

Ansøgning Pelsdyrafgiftsfonden 2015

Ansøgning om tilskud i 2015

1. Projektets titel

Betydning af minktævens immunologiske kompetence omkring fødsel og diegivning for forekomsten af "fedtede hvalpe".

2. Hovedformål i henhold til Landbrugsstøtteleven

Sygdomsbekæmpelse

3. Hjemmel i henhold til aktivitetsbekendtgørelsen

jf. Bekendtgørelse nr. 1100 af 21. september 2010. §11

4. Projektets formål, effekt og indhold – kort præsentation/sammendrag

Formålet med dette projekt er at vurdere faktorer af betydning for tævernes immunologiske kompetence og muligheder for at optimere mælke kvaliteten for den nyfødte hvalp og dermed forbedre hvalpenes immunitet mod normale sygdomsagens i redemiljøet med henblik på at reducere problemer med "fedtede hvalpe" syndromet.

Projektet skal udelukkende fokusere på den tidlige form af "fedtede hvalpe", idet der gennemføres bakteriologiske, virologiske, immunologiske, patologiske og epidemiologiske undersøgelser på farme, tæver og hvalpe for at sikre en holistisk tilgang til sygdomskomplekset.

5. Den samlede projektperiode

Start:01/01/2015

Afslutning:31/12/2017

6. Projektets samlede omkostninger i hele projektperioden

	Regnskab/budget	Tilskud fra fonden	
	1.000 kr.	1.000 kr.	%
2015	1.008	888	88
2016	1.008	888	88
2017	1.008	888	88
I alt	3.024	2.664	88

7. Projektejer / Ansøger

Instituddirektør Kristian Møller
Veterinærinstituttet CVR: 30060946
Danmarks Tekniske Universitet
Bülowsvej 27, 1870 Frederiksberg C

Projektansvarlig

Specialkonsulent Mariann Chriél
Dyrlæge, PhD,
Tlf 35 88 86 07
e-mail: march@vet.dtu.dk

8. Projektejers / Ansøgers pengeinstitut

Danske Bank
Frederiksberggade 1, 1012 København K
Reg.nr: 4180, kontonr.: 42 63 97 2007; IBAN nr. DK5730004263972007; Swift: DABADKKK

9. Revisor eller regnskabsansvarlig, hvis offentlig institution

KPMG, Statsautoriseret Revisionspartnerselskab, AUDIT
Osvald Helmuths vej 4
Postboks 250, 2000 Frederiksberg
Reference: Charlotte Formsgaard

10. Dato

Titel, navn og underskrift

20. juni 2014

Viceinstituddirektør Hanna Greisen

11. Beskrivelse af ansøger

DTU-Veterinærinstituttet har som primær opgave at forske, overvåge, diagnosticere og rådgive om sygdomme og dødsårsager hos husdyr og vildt – såvel enkelt dyr som populationer.

Der undervises og forskes i tæt samarbejde med erhvervet om såvel diagnostik som forebyggelse.

DTU-Veterinærinstituttet er administrativt og økonomisk ansvarlig ansøger ved Institutdirektør Kristian Møller.

Fagligt ansvarlig og koordinator for projektet ved DTU-Veterinærinstituttet er specialkonsulent dyrlæge, PhD Mariann Chriél, Sektion for diagnostik og beredskab, der har arbejdet med pelsdyrforskning siden 1987 med en PhD-grad i Plasmacytose hos mink (1991) og chef for Dansk pelsdyrlaboratorium 1997-2000. Har været ansat på DTU siden 2007. Se i øvrigt vedhæftede CV

12. Status for projektet, hvis der er tale om et igangværende projekt, som fonden støtter

13. PROJEKTBEKRIVELSE

Det her foreslåede projekt skal fokusere på betydning af minktævens immunologiske kompetence omkring fødsel og diegivning for forekomsten af "fedtede hvalpe", men indeholder yderligere tre delkomponenter med henblik på at belyse sygdomskomplekset systematisk: (a) et bakteriologisk, (b) et virologisk og (c) et managementmæssigt delstudium. Det innate (medfødte) immunsystem omfatter hos den nyfødte minkhvalp immunglobuliner (antistoffer), erhvervet fra moderen i fostertilstanden ved transplacental overførsel. Disse immunglobuliner cirkulerer i blodbanen i relativt lav koncentration og suppleres i den første uge efter fødsel med immunglobulin optaget oralt fra kolostrum og mælk og transporteret til blodbanen fra tarmen, der i den nyfødte hvalp er "åben" for immunglobulinpassage, men senere lukker. Det må antages at hurtig opnåelse af højt niveau af immunglobulin i blodbanen er af afgørende betydning for hvalpens immunitet over for almindeligt forekommende infektioner i den første tid efter fødsel. Disse forhold belyses i projektet ved undersøgelse af immunglobulinniveauer i tævernes blod, kolostrum og mælk og hvalpenes opbygning over tid og slutniveauer af cirkulerende immunglobulin, sammenholdt med forekomsten af fedtede hvalpe. Projektet foreslås udført som et erhvervs-PhD projekt, der kan give en holistisk tilgang til den multifaktorielle problemstilling.

13.1 Projektets baggrund - hvorfor er der behov for handling

"Fedtede hvalpe" er et velkendt problem i minkproduktionen og den specifikke patogenese er fortsat uklar.

En lang række sygdomsagens (eg. *E.coli*, staphylococcer, streptococcer, astrovirus, calicivirus) er beskrevet i sammenhæng med problemet, men også andre faktorer så som pasnings- og fodringsrutiner, samