

Projektleder KU/SSI	Anette Boklund (KU)
Projektgruppe	Anne Sofie Hammer (KU), Anette Bøtner (KU/SSI), Thomas Bruun Rasmussen (SSI), Graham John Belsham (KU), Tariq Halasa (KU), Søren Saxmose Nielsen (KU), Jens Frederik Agger (KU), Anders Fomsgaard (SSI), Morten Rasmussen (SSI), Tyra Grove Krause (SSI), Thomas Richter (SSI), Helle Daugaard Larsen (SSI), Tinna Ravnholt Urt (SSI), Brian Kristensen (SSI), Jannik Fonager (SSI), Frederikke Kristensen Lomholt (SSI)
Fagfællebedømmer	
Kontaktperson i FVST	Sten Mortensen, Karsten Aagaard, Stine Kjær-Andersen, Tenna Jensen, Francisco Fernando Calvo Artavia

Dato for henvendelse	Dato for svarfrist	Dato for afsendelse	Versionsnummer
19-06-2020	14-10-2020	14-10-2020	1

Journalnummer/sagsnummer	FVST	KU	SSI
	2020-14-81-01705	061-0115/20-3680	20/06443

## Besvarelse vedr.

### ▸ Epidemiologisk udredning i SARS-CoV-2 smittede minkfarme

#### ▸ **Conclusion and perspectives**

▸ SARS-CoV-2 has not been detected in Danish mink farms until late in the within-farm epidemic. This complicates and reduces the possibility for implementing biosecurity measures with the purpose of reducing the risk of virus transmission from mink to humans. Phylogenetic analyses of viruses from infected mink and from persons connected to mink farms who have been infected with SARS-CoV-2, together with a comparison of the times of infection and the development of the infection in the mink farms show that it is extremely likely (95-99%) that both human-to-mink and mink-to-human transmission occurs. Survival analysis shows that short distance to the nearest SARS-CoV-2 positive farm and large farm size has been associated to the risk of infection. It has not been possible to identify other risk factors. In mink, changes have been detected in several regions of the virus genome, including within the sequence encoding the spike protein. This protein is important for stimulating immunity during either infection or after potential vaccination. Such changes could reduce the efficiency with which the virus is recognized in previously infected or vaccinated subjects, which potentially can result in reduced herd immunity and reduced vaccine efficacy. In addition, it has been shown that the mink-related virus variant subsequently forms chains of infection in humans.

#### ▸ **Konklusion og perspektivering**

▸ SARS-CoV-2 påvises i danske minkfarme sent i smitteforløbet, hvilket vanskeliggør en rettidig indsats med henblik på at reducere risikoen for, at der sker smitte fra mink til mennesker. Fylogenetiske analyser af virus fra smittede mink og fra personer, der har relation til minkfarme og har været smittet med SARS-CoV-2, sammenholdt med tidspunkter for smitte og udviklingen af infektionen i minkfarmene viser, at det er ekstremt sandsynligt (95-99%), at såvel smitte fra menneske til mink, såvel som fra mink til menneske, forekommer. En overlevelsesanalyse viser, at kort afstand til smittede minkfarme og stor besætningsstørrelse er sammenhængende med øget risiko for, at en minkfarm bliver smittet med SARS-CoV-2. Det har ikke været muligt at påvise andre risikofaktorer. I mink er der påvist ændringer i flere områder af virusgenomet, blandt andet det område, der koder for spike-proteinet, som er essentielt for immunitet efter overstået infektion og/eller vaccination. Sådanne

ændringer kan potentielt resultere i reduceret genkendelse af virus i tidligere inficerede individer, hvilket potentielt kan medføre, at flokimmunitet ikke kan opstå, og at vacciner ikke vil virke. Derudover er det påvist, at den mink-relaterede virus-variant efterfølgende danner humane smittekæder i samfundet.

---

## Baggrund, relevans og perspektiv

›Fødevarestyrelsen har bedt DK-VET konsortiet om at foretage en epidemiologisk udredning i minkfarme, der konstateres smittede med SARS-CoV-2. Følgende spørgsmål ønskes belyst:

- Afklare **hvor hurtigt infektionen spredes blandt mink** og eventuelle andre modtagelige dyrearter på farmen
- Om SARS-COV2 virus **ophører** med at spredes blandt minkene igen
- Om SARS-COV2 spredes til mennesker **på** farmen (i samarbejde m. Styrelsen for Patientsikkerhed)
- Om SARS-COV2 spredes til mennesker **nær** farmen (i samarbejde m. Styrelsen for Patientsikkerhed)
- Samt kortlægge **smitteveje** gennem analyser af positive virusprøver hos mink og udbrudsudredninger fra personer.

Desuden ønskes det beskrevet, hvor længe SARS-CoV-2 har cirkuleret på farmen, hvor stor dødeligheden på farmen har været, hvilke kontakter der har været ind og ud af farmen, om der findes virus i støv i og omkring farmen, og hvad infektionsstatus der er på hund og katte på farmen. Desuden ønskes fuldgenomsekvensanalyser af isolater fra mink og personer tilknyttet farmen.

---

## Metode, data m.m.

›Data er indsamlet ved brug af spørgeskemaer fra farmene rekvireret fra FVST, ved analyser af prøver fra farmene, hhv. for mink og mennesker tilknyttet farmen, om muligt fra døde mink fra fryseren på farmen, fra evt. hunde og katte på farmen, og fra air-samlere der bruges på og omkring farmen. Der køres fuldgenomsekvensanalyser fra et passende antal prøver, baseret på antallet af positive på den enkelte farm og mængden af virus i de enkelte prøver. Resultaterne opgøres og afrapporteres første gang 26-06-2020 og derefter hver anden uge.

SSI opgør antallet af smittede personer i Hjørring/Frederikshavn baseret på databaseudtræk, inddelt på personer med/uden relation til mink og med/uden den virus-type, der er sekventeret fra mink-besætningerne.

På human-siden indsamles desuden data ved hjælp af et spørgeskema og testresultater fra husstande og medarbejdere på COVID-19-positive minkfarme. I et samarbejde mellem SSI, DK-VET, Styrelsen for Patientsikkerhed og Fødevarestyrelsen benyttes de indsamlede oplysninger til at afdække sandsynlige smittekæder. Ved hjælp af sekvensanalyse afgøres det, om der er tale om sammenhæng mellem konstaterede tilfælde af COVID-19 og minkfarme.

Epidemien gøres op i to faser, hhv. periode 1 frem til 18-07-2020 og periode 2 fra 19-07-2020 og frem. For at estimere risikoen for, at minkfarme smittes over tid og effekten af mulige risikofaktorer, er der blevet kørt overlevelsesanalyse med smitten som "Event" og tid til smitten som "Time". Følgende potentielle risikofaktorer blev undersøgt: besætningsstørrelse (antal mink), afstand til nærmeste farm, afstand til nærmest smittede farm, dyrlægepraksis, og fodercentral. Data til analysen er indhentet fra det centrale husdyrbrugsregister (CHR) og, for foderleverandører, fra Kopenhagen FUR. Startdato for beregning af risikoperioden blev sat til den 1. juni 2020, og sidste dato var den 30. september 2020. Vi har brugt mistankedato som infektionsdato for de smittede farme, fordi virus påvises efterfølgende og

farmen derfor må formodes at have været smittet på mistanketidspunktet. Alle farme fra de tre kommuner med smittede farme (Frederikshavn, Læsø, Hjørring) blev inkluderet i analysen. De første 33 smittede farme blev inkluderet som smittede, mens alle andre farme blev antaget at være modtagelige. Analysen blev først kørt med de potentielle risikofaktorer enkeltvis og derefter i forskellige kombinationer. Interaktioner blev testet kun for de variabler, der var signifikante på en p-værdi  $< 0.05$ . Analysen blev kørt i R (R Core Team, 2020) i pakken "coxme" (Therneau, 2020). Estimering af den forklarende varians var baseret på pakken "survMisc" Dardis (2018).

På basis af data fra farm 2, som blev opdaget tidligt i infektionsforløbet, er der blevet udviklet en SEIR-model med det formål at simulere smitteforløbet i øvrige minkfarme smittet med SARS-CoV-2. Fra farm 2 er der 3 gange indsamlet svælgprøver fra mink; i første prøverunde var 12.5% positive i PCR, i den anden prøverunde (4 dage senere) var 92% positive i PCR og i tredje prøverunde var 95% positive i PCR og 97% serologisk positive. Disse oplysninger blev brugt til at producere en standard infektionskurve, som siden blev brugt til bestemmelse af introduktionstiden. Først blev der udviklet en simpel SIR individ-baseret model, som simulerer spredning af SARS-CoV-2 mellem dyr i en mink farm. I modellen har vi antaget, at antal dyr var 4200 svarende til farm 2, og at der er homogen blanding mellem dyr. Den infektiøse periode blev simuleret med en mest sandsynlig værdi på 5 dage (Kissler et al., 2020), men varierende mellem 4 og 6 dage. Transmissionsraten (beta), som beskriver den rate modtagelige dyr bliver smittet med SARS-CoV-2 på en tidsenhed (her én dag), blev brugt som en kalibreringsfaktor til at teste, hvor høj beta skal være for at reproducere en stigning i kumulativ incidens fra 12.5% til 92% i løbet af 4 dage, svarende til forløbet hos voksne mink på farm 2. Simuleringerne blev kørt med 12.5% af dyrene smittet initialt og med forskellige transmissionsrater. En transmissionsrate på 1.45 viste sig at repræsentere en passende stigning i den kumulative incidens (bilag, figur A).

På baggrund af denne transmissionsrate blev der udviklet en individ-baseret SEIR model, som simulerer spredning af SARS-CoV-2 imellem dyr i en minkfarm. SEIR modellen har den samme struktur, som SIR-modellen beskrevet ovenfor, men der er tilføjet en latensperiode på 1-3 dage, hvor individerne ikke udskiller virus, inden de bliver infektiøse. Modellen blev initieret med 1, 5 eller 10 smittede dyr for at afspejle forskellige typer af introduktioner af virus til farmen. Modellen blev bagefter kørt i 100 iterationer (gentagelser) for at inkludere stokastisk variation.

For at prædiktere antallet af nye smittede besætninger er der udviklet en statistisk model baseret på data med smittede farme (farm 4 - 81). Det daglige antal smittede farme analyseres i en Poisson regressionsmodel med start den 12. august 2020. Smittedatoen for disse farme er estimeret baseret på vores tidligere modelberegninger fra den epidemiologiske udredningsrapport indsendt den 2. oktober 2020. Selvom modellen er baseret på smittedatoen, tager vi hensyn til, at der er forsinkelse i opdagelsen af smittede farme, og det er datoen for påvisning af SARS-CoV-2, der prædikteret i modellen.

## Resultater

### Smittede minkfarme

I den første fase af epidemien (frem til 18-07-2020) blev SARS-CoV-2 påvist i 3 danske minkbesætninger, heraf 2 beliggende i Hjørring kommune og 1 i Frederikshavn kommune. I perioden 04-07-2020 til 11-08-2020 blev der ikke konstateret SARS-CoV-2 i danske mink. Og i perioden fra 12-08-2020 til 13-10-2020 blev SARS-CoV-2 påvist i 77 danske minkfarme, fordelt på følgende kommuner; 32 i Hjørring, 19 i Frederikshavn, 2 i Læsø, 4 i Brønderslev, 14 i Jammerbugt, 2 i Ikast-Brande, 3 i Ringkøbing-Skjern og 5 i Aalborg (figur 1 & bilag, figur C). Baseret på udviklingen frem til 13-10-2020 forudses en eksponentiel stigning i antallet af smittede farme over de kommende uger (figur 1). Prædiktionen tager dog ikke den iværksatte aflivning af smittede minkfarme, samt nabofarme, i betragtning.

## Humane påvisninger

I perioden 08-06-2020 til 04-07-2020 blev SARS-CoV-2 påvist hos 90 personer i kommunerne Hjørring og Frederikshavn. I perioden fra 05-07-2020 til 18-07-2020 blev der ikke påvist SARS-CoV-2 hos nogen personer bosiddende i de to kommuner, mens der i perioden 19-07-2020 til 12-10-2020 blev påvist SARS-CoV-2 hos 483 personer (tabel 1). Af de 97 sekventerede prøver fra den seneste periode indeholdt 38 prøver de minkspecifikke mutationer. Til sammenligning blev SARS-CoV-2 påvist hos 1716 personer i hele region Nordjylland i perioden 19-07-2020 til 12-10-2020 (tabel 2, figur 2), heraf er 277 blevet sekventeret og 46 prøver indeholdte de minkspecifikke mutationer.

I perioden fra 09-07-2020 til 22-07-2020 er minkvarianten påvist hos syv personer bosiddende i Region Nordjylland, heraf to personer bosiddende i kommunerne Hjørring eller Frederikshavn.

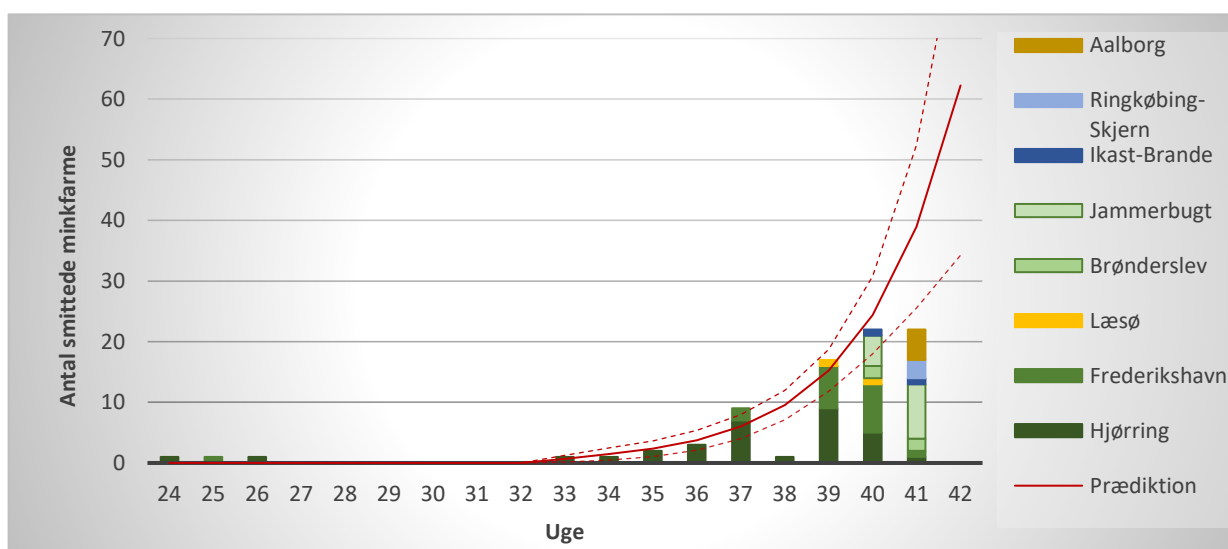
I fase to af epidemien i mink, blev der første gang fundet bekræftede tilfælde blandt personer registret på SSI's liste over personer med tilknytning til mink (minklisten) d. 12-08-2020. I uge 33 blev der i alt fundet fire bekræftede tilfælde blandt personer på minklisten. Herefter er der sket en gradvis stigning i antal bekræftede tilfælde til 42 i uge 40 og 35 tilfælde i uge 41. I fase to af epidemien i mink er der i alt fundet 48 tilfælde af minkvarianten i hele Danmark, heraf 46 i hele Region Nordjylland og to tilfælde i hhv. Aarhus Kommune med kendt relation til minkfarm og i Ballerup Kommune uden kendt kontakt til en minkfarm. Ud af de 48 bekræftede tilfælde med minkvarianten er de 17 personer tilknyttet minklisten. Der er desuden set samfundssmitte med minkvarianten hos mindst tre personer i Region Nordjylland i forbindelse med et kursus, hvor indekspersonen var en person bosat på en smittet minkfarm.

