆRINSTITUTTET, DTU.





TABEL 1 OVERSIGT OVER INFLUENZA A VIRUS (IAV) FUND.

MINK FARM	IAV TEST REKVIRERET AF INDSENDER	IAV SUBTYPE	BEDSTE SEKVENSMATCH	% NUKLEOTID-SEKVENSDIDENTITET	
				HA-GEN	NA-GEN
A	Nej	H1N2	svine H1avN2sw-2010	98.1	97.7
B	Ja	N2	svine H1avN2sw-2010	97.9	94.8
C	Ja	H1N1pdm09	human H1N1pdm16	98.9	99.3
D	Ja	H1N1pdm09	human H1N1pdm16	99.7	99.3
E	Nej	H1N1pdm09	human H1N1pdm16	99.9	99.7
F	Ja	H1N1pdm09	human H1N1pdm16	-	92.9
G	Ja	H1N1pdm09	human H1N1pdm16	-	99.2
H	Nej	H1N1pdm09	human H1N1pdm16	99.2	98.0

"-", INGEN TILGÆNGLIGE SEKVENSDATA.

### Diskussion og konklusion

Der blev påvist IAV i mink fra 8 forskellige minkfarme ud af 82 undersøgt. I forbindelse med indsendelse fra tre af de IAV positive farme blev der ikke rekvireret IAV undersøgelse, selvom der var karakteristiske tegn på IAV infektion. Dette understreger vigtigheden af at overveje influenza i forbindelse med respirationsvejslidelser og øget dødelighed hos mink.

Ud fra detaljerede genetiske undersøgelser, kunne det sandsynliggøres at virus i nogle tilfælde stammede fra mennesker og i andre fra grise.

Alle seks påviste H1N1pdm09 virus havde størst lighed med den samtidigt (2016) cirkulerende variant i mennesker. Dette billede er i stærk kontrast til situationen i svin, hvor kun enkelte tilfælde af påviste H1N1pdm09 virus ser ud til at stamme direkte fra mennesker. Dette indikerer, at smitten i mink kan komme direkte fra influenzasmittede minkpassere. Der blev også fundet to tilfælde med SIV i mink. Dette viser, at der (også) sker introduktion af influenzavirus fra svin, sandsynligvis gennem slagtesvinebiprodukter (lunger) i foderet. Det er også tidligere set, at der er en sammenhæng mellem farme med udbrud af influenza og samme foderleverandør (Hjulsager et al., 2015). Hypotesen om foderet som potentiel smitekilde er også fremsat i forbindelse med tidligere danske og uden-

landske udbrud i mink (Larsen et al., 2012; Åkerstedt et al., 2012)

Alle vilde mink var negative for IAV, men antallet af undersøgte mink gør, at det ikke kan udelukkes, at vilde mink potentielt kan udgøre en faktor i smittespredningen af IAV.

Det er uvist om IAV cirkulerer i mink uden klinisk sygdom. Dette blev ikke belyst i dette studie, men i alle indsendelser, hvor IAV blev påvist, havde minkene karakteristiske tegn på influenza. En aktiv indsamling af prøver i raske dyr vil kunne belyse forekomsten af IAV i raske dyr.

Resultaterne fra dette studie viser, at det er vigtigt, at der ikke anvendes ubehandlet slagtesvinebiprodukter i minkfoder, og at personale, konsulenter mm. der har influenza, ikke kommer i kontakt med mink. Det anbefales, at personer, der passer mink, bliver vaccineret mod influenza. Dette er både for at forebygge smitte fra menneske til mink, men også for at undgå at personalet smittes af minkene.

### Anerkendelser

Denne undersøgelse blev finansieret af Pelsdyragiftsfonden og DTU Veterinærinstituttet.

### Referencer

Alexander, D.J., 2007. An overview of the epidemiology of avian influenza. *Vaccine* 25, 5637-5644.

Berg, M., Englund, L., Abusugra, I.A., Klingeborn, B., Linné, T., 1990. Close relationship between mink influenza (H10N4) and concomitantly circulating avian influenza viruses. *Arch. Virol.* 113, 61-71.

Ciminski, K., Thamamongood, T., Zimmer, G., Schwemmler, M., 2017. Novel insights into bat influenza A viruses. *J. Gen. Virol.* 98, 2393-2400.

Gagnon, C.A., Spearman, G., Hamel, A., Godson, D.L., Fortin, A., Fontaine, G., Tremblay, D., 2009. Characterization of a Canadian mink H3N2 influenza A virus isolate genetically related to triple reassortant swine influenza virus. *J. Clin. Microbiol.* 47, 796-799.

Hjulsager, C.K., Krog, J.S., Chriél, M., Larsen, G., Larsen, L.E., 2015. Subtypning af influenza på danske minkfarme i 2014. *Fagl. Årsberetning 2015* 109-113.

Klingeborn, B., Englund, L., Rott, R., Juntti, N., Rockborn, G., 1985. An avian influenza A virus killing a mammalian species - the mink. *Arch. Virol.* 86, 347-351.

Larsen, L.E., Breum, S.Ø., Bragstad, K., Nielsen, L.P., Chriél, M., Jensen, T.H., Hjulsager, C.K., Handberg, K.J., Jørgensen, P.H., Harslund, J., Rangstrup-Christiansen, L., Pedersen, B., Hammer, A.S., 2012. Outbreaks of Influenza A Virus in Farmed Mink (*Neovison vison*) in Denmark: Molecular characterization of the involved viruses, in: 10th International Scientific Congress in Fur Animal Production (IFASA 2012). IFASA.

Simon, G., Larsen, L.E., Dürrwald, R., Foni, E., Harder, T., Van Reeth, K., Markowska-Daniel, I., Reid, S.M., Dan, A., Maldonado, J., Huovilainen, A., Billinis, C., Davidson, I., Agüero, M., Vila, T., Hervé, S., Breum, S.Ø., Chiapponi, C., Urbaniak, K., Kyriakis, C.S., Brown, I.H., Loeffen, W., 2014. European surveillance network for influenza in pigs: surveillance programs, diagnostic tools and Swine influenza virus subtypes identified in 14 European countries from 2010 to 2013. *PLoS One* 9, e115815.

Trebbien, R., Bragstad, K., Larsen, L.E., Nielsen, J., Bøtner, A., Heegaard, P.M., Fomsgaard, A., Viuff, B., Hjulsager, C.K., 2013. Genetic and biological characterisation of an avian-like H1N2 swine influenza virus generated by reassortment of circulating avian-like H1N1 and H3N2 subtypes in Denmark. *Virol. J.* 10, 290-306.

Yoon, K.-J., Schwartz, K., Suñ, D., Zhang, J., Hildebrandt, H., 2012. Naturally occurring Influenza A virus subtype H1N2 infection in a Midwest United States mink (*Mustela vison*) ranch. *J. Vet. Diagn. Invest.* 24, 388-91.

Åkerstedt, J., Valheim, M., Germundsson, A., Moldal, T., Lie, K.-I., Falk, M., Hungnes, O., 2012. Pneumonia caused by influenza A H1N1 2009 virus in farmed American mink (*Neovison vison*). *Vet. Rec.* 170, 362-363. ✕