



## Global gruppering af plasmacytosevirus isoleret fra mink (Neovison vison)

Ryt-Hansen, Pia; Hagberg, Emma ; Chriél, Mariann; Struve, Tina; Pedersen, Anders Gorm; Larsen, Lars Erik; Hjulsager, Charlotte Kristiane

*Published in:*  
Faglig årsberetning 2016 : Kopenhagen Fur

*Publication date:*  
2017

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

[Link back to DTU Orbit](#)

*Citation (APA):*  
Ryt-Hansen, P., Hagberg, E., Chriél, M., Struve, T., Pedersen, A. G., Larsen, L. E., & Hjulsager, C. K. (2017). Global gruppering af plasmacytosevirus isoleret fra mink (Neovison vison). In *Faglig årsberetning 2016 : Kopenhagen Fur* (pp. 169-172). Kopenhagen Fur.

---

### 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.

# Global gruppering af plasmacytosevirus isoleret fra mink (*Neovison vison*)

Pia Ryt-Hansen<sup>1</sup>, Emma Hagberg<sup>2</sup>, Mariann Chriél<sup>1</sup>, Tina Struve<sup>2</sup>, Anders Gorm Pedersen<sup>3</sup>, Lars Erik Larsen<sup>1</sup> & Charlotte Hjulsager<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, Bülowsvej 27, DK-1870 Frederiksberg C, Denmark.

<sup>2</sup>Kopenhagen Fur, Langagervej 60, DK-2600 Glostrup, Denmark.

<sup>3</sup>Center for Biological Sequence Analysis, Technical University of Denmark, Kemitorvet Building 208, DK-2800 Lyngby, Denmark.

## Sammendrag

På baggrund af udbrud med plasmacytosevirus i et stort antal danske minkfarme i 2015, hvor oprindelsen af smittekilden var ukendt, blev der initieret indsamling af mistænkte plasmacytosesmittede mink fra andre minkproducerende lande. Ved brug af fylogenetiske analyser af det partielle NS1 gen blev virussekvenser sammenlignet. Resultatet af disse analyser var, at der fandtes en stor variation i plasmacytose sekvenserne, mellem landene, inden for det enkelte land og nogle gange endda inden for den enkelte besætning. Genetisk slægtskab mellem virus uafhængigt af geografisk oprindelse af prøverne, kan være et resultat af handel mellem landene, men også mellem de enkelte besætninger. Det var ikke muligt at identificere et land eller en enkelt besætning, som smittekilde til de re-infektioner man så i Jylland og på Fyn. Der var en relativt tæt genetisk relation mellem sekvenser fra virus isoleret fra udbrud på Sjællandske farme og to svenske virussekvenser, hvilket kan være et tegn på mulig fælles oprindelse

**Ryt-Hansen, P., Hagberg, E.E., Chriél, M., Struve, T., Pedersen, A.G, Larsen, L.E. & Hjulsager, C.K. 2017.** Global gruppering af plasmacytosevirus isoleret fra mink (*Neovison vison*) Faglig Årsberetning 2016, 169-172. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

## Abstract

On the basis of outbreaks with Aleutian Mink Disease virus in a large number of Danish mink farms in 2015, where the origin of the infection was unknown, sampling of suspected plasmacytosis infected mink from other large mink producing countries was initiated. Plasmacytosis virus partial NS1 gene sequences from the different samplings were compared in a phylogenetic tree. The analysis revealed large variations both between countries, within countries, and some times also within the individual farms. The close genetic relation between viruses of different origin may be the result of trade with animals and products between different countries and between farms. It was not possible to identify the potential source of the new circulating virus strain in Jutland and on Funen. However, two Swedish sequences were genetically closely related to the sequences isolated from outbreaks on Zealand, indicating they might have a common ancestry.

**Ryt-Hansen, P., Hagberg, E.E., Chriél, M., Struve, T., Pedersen, A.G, Larsen, L.E. & Hjulsager, C.K. 2017.** Global clustering of Aleutian Mink Disease virus isolates from mink (*Neovison vison*). Annual Report 2016, 169-172. København Research, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Denmark.

**Keywords:** Mink, AMDV, clustering, global sampling, sequencing

## Indledning

Plasmacytosevirus – også kaldet Aleutian Mink Disease Virus (AMDV) - er et enkeltstregnet DNA-virus, der tilhører Amdoparvovirus slægten og familien Parvoviridae. Genomet er 4,8 kilobaser langt og består af to strukturelle proteiner (VP1 og VP2) og tre ikke-strukturelle proteiner (NS1, NS2 og NS3) (Best *et al.*, 2003; Gottschalck *et al.*, 1994).

AMDV er endemisk forekommende i de fleste kommercielle minkproducerende lande, dog ikke i Island, der har været fri for sygdommen i minkproduktionen siden 1996 (Gunnarsson, 2001). I 1976 blev der etableret et frivilligt kontrolprogram i Danmark og i 1999 blev der indført lovgivning på området, med årlig test af avlstdyrene ved blodprøvning.

Plasmacytoseudbrud i Danmark i de senere år har hovedsageligt været isoleret til det nordlige Jylland, hvor man i en årrække har haft besætninger inficeret med "Sæbystammen". I 2015 registrerede man adskillige re-infektioner med plasmacytose i store dele af Jylland, Fyn og på Sjælland. Partiel NS1 sekventering af virus viste, at der var tale om 2 nye plasmacytose stammer kaldet "Holstebro-stammen" og "Sjællands-stammen" (Ryt-Hansen *et al.*, 2016).

Formålet med denne undersøgelse var at indsamle og sekventere plasmacytose

stammer fra lande med kommerciel minkproduktion med henblik på at identificere en mulig oprindelse til smitekilderne ved de to udbrud.

### Materiale og metoder

Kontakt til udenlandske minkbesætninger blev foretaget gennem praktiserende dyrlæger. I alt blev der modtaget mere end 525 prøver eller kadavere fra 13 lande: Canada, Danmark, Finland, Grækenland, Holland, Italien, Island, Letland, Litauen, Polen, Sverige, Spanien og USA, samt vilde mink fra Island (se Figur 1).



Figur 1: Oversigt over lande og lokalisering af inkluderede farme i undersøgelsen.

DNA ekstraheret fra prøverne blev testet med PCR med primerne AMDV-F-7-H-PN1 og AMDV-R-7-HPN2 (Jensen *et al.*, 2011). Primerne gav et amplicon på 328 basepar svarende til ca. 7 % af AMDV genomet. Et isolat af AMDV-G-stammen blev anvendt som positiv kontrol både ved DNA ekstraktion og til PCR. PCR-produkterne blev sekventeret med PCR primerne. Sekvenserne blev analyseret med CLC software (QIAGEN, Århus,

Danmark) og sammenlignet med tilgængelige sekvenser i NCBI GenBank.

### Resultater

Identiteten mellem sekvenserne varierede overordnet fra 77,5 til 100 %, svarende til en forskel på 0-73 nukleotider. Sekvenser fra samme land grupperede sig hovedsageligt omkring det samme sted i det fylogenetiske træ, men i enkelte

tilfælde var der også en høj variation indenfor landene.

En egentlig gruppering af sekvenser sås kun inden for de sekvenser, der var udtaget i forbindelse med udbrud af plasmacytose, der involverede flere farme. Dette gælder både de nye danske udbrud fra 2015 med hhv. "Holstebro-stammen" i Jylland og på Fyn og "Sjællandsstammen" på Sjælland, men også om udbrud med "Sæbystammen". Sekvensdiversiteten mellem de forskellige danske udbrud var sammenligneligt med forskellen mellem sekvenserne fra de andre lande. Der blev ikke fundet en virussekvens i de udenlandske prøver, der var tæt beslægtet med "Holstebro-stammen", men der var en relativ høj sekvensidentitet mellem to svenske virussekvenser og "Sjællandsstammen".

### Diskussion og konklusion

Undersøgelserne demonstrerede, at der på globalt plan er stor genetisk diversitet mellem plasmacytosevirus, både mellem lande, inden for det samme land og nogen gange inden for den enkelte besætning. Samme høje diversitet er også fundet i andre studier (Jensen *et al.*, 2012; Knuutila *et al.*, 2009; Leimann *et al.*, 2015; Nituch *et al.*, 2012; Olofsson, 1999; Persson *et al.*, 2015). En forklaring på den høje diversitet kan være, at mange af landene inkluderet i studiet ikke har en lovomfattet kontrolstrategi, hvorfor risiko for introduktion af nye AMDV-stammer øges både på besætnings- og nationalt niveau.

To svenske sekvenser havde en relativt høj sekvenshomologi med "Sjællandsstammen", hvilket indikerer en forbindelse, f.eks. i form af en fælles stamfader mellem udbruddene på Sjælland og mink fra den undersøgte svenske farm. Den anvendte metode kan imidlertid ikke afgøre årsagen til de relativt tætbeslægtede virus, da dette kræver analyse af større dele af genomet og af flere stammer.

Plasmacytosevirus er meget modstandsdygtig, så virus kan overføres både direkte eller indirekte mellem besætninger fx via personer og materiel mm. og over tid (Eklund, 1968; Themudo *et al.*, 2012; Eterpi *et al.*, 2009; Hussain *et al.*, 2014).

Sekvenserne inden for "Holstebro-stammen" viste ikke en tæt relation til andre sekvenser fundet i den globale undersøgelse og det var derfor ikke muligt at identificere oprindelsen af smitekilden for udbruddene i 2015 i Jylland og på Fyn.

### Anerkendelser

Tak til laboranter og dyrlæger fra DTU Veterinærinstituttets sektionstue og virusgruppe for udtagelse og test af materiale. Tak til alle de udenlandske dyrlæger, der indsendte prøver til projektet. Denne undersøgelse blev finansieret af København Fur 2016.

### Referencer

- Best, S.M., Shelton, J.F., Pompey, J.M., Wolfenbarger, J.B., Bloom, M.E., 2003. Caspase Cleavage of the Nonstructural Protein NS1 Mediates Replication of Aleutian Mink Disease Parvovirus. *J. Virol.* 77, 5305–5312. doi:10.1128/JVI.77.9.5305-5312.2003
- Bloom, M., 1994. Aleutian mink disease - puzzles and paradigms. *Infect. Agents Dis. Issues Comment.* 3, 279–301.
- Eklund, C.M., 1968. Aleutian disease of mink: properties of the etiologic agent and the host responses. *J. Infect. Dis.* 118.
- Eterpi, M., McDonnell, G., Thomas, V., 2009. Disinfection efficacy against parvoviruses compared with reference viruses. *J. Hosp. Infect.* 73, 64–70. doi:10.1016/j.jhin.2009.05.016
- Gottschalck, E., Alexandersen, S., Storgaard, T., Bloom, M.E., Aasted, B.,

1994. Sequence comparison of the non-structural genes of four different types of Aleutian mink disease parvovirus indicates an unusual degree of variability. *Arch. Virol.* 138, 213–231. doi:10.1007/BF01379127

Gunnarsson, E., 2001. Documenting Freedom From Disease And Re-Establishing a Free Status After a Breakdown Aleutian Disease (Plasmacytosis) in Farmed Mink in Iceland. *Acta Vet. Scand.* 42.

Hussain, I., Price, G.W., Farid, A.H., 2014. Inactivation of Aleutian mink disease virus through high temperature exposure in vitro and under field-based composting conditions. *Vet. Microbiol.* 173, 50–8. doi:10.1016/j.vetmic.2014.07.014

Jensen, T.H., Christensen, L.S., Chriél, 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, 81–5. doi:10.1016/j.jviromet.2010.10.004

Jensen, T.H., Christensen, L.S., Chriél, M., Harslund, J., Salomonsen, C.M., Hammer, A.S., 2012. High prevalence of Aleutian mink disease virus in free-ranging mink on a remote Danish island. *J. Wildl. Dis.* 48, 497–502. doi:10.7589/0090-3558-48.2.497

Knuutila, A., Uzcátegui, N., Kankkonen, J., Vapalahti, O., Kinnunen, P., 2009. Molecular epidemiology of Aleutian mink disease virus in Finland. *Vet. Microbiol.* 133, 229–38. doi:10.1016/j.vetmic.2008.07.003

Leimann, A., Knuutila, A., Maran, T., Vapalahti, O., Saarma, U., 2015. Molecular epidemiology of Aleutian mink disease virus (AMDV) in Estonia, and a global phylogeny of AMDV. *Virus Res.* 199, 56–61. doi:10.1016/j.virusres.2015.01.011

Nituch, L.A., Bowman, J., Wilson, P., Schulte-Hostedde, A.I., 2012. Molecular epidemiology of Aleutian disease virus in free-ranging domestic, hybrid, and wild mink. *Evol. Appl.* 5, 330–40. doi:10.1111/j.1752-4571.2011.00224.x

Olofsson, A., 1999. Unusual, high genetic diversity of Aleutian mink disease virus. *J. Clin. Microbiol.* 37, 4145–4149.

Persson, S., Jensen, T.H., Blomström, A.-L., Appelberg, M.T., Magnusson, U., 2015. Aleutian mink disease virus in free-ranging mink from Sweden. *PLoS One* 10, e0122194. doi:10.1371/journal.pone.0122194

Ryt-Hansen, P., Hjulsgager, C.K., Hagberg, E.E., Chriél, M., Struve, T., Pedersen, A., Larsen, L.E. 2016. Forskellige virusstammer var årsag til udbrud af plasmacytose i danske mink (Neovison vison) i 2015. *Faglig Årsberetning 2016*, 163-167. København Forskning, Agro Food Park 15, DK-8200 Aarhus N, Danmark.

Themudo, G., Houe, H., Agger, J.F., Ostergaard, J., Ersbøll, A.K., 2012. Identification of biosecurity measures and spatial variables as potential risk factors for Aleutian disease in Danish mink farms. *Prev. Vet. Med.* 107, 134–41. doi:10.1016/j.prevetmed.2012.05.009