**Tabel 1:** Antal af personer der har fået påvist SARS-CoV-2 i kommunerne Hjørring og Frederikshavn.

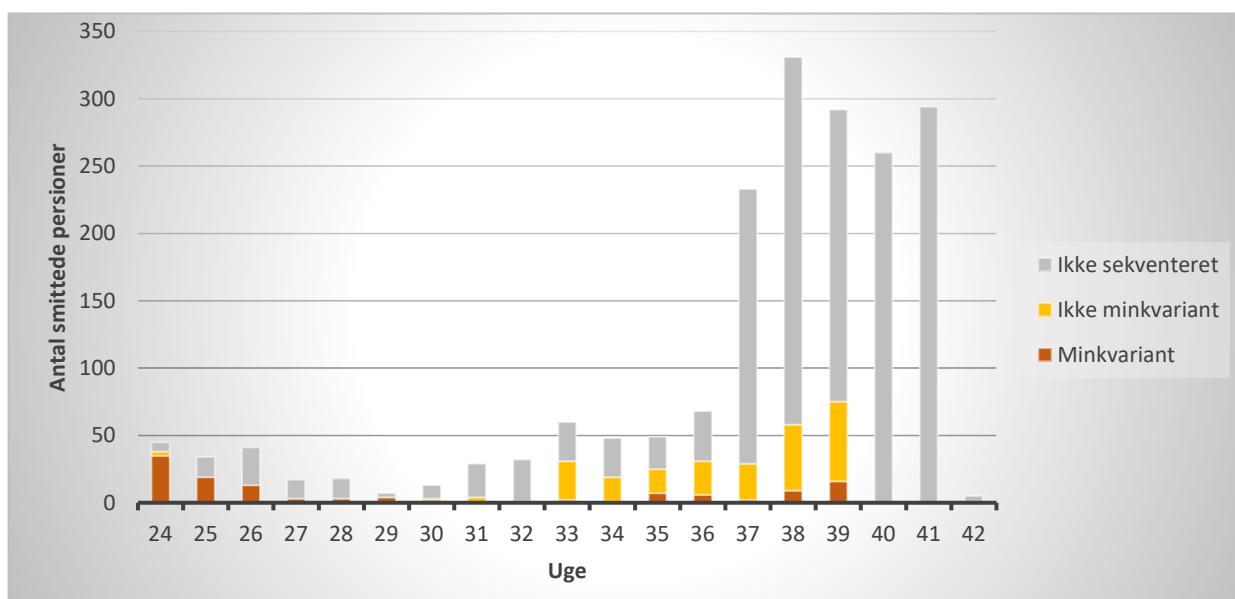
Tidsperiode	Minkvariant	Ikke minkvariant	Ingen sekvensresultat	Total
08.06.20 – 04.07.20	56	3	31	90
05.07.20 – 18.07.20	0	0	0	0
19.07.20 – 12.10.20	38	59	386	483
Hele perioden	94	62	417	573

**Tabel 2:** Antal af personer der har fået påvist SARS-CoV-2 i hele Region Nordjylland

Tidsperiode	Minkvariant	Ikke minkvariant	Ingen sekvensresultat	Total
08.06.20 – 04.07.20	70	3	63	136
05.07.20 – 18.07.20	6	0	18	24
19.07.20 – 12.10.20	46	231	1439	1716
Hele perioden	122	234	1520	1876



**Figur 1:** Udvikling i antallet af danske minkfarme hvori der er påvist SARS-CoV-2 i ugerne 24 til 41 (13-10-2020) gjort op på mistankedato, inkl. prædiktion for de kommende uger.



**Figur 2.** Antal humane tilfælde af SARS-CoV-2 i Region Nordjylland fordelt på uge for prøvetagningsdato opdelt i minkvariant, ikke minkvariant og ingen sekvensresultat.

Der er et tidsmæssigt sammenfald i stigningen af antallet af SARS-CoV-2-positive personer med relation til mink, stigningen i af antallet af positive minkfarme (figur 1) og stigningen af antallet af personer smittet med SARS-CoV-2 generelt (figur 2). I august var det udelukkende farme i Hjørring kommune, og personer tilknyttet farme i Hjørring, der blev smittet. I september blev gradvist flere minkfarme og tilknyttede personer smittet i Hjørring kommune, og derefter i Frederikshavns Kommune. I løbet af de seneste to uger (29/9-12/10) er den geografiske spredning taget til, og SARS-CoV-2 er nu påvist hos minkrelaterede personer i 12 kommuner, samt minkfarme i 8 kommuner (tabel 3).

Sammenlagt er der i hele perioden fra maj til oktober 2020 påvist SARS-CoV-2 hos 32% af de minkrelaterede personer i Hjørring kommune og hos 21% af de minkrelaterede personer i Frederikshavn kommune. I resten af landet (kommuner, der ikke er listet i tabel 3) er SARS-CoV-2 påvist hos 0,36% af personer med tilknytning til minkfarme, eller hos 0,56% af de personer uden tilknytning til mink.

**Tabel 3:** Fordeling af minkfarme smittet med SARS-CoV-2, antallet af minkfarme og antal personer smittet med SARS-CoV-2 og med relation til mink pr. kommune pr. 12. oktober 2020.

Kommune	# positive farme	# mistanke farme	Dato 1. farm i kommunen	Antal farme i kommunen	Pos (%) af total antal personer m relation til mink
Hjørring	31 (48%)	8	12. aug.	65	64/200 (32%)
Frederikshavn	18 (29%)	15	9. sept	51	36/170 (21%)
Læsø	2 (25%)	1	24. sept	8	6/28 (21%)
Brønderslev	3 (13%)	6	29. sept	23	4/71 (6%)
Jammerbugt	13 (18%)	12	30. sept	73	13/181 (7%)
Aalborg	5 (18%)	3	5. okt	28	4/101 (4%)
Viborg	0 (0%)	2	2. okt	18	3/62 (5%)
Vesthimmerland	0 (0%)	4	5. okt	29	1/79 (1%)
Ikast-Brande	2 (8%)	2	2. okt	26	3/77 (4%)
Rebild	0 (0%)	1	5. okt	16	1/43 (2%)
Ringkøbing-Skjern	3 (3%)	0	7. okt	98	6/260 (2%)
Struer	0 (0%)	1	12. okt	36	1/103 (1%)
I alt	77 (16%)*	55*		471	142**/1.375 (11%)

\*FVST har fratrukket en nu fritestet farm 4. Den tælles med her, da den har været positiv. \*\*):Fem PCR-positive personer er ikke tilknyttet smittede mink.

## Kliniske symptomer

Blandt 25 af de smittede farme i anden periode af epidemien havde 7 minkavlere ikke observeret kliniske symptomer eller øget dødelighed blandt minkene på det tidspunkt FVST's dyrlæger foretog mistankebesøg i besætningen, mens 15 minkavlere havde observeret mindst 1 symptom. De symptomer, der oftest var observeret på det tidspunkt mistankebesøget blev foretaget, var næseflåd, luftvejssymptomer, manglende ædelyst og øget dødelighed (tabel 4). Da minkavlerne blev kontaktet igen telefonisk af KU, havde 6 ud af 20 minkavlere (ikke nødvendigvis de samme farme, men med et stort overlap og stadig i anden periode af epidemien) ikke observeret kliniske symptomer. Ved såvel FVST's besøg som ved de telefoniske interviews var næseflåd, luftvejssymptomer og manglende ædelyst de symptomer, som oftest blev angivet.

**Tabel 4:** Antal farme smittet med SARS-CoV-2, hvor følgende kliniske symptomer er observeret i forbindelse med mistankebesøg vedr. SARS-CoV-2. Det er ikke nødvendigvis de samme farme der indgår i alle kolonner.

Symptom	Mistanke besøg (25 farme)	Observationer angivet ved telefoninterview (20 farme)
Næseflåd	9	11
Nysen	6	-
Luftvejssymptomer (inkl. pusten)	9	11
Nedstemthed	3	-
Manglende ædelyst	13	11
Diarré	3	9
Øget dødelighed	12	-
Ingen symptomer	7	6

De tre minkfarme, hvori der blev påvist SARS-CoV-2 i den første periode af epidemien, blev alle tre fundet på baggrund af at personer med relation til mink blev fundet positive for SARS-CoV-2. I farm 1 blev SARS-CoV-2 påvist sent i infektionsforløbet, baseret på prævalensen af PCR-positive på prøvedato 1 og 2, samt seroprævalensen på prøvedato 2. I farm 2 blev SARS-CoV-2 påvist tidligt i infektionsforløbet, baseret på tilsvarende data (tabel 5a).

I anden fase af epidemien er det kun lykkedes at påvise SARS-CoV-2 tidligt i infektionsforløbet i ganske få farme. I størstedelen af de smittede farme er prævalensen af PCR-positive dyr >75% i alle smittede farme ved første prøveudtagning. I farm 5 er prævalensen lav ved første prøveudtagning, men endnu lavere ved næste prøveudtagning 2 dage senere, hvilket indikerer, at epidemien inden for denne farm har toppet nogen tid inden første prøveudtagning (tabel 5a). I andre farme er både prævalensen af PCR positive mink og seroprævalensen lav ved første prøveudtagning, hvilket indikerer, at det af og til lykkes at finde smittede farme tidligt i infektionsforløbet. Dog er prævalensen af PCR-positive ved første prøveudtagning og fra farm 20 og frem 100% i 49 ud af 62 smittede farme (tabel 5a og 5b). Desuden er 36 af disse 62 smittede farme sat under mistanke på baggrund af en klinisk mistanke, hvilket kun var tilfældet for 3 ud af 19 minkfarme i perioden før midt september.

Baseret på en prævalenskurve fremstillet ved simuleringer af spredning af SARS-CoV-2 i farm 2, samt prævalenserne af PCR-positive i levende mink på de to prøvedatoer, vurderes det at være sandsynligt (66-90%) at introduktionen af virus i minkfarmene er sket 14-18 dage før første prøveudtagning. Dog vurderes introduktionen i farm 5 at være sket tidligere, baseret på den lave prævalens af PCR-positive ved første prøvedato og en faldende prævalens mellem dato 1 og dato 2. Figur B i bilaget viser de simulerede kumulative prævalenser af PCR-positive mink, som danner grundlag for de estimerede tidspunkter for introduktion.

Ud af 27 af de smittede farme (hele epidemien) havde 24 et rent og fungerende forrum, mens 3 ikke havde forrum. Desuden havde 20 el-hegn omkring farmen og på kun en enkelt farm blev det vurderet at der kunne passere dyr over hegnet (via bevoksning el. lign.).

**Table 5a:** PCR- og antistof prævalenser beregnet på grundlag af svælgsvabre og blodprøver fra levende mink ved hhv. prøvetagning i forbindelse med mistanke og prøvetagning i forbindelse med opfølgende besøg (farm 1-40).

Farm	Mistanke opstået på baggrund af	Prøvedato1, mistanke	Prøvedato2, opfølgning	PCR-prævalens, prøvedato1 (%)	PCR-prævalens, prøvedato2 (%)	Antistof-prævalens, prøvedato2 (%)
1	COVID-19 positiv person	14-06-2020	17-06-2020	100	14	100
2	COVID-19 positiv person	18-06-2020	22-06-2020	12,5	86	4
3	COVID-19 positiv person	29-06-2020	02-07-2020	100	100	78
4	Early warning – runde 2	13-08-2020	19-08-2020	76,7	21,7	
5	Early warning - runde 2	24-08-2020	26-08-2020	36,7	21,7	
6	COVID-19 positiv person	31-08-2020	03-09-2020	86,7	55,9	
7	COVID-19 positiv person	01-09-2020	08-09-2020	90	16,7	
8	Klinisk mistanke	01-09-2020	10-09-2020			
9	COVID-19 positiv person	02-09-2020	08-09-2020	100	48,3	100
10	COVID-19 positiv person	08-09-2020	15-09-2020	96,7	36,7	
11	Klinisk mistanke	09-09-2020	16-09-2020	100	10,0	100
12	COVID-19 positiv person	09-09-2020	17-09-2020	100	26,7	100
13	Klinisk mistanke	10-09-2020	18-09-2020	96,9	23,3	100
14	COVID-19 positiv person	14-09-2020	24-09-2020	100		
15	Early warning - runde 3	14-09-2020	23-09-2020	86,7	53,3	100
16	Early warning - runde 3	14-09-2020	22-09-2020	100	50,0	100
17	Early warning - runde 3	11-09-2020	25-09-2020	60,0	16,7	
18	COVID-19 positiv person	15-09-2020		70,0		
19	Early warning - runde 3	15-09-2020		80,0		
20	COVID-19 positiv person	17-09-2020		100		
21	Klinisk mistanke	22-09-2020		100		
22	Klinisk mistanke	22-09-2020		100		
23	Klinisk mistanke	22-09-2020		100		
24	Klinisk mistanke	22-09-2020		100		
25	COVID-19 positiv person	23-09-2020		93,3		
26	Klinisk mistanke	24-09-2020		96,7		
27	Klinisk mistanke	24-09-2020		100		
28	Klinisk mistanke	25-09-2020		100		
29	Klinisk mistanke	25-09-2020		100		
30	Early warning - runde 3	25-09-2020		96,8		
31	COVID-19 positiv person	25-09-2020		100		
32	COVID-19 positiv person	25-09-2020		100		
33	COVID-19 positiv person	25-09-2020		100		
34	COVID-19 positiv person	28-09-2020		100		
35	Early warning - runde 3	28-09-2020		100		
36	Klinisk mistanke	28-09-2020		100		100*
37	Klinisk mistanke	28-09-2020		100		100*
38	Klinisk mistanke	28-09-2020		100		100*
39	Klinisk mistanke	29-09-2020		100		30*
40	Klinisk mistanke	29-09-2020		100		100*

\*I disse to farme er der taget blodprøver til serologisk undersøgelse på prøvedato1

**Table 5b:** PCR- og antistof prævalenser beregnet på grundlag af svælgsvabre og blodprøver fra levende mink ved hhv. prøvetagning i forbindelse med mistanke og prøvetagning i forbindelse med opfølgende besøg.

Farm	Mistanke opstået på baggrund af	Prøvedato1, mistanke	Prøvedato2, opfølgning	PCR-prævalens, prøvedato1 (%)	PCR-prævalens, prøvedato2 (%)	Antistof-prævalens, prøvedato1 (%)*
41	Klinisk mistanke	29-09-2020		100		100
42	Klinisk mistanke	30-09-2020		100		100
43	Klinisk mistanke	30-09-2020		100		100
44	Klinisk mistanke	01-10-2020		100		50
45	Klinisk mistanke	01-10-2020		100		90
46	Klinisk mistanke	01-10-2020		100		100
47	Klinisk mistanke	01-10-2020		100		100
48	Kontaktbesætning					
49	Klinisk mistanke	02-10-2020		100		100
50	Klinisk mistanke	02-10-2020		100		100
51	COVID-19 positiv person	02-10-2020		100		100
52	Klinisk mistanke	02-10-2020		100		60
53	COVID-19 positiv person	05-10-2020		100		100
54	<b>Early warning - runde 4</b>	<b>02-10-2020</b>		<b>10</b>		<b>0</b>
55	Klinisk mistanke	05-10-2020		90		100
56	Early warning - runde 4	05-10-2020		73.33		100
57	Klinisk mistanke	05-10-2020		100		100
58	COVID-19 positiv person	05-10-2020		100		100
59	Klinisk mistanke	05-10-2020		100		100
60	Early warning - runde 4	06-10-2020		100		63.63
61	Kontaktbesætning	06-10-2020		100		90
62	COVID-19 positiv person	06-10-2020		100		20
63	Klinisk mistanke	06-10-2020		100		70
64	Kontaktbesætning	06-10-2020		100		80
65	<b>Kontaktbesætning</b>	<b>07-10-2020</b>		<b>20</b>		<b>10</b>
66	Klinisk mistanke	07-10-2020		100		100
67	Early warning - runde 4	07-10-2020		100		100
68	Kontaktbesætning	07-10-2020		90		100
69	Klinisk mistanke	08-10-2020		100		100
70	<b>Kontaktbesætning</b>	<b>08-10-2020</b>		<b>60</b>		<b>20</b>
71	Klinisk mistanke	08-10-2020		90		100
72	<b>COVID-19 positiv person</b>	<b>08-10-2020</b>		<b>50</b>		<b>80</b>
73	Klinisk mistanke	08-10-2020		100		100
74	Kontaktbesætning	08-10-2020		100		60
75	Klinisk mistanke	08-10-2020		100		80
76	Klinisk mistanke	08-10-2020		100		100
77	Klinisk mistanke	07-10-2020		100		70
78	Early warning - runde 4	09-10-2020		100		70
79	COVID-19 positiv person	09-10-2020		100		80
80	Klinisk mistanke	09-10-2020		100		100
81	Klinisk mistanke	09-10-2020		60		100

\*I disse farme er der taget blodprøver til serologisk undersøgelse på prøvedato1

## Test af luftprøver

På 12 minkfarme var der inden 30-09-2020 udtaget luftprøver forskellige steder på farmen. På tre farme blev der fundet positive luftprøver, på to af disse udelukkende i udåndingsluft (airsampler få cm fra minkens snude), men der på den sidste farm også blev fundet positive luftprøver i midtergangen mellem rækkerne af minkbure, og ved siloen 2 meter fra hallerne med mink (tabel 6). Ingen luftprøver indsamlet langs den indvendige side af hegnet eller uden for farmene var positive i PCR. Målingerne blev foretaget varierende tidsintervaller mellem 5 og 10 minutter.



**Tabel 6:** Luftprøver udtaget på danske minkfarme i forbindelse med opfølgende besøg

Farm	Antal positive prøver/antal målinger				I alt
	Udåndingsluft (<10 cm fra snude)	Midtergang (1-2 m fra mink)	Uden for/mellem haller (2-3 m fra mink)	Langs hegn/ stationær uden for haller (>3 m fra mink)	
Farm 6	3/4	1/4	1/1	0/1	5/10
Farm 8	0/4	0/5		0/1	0/10
Farm 10	0/2	0/3		0/2	0/7
Farm 11	0/2	0/2		0/2	0/6
Farm 12	0/2	0/2		0/2	0/6
Farm 13	2/2	0/2	0/1	0/1	2/6
Farm 14	0/2	0/2		0/2	0/6
Farm 15	2/3	0/3		0/2	2/8
Farm 16	0/2	0/2		0/2	0/6
Farm 17	0/2	0/2		0/2	0/6
<b>I alt</b>	<b>7/25</b>	<b>1/27</b>	<b>1/2</b>	<b>0/17</b>	<b>9/71</b>

### Test af foderprøver

Fra første fase af epidemien blev der indsendt 89 foderprøver fra den fodercentral, som havde leveret foder til 2 af de 3 første smittede besætninger. Foderprøverne var udtaget 13-07-2020 og repræsenterer individuelle foderbatch produceret i perioden fra 01-03-2020 til 12-07-2020. Der kunne ved undersøgelse af de 89 indsendte foderprøver ikke påvises SARS-CoV-2 ved PCR.

Der er yderligere blevet indsendt 54 foderprøver fra samme fodercentral fra individuelle foderbatch produceret i perioden 01-07-2020 til 10-09-2020. Der kunne ved undersøgelse af de 54 indsendte foderprøver ikke påvises SARS-CoV-2 ved PCR.

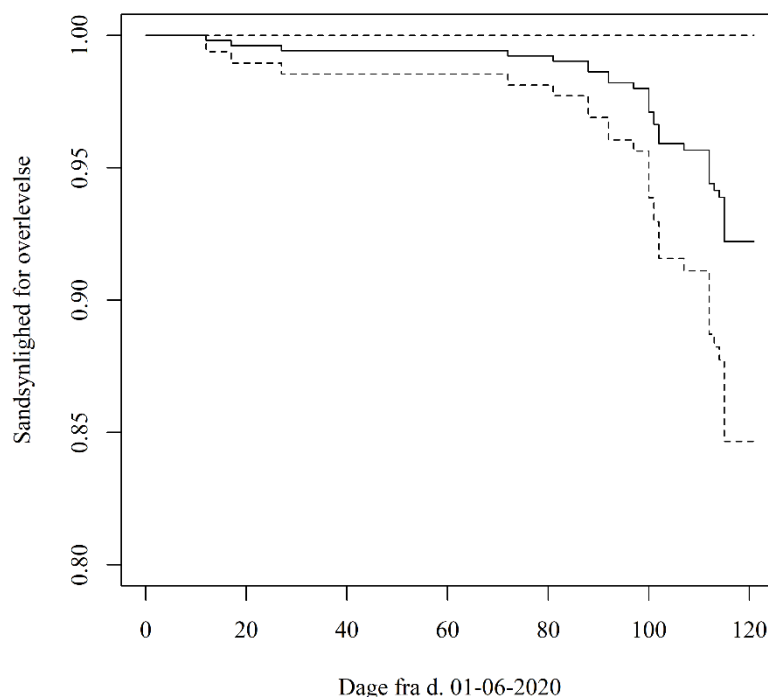
For farm 10-17 er der udtaget 3 foderprøver pr. farm. I ingen af disse prøver kunne påvises SARS-CoV-2 ved PCR.

### Overlevelsesanalyse

Resultater fra overlevelsesanalysen viste, at for minkfarme i Hjørring, Frederikshavn og Læsø kommuner er der signifikant større risiko for at blive smittet med SARS-CoV-2, hvis besætningen ligger tæt ved en smittet minkfarm (tabel 7). Desuden var minkfarmens størrelse signifikant i analysen, dvs. jo flere mink des højere risiko for at blive smittet. Der var ingen signifikant effekt af dyrlæge og foderleverandør, ligesom der ikke kunne påvises interaktion mellem afstand til nærmeste smittede og størrelse af farmen, dvs. at betydningen af tæthed ikke ændres med stigende farmstørrelse. Modellen forklarede 60% af variationen i datasættet. Medianen (25-75-percentiler) for afstand fra ikke-smittede minkfarme til nærmeste smittede minkfarm var 3,85 km (1,99-10,5), mens medianen for afstanden fra smittede farme til nærmeste smittede var 1,7 km (0,88-2,27). Smittede minkfarme havde i medianen 10.500 mink (4200-16.500), mens ikke-smittede minkfarme i området i medianen havde 7000 mink (2456-12.125).

**Tabel 7:** Resultater af overlevelsesmodel med besætningsstørrelse og afstand til nærmeste smittede farm som sign. Risikofaktorer.

Risikofaktor	Koefficient	Hazard ratio	p-værdi
Afstand til nærmeste smittede minkfarm	-0.354	0.702	0.0016
Besætningsstørrelse	0.00041	1.00041	0.011



**Figur 4:** Sandsynlighed for at der IKKE påvises SARS-CoV-2 i minkfarme i kommunerne Hjørring, Frederikshavn og Læsø over tid, startende fra 01-06-2020.

### Fylogenetiske analyser på mink

Som er resultat af den fylogenetiske analyse var det muligt visuelt at identificere 5 clustre (grupperinger, figur 5), med spatiale fordeling af clustrene i Vendsyssel vist i figur 6. Nogle af sekvenserne ligger i mere end et cluster, hvilket kan indikere, at der har været flere separate smitteveje imellem de forskellige clustre. De 3 sekvenser fra farm 1, der ligger i bunden af træet fra farm 1 repræsenterer de 3 sekvenser, der først sås på farm 1 uden den afgørende mutation i spike genen (A22920T). Øvrige sekvenser fra farm 1 samt sekvenser fra farm 2 og 4, der ses ikke-clustrede i træet, kan muligvis indikere overgangsformer mellem varianterne på de øvrige farme. Der ses begyndende udspaltninger i nye under-clustre i specielt cluster 4, hvilket viser at virus fortsat udvikler sig. Smitte med virus-typerne fra cluster 1, 3, 4 og 5 ses også blandt personer.

Fuldgenomsekvenserne viser en række mutationer, som genfindes i både mink og personer relateret til minkfarmene og i lokalområdet efter 10. juni 2020. De mest markante ændringer er mutationen i det receptorbindende domæne i Spike-proteinet (A22920T; Y453F) samt deletionen i Spike protein på position 21766-21771. I personen relateret til farm 1, som var testet positiv i midten af maj, og som formodes at være indeks case, ses mutationen i Spike-proteinet ikke, hvilket underbygger, at ændringen er sket i mink på farm 1. Deletionen i spike proteinet observeredes første gang på farm 4 og er set blandt mink på farm 4-19 samt hos personer med tilknytning til farmene. Denne ændring er derfor af nyere dato og er sket ud fra den først observerede variant med mutation i spike proteinet. Mutationen i Spike-proteinet er ikke tidligere

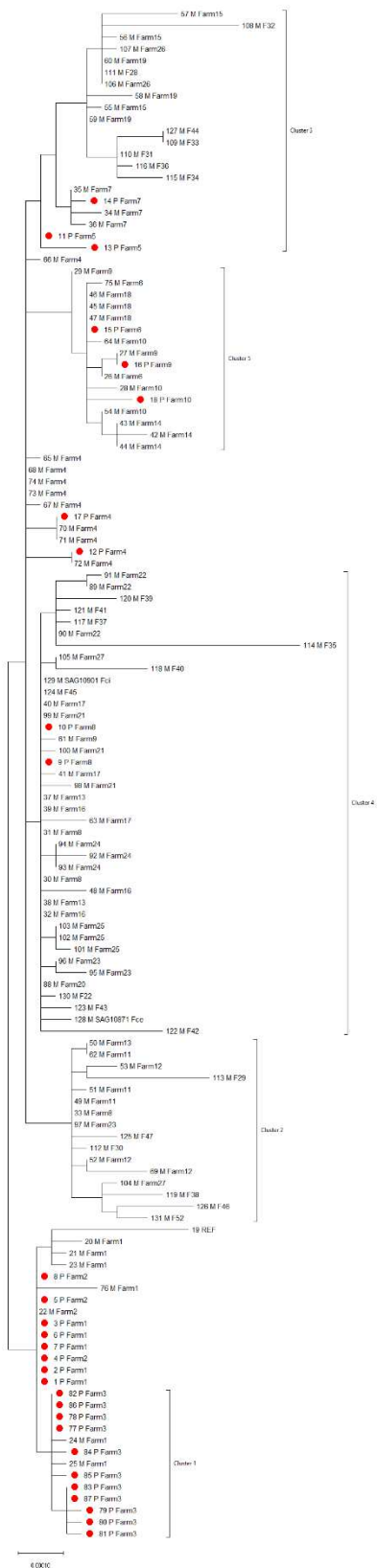


set på verdensplan udover i SARS-CoV-2 i mink fra én af de inficerede minkfarme i Nederlandene<sup>1</sup>. Det kan ud fra fylogien udelukkes, at der er en epidemiologisk sammenhæng mellem udbruddene i NL og DK, da virus fra DK tilhører en anden clade end virus fra NL.

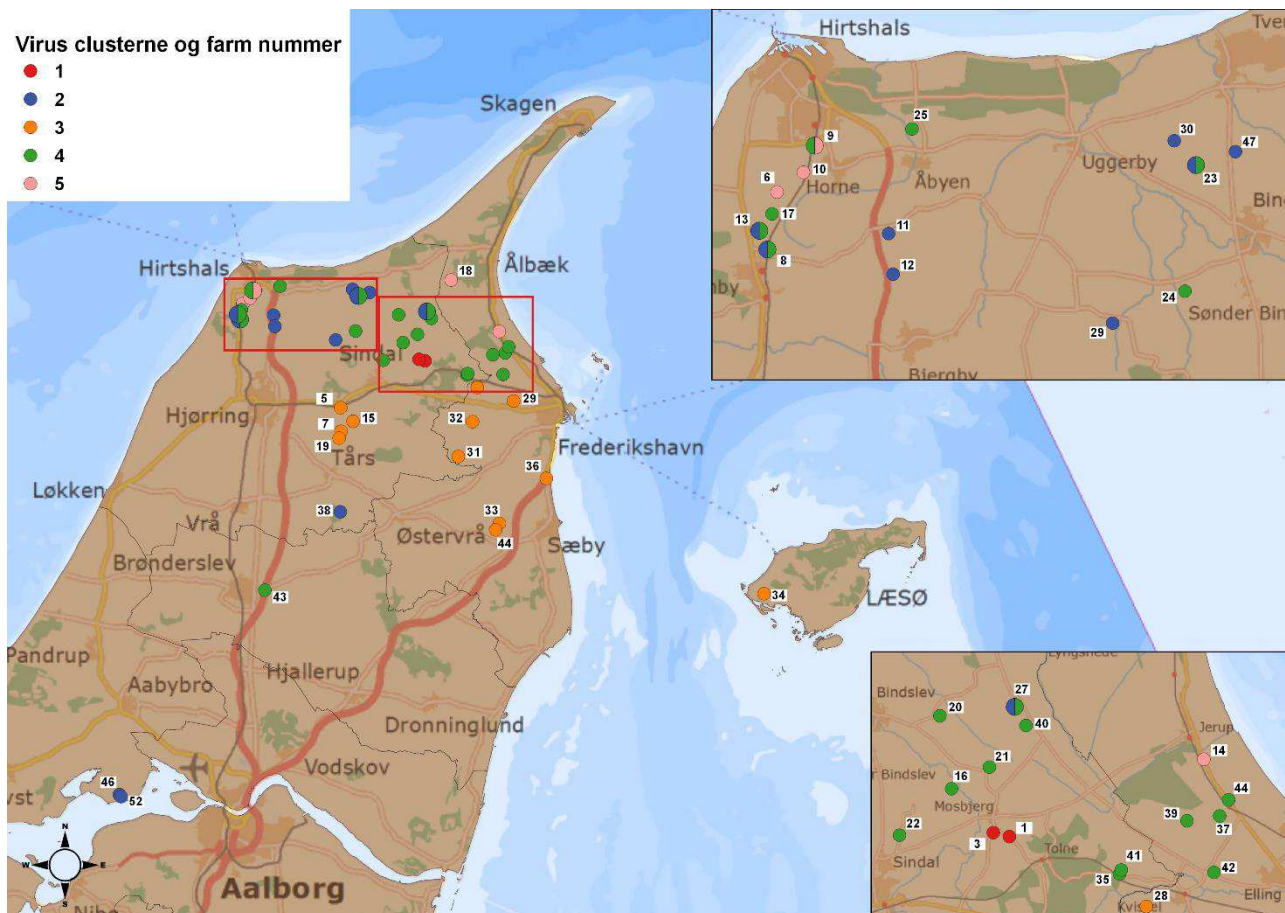
En sandsynlig smittevej er derfor, at minkene via mennesker er blevet smittet, og at virus har udviklet sig gradvist i denne proces. Alternative smitteveje kan dog heller ikke udelukkes. De fylogenetiske analyser kan ikke alene bruges til udredning af smitteveje, men skal ses i sammenhæng med epidemiologiske undersøgelser.

---

<sup>1</sup> Vi følger den clade navngivning der anvendes hos Nextstrain (<https://nextstrain.org/blog/2020-06-02-SARSCoV2-clade-naming>). Der er identificeret en række clade definerende mutationer, og derfor findes der ikke et egentligt SNP cut-off –for clade tilhørsforhold, men derimod tilstedeværelsen eller fraværet af specifikke SNP. Den clade de danske minksekvenser befinder sig i (20B) defineres helt unikt ved tilstedeværelsen af 3 SNP på position 28881, 28882 og 28883. Derudover er der nogle semi-definerende SNPs. Alle sekvenser fra danske mink og mennesker afviger 4 SNPs fra sekvenserne fra de hollandske udbrud. Derudover er der andre SNPs, hvor der er mindre forskelle.



**Figur 5:** Det fylogenetiske træ viser sekvenser fra Mink (M) og Personer (P, markeret med rød cirkel) med epidemiologisk kendt tilknytning til farmene. Sekvenserne er fra farmene 1-52.



Figur 6. Spatial fordeling af virusklustre fra farmene 1-52 (figur 5) i Vendsyssel og

### Diskussion

#### ►Fase 1 af epidemien:

Baseret på fylogenetiske analyser og tilbagesporing af kontakter er tidspunktet for introduktion i farm 1 med stor sikkerhed bestemt, ligesom det er sandsynliggjort, at en index-person har introduceret virus i farmen. De fylogenetiske analyser sammenholdt med tidspunktet for påvisning af SARS-CoV-2 i forskellige personer sandsynliggør, at én person relateret til farm 1 er blevet smittet midt i maj, og virus er uforvarende introduceret til minkene fra denne eller en nært relateret person. Dernæst er virus muteret i minkene, hvilket evt. kan have øget transmissionsraten i mink. Én eller flere personer relateret til farm 1 er dernæst blevet smittet fra mink med stammen med den nye mutation, og dernæst er der opstået smittekæder i store dele af Hjørring/Frederikshavns-området. I alt er de tre signaturmutationer, som karakteriserer virusvarianten, der findes i mink og som er undersøgt ved sekventering, fundet i 57 ud af 63 prøver fra kommunerne Hjørring og Frederikshavn, i perioden 08-06-2020 til 04-07-2020. I samme periode blev minvarianten fundet i 73 ud af 79 personer med sekventerede vira i hele Region Nordjylland. Der blev i alt fundet 136 personer smittet med SARS-CoV-2 i hele Region Nordjylland i perioden.

