Sytuacja epizootyczna choroby aleuckiej nerek w Polsce w świetle wyników badań serologicznych i molekularnych¹⁾

JAN SIEMIONEK, MAGDALENA ZAŁĘSKA-WAWRO, KONRAD PRZYWARA*,
BOLESŁAW GAŚIOREK, ANNA SZCZERBA-TUREK, WOJCIECH SZWEDA

Katedra Epizootologii, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,
ul. M. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn

*Gabinet weterynaryjny Konrad Przywara, ul. Legnicka 8, 59-230 Prochowice

Otrzymano 12.04.2017

Zaakceptowano 13.06.2017

Siemionek J., Załęska-Wawro M., Przywara K., Gaśiorek B., Szczerba-Turek A., Szweda W.

Occurrence of Aleutian mink disease in selected national mink farms in light of serological and molecular investigations

Summary

The aim of the study was to evaluate the prevalence of seroreagents to Aleutian mink disease virus (AMDV) in minks. Sera samples from 1233 minks were tested by CIEP. The antibodies against AMDV were not found in the mink farms which continued the AMD eradication program. In farms where the eradication program had not been implemented a bad epizootic situation was detected. The percentage of seroreagents between 33.3% and 97.8% was noticed: in females 33.3% to 91.8% whereas in males it ranged from 61.5% to 97.8%. The PCR method was used in 101 spleen samples to detect the presence of 11 new nucleotide sequences of VP2 gene, encoding the capsid protein of AMDV. All 11 amplicons are new variants of the VP2 AMDV gene isolated from minks in Poland.

Keywords: prevalence, AMDV, mink, Poland, CIEP, PCR

Choroba aleucka nerek (Aleutian Mink Disease – AMD) ma ogromny wpływ na zdrowotność nerek na całym świecie oraz powoduje duże problemy w gospodarce rolnej państw, gdzie hodowla nerek stanowi ważny dział tej gospodarki (4, 10, 21). AMD najczęściej przebiega bezobjawowo (314), choć w przebiegu zakażenia obserwowano zaburzenia rozrodu, zmiany w okrywie włosowej oraz zmniejszenia przyrostów masy ciała (7, 29). Klinicznie przebiega jako zapalenie płuc szczeniąt, zapalenie nerek lub mózgu, prowadząc do śmierci (2, 16, 21).

Zwalczanie choroby jest utrudnione z powodu powszechnego występowania na świecie zakażeń wirusem choroby aleuckiej nerek (AMDV). Jedynym sposobem eradykacji jest eliminacja nerek zakażonych (10, 17). Próby opracowania skutecznej immunoprophylaktyki swoistej kończyły się dotychczas niepowodzeniem (1, 8). Zwalczanie AMD oparte jest głównie na wykorzystaniu immunoelektroforezy przeciwpądowej (CIEP), w której występuje zjawisko precypi-

tacji zachodzące pomiędzy antygenem a obecnymi w surowicy przeciwciałami swoistymi dla AMDV (10, 14). Kontynuowane są badania nad wdrożeniem udoskonalonych testów ELISA (4, 20) oraz próby opracowania nowych, czulszych metod molekularnych (17, 25, 27). Wynikają one m.in. z faktu występowania zakażeń parwowirusowych u ludzi (5, 18) oraz możliwości ewolucji i powstawania klonów AMDV (6, 7). Istnieją ponadto uzasadnione obawy szerzenia się zakażeń AMDV nie tylko wśród nerek hodowlanych i dzikich, ale również u innych gatunków, np. takich jak: łasica, skunks, szop, ryś rudy, jenot, które mogą być rezerwuarami AMDV (12, 15, 23). W Polsce badania naukowe nad występowaniem AMDV są bardzo nieliczne, dlatego na podkreślenie zasługują wyniki badań zespołu Reichert-Kostro (28, 29).

Celem badań było określenie występowania AMD w wybranych stadach nerek hodowlanych testem CIEP, opracowanie i określenie przydatności metody PCR do diagnostyki AMDV oraz wykazanie nowych sekwencji nukleotydowych genu VP2 wirusa w krajowych stadach nerek hodowlanych.

¹⁾ Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego nr N N308 586240 ze środków Narodowego Centrum Nauki.

Materiał i metody

Do badań serologicznych pobrano krew od 1233 samic i samców nerek, różnych odmian, w wieku 2-5 lat. Badane norki pochodziły z 6 stad podstawowych nerek hodowlanych, liczących po 2500-4500 zwierząt, w których sytuacja epizootyczna AMD była zróżnicowana. Przed podjęciem badań na podstawie wywiadu epizootologicznego badane stada przyporządkowano do grupy o zbliżonym statusie epizootycznym. Farmy A, B, C kontynuowały program zwalczania AMD, farmy grupy II wdrożyły w trakcie badań, a farmy grupy III nie realizowały żadnego programu zwalczania AMD.

W grupie I badano 250 nerek (125 samic i 125 samców) z farmy A, 240 samic z farmy B oraz 120 nerek (60 samic i 60 samców) z farmy C. W grupie II badano 229 nerek (138 samic i 91 samców) z farmy D, W grupie III – 264 norki z farmy E (219 samic i 45 samców) oraz 120 samic z farmy F. Próbkę badano testem CIEP, zgodnie z powszechnie przyjętą metodyką (10). Liczba pobranych próbek w fermach A, B, D, E stanowiła 10% badanej populacji i 5% w fermach C, E. Pobierano je losowo od nerek umieszczonych w różnych sektorach produkcyjnych ferm będących obiektem badań.

Norki do przeprowadzenia badań molekularnych otrzymano z 6 krajowych stad nerek hodowlanych w okresie skórowania lub po ich nagłej śmierci. Do badań metodą PCR pobrano próbki śledziny od 101 nerek. DNA izolowano przy użyciu zestawu Genomic Mini wg zaleceń producenta. DNA odpowiednio zabezpieczony przechowywano do dalszych badań.

Ponadto do badań metodą PCR pobrano 30 próbek (sterylnych wymazów) z powierzchni klatek, maszyn, pomieszczeń gospodarczych i ziemi z farmy po likwidacji stada nerek. Zaburzenia rozrodu oraz wyniki badań testem CIEP wykazujące 74% zakażeń AMDV, skłoniły właściciela do likwidacji w 2014 r. całego kilkutysięcznego stada. Ferma w czasie badań przez cały rok nie była zasiedlona nowym stadem nerek.

PCR przeprowadzono w celu amplifikacji fragmentu genu VP2 o długości 647 par zasad. Do jej wykonania użyto pary starterów swoistych 5'-CTT GTC ACG CTA CTA GAA TGG T-3' oraz 5'-AGC TTA AGG TTA GTT TAC ATG GTT TAC T-3' (24). DNA amplifikowano w PCR w 40 cyklach przez 1 min. w 95°C, 1 min. w 50°C i 1,5 min. w 72°C, z końcówą 7 min. elongacją w 72°C, w termocyklerze. Produkty amplifikacji DNA oczyszczano przy użyciu zestawu komercyjnego wg zaleceń producenta, a uzyskane produkty poddano sekwencjonowaniu w firmie Genomed S.A.

Wyniki i omówienie

Wyniki badań serologicznych stad nerek przyporządkowanych do grupy I były bardzo zróżnicowane. W fermie A u żadnej z 250 badanych nerek nie wykryto obecności przeciwciał swoistych dla AMDV. Norki pochodziły z fermy wolnej od AMDV, która była następnie kilkakrotnie monitorowana serologicznie i nie wykazano żadnych seroreagentów. W fermach B i C także nie wykazano przeciwciał dla AMDV. W stadach tych nie kupowano w ostatnich 4 latach nowych zwierząt. W grupie II, w fermie D wykazano obecność przeciwciał swoistych u 104 samic (75,4%) oraz u 56 samców (61,5%). W grupie III, w fermie E stwierdzono swoiste dla AMDV przeciwciała u 201 samic (91,8%) i 44 samców (97,8%), natomiast w fermie F u 40 (33,3%) spośród 120 badanych samic (tab. 1).

W badaniach molekularnych wykryto 11 nowych sekwencji nukleotydowych genu VP2, kodującego białko kapsydu AMDV. Wszystkie 11 amplikonów to nowe warianty genu VP2 AMDV wyizolowane od nerek hodowlanych w Polsce po raz pierwszy. Uzyskane sekwencje zostały umieszczone w bazie National Center for Biotechnology Information, US National Library of Medicine. Wyniki badań archiwizowano przy użyciu systemu do dokumentacji GelDoc firmy BioRad.

Wyniki badania testem PCR 30 próbek pobranych z powierzchni klatek, sprzętu, maszyn, pomieszczeń gospodarczych i ziemi spod klatek nie wykazały obecności DNA AMDV w żadnej z badanych próbek. Odmienne wyniki uzyskali Prieto i wsp. (24), badając próbki środowiskowe w stadach zakażonych AMDV, o różnej sytuacji epizootycznej. Stosując metodę qPCR, wykazali, że 93,9% próbek środowiskowych w stadach zakażonych AMDV była dodatnia. W gospodarstwie, w którym pracownicy obsługiwali dodatkowo zakażone stado w innej fermie, wykryto DNA AMDV m.in. na powierzchni mebli w pokoju socjalnym, na odzieży i na samochodzie wiozącym od gospodarstwa do gospodarstwa pokarm dla nerek. Wyniki tych autorów wskazują na znaczną kontaminację środowiska, co należy uwzględnić w opracowaniu programów zwalczania AMDV.

W świetle powyższego można przypuszczać, że ponowne zasiedlenie fermy, po wykonaniu odpowiednich zabiegów sanitarno-weterynaryjnych, nowym stadem nerek, pochodzącym z fermy wolnej od AMD może –

Tab. 1. Wyniki badań testem CIEP krajowych stad nerek hodowlanych na obecność przeciwciał swoistych dla AMDV

Grupa	Realizacja programu zwalczania AMD	Stado nerek	Liczba nerek badanych	Liczba samic/samców	Wyniki dodatnie w teście CIEP				Średni współczynnik przewalencji
					samice		samców		
					liczba	%	liczba	%	
I	Program zwalczania AMD od 5 lat	A	250	125/125	125	0%	125	0%	0%
		B	240	240	240	0%	nb	nb	0%
		C	120	60/60	60	0%	60	0%	0%
II	Program zwalczania AMD wdrożony w trakcie badań	D	229	138/91	104	75,4%	56	61,5%	69,9%
III	Nie realizowano programu zwalczania AMD	E	264	219/45	201	91,8%	44	97,8%	92,8%
		F	120	120	40	33,3%	nb	nb	33,3%

Objaśnienie: nb – nie badano

ale nie musi zapobiec kontaminacji środowiska AMDV. W przypadku podjęcia takiej decyzji zaleca się jednak szczególną ostrożność. Należy rygorystycznie przestrzegać standardów sanitarno-weterynaryjnych, zarządzać odpowiednio stadem, monitorować sytuację epizootyczną AMD testem CIEP/ELISA oraz PCR lub qPCR.

W stadach realizujących program zwalczania AMD (grupa I) od kilku lat sytuacja epizootyczna jest bardzo dobra, bowiem nie stwierdzano obecności AMDV. W stadach nerek, zarówno rozpoczynających program zwalczania (grupa II), jak i w stadach nie realizujących żadnego programu (grupa III) sytuacja epizootyczna jest niezadowolająca. Współczynnik zakażenia AMDV w takich stadach był wysoki i wynosił ogółem 33%; 69,5%; 92,8%. U samic wynosił od 33,3% do 75,4%, a nawet dochodził do 91,8%. U samców współczynnik zakażenia AMDV był na zbliżonym, chociaż nieco wyższym poziomie i wynosił od 61,5% do 97,8%. Wyniki badań wykazały, że należy zwrócić większą uwagę na rolę samców jako najistotniejsze ogniwo w szerzeniu się zakażeń AMDV.

