

| | |
|----------------------|--|
| 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 | 23-10-2020 | 23-10-2020 | 3 |

| | | | |
|--------------------------|------------------|------------------|----------|
| 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 in most farms. 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 have significant association with 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 i danske minkfarme påvises oftest 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 overlevelseseanalyse 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 (transformeret som hhv. $\log(\text{afstand})$ og $(\log(\text{afstand}))^2$), 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 21. oktober 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 region Nordjylland blev inkluderet i analysen. Farme, hvori der i perioden var påvist SARS-CoV-2 eller som den 21-10-2020 var under mistanke som følge af positive prøver i early warning-overvågningen eller p.g.a. kliniske symptomer, blev inkluderet som smittede, mens alle andre farme blev antaget at være modtagelige. Farme, der er blevet aflivet som en del af kontrolstrategien, dvs. aflivning af ikke-smittede farme indenfor 7,8 km fra en smittet farm, blev inkluderet i analysen frem til aflivningsdatoen (censoring).

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 introduktionstidspunktet. 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 - 130) samt farme som den 21-10-2020 var under mistanke som følge af positive prøver i early warning-overvågningen eller p.g.a. af kliniske symptomer. 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 prædiktes i modellen. Modellen bruger løbende data fra de foregående 14 dage til at forudsæ én dag frem. Prædiktionen for de kommende 7 dage er baseret på data fra de seneste 14 dage. Hermed tilpasser modellen sig til data over tid.

Resultater

Smittede minkfarme

Indtil den 22-10-2020 er i alt 135 minkfarme blevet smittet med SARS-CoV-2. Fra at være lokaliseret til få nordjyske kommuner tilbage i august/september, er smitten nu spredt til 12 kommuner fordelt over store dele af Jylland (figur 1).

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 påvist SARS-CoV-2 i yderligere danske minkbesætninger. I den efterfølgende perioden fra 12-08-2020 til 22-10-2020 blev SARS-CoV-2 påvist i 132 danske minkfarme, fordelt således på følgende kommuner; 41 i Hjørring, 32 i Frederikshavn, 28 i Jammerbugt, 10 i Brønderslev, 8 i Aalborg, og 16 farme fordelt i Thisted, Læsø, Ringkøbing-Skjern, Ikast-Brande, Esbjerg og Vejle (figur 1 & 2, bilag C). Baseret på udviklingen i hele landet frem til 21-10-2020 forudses det, at der i den kommende uge påvises smitte i gennemsnitligt 2 farme pr. dag, med en variation mellem 0 og 4 farme pr. dag (figur 2).

Af de 135 minkfarme, der indtil 22-10-2020 har fået påvist SARS-CoV-2, var 54 under mistanke som følge af kliniske symptomer i besætningen, 35 som følge af, at en person med tilknytning til besætningen var testet positiv, 32 i forbindelse med early warning af døde mink, og 14 som følge af kontakt-opsporing fra smittede minkfarme.

Figur 1: Danske minkfarme der i perioden 15-06-2020 til 21-10-2020 har fået påvist SARS-CoV-2. De røde cirkler indikerer 7,8 km aflivningszoner

Humane påvisninger

Der er et tidsmæssigt sammenfald i stigningen af antallet af SARS-CoV-2-positive personer med relation til mink (figur 4), stigningen i af antallet af positive minkfarme (figur 2) og stigningen i af antallet af personer smittet med SARS-CoV-2 generelt i Region Nordjylland (figur 3). Risikoen for at personer relateret til mink bliver smittet med SARS-CoV-2 er højere i områder, hvor SARS-CoV-2 har været tilstede i mink i længere tid, og hvor smittet er mere udbredt mellem minkfarme.

I perioden 08-06-2020 til 04-07-2020 blev SARS-CoV-2 påvist hos 97 personer i kommunerne Hjørring, Frederikshavn, Brønderslev og Jammerbugt. I perioden fra 05-07-2020 til 18-07-2020 blev der påvist SARS-CoV-2 hos 3 personer bosiddende i Brønderslev og Jammerbugt, mens der i perioden 19-07-2020 til 20-10-2020 blev påvist SARS-CoV-2 hos 1041 personer i de fire kommuner (tabel 1). Af de 189 sekventerede prøver fra den seneste periode indeholdt 76 prøver de minkspecifikke mutationer. Til sammenligning blev SARS-CoV-2 påvist hos 2121 personer i hele region Nordjylland i perioden 19-07-2020 til 12-10-2020 (tabel 2), heraf er 472 blevet sekventeret og 86 prøver indeholdte de minkspecifikke mutationer. Minkvarianten er i alt fundet i 176 tilfælde med 167 tilfælde i Region Nordjylland, otte tilfælde uden for Region Nordjylland og et tilfælde uden bopæl i Danmark. De 167 tilfælde med bopæl i Region Nordjylland fordelte sig med 81 tilfælde i første fase og 86 tilfælde i den anden fase. Af de 86 tilfælde i den anden fase havde 29 personer kendt tilknytning til minkproduktion baseret på SSI's liste.

Der er planlagt interview af de personer, der er smittet med minkvarianten men ikke har kendt kontakt til minkproduktion, med henblik på at klarlægge smitteveje og eventuel relation til minkproduktion. I fase to af epidemien er samfundssmitte med minkvarianten set hos mindst tre personer i Region Nordjylland i forbindelse med et kursus, hvor indekspersonen var en person bosiddende på en smittet minkfarm. Figur 3 viser fordelingen af positive tilfælde i Region Nordjylland fordelt på sekvensresultat og uge for prøvetagning. Det fremgår, at minkvarianten udgjorde størstedelen af de sekventerede prøver i uge 24-30. Herefter sås stigende introduktion af andre varianter i området og i ugerne 33-38 udgjorde minkvarianten en mindre del af de sekventerede prøver (5-28%). I de seneste uger, 39-41, observeres atter en stigning i den andel minkvarianten udgør af de sekventerede prøver til 64% i uge 41.

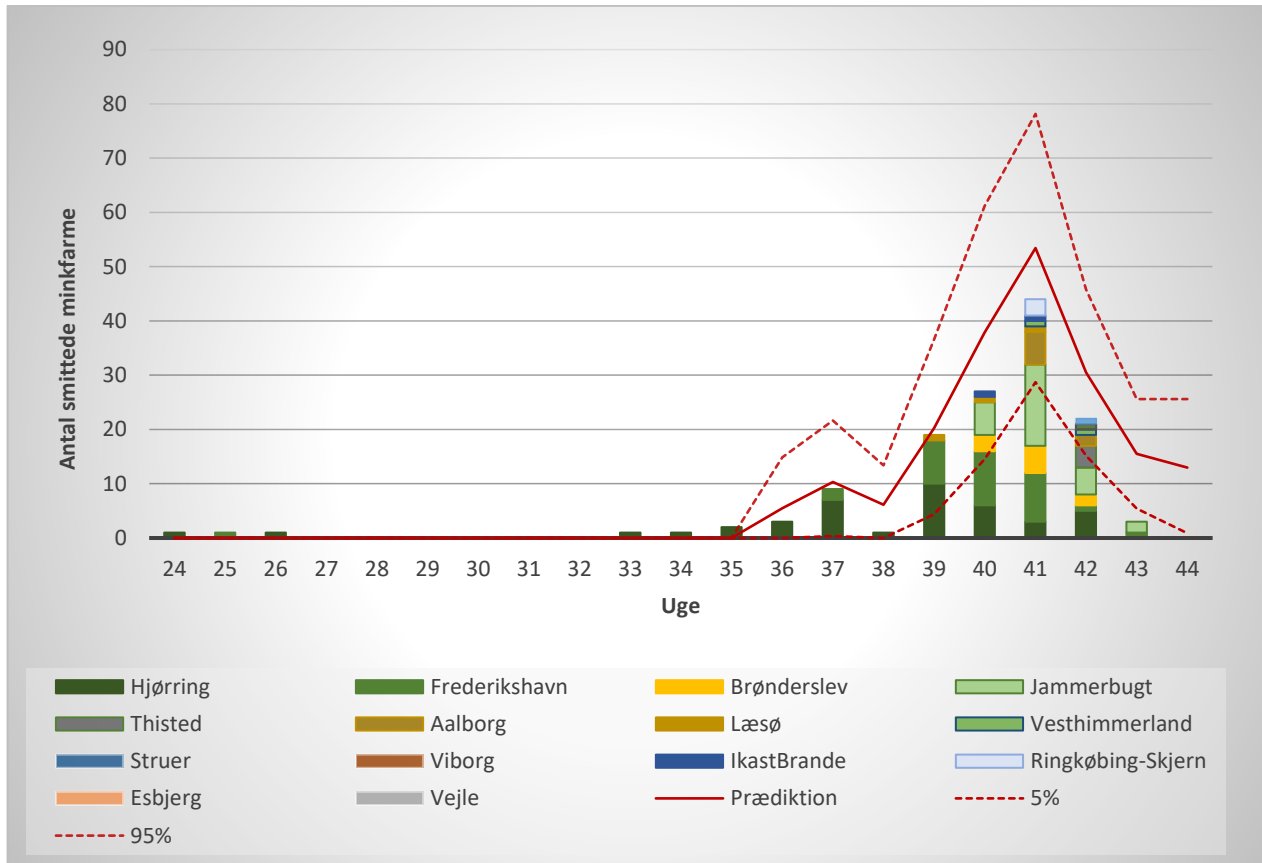
I fase to af epidemien i mink, blev der første gang fundet bekræftede tilfælde blandt personer registreret på SSI's liste over personer med tilknytning til mink d. 12-08-2020. I uge 33 blev der i alt fundet fire bekræftede tilfælde blandt personer med tilknytning til mink. Herefter er der sket en gradvis stigning i antal bekræftede tilfælde til 36 tilfælde i uge 41, 51 tilfælde i uge 42 og foreløbigt 7 tilfælde i uge 43 (figur 4).

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

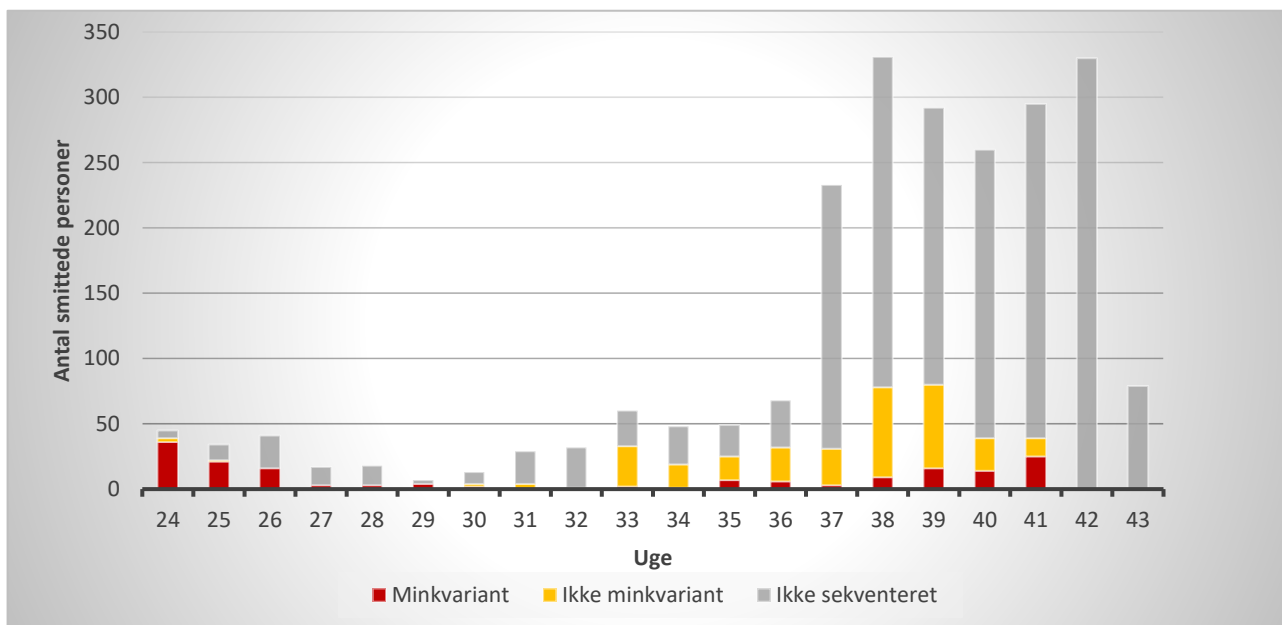
| Tidsperiode | Minkvariant | Ikke minkvariant | Intet sekvensresultat | Total |
|---------------------|-------------|------------------|-----------------------|-------|
| 08.06.20 – 04.07.20 | 63 | 4 | 30 | 97 |
| 05.07.20 – 18.07.20 | 0 | 0 | 3 | 3 |
| 19.07.20 – 20.10.20 | 76 | 113 | 852 | 1041 |
| Hele perioden | 139 | 117 | 885 | 1141 |

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

| Tidsperiode | Minkvariant | Ikke minkvariant | Intet sekvensresultat | Total |
|---------------------|-------------|------------------|-----------------------|-------|
| 08.06.20 – 04.07.20 | 75 | 4 | 47 | 136 |
| 05.07.20 – 18.07.20 | 6 | 0 | 18 | 24 |
| 19.07.20 – 20.10.20 | 86 | 386 | 1649 | 2121 |
| Hele perioden | 167 | 390 | 1724 | 2281 |



Figur 2: Udvikling i antallet af danske minkfarme hvori der er påvist SARS-CoV-2 i ugerne 24 til 42 (20-10-2020) gjort op på mistankedato, inkl. prædiktion for de kommende uger.



Figur 3. Antal humane tilfælde af SARS-CoV-2 i Region Nordjylland fordelt på uge for prøvetagningsdato opdelt i minkvariant, ikke minkvariant og ikke sekventeret.

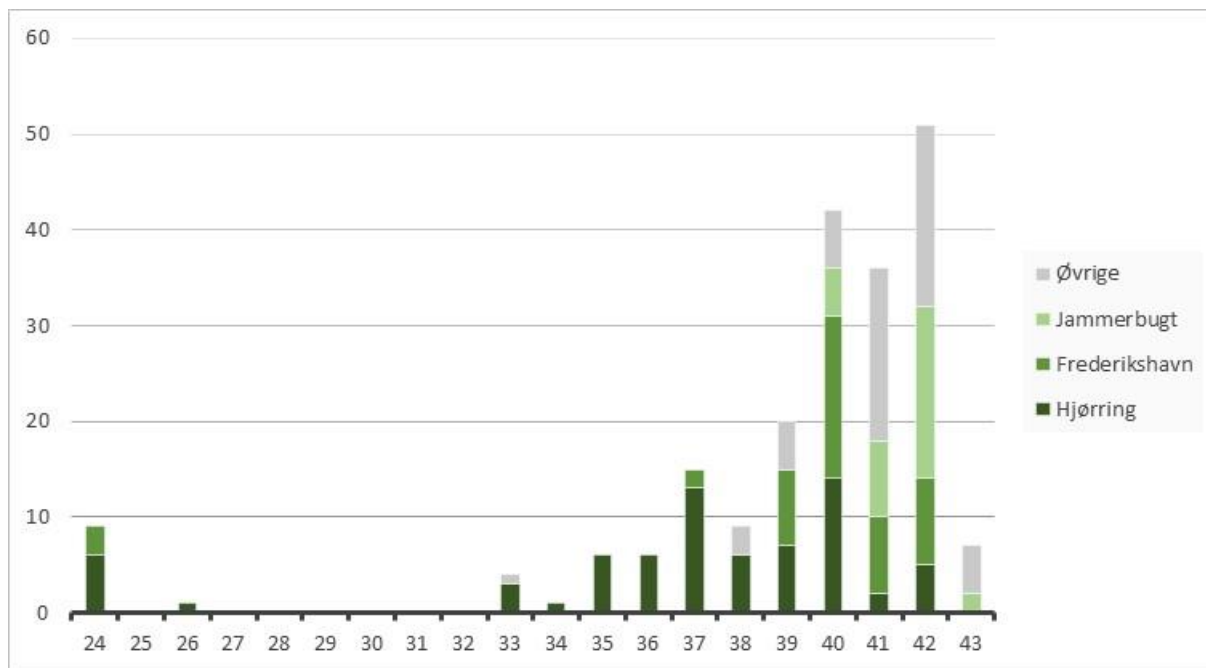
Der er et tidsmæssigt sammenfald i stigningen af antallet af SARS-CoV-2-positive personer med relation til mink (figur 4), stigningen i af antallet af positive minkfarme (figur 2) og stigningen i af antallet af personer smittet med SARS-CoV-2 generelt i Region Nordjylland (figur 3). I august var det 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 tre uger (29/9-22/10) er den geografiske spredning taget til, og SARS-CoV-2 er nu påvist hos minkrelaterede personer i 17 kommuner, samt minkfarme i 12 kommuner (tabel 3).

Sammenlagt er der i hele perioden fra maj til oktober 2020 påvist SARS-CoV-2 hos 35% af de minkrelaterede personer i Hjørring kommune og hos 28% 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. Der er således en stor erhvervs-mæssig risiko forbundet med at være tilknyttet minkproduktion i områder med SARS-CoV-2-positive farme (relativ risiko, tabel 3), og risikoen er højere i områder, hvor SARS-CoV-2 har været tilstede i mink i længere tid, og hvor smittet er mere udbredt mellem minkfarme.

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. 20. oktober 2020.

| Kommune | MINKFARME | | | Dato 1. farm i kommunen | PERSONER MINKRELATERET |
|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------------|--|
| | # positive farme* | # mistænkte farme* | # farme i kommunen | | ADRESSE |
| Hjørring | 41 (59%) | 3 | 69 | 12-08-2020 | # COVID-19-pos (% pos af alle) 70 (35%) |
| Frederikshavn | 32 (56%) | 3 | 57 | 09-09-2020 | 47 (28%) |
| Læsø | 3 (43%) | | 7 | 24-09-2020 | 6 (21) |
| Brønderslev | 10 (43%) | 3 | 23 | 29-09-2020 | 12 (17%) |
| Jammerbugt | 28 (36%) | 3 | 77 | 30-09-2020 | 33 (18%) |
| Ikast-Brande | 2 (8%) | | 24 | 02-10-2020 | 4 (5%) |
| Viborg | 0 | | 19 | 02-10-2020 | 3 (5%) |
| Aalborg | 8 (27%) | | 30 | 05-10-2020 | 5 (5%) |
| Vesthimmerland | 2 (5%) | 2 | 37 | 05-10-2020 | 1 (1%) |
| Ringkøbing-Skjern | 3 (3%) | 3 | 91 | 07-10-2020 | 12 (5%) |
| Struer | 0 | 1 | 37 | 12-10-2020 | 1 (1%) |
| Esbjerg | 1 (2%) | | 60 | 16-10-2020 | 0 |
| Vejle | 1 (3%) | | 32 | 16-10-2020 | 1 (1%) |
| Thisted | 4 (9%) | 8 | 44 | 17-10-2020 | 5 (5%) |
| Skive | 0 | | 15 | | 3 (7%) |
| Aarhus | 0 | | 4 | | 2 (9%) |
| Rebild | 0 | | 16 | | 1 (2%) |
| I alt | 135 (16%)** | 26 | 642 | | 206 (12%) |

* Antallet af smittede og mistanker er gjort op den 22-10-2020. **FVST har fratrukket en nu fritestet farm 4. Den tælles med her, da den har været positiv

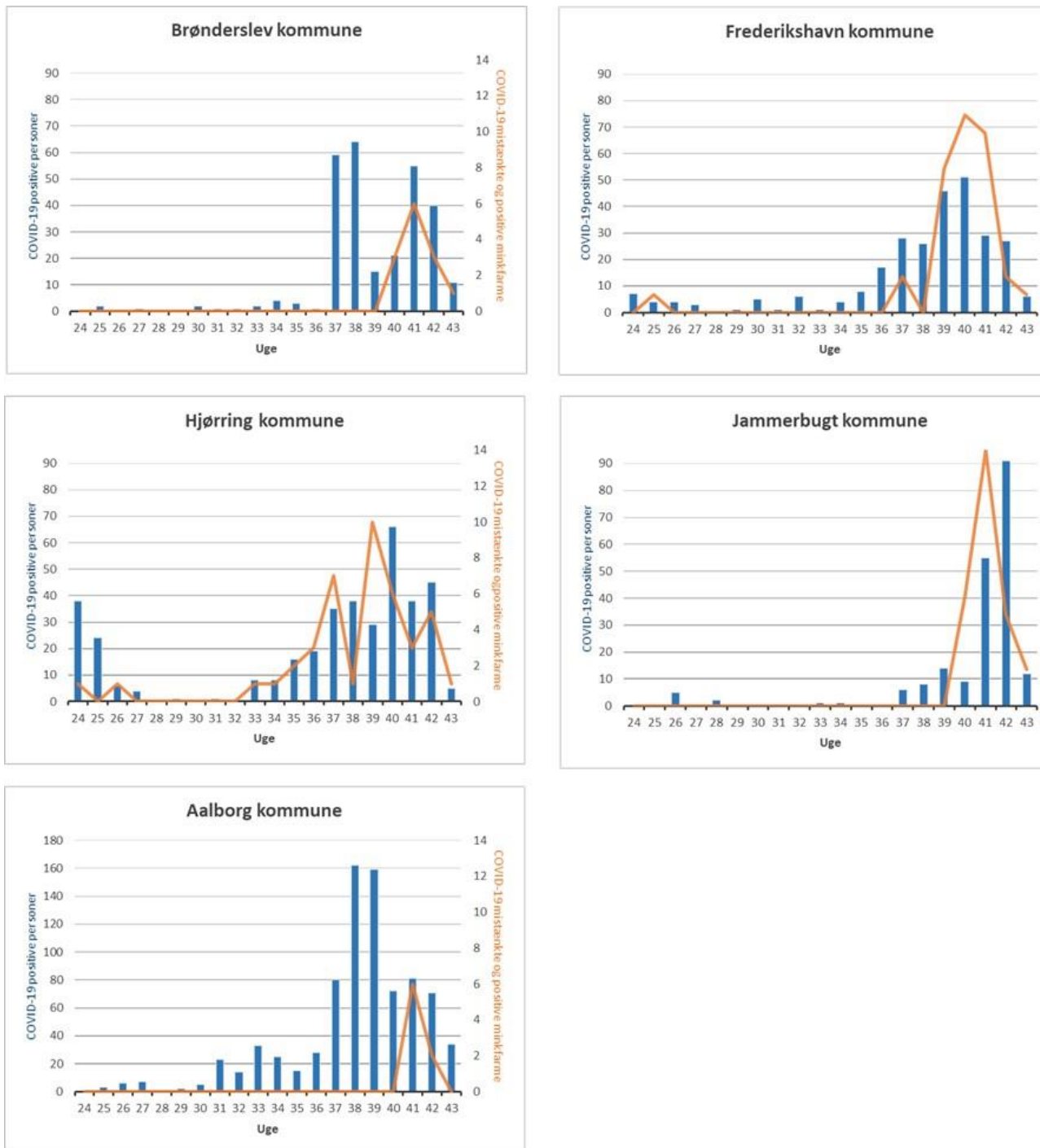


Figur 4: Antal SARS-CoV-2-positive personer (PCR-test) med kendt tilknytning til minkfarme i uge 24-43 fordelt på Hjørring, Frederikshavn, Jammerbugt og øvrige kommuner.

Forekomst af COVID-19 hos indbyggere i udvalgte nordjyske kommuner, sammenlignet med udvikling i antal smittede minkfarme.

Undersøges incidensen per 100.000 i kommunerne, i anden fase af epidemien af SARS-CoV-2 i mink (33-42), ses det at Hjørring kommune (38 positive minkfarme) ligger over landsincidensen i otte ud af ti uger, mens Frederikshavn kommune (25 positive minkfarme) ligger over landsincidensen i syv ud af ti uger. I Esbjerg kommune (én positive minkfarm) er incidensen over landsincidensen i fire ud af ti uger. Tre af disse uger ligger mindst tre uger før der sås smitte på minkfarmen, og den fjerde er samme uge som minkfarmen blev konstateret positiv (uge 42). I Ikast-Brande (to positive minkfarme) overstiger incidensen kun landsincidensen i uge 35, fire uger før den første positive minkfarm i uge 40.

I Brønderslev og Aalborg kommuner steg antallet af personer med bekræftet COVID-19 i ugerne før en eller flere minkfarme i kommunen blev smittet (Fig. 4 og 5). I Aalborg kommune er det meget sandsynligt, at det er andre faktorer end minkavl, der primært driver smittespredningen, og i Brønderslev sås en stigning i COVID-19 i befolkningen i forbindelse med et "Open by night"-arrangement i Dronninglund inden første minkfarm blev smittet. I Hjørring, Frederikshavns og Jammerbugt kommuner sås et tydeligt sammenfald mellem forekomst af SARS-CoV-2 hos mink og mennesker i kommunen. I Jammerbugt kommune, hvor man på Gjøøl har en særlig stor koncentration af minkfarme på et lille areal, har man set en brat stigning i både antal smittede farme og personer, hvilket indikerer at der er en epidemiologisk sammenhæng mellem de to tal. I alt har Jammerbugt kommune haft 220 tilfælde af COVID-19, heraf de 92 tilfælde den seneste uge (SSI Dashboard d 21/10).



Figur 5: Forekomst af SARS-CoV-2 hos hele befolkningen i Hjørring, Frederikshavns, Jammerbugt, Brønderslev og Aalborg kommuner, sammenholdt med forekomst af SARS-CoV-2-smittede minkfarme i samme kommune.

Da der forekom en generel stigning i humane COVID-19 tilfælde i Danmark i august måned (uge 32-35), og de fleste minkfarme indtil videre er fundet COVID-19 positive omkring uge 39 og 40, kan man ikke entydigt konkludere på sammenfaldet mellem forekomsten af COVID-19 positive personer og mink i alle kommuner.

Kliniske symptomer og karakteristika ved minkfarme

Blandt 56 af de smittede farme i anden periode af epidemien havde 9 minkavlere ikke observeret kliniske symptomer eller øget dødelighed blandt minkene på det tidspunkt FVST's dyrlæger foretog mistankebesøg i besætningen, mens 47 minkavlere havde observeret mindst 1 symptom. De symptomer, der oftest var observeret på det tidspunkt mistankebesøget blev foretaget, var manglende ædelyst, øget dødelighed, luftvejssymptomer og næseflåd (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.

Ud af 59 af de smittede farme (fase 2 af epidemien) havde 53 et rent og fungerende forrum, mens 4 ikke havde forrum. Desuden havde 38 el-hegn omkring farmen, mens det på 7 farme blev vurderet at der kunne passere dyr over hegnet (via bevoksning el. lign.), og på 10 farme blev der observeret huller i hegnet.

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 (56 farme) | Observationer angivet ved telefoninterview (20 farme) |
|----------------------------------|---------------------------|---|
| Næseflåd | 21 | 11 |
| Nysen | 14 | - |
| Luftvejssymptomer (inkl. pusten) | 22 | 11 |
| Nedstemthed | 6 | - |
| Manglende ædelyst | 37 | 11 |
| Diarré | 5 | 9 |
| Øget dødelighed | 32 | - |
| Ingen symptomer | 9 | 6 |

Diagnostiske undersøgelser af mink

I størstedelen af de smittede farme er prævalensen af antistofpositive dyr 100% ved første prøveudtagning. Ligeledes er prævalensen af PCR-positive dyr 100% i størstedelen af farmene ved første prøveudtagning. Dette indikerer, at de smittede farme i de fleste tilfælde er gennemsmittede før første prøveudtagning. I kun 5 farme er både prævalensen af PCR positive mink og seroprævalensen lav ved første prøveudtagning, hvilket indikerer, at disse farme er påvist tidligt i infektionsforløbet (farm 2, 54, 65, 92 og 111).

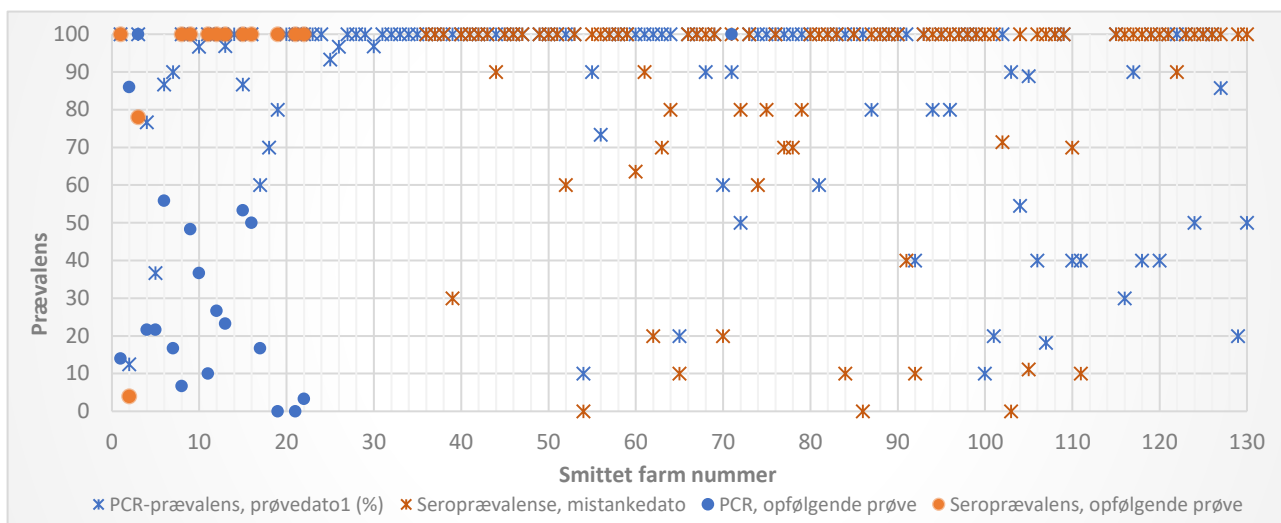
De tre minkfarme, hvori der blev påvist SARS-CoV-2 i den første periode af epidemien, blev alle tre fundet på baggrund af at personer med relation til mink blev fundet positive for SARS-CoV-2. I farm 1 blev SARS-CoV-2 påvist sent i infektionsforløbet, baseret på prævalensen af PCR-positive på prøvedato 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 anden fase af epidemien var der indtil 21-10-2020 udtaget og undersøgt svælgsvaberprøver fra mink på 122 smittede farme¹, hvoraf 78 havde en prævalensen af PCR-positive dyr på 100% ved første prøveudtagning (figur 6). Fra og med farm 36 ændredes prøveudtagningen, således at der blev udtaget prøver til både PCR og serologi ved første prøveudtagning (mistankeprøver). Blandt de 90 minkfarme, hvor der blev udtaget prøver til serologi ved første prøveudtagning, var seroprævalensen 100% i 63 farme

¹ Den 21-10-2020 var i alt 129 minkfarme registreret som smittede, heraf var 3 farme smittet i fase 1 og 4 farme blev anset for at tilhøre samme epidemiologiske enhed som en smittet farm.

på prøveudtagningstidspunktet (tabel 5). 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. I fem farme forventes introduktionen af være sket tættere på påvisning af SARS-CoV-2 i minkene (farm 2, 54, 65, 92 og 111).



Figur 6: Prævalenser af PCR og serologisk positive mink i mistanctankeprøver og opfølgende prøver Beregnet på baggrund af prøver fra levende mink.

Test af prøver udtaget i miljøet på minkfarmene og i andre dyr end mink, hhv. på og uden for farmene

På en enkelt måge skudt på en smittet farm blev SARS-CoV-2 påvist på en prøve fra foden, mens de øvrige prøver fra samme fugl, samt fra en anden måge skudt på samme farm, dødfundne måger fra 2 andre farme og høns testet fra yderligere en farm alle var negative. Fluer fra én smittet farm blev fundet positive for SARS-CoV-2, dog med lave niveauer af virus, mens fluer fra en anden smittet farm var negative. Minkhår indsamlet fra en smittet farm var positive for SARS-CoV-2 i PCR. Prøver udtaget fra foder, rovdyr, rotter og kaniner var alle negative for SARS-CoV-2.

Luftprøver

På 16 minkfarme var der inden 21-10-2020 udtaget luftprøver forskellige steder på farmen. På fem farme blev der fundet positive luftprøver, på fire af disse udelukkende i udåndingsluft (airsamplers få cm fra minkens snude), mens 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 | | | | Positive/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 4 | 0/2 | | | 0/1 | 0/3 |
| Farm 5 | 1/2 | | | 0/1 | 1/3 |
| Farm 6 | 3/4 | 1/4 | 1/1 | 0/1 | 5/10 |
| Farm 7 | 0/4 | 0/4 | 0/1 | 0/1 | 0/10 |
| 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 |
| Farm 19 | 0/2 | 0/2 | 0/1 | 0/1 | 0/6 |
| Farm 21 | 1/3 | 0/2 | | 0/1 | 1/6 |
| Farm 22 | 0/2 | 0/2 | | 0/2 | 0/6 |
| I alt | 9/40 | 1/37 | 1/4 | 0/24 | 11/105 |

*Den ene prøve er taget uden for farmens indhegning

**Begge prøver er taget uden for farmens indhegning

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 (fra batch opbevaret i fryser) 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 farmene 10-17 er der udtaget 3 foderprøver pr. farm. I ingen af disse prøver kunne påvises SARS-CoV-2 ved PCR.

Vildtlevende rovdyr.

Der er undersøgt svaberprøver fra i alt 20 vildtlevende rovdyr indsamlet af jægere i Nordjylland i perioden 01-10-2020 til 06-10-2020. De 20 rovdyr repræsenterer følgende arter: 16 ræve, 1 grævling, 1 mink, 1 husmår og 1 kat. Der er ikke påvist SARS-CoV-2 i prøverne ved PCR.

Desuden er der undersøgt svælgsvabere og blodprøver fra 13 vilde katte fra Nordjylland. Alle prøver har været negative for SARS-CoV-2 i PCR samt negative for SARS-CoV-2 antistoffer i ELISA.

Rotter.

Der er undersøgt fæces, svælgsvaber samt blod fra en enkelt rotte fra smittede farm 19 med negativt resultat i PCR og ELISA.

Kaniner

Svaberprøver udtaget fra 10 levende kaniner og 5 døde kaniner udtaget på farm 19 den 17-09-2020 var alle negative i PCR. Blodprøver fra de levende kaniner var ligeledes serologisk negative. Ved opfølgingsbesøg den 02-10-2020 på farm 19 blev der udtaget nye prøver til undersøgelse. Disse prøver var ligeledes alle negative for virus og antistoffer.

Måger og andre fugle.

En svaberprøve fra foden af en måge skudt den 29-09-2020 på smittet farm 26 er testet positiv for SARS-CoV-2. Svælg, kloaksvabere samt svaber fra fjerdragt fra samme fugl er testet negative i PCR og blodprøve er negativ i ELISA. Tilsvarende prøver fra anden måge skudt samme dag på farmen er alle negative.

Prøver fra dødfundne måger på smittet farm 1 og farm 13 er undersøgt med negativt resultat i PCR. Prøver fra høns udtaget på farm 19 er ligeledes fundet negative ved PCR og ELISA.

Fluer

10 pools af hver 3 fluer indsamlet på smittet farm 58 blev alle fundet positive for SARS-CoV-2 med PCR. Mængden af virus (RNA) der er påvist i fluerne ligger på et lavt niveau. Fluerne var indfanget den 10-10-2020 i hal med mink eller ca. 25 meter fra mink (men inden for hegnet på farmen). Fluer fra farm 19 er undersøgt i PCR med negativt resultat.

Minkhår

Minkhår indsamlet på smittet farm 58 den 10-10-2020 er fundet positivt for SARS-CoV-2. Den største mængde af virus (målt ved PCR) er påvist i nogle af hårprøverne indsamlet under 1 meter fra dyret, især på hår der var klistret til halm. I minkhår indsamlet 4-5 meter fra dyrene, er niveauet 100-1000 gange lavere end i de hår, med størst mængde virus påvist, der er indsamlet tæt på dyrene. Halm iblandet minkhår indsamlet 06-10-2020 fra smittet farm 61 er ligeledes fundet positivt ved PCR.

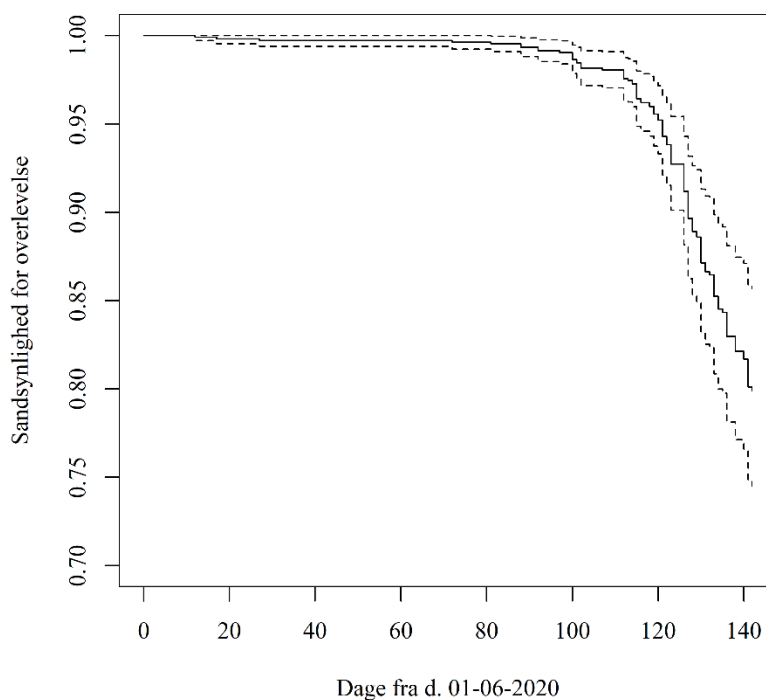
Overlevelsesanalyse

Resultater fra overlevelsesanalysen viste, at for minkfarme i Region Nordjylland er der signifikant større risiko for at blive smittet med SARS-CoV-2, hvis besætningen ligger tæt ved en smittet minkfarm (tabel 7, figur 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 nærmest smittede farm og størrelse af farmen, dvs. at betydningen af tæthed ikke ændres med stigende farmstørrelse. Modellen forklarede 56% af variationen i datasættet. Medianen (5-95-percentiler) for afstand fra ikke-smittede minkfarme til nærmeste smittede minkfarm var 5 km (0,3-24), mens medianen for afstanden fra smittede farme til nærmeste smittede var 1,1 km (0,06-6). Smittede minkfarme havde som median 9000 mink (703-30.000), mens ikke-smittede minkfarme i området i medianen havde 6000 mink (1-22.144).

Tabel 7: Resultater af overlevelsesmodel med besætningsstørrelse og afstand til nærmeste smittede farm som sign. risikofaktorer (baseret på data for Region Nordjylland frem til 27-10-2020).

| Risikofaktor | Koefficient | Eksponentiel koefficient | p-værdi |
|---|-------------|--------------------------|---------|
| Besætningsstørrelse | 0.000028 | 1.000028 | <0.0001 |
| Log(Afstand til nærmeste smittede minkfarm) | -20.78 | $9.5 \cdot 10^{-10}$ | <0.0001 |
| Kvdr(Log(Afstand til nærmeste smittede minkfarm)) | -11.55 | $9.6 \cdot 10^{-6}$ | <0.0001 |



Figur 7: Sandsynlighed for at der IKKE påvises SARS-CoV-2 i minkfarme i region Nordjylland over tid, startende fra 01-06-2020.

Fylogenetiske analyser på mink

Som et resultat af den fylogenetiske analyse var det muligt visuelt at identificere 7 clustre (grupperinger, figur 8), med geografiske fordeling af clustrene i Vendsyssel vist i bilag 1 figur E, F og G. I alt 13 nye sekvenser fra personer med kendt eller formodet mistanke til farme er inkluderet i det viste fylogenetiske træ (Figur 8; blå cirkler). Nogle af sekvenserne fra samme farm 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 genet (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 både i cluster 2, 3 og 4. Smitte med virus-typerne fra cluster 1, 2, 3, 4 og 5 ses også blandt personer. Sekvenser fra Farm 110 i Cluster 6 og Farm 111 i Cluster 7 er ulig de tidligere sete sekvenser og har heller ikke de signaturmutationer der ses i disse. Der er derfor tale om nye uafhængige introduktioner af SARS-CoV-2 i mink på disse farme.

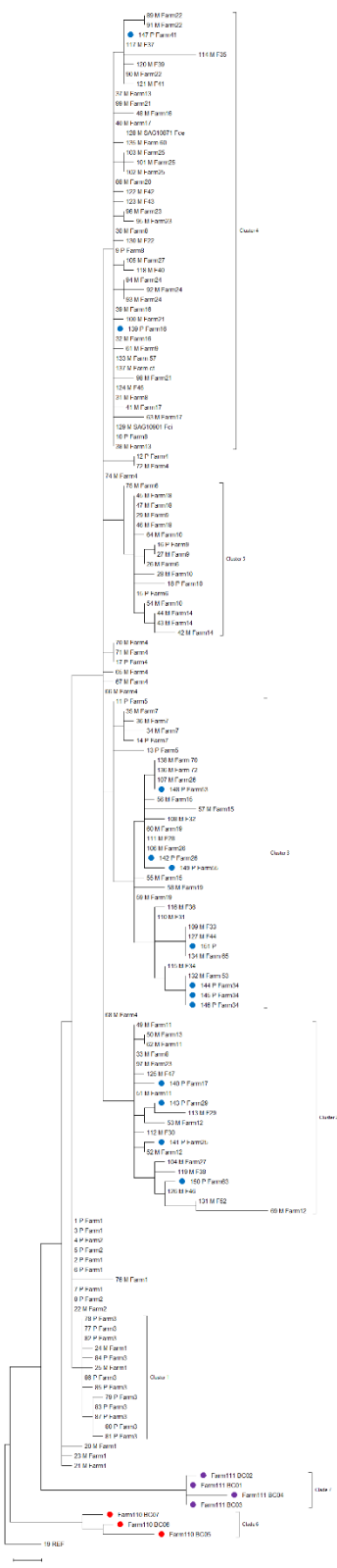
Fuldgenomsekvenserne viser en række mutationer, som genfindes i både mink og personer relateret til minkfarmene og i lokalområdet efter 10. juni 2020. De mest markante ændringer er mutationen i det receptorbindende domæne i Spike-proteinet (A22920T; Y453F) samt deletionen af to aminosyrer i Spike proteinet på den genomiske 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 alle farmene i cluster 2, 3, 4 og 5 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 Nederlandene². Det kan ud fra fylogeni 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.

² 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 (fra cluster 1,2,3,4,5) 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. De nye minksekvenser i cluster 6 og cluster 7 tilhører hhv. 20A og 20B efter Nexstrain clade navngivningen.



Figur 8: Det fylogenetiske træ viser sekvenser fra Mink (M) og Personer (P), Personer med kendt eller formodet epidemiologisk forbindelse til farmene er markeret med en blå cirkel. Sekvenserne er fra farmene 1-72 (ikke kontinuert, da visse farme mangler). Minksekvenser fra Farm 110 er markeret med røde cirkler og minksekvenser fra Farm 111 er markeret med lilla cirkler.

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 antistofundersøgelse.

I anden fase af epidemien påvises høje prævalenser af PCR positive mink i størstedelen af farmene på det tidspunkt, virus påvises første gang. Dette skyldes formodentlig at udviklingen af infektionen inden for minkfarmene er hurtig. Over tid ser prævalensen af PCR-positive ved første prøveudtagning ud til at stige, ligesom der i en stor del af farmene 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, har medført 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 hos mink.

De fylogenetiske analyser viser begyndende udspaltninger i nye under-clustre både i cluster 2, 3 og 4, hvilket viser at virus fortsat udvikler sig, og at en ny clusterklassifikation kan blive nødvendig. 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 mink-varianterne, har vi ikke datagrundlag for at vurdere, om sprednings- og udviklingshastigheden af andre typer svarer til minkvarianterne.

Den fylogenetiske analyse for farm Farm 110 (i Cluster 6) og Farm 111 (i Cluster 7) viser at sekvenserne er ulig de tidligere minkvarianter og har heller ikke de signaturmutationer der ses i disse. Der er derfor tale om nye uafhængige introduktioner af SARS-CoV-2 i minkbesætningerne på disse to farme.

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.

I prædiktioner af antallet af smittede minkfarme blev farme, der på analysetidspunktet var under mistanke som følge af early warning eller klinisk mistanke inkluderet i modellen, fordi det forventes, at disse farme er smittede, men deres smittestatus er ikke endnu afklaret på grund af ressourceprioriteringer. Dette betyder, at der ses flere prædikterede smittede farme end det antal, der faktisk er registreret (fig 2 og bilag 1 figur D).

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 til og med 21-10-2020, dvs. at de minkfarme hvori der var påvist SARS-CoV-2 blev anset for positive fra første mistankedato, mens alle øvrige minkfarme i Nordjylland blev anset for negative i hele perioden (01-06-2020 - 21-10-2020). Også i denne analyse blev farme, der på analysetidspunktet var under mistanke som følge af early warning eller klinisk mistanke inkluderet i modellen, fordi det forventes, at disse farme er smittede, men deres smittestatus er ikke endnu afklaret på grund af ressourceprioriteringer. 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. Grundet påvisning af SARS-CoV-2 på en mågefod er der dog iværksat nedskydning og test af flere måger omkring smittede minkfarme. Og af samme grund vurderes det nu for *usandsynligt* (1-10%) at måger eller andre fugle har spredt SARS-CoV-2 mellem danske minkfarme.

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 farme.

I de seneste uger er der observeret en stigning i den andel minkvarianten udgør af de sekventerede prøver. Der bliver aktuelt ikke foretaget selektion af, hvilke prøver der bliver sekventeret og med forbehold for at antallet af sekventerede prøver i de seneste uger udgør en lille del af det samlede antal positive prøver, må de forventes at udgøre en rimelig repræsentation af det totale antal positive prøver. Personer med relation til mink opfordres til at lade sig teste ugentligt, hvorfor der også må forventes at være en større sandsynlighed for at eventuelle minkrelaterede personer uden symptomer bliver fundet positive. Personer med tilknytning til minkproduktion lader sig teste oftere, 59% er blevet testet en eller flere gange, end befolkningen som helhed, hvor 47% er blevet testet en eller flere gange (opgjort d. 22/10). Man vil derfor kunne forvente, at minkvarianten fremstår som lidt hyppigere end den reelt er. På den anden side udgør personer med minktilknytning en meget lille del af befolkningen, langt under 1% i Region Nordjylland.

Listen over personer med relation til mink er unøjagtig, da den dels mangler informationer om personer der færdes på minkbesætninger, men ikke er bosiddende på farmen, dels indeholder personer som har relation til en farm, f.eks. ved ejerskab, men aldrig færdes på farmen. Dette kan give bias i forhold til beregninger af risikoen for personer med relation til mink. Desuden kan disse fejl i listen både medføre en reduceret effekt af denne del af udpegningen af mistankebesætninger, ligesom det kan føre til udpegning af minkfarme som potentielle mistankebesætninger uden at de efterfølgende sættes under offentligt tilsyn (OT) og registreres som mistankerbesætninger. Ved enhver potentiel mistanke foretages i Fødevarestyrelsen en indledende undersøgelse af baggrunden for henvendelsen, og mistanker der ikke kan afvises ved denne indledende undersøgelse registreres og sættes under OT.

Der er et tidsmæssigt sammenfald i stigningen af antallet af SARS-CoV-2-positive personer med relation til mink (figur 4), stigningen i af antallet af positive minkfarme (figur 2) og stigningen i af antallet af personer smittet med SARS-CoV-2 generelt i Region Nordjylland (figur 3). I kommuner med mange, og tætliggende minkfarme ses et sammenfald mellem udvikling i antal SARS-CoV-2-smittede borgere og minkfarme, mens et tilsvarende sammenfald ikke var tydeligt i kommuner med større byer, uddannelsesinstitutioner, hospitaler og andre faktorer, der er kendt for at kunne drive COVID-19-udbrud i befolkningen. Sekvensdata fra flere humane prøver vil kunne bidrage til at belyse indflydelsen af henholdsvis smittede minkfarme og andre smitekilder.

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. Foreløbige undersøgelser på SSI har vist, at virus med den initiale mutation stadig er følsom overfor de neutraliserende antistoffer fra COVID-19 patienter og fra kaniner vaccineret med en COVID-forsøgsvaccine, så denne ene mutation synes derfor ikke bekymrende med hensyn til resistens overfor neutraliserende antistoffer. De øvrige SARS-CoV-2 varianter (fundet hos mink og hos personer med tilknytning til minkfarmene) testes nu på tilsvarende måde på SSI, men resultater af dette foreligger

endnu ikke. Der er en teoretisk mulighed for at effekten af spike-baserede COVID-19-vacciner kan være påvirket, når der sker ændringer i denne del af arvematerialet. Selvom man for nuværende ikke med sikkerhed kan sige, hvad betydningen af de observerede mutationer har for folkesundheden, giver de anledning til en generel bekymring om udvikling af mutationer af SARS-Cov 2 i minkbestanden. Den fortsatte udvikling af virus i mink med flere og flere mutationer i spikeproteinet og spredning ved videresmitte til mennesker i Danmark, kan derfor udgøre en potentiel fare for folkesundheden.