#### Fase 2 af epidemien:

Introduktionen af virus i den første farm i fase 2 estimeres at være sket i slutningen af juli. På dette tidspunkt påvises der igen enkelte tilfælde af SARS-CoV-2 i personer bosiddende i kommunerne Hjørring og Frederikshavn, og minkvarianten påvises i 2 personer bosiddende i kommunerne Hjørring og

Frederikshavn. Det er sandsynligt, at en person relateret til en minkfarm har bragt smitten ind i den første farm i fase 2, idet en person med direkte relation til farmen har haft symptomer foreneligt med COVID-19, uden at blive testet ved PCR, i slutningen af juli og pågældende er efterfølgende fundet positiv ved antistofmåling.

I anden fase af epidemien påvises høje prævalenser af PCR positive mink i stort set alle farme på det tidspunkt, virus påvises første gang. Dette kan skyldes, at symptomerne generelt er svage og uspecifikke i minkene, at udviklingen af infektionen inden for minkfarmene er hurtig, og/eller at overvågningen ikke er tilstrækkelig. Over tid ser prævalensen af PCR-positive ved første prøveudtagning ud til at stige, ligesom der i to farme er fundet antistoffer allerede ved første prøveudtagning og flere og flere farme er fundet ved klinisk mistanke. Dette kan skyldes, at der er en høj dyretæthed på farmene nu, med store hvalpe, der nærmer sig pelsning, og minkene er i gang med at skifte til vinterpels. Desuden kan det tyde på, at infektionen løber hurtigere igennem farmene, og at nogle af de ændringer, der er set i virus, medfører en større tilpasning af virus til mink og dermed en højere transmissionsrate og flere symptomer i minkene. Om dette er tilfældet kan kun afgøres ved udførelse af kliniske transmissionsforsøg på mink.

De fylogenetiske analyser viser begyndende udspaltninger i nye under-clustre i specielt cluster 3, hvilket viser at virus fortsat udvikler sig. Der er også observeret udvikling og spredning af andre varianter af SARS-CoV-2, der ikke er relateret til mink. Men da færre af disse er undersøgt så detaljeret som minkvarianterne, har vi ikke datagrundlag for at vurdere om sprednings- og udviklingshastigheden af andre typer svarer til minkvarianterne.

Tidspunktet for introduktion til de enkelte minkfarme blev for størstedelen af farmene estimeret til 14-18 dage før første prøveudtagning. Der er dog en moderat usikkerhed forbundet med dette estimat, hvilket hovedsageligt skyldes, at estimatet er baseret på simuleringer, hvor input til simuleringsmodellen dels er baseret på en enkelt farm (farm 2), dels er suppleret med humane data vedr. den infektiøse periode, da parametre for mink ikke var til rådighed. Derudover vil en tilpasning af virus til mink have stor betydning for transmissionsraten, hvorfor perioden fra første prøveudtagning til introduktion må formodes at være kortere, hvis en tilpasning af virus til mink har fundet sted.

Kun risikofaktorerne besætningsstørrelse og afstand til nærmeste smittede minkfarm var statistisk signifikante i overlevelseseanalysen. I analysen indgik kun potentielle risikofaktorer, for hvilke der kunne udtrækkes registerdata. Modellen er kørt på baggrund af udbrudsdata fra 30-09-2020, dvs. at de minkfarme hvori der var påvist SARS-CoV-2 blev anset for positive fra første mistankedato, mens alle øvrige minkfarme i de tre kommuner blev anset for negative i hele perioden (01-06-2020-30-09-2020). Minkfarme, der var under mistanke den 30-09, blev altså anset for værende negative, også selv om SARS-CoV-2 evt. er blevet påvist senere. Påvisningen af tæthed til nærmeste smittede minkfarm, som en statistisk signifikant risikofaktor, siger ikke noget om, hvordan virus bringes ind i minkfarmen, men kan blot være et udtryk for, at smitten kan foregå over relative korte afstande. Det har dermed ikke været muligt at vise, om det er gentagne humane introduktioner, der smitter minkfarmene, eller om der er tale om andre smitteveje i lokalområdet.

I forbindelse med den epidemiologiske udredning af de smittede farme har adskillige potentielle risikofaktorer været foreslået og undersøgt. En vurdering af risikoen forbundet med ræv, mårhund, katte mv. er tidligere foretaget af DK-VET, hvori der konkluderes følgende: "Baseret på de nuværende oplysninger er det ikke muligt med sikkerhed at vurdere risikoen forbundet med spredning af SARS-CoV-2 mellem danske minkfarm via mårhunde, måger, katte og hunde. Baseret på den eksisterende hegning af danske minkfarme, samt eksperimentelle studier, der viser forskellige arters evne til at smitte med SARS-CoV-2 og forekomsten af arterne i Hjørring og Frederikshavn, vurderes det at være *usandsynligt* (1-

10%) at SARS-CoV-2 er spredt mellem danske minkfarme med ræv, mårhund kat, mink, ilder og mår, *ekstremt usandsynligt (0,001-0,1%)* at smitten er spredt mellem danske minkfarme med måger, og *meget usandsynligt (0,1-1%)*, at hunde har overført SARS-CoV-2 mellem danske minkfarme.” Der er på grundlag af den epidemiologiske udredning ikke baggrund for at ændre denne tidligere vurdering.

På grund af manglende viden om smittevejene mellem minkfarmene, er det ikke muligt at udvikle modeller, der simulerer spredning af SARS-CoV-2 mellem minkfarme og dermed forudsige antallet af nye smittede farme. Derfor blev der udviklet en simpel løsning til at prædiktere antallet af nye smittede farme i Danmark baseret på udviklingen af antallet af smittede farme i perioden 12-08-2020 til 13-10-2020. Denne model tager ikke hensyn til spatielle effekter, hvor tætheden til andre smittede farme kan påvirke sandsynligheden for at en ny farm smittes. Modellen kan således ikke prædiktere, hvor i landet de kommende udbrud kan forventes. På nuværende tidspunkt vides det ikke, hvilke smitteveje der driver epidemien. Modellen tager desuden ikke hensyn til effekten af nedslagning af smittede farme og farme i 7.8 km radius fra de smittede farm.

Mutationen i det receptorbindende domæne i Spike-proteinet (A22920T), der observeres i 4 ud af 8 mink fra farm 1 samt i alle efterfølgende sekvenser fra farmene 2 til 19, er ikke tidligere set på verdensplan udover i SARS-CoV-2 i mink fra flere af de inficerede minkfarme i Nederlandene. Mutationen resulterer i aminosyreændringen Y453F på position 453 i Spike-proteinet. Denne aminosyreposition er højkonservet i SARS-relaterede coronavirus og er lokaliseret i det receptorbindende domæne, som er kritisk for interaktion mellem virus og værtsreceptor.

Derudover er de to observerede varianter (mutationen og deletionen), som er opstået i mink, også bekymrende, da de ligeledes forekommer i genet, der koder for Spike proteinet. Spike proteinet anvendes af virus til at inficere kroppens celler med og er også dette som man udvikler vacciner imod. Ligeledes menes proteinet også at være vigtigt for udviklingen af immunitet efter en overstået infektion. Der er derfor en mulighed for, at de virus, hvor der er sket sådanne ændringer, kan mindske eller eliminere effekten af samtlige spike-baserede anti-COVID19 vacciner, ligesom det kan øge sandsynligheden for, at folk der allerede har været smittet, kan blive smittet igen med disse virusvarianter, så flokimmunitet udebliver.

Som følge af, at der fortsat påvises farme med ny-introduktioner af SARS-CoV-2 i flere Nordjyske kommuner, vurderes det, at de forbyggende tiltag der er iværksat i minkfarme enten ikke virker, eller at der endnu ikke har været tid nok til at tiltagene er blevet tilstrækkeligt implementeret. Desuden vurderes det, at den hurtige transmission blandt mink sammenholdt med, at det ikke er lykkedes at smitteopspore SARS-CoV-2 positive personer inden minkene smittes, betyder, at yderligere beskyttende tiltag blandt personer, der færdes på smittede farme, ikke får den ønskede effekt. Påvisningen af minkvarianten i to personer, der havde været på kursus med en person, som siden blev testet positiv for Covid19 og var relateret til en minkfarm, viser at minkvarianter af virus fortsat kan danne smittekæder til resten af samfundet, ligesom det tidligere var vist i fase 1 af minkepidemien. Den fortsatte udvikling af virus i mink med flere og flere mutationer i spike-proteinet og spredning ved videresmitte til mennesker i Danmark udgør en potentiel fare for folkesundheden og for de forventede effekter af en vaccine.