W celu oceny sytuacji epizootycznej AMD badacze coraz częściej korzystają z bardziej nowoczesnych metod serologicznych. Chen i wsp. (9) wykazali, że test ELISA oparty na antygenie powstałym w wyniku rekombinacji białka genu VP2₃₃₂₋₄₅₂ jest bardziej swoisty niż Western blot (WB). Wykazuje on 97,9% swoistość i 97,3%, czułość w porównaniu do testu CIEP. Uzyskana bardzo wysoka swoistość i czułość oraz łatwość jego wykonania uzasadniają jego powszechne zastosowanie w diagnostyce zakażeń AMDV.

Andersson i Wallgren (4) przeprowadzili badania nad oceną dwóch komercyjnych testów ELISA, w 4 szwedzkich fermach, u różnych odmian nerek, oprócz aleuckiej. Jeden test był oparty na fińskim białku kapsydu VP2 AMDV, a drugi na antygenie amerykańskim AMDV-G, otrzymanym *in vitro*. Test ELISA z antygenem VP2 wykazał 99,7% czułość i 98,3% swoistość w porównaniu do testu CIEP, natomiast test ELISA z antygenem AMDV-G 54,3% czułość i 93,2% swoistość. Badacze dowiedli, że test ELISA oparty na fińskim antygenie VP2 miał wyższą czułość i swoistość, dlatego może stanowić alternatywę dla testu CIEP, w przeciwieństwie do testu ELISA opartego na antygenie AMDV-G.

Czułość testu ELISA do wykrywania przeciwciał AMDV zwiększono do 99%, w porównaniu do CIEP w badaniach nerek wykonanych w Finlandii przez Knutilla i wsp. przez zastosowanie rekombinowanego antygeny VP2 (19).

Farid i Segervall (14) badali miana przeciwciał dla AMDV testem ELISA (fińskim) i CIEP, po umieszczeniu nerek wolnych od AMDV w izolowanych pomieszczeniach Ośrodka Badań AMD. W doświadczeniu 1. inokulowano donosowo 41 nerek odmiany standard, różnymi rozcieńczeniami homogenizowanej śledziony zawierającej AMDV. W doświadczeniu 2. inokulowano donosowo 262 norki dawką 600 ID₅₀ AMDV. Badania wykazały umiarkowaną zgodność pomiędzy testami ELISA i CIEP. Test ELISA oparty na antygenie VP2,

zdaniem badaczy był szczególnie przydatny do wykrywania przeciwciał przeciw AMDV, zwłaszcza przy niskich mianach przeciwciał, poniżej 1/32.

Współczesne testy ELISA charakteryzują się większą czułością oraz porównywalną swoistością. Wymagają one mniejszej ilości materiału badawczego, co jest również bardzo korzystne dla badanych nerek. Kropla krwi jest pobierana na bibułkę filtracyjną, a proces diagnostyczny został zautomatyzowany, co umożliwia wykonanie kilkakrotnie większej liczby badań niż w teście CIEP (19).

Sytuacja epidemiologiczna zakażeń ludzi AMDV jest praktycznie nieznana. Jepsen i wsp. (18) opisali 2 przypadki zakażenia mężczyzn będących pracownikami ferm nerek. Przypadek pierwszy odnotowano u 22-letniego mężczyzny, u którego zaobserwowano trudności w chodzeniu, będące wynikiem zaburzeń krążenia krwi w palcach stopy. W surowicy tego pacjenta stwierdzono obecność przeciwciał swoistych dla AMDV. Stan zdrowia pacjenta ulegał pogorszeniu, co doprowadziło, po kilku latach, do amputacji nogi. W jego aorcie brzusznej stwierdzono nacieki komórek plazmatycznych, a w biopsjach pobranych z węzłów chłonnych wykryto DNA AMDV. Pacjent zmarł w wieku 40 lat wśród objawów obustronnego zapalenia płuc. W drugim przypadku pracownik fermy nerek był hospitalizowany z powodu kłębuszkowego zapalenia nerek. Wywiad epidemiologiczny wykazał, że 2 lata wcześniej pracował w fermie nerek, w której zdiagnozowano ognisko klinicznej AMD. Pacjent był leczony lekami immunosupresyjnymi, co poprawiło funkcjonowanie nerek. Osiem lat później u pacjenta wystąpiły: biegunka, wymioty, gorączka, astenia. Stwierdzono wysoki poziom białka w płynie mózgowo-rdzeniowym, a w surowicy obecność przeciwciał swoistych dla AMDV. Pacjent zmarł w wieku 63 lat. Oba przypadki przypominają przebieg utajony AMD oraz zmiany u nerek przy zakażeniu AMDV (21).

Zdaniem niektórych badaczy, AMDV może w Europie powodować spadek populacji rodzimej norki europejskiej (15). Powszechnie przeważa jednak pogląd, że populacja norki europejskiej w naturalnym środowisku wyginęła w Europie już kilkadziesiąt lat temu. Ostatnie wzmianki o obecności tych zwierząt na terytorium Polski pochodzą z 1926 r. Nieliczne, żyjące na wolności osobniki występują jeszcze w kilku izolowanych populacjach w Rosji, Estonii, na Białorusi, Ukrainie, w Hiszpanii, Francji i na Kaukazie. Obecnie norki europejskie żyją w kilku ogrodach zoologicznych.

AMDV został zawleczony do Europy i Azji wraz z importem nerek amerykańskich w celu założenia ferm hodowlanych oraz ich introdukcji jako zwierząt łownych na tereny byłego ZSRR (22). Zakażenia AMDV są szczególnie niebezpieczne dla Europy będącej znaczącym producentem skór nerek i skupiającej ok. 65% światowej hodowli tych zwierząt. Największymi udziałowcami światowego rynku są: Dania z produkcją ok. 30%, Holandia – 9,7% i Polska – 7,9% światowej produkcji nerek. Dania jest jedynym przykładem kraju, który dzięki odpowiednim decyzjom i wdrożeniu kilkanaście lat temu programu eradykacji AMDV osiągnął sukces.

Dzisiaj sytuacja epizootyczna AMD w tym państwie jest bardzo dobra, chociaż nadal stwierdza się ok. 4% seroreagentów (11).

Farid i wsp. (13) badali testem CIEP oraz metodą PCR próbki pobrane z tuszek 462 dzikich zwierząt, w tym od 12 gatunków zwierząt futerkowych z terenu Nowej Szkocji, w latach 2009-2011. Pozytywne próbki PCR lub CIEP zostały wykryte u 56 spośród 60 nerek amerykańskich (tj. 93,3% dodatnich w badanej populacji dzikich nerek), u 43 z 61 łasic (70,5% dodatnich), u 2 z 8 skunksów (25,0% dodatnich), 2 z 11 wydr amerykańskich (18,2% dodatnich), u 9 z 85 szopów praczy (10,6% dodatnich) oraz u 2 z 20 rysi (10,0% dodatnich).

AMDV nie wykryto u 24 kojotów, 25 lisów pospolitych, 58 bobrów, 45 wiewiórek pospolitych i 58 piżmaków. Przeciwciała swoiste dla AMDV wykryto metodą CIEP u 28,6% badanych nerek dzikich, z czego u 81,3% stwierdzono wyniki dodatnie zarówno testem CIEP, jak i w PCR. Pozostałe 18,7% nerek dzikich było dodatnich tylko w teście CIEP.

Uzyskane wyniki badań wskazują na ważną rolę różnych gatunków zwierząt w epidemiologii wirusa AMD zarówno nerek hodowlanych, jak i dzikich (12, 22-24). Drogi jego transmisji pomiędzy norkami dzikimi a hodowlanymi wymagają dalszych badań.

Wyniki badań molekularnych przy zastosowaniu opracowanego PCR wykazały jego przydatność do wykrywania nowych sekwencji nukleotydowych genu VP2 AMDV, niezwykle ważnych w epidemiologii molekularnej tych zakażeń. Zastosowanie metody PCR lub qPCR umożliwia wykrywanie zakażeń nierozpoznawanych innymi testami. Metody te pozwalają kontrolować szerzenie się zakażeń AMDV nie tylko drogą bezpośrednią, ale także innymi możliwymi drogami, na co wskazują wyniki badań Prieto i wsp. (26).