References:

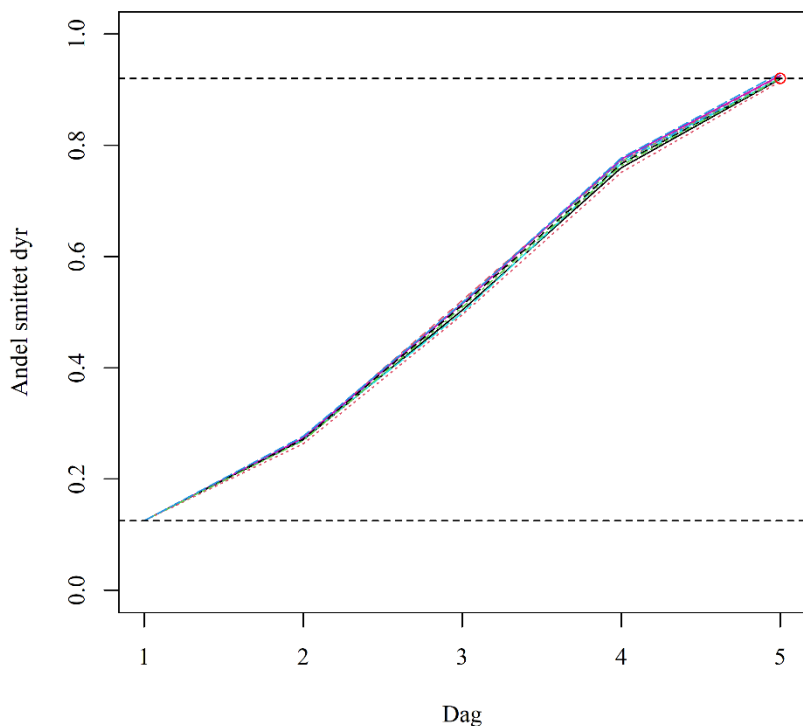
Dardis C, 2018. survMisc: Miscellaneous Functions for Survival Data. R package version 0.5.5.
<https://CRAN.R-project.org/package=survMisc>

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

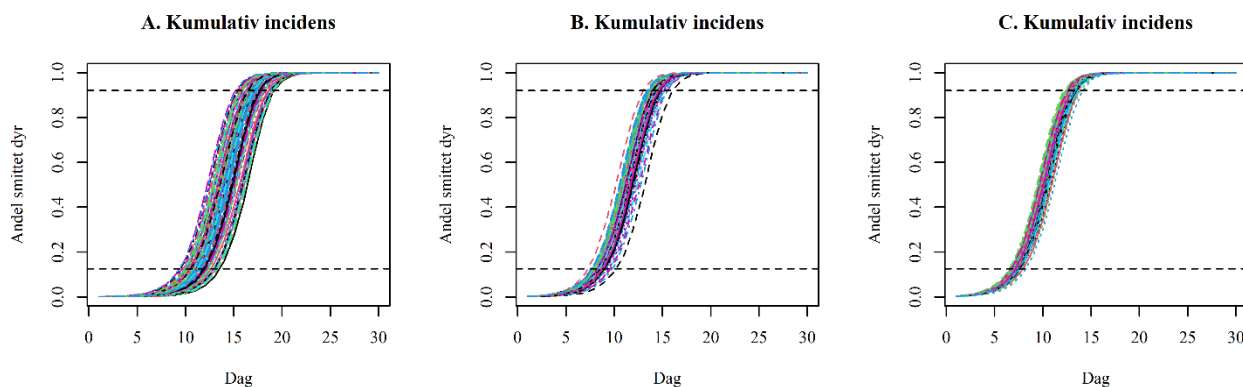
R Core Team, 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

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

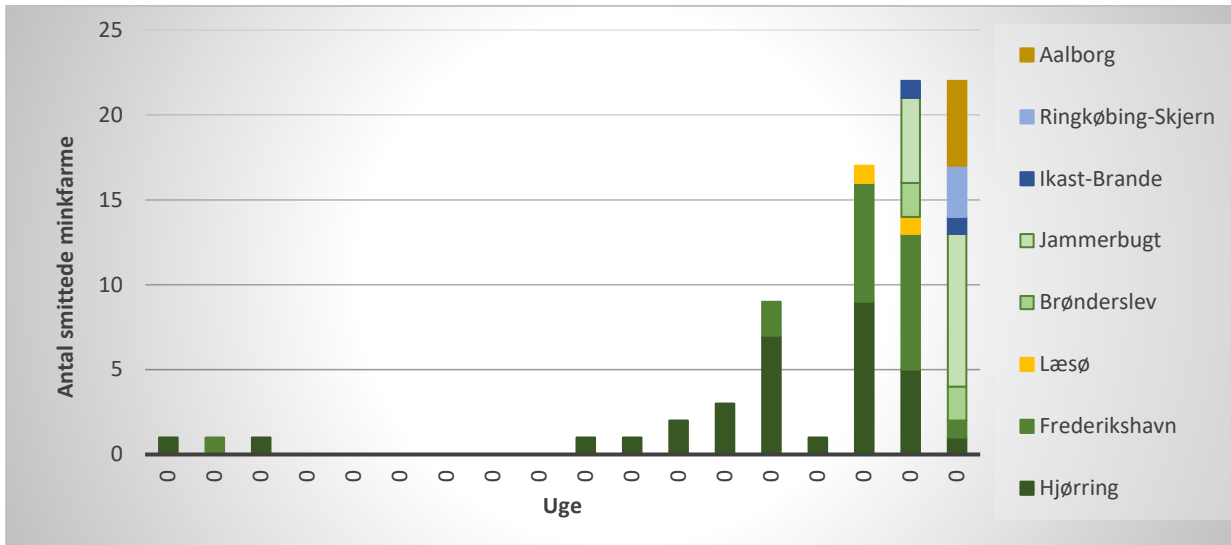
Bilag 1:



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 (β) på 1,45.

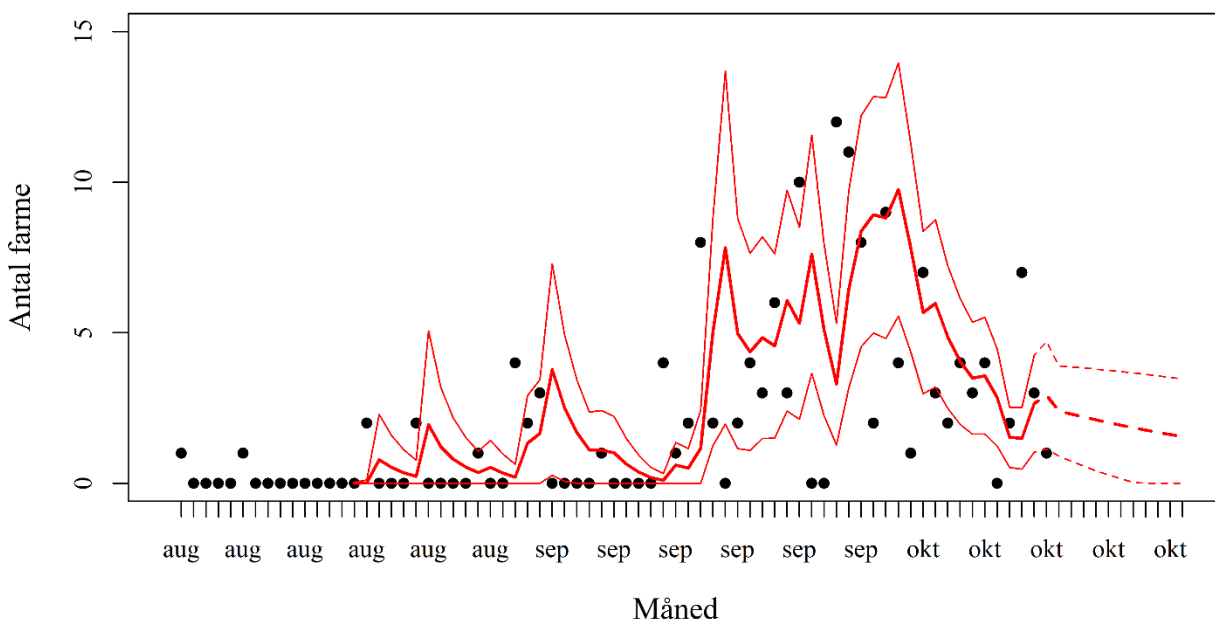


Figur B: Simulerede kurver over kumulativ incidens af PCR-positive i en farm svarende til farm 2. Fra venstre mod højre er epidemien startet i hhv. 1, 5 eller 10 mink. De vandrette linjer angiver en prævalens på hhv. 12,5% og 92%.



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.

Antal smittet minkfarme



Figur D: Udvikling i antallet af smittede danske minkfarme hvori der er påvist SARS-CoV-2 i ugerne 24 til 43 (21-10-2020), samt prædiktion af epidemien over de kommende 7 dage. Der er i modellen ikke taget højde for den geografiske fordeling af minkfarme.



Figur E: Geografisk placering af minkfarme i Midtjylland smittet med SARS-CoV-2 tilhørende forskellige fylogenetiske clustre (Figur 8). Grå farme er ikke sekventeret.

Figur F: Geografisk placering af minkfarme i Jylland, omkring Limfjorden, smittet med SARS-CoV-2 tilhørende forskellige fylogenetiske clustre (Figur 8). Grå farme er ikke sekventeret.



Figur G: Geografisk placering af minkfarme i Nordtjylland, nord for Limfjorden, smittet med SARS-CoV-2 tilhørende forskellige fylogenetiske clustre (Figur 8). Grå farme er ikke sekventeret.

Tabel A1: PCR- og antistofprævalenser 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 (%) | Antistofprævalens, prøvedato1 (farm 1-35) eller prøvedato2 (farm 36-) |
|------|---------------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---|
| 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 | 13 | 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 | 100 | 6.7 | 100 |
| 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 | 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 | 100 |
| 17 | Early warning - runde 3 | 11-09-2020 | 25-09-2020 | 60 | 16.7 | |
| 18 | COVID-19 positiv person | 15-09-2020 | | 70 | | |
| 19 | Early warning - runde 3 | 15-09-2020 | 02-10-2020 | 80 | 0 | 100 |
| 20 | COVID-19 positiv person | 17-09-2020 | | 100 | | |
| 21 | Klinisk mistanke | 22-09-2020 | 01-10-2020 | 100 | 0 | 100 |
| 22 | Klinisk mistanke | 22-09-2020 | 01-10-2020 | 100 | 3.3 | 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 | | 97 | | |
| 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 |
| 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 | | 90 |
| 45 | Klinisk mistanke | 01-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 46 | Klinisk mistanke | 01-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 47 | Klinisk mistanke | 01-10-2020 | | 100 | | 100 |

| Farm | Mistanke opstået på baggrund af | Prøvedato1, mistanke | Prøvedato2, opfølgning | PCR-prævalens, prøvedato1 (%) | PCR-prævalens, prøvedato2 (%) | Antistofprævalens, prøvedato1 (farm 1-35) eller prøvedato2 (farm 36-) |
|------|---------------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---|
| 48 | Kontaktbesætning** | 01-10-2020 | | | | |
| 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 | Early warning - runde 4 | 02-10-2020 | | 10 | | 0 |
| 55 | Klinisk mistanke | 05-10-2020 | | 90 | | 100 |
| 56 | Early warning - runde 4 | 05-10-2020 | | 73.3 | | 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 | Kontaktbesætning | 07-10-2020 | | 20 | | 10 |
| 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 | Kontaktbesætning | 08-10-2020 | | 60 | | 20 |
| 71 | Klinisk mistanke | 08-10-2020 | | 90 | 100 | 100 |
| 72 | COVID-19 positiv person | 08-10-2020 | | 50 | | 80 |
| 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 |
| 82 | Klinisk mistanke | 12-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 83 | Klinisk mistanke | 12-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 84 | Early warning - runde 4 | 12-10-2020 | | 100 | | 10 |
| 85 | Early warning - runde 4 | 12-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 86 | Klinisk mistanke | 12-10-2020 | | 100 | | 0 |
| 87 | Klinisk mistanke | 12-10-2020 | | 80 | | 100 |
| 88 | Klinisk mistanke | 12-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 89 | Early warning - runde 4 | 12-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 90 | Klinisk mistanke | 12-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 91 | COVID-19 positiv person | 13-10-2020 | | 100 | | 40 |
| 92 | COVID-19 positiv person | 13-10-2020 | | 40 | | 10 |
| 93 | Kontaktbesætning | 13-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 94 | Kontaktbesætning | 13-10-2020 | | 80 | | 100 |
| 95 | COVID-19 positiv person | 13-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 96 | Early warning - runde 4 | 13-10-2020 | | 80 | | 100 |
| 97 | Klinisk mistanke | 14-10-2020 | | 100 | | 100 |

| Farm | Mistanke opstået på baggrund af | Prøvedato1, mistanke | Prøvedato2, opfølgning | PCR-prævalens, prøvedato1 (%) | PCR-prævalens, prøvedato2 (%) | Antistofprævalens, prøvedato1 (farm 1-35) eller prøvedato2 (farm 36-) |
|------|---------------------------------|----------------------|------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---|
| 98 | Klinisk mistanke | 14-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 99 | Early warning - runde 4 | 14-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 100 | COVID-19 positiv person | 14-10-2020 | | 10 | | 100 |
| 101 | COVID-19 positiv person | 14-10-2020 | | 20 | | 100 |
| 102 | Early warning - runde 4 | 14-10-2020 | | 100 | | 71.4 |
| 103 | Kontaktbesætning | 15-10-2020 | | 90 | | 0 |
| 104 | COVID-19 positiv person | 15-10-2020 | | 55 | | 100 |
| 105 | Klinisk mistanke | 15-10-2020 | | 89 | | 11.1 |
| 106 | COVID-19 positiv person | 15-10-2020 | | 40 | | 100 |
| 107 | Early warning - runde 3 | 15-10-2020 | | 18 | | 100 |
| 108 | COVID-19 positiv person | 15-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 109 | Kontaktbesætning | 15-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 110 | Early warning - runde 4 | 16-10-2020 | | 40 | | 70 |
| 111 | COVID-19 positiv person | 16-10-2020 | | 40 | | 10 |
| 112 | Klinisk mistanke | | | | | |
| 113 | Klinisk mistanke | | | | | |
| 114 | Kontaktbesætning | | | | | |
| 115 | Kontaktbesætning | 19-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 116 | Early warning - runde 4 | 19-10-2020 | | 30 | | 100 |
| 117 | Kontaktbesætning | 19-10-2020 | | 90 | | 100 |
| 118 | Early warning - runde 2 | 19-10-2020 | | 40 | | 100 |
| 119 | Early warning - runde 4 | 19-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 120 | Early warning - runde 4 | 16-10-2020 | | 40 | | 100 |
| 121 | Kontaktbesætning | 16-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 122 | Klinisk mistanke | 16-10-2020 | | 100 | | 90 |
| 123 | Early warning - runde 4 | 16-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 124 | Early warning - runde 4 | 16-10-2020 | | 50 | | 100 |
| 125 | Klinisk mistanke | 16-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 126 | COVID-19 positiv person | 16-10-2020 | | 100 | | 100 |
| 127 | COVID-19 positiv person | 16-10-2020 | | 86 | | 100 |
| 129 | Early warning - runde 4 | 16-10-2020 | | 20 | | 100 |
| 130 | Early warning - runde 4 | 19-10-2020 | | 50 | | 100 |

Bilag 2: Er vedlagt rapporten som pdf og beskriver tidsforløbet for hver enkelt farm (farm 1-135).

Øverste række angiver den estimeret tid fra tidligste til seneste virus introduktion i besætningen, dernæst til mistanke og endelig til påvisning af SARS-CoV-2 i mink. Den lysteste fare angiver den periode hvori virus kan være introduceret, den lidt mørkere farve angiver "high risk period" (HRP), dvs. perioden fra besætningen er smittet til der oprettes en mistanke, dernæst følger en lidt mørkere periode fra mistanke til påvisning, og endelig er den mørke periode fra påvisning til aflivning eller dags dato. I tilfælde hvor mistanke og påvisning er samme dato, er mistanken angivet som en prik under baren.

Farverne på barerne angiver hvilken cluster virus tilhører, for de farme der er sekventeret prøver fra. Fra nogle få farme er flere virus clustre påvist. I så fald er farmen udelukkende talt med under clusteret med lavest værdi. Følgende clustre er beskrevet: cluster 1 ■, cluster 2 ■, cluster 3 ■, cluster 4 ■, cluster 5 ■, cluster 6 ■, cluster 7 ■. Farme, der ikke er sekventeret prøver fra, er angivet med grå barer. I figurerne, der samler hver cluster er kommunen farmene er beliggende i angivet med samme baggrundsfarve.

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.