## References:

Dardis C, 2018. survMisc: Miscellaneous Functions for Survival Data. R package version 0.5.5.  
<https://CRAN.R-project.org/package=survMisc>

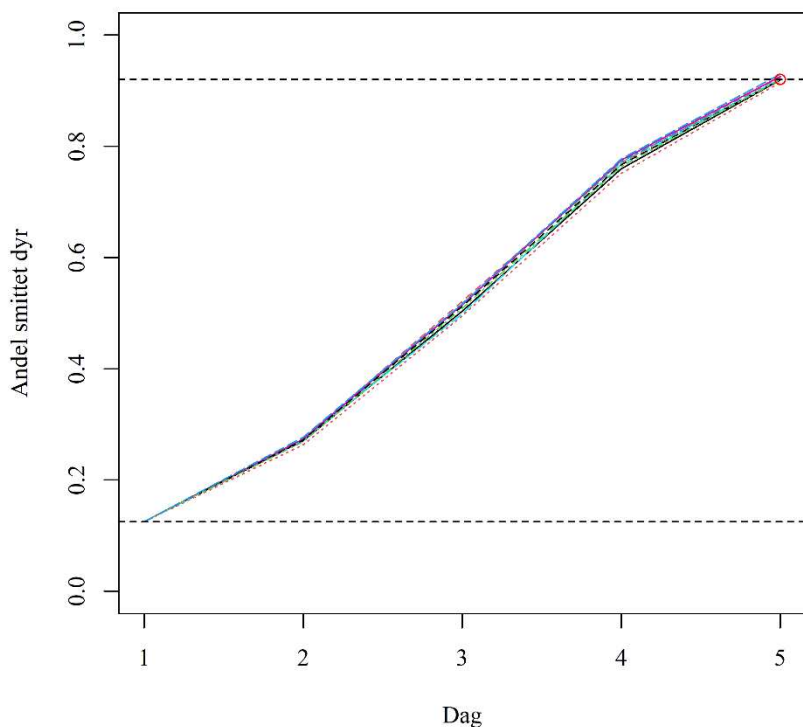
Kissler SM, Tedijanto C, Goldstein E, Grad YH, and Lipsitch M. 2020 Projecting the transmission dynamics of SARS-CoV-2 through the postpandemic period. Science 368:860-868

R Core Team, 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

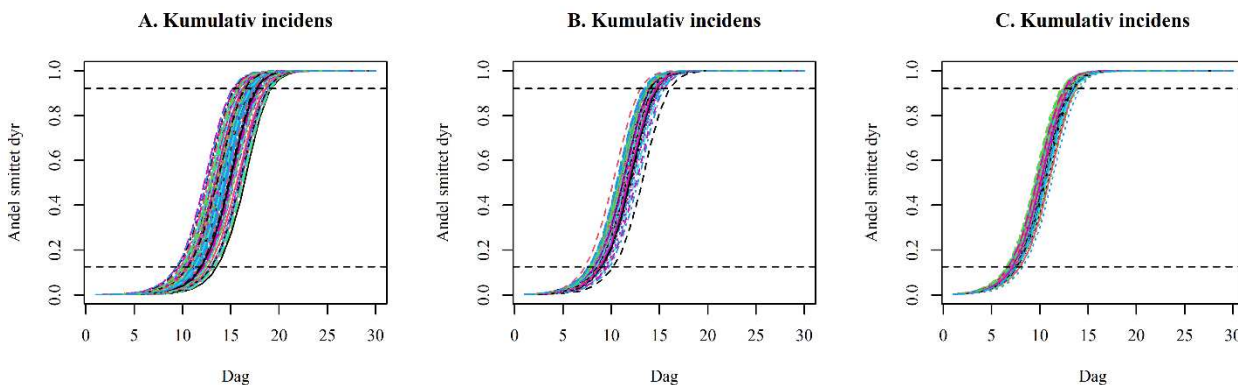
Therneau TM, 2020. coxme: Mixed Effects Cox Models. R package version 2.2-16.  
<https://CRAN.R-project.org/package=coxme>



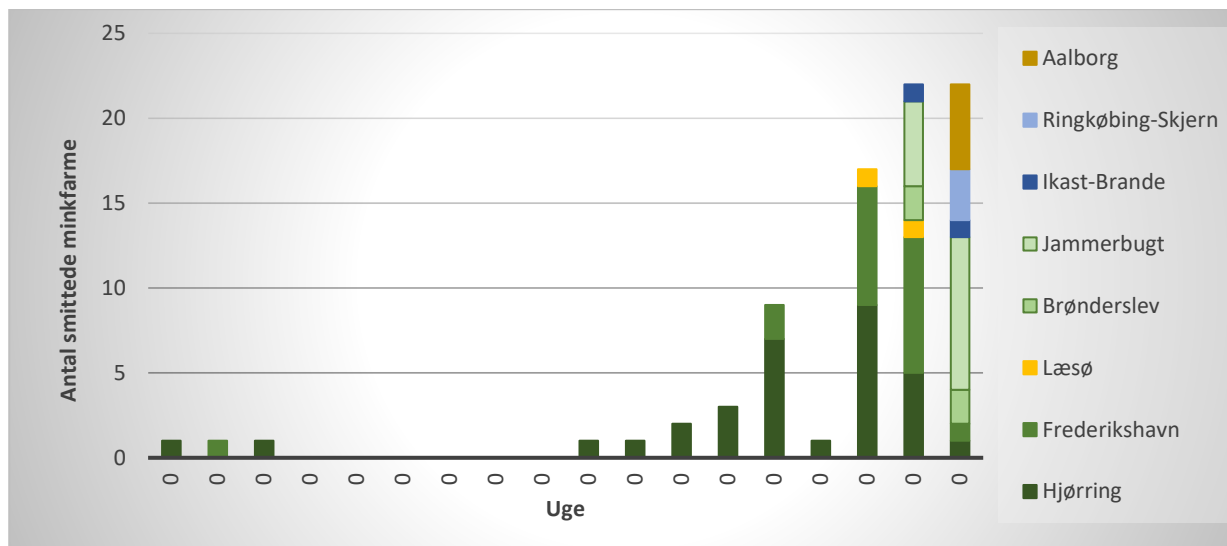
## Bilag 1:



**Figur A:** Kumulativ incidens af positive individer simuleret for farm 2 på baggrund af prævalensen af PCR positive voksne mink på to prøvedatoer med 4 dages mellemrum. Nedenstående kurve er opnået ved en transmissionsrate ( $\beta$ ) på 1,45.



**Figur B:** Simulerede kurver over kumulativ incidens af PCR-positive i en farm svarende til farm 2. Fra venstre mod højre er epidemien startet i hhv. 1, 5 eller 10 mink. De vandrette linjer angiver en prævalens på hhv. 12,5% og 92%.



**Figur C:** Udvikling i antallet af danske minkfarme hvori der er påvist SARS-CoV-2 i ugerne 24 til 41 (13-10-2020) gjort op på mistankedato.

**Bilag 2:** Er vedlagt rapporten som pdf og beskriver tidsforløbet for hver enkelt farm (farm 1-77).

Øverste række angiver den estimeret tid fra virus introduktion i besætningen (blå bar) til mistanke (orange bar) og påvisning (rød bar) af SARS-CoV-2 i mink.

For farme, der har sendt ind til early warning (EW) af døde mink, er der i de næste rækker angivet negative early warning prøver med grønne prikker og positive med røde prikker.

Prøvesvar for personer relateret til farmen er angivet i de nederste rækker for hhv. PCR positive og negative svar, samt antistof (AB) positive og negative svar. For hver farm er samme person er angivet med samme farve.

Teksterne kan overlappe og derfor være svære at læse, i tilfælde af lange tekster eller mange prøver. Dette er beklageligt, og vil forsøge at blive rettet op i næste version.