W Polsce badania obejmujące analizę filogenetyczną uzyskanych izolatów AMDV przeprowadzili Reichert i Kostro (29), wykazując podobieństwo filogenetyczne szczepów polskich ze szczepami kanadyjskimi.

Podsumowując, cele badań zostały osiągnięte, bowiem uzyskane wyniki wykazały, że stopień występowania zakażeń wirusem AMD w wybranych stadach nerek jest bardzo zróżnicowany. Opracowana metoda PCR okazała się przydatna do wykrywania zakażeń AMDV bowiem wykazano nowe sekwencje nukleotydowe. W przypadku niskich wskaźników zakażeń AMDV w fermie badanej testem serologicznym, należy wykonać PCR. Wskazane są dalsze badania w celu oceny rzeczywistej sytuacji epizootycznej AMD w populacji krajowych nerek hodowlanych i wdrożenia programów eradykacji AMDV we wszystkich stadach.

Piśmiennictwo

- Aasted B., Alexandersen S., Christensen J.: Vaccination with Aleutian mink disease parvovirus (AMDV) capsid proteins enhanced disease, while vaccination with the major non-structural AMDV protein causes partial protection from disease. *Vaccine* 1998, 16, 1158-1165.
- Alexandersen S., Bloom M. E.: Studies on the sequential development of acute interstitial pneumonia caused by Aleutian disease virus in mink kits. *J. Virol.* 1986, 61, 81-86.
- An S. H., Ingram D. G.: Transmission of Aleutian disease from mink with inapparent infections. *Am. J. Vet. Res.* 1978, 39, 309-313.
- Andersson A. M., Wallgren P.: Evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assays for serodiagnosis of Aleutian mink disease virus infection in mink. *Acta Vet. Scand.* 2013, 55, 86-92.
- Best S. M., Bloom M. E.: Pathogenesis of Aleutian mink disease parvovirus and similarities to b19 infection. *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health* 2005, 52, 331-334.
- Bloom M. E., Fox J. M., Berry B. D., Oie K. L., Wolfenbarger J. B.: Construction of pathogenic molecular clones of Aleutian mink disease parvovirus that replicate both in vivo and in vitro. *Virology* 1998, 251, 288-296.
- Canuti M., O'Leary K. E., Hunter B. D., Spearman G., Ojick D., Whitney H. G., Lang A. S.: Driving forces behind the evolution of the Aleutian mink disease parvovirus in the context of intense farming. *Virus Evol.* 2016, 2, 1-17.
- Castelruiz Y., Blixenkrone-Møller M., Aasted B.: DNA vaccination with the Aleutian mink disease virus NS1 gene confers partial protection against disease. *Vaccine* 2005, 23, 1225-1231.
- Chen X., Song C., Liu Y., Qu L., Zhang Y., Liu M.: Development of an ELISA based on fusion VP2₃₃₂₋₄₅₂ antigen for detecting antibodies against Aleutian mink disease virus. *J. Clin. Microbiol.* 2016, 54, 439-442.
- Cho H. J., Greenfield J.: Eradication of Aleutian disease of mink by eliminating positive counterimmunoelectrophoresis test reactors. *J. Clin. Microbiol.* 1977, 7, 18-22.
- Christensen L. S., Gram-Hansen L., Chriél M., Jensen T. H.: Diversity and stability of Aleutian mink disease virus during bottleneck transitions resulting from eradication mink in Denmark. *Vet. Microbiol.* 2011, 149, 64-71.
- Farid A. H.: Aleutian mink disease virus in furbreeding mammals in Nova Scotia, Canada. *Acta Vet. Scand.* 2013, 55, 10.
- Farid A. H., Rupasinghe P., Mitchell J. L., Rouvinen-Watt K.: A survey of Aleutian mink disease virus infection of feral American mink in Nova Scotia. *Can. Vet. J.* 2010, 51, 75-77.
- Farid A. H., Segervall J.: A comparison between ELISA and CIEP for measuring antibody titres against Aleutian mink disease virus. *Virol. Mycol.* 2014, 3, 137.
- Fournier-Chambrillon C., Aasted B., Perrot A., Pontier D., Sauvage F., Artois M., Cassiède J. M., Chauby X., Molin A. D., Simon C., Fournier P.: Antibodies to Aleutian mink disease parvovirus in free-ranging European mink (*Mustela lutreola*) and other small carnivores from southwestern France. *J. Wildl. Dis.* 2004, 40, 394-402.
- Jahns H., Daly P., McElroy M. C., Sammin D. J., Bassett H. F., Callanan J. J.: Neuropathologic features of Aleutian disease in farmed mink in Ireland and molecular characterization of Aleutian mink disease virus detected in brain tissues. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2010, 22, 101-105.
- Jensen T. H., Christensen L. S., Chriél M., Uttenthal Å., Hammer A. S.: Implementation and validation of a sensitive PCR detection method in the eradication campaign against Aleutian mink disease virus. *J. Vet. Methods* 2011, 171, 81-85.
- Jepsen J. R., d'Amore F., Baandrup U., Clausen M. R., Gottschalk E., Aasted B.: Aleutian mink disease virus and humans. *Emerg. Inf. Dis.* 2009, 15, 2040-2042.
- Knuutila A., Aronen P., Eerola M., Gardner I. A., Virtala A.-M. K., Vapalahti O.: Validation of an automated ELISA system for detection of antibodies to Aleutian mink disease virus using blood samples collected in filter paper strips. *Virol. J.* 2014, 11, 141.
- Knuutila A., Aronen P., Saarinen A., Vapalahti O.: Development and evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay based on recombinant VP2 capsids for the detection of antibodies to Aleutian mink disease virus. *Clin. Vaccine Immunol.* 2009, 16, 1360-1365.
- Kostro K., Wojcicka-Loreniewicz K., Siemionek J.: Choroba aleucka nerek. *Med. Weter.* 1999, 55, 423-429.
- Leimann A., Knuutila A., Maran T., Vapalahti O., Saarma U.: Molecular epidemiology of Aleutian mink disease virus (AMDV) in Estonia, and a global phylogeny of AMDV. *Virus Res.* 2015, 199, 56-61.
- Mañás S., Cerna J. C., Ruiz-Olmo J., Palazon S., Domingo M., Wolfenbarger J. B., Bloom M. E.: Aleutian mink disease parvovirus in wild riparian carnivores in Spain. *J. Wildl. Dis.* 2001, 37, 138-144.
- Oie K. L., Durrant G., Wolfenbarger J. B., Martin D., Costello F., Perryman S., Pogan D., Hadlow W. J., Bloom M. E.: The relationship between capsid protein (VP2) sequence and pathogenicity of Aleutian mink disease parvovirus (ADV): a possible role for raccoons in the transmission of ADV infections. *J. Virol.* 1996, 70, 852-861.
- Olofsson A., Mittelholzer C., Berndtsson L. T., Lind L., Mejerland T., Belak S.: Unusual, high genetic diversity of Aleutian mink disease virus. *J. Clin. Microbiol.* 1999, 37, 4145-4149.
- Prieto A., Díaz-Cao J. M., Fernández-Antonio R., Panadero R., Díaz P., López C., Morondo P., Díez-Baños, Fernández G.: Application of real-time PCR to detect Aleutian mink disease virus on environmental farm sources. *Vet. Microbiol.* 2014, 173, 355-359.
- Qui J., Cheng F., Burger L. R., Pintel D.: The transcription profile of Aleutian mink disease virus in CRFK cells is generated by alternative processing of pre-mRNAs produced from a single promoter. *J. Virol.* 2005, 80, 654-662.
- Reichert M., Kostro K.: Effect of persistent infection of mink with aleutian mink disease virus on reproductive failure. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2014, 58, 369-373.
- Reichert M., Kostro K.: NS1 gene based molecular characteristics of Aleutian mink disease virus circulating in Poland. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2014, 58, 187-191.

Adres autora: dr hab. Jan Siemionek, prof. UWM, ul. Oczapowskiego 13, 10-718 Olsztyn; e-mail: jan.siemionek@uwm.edu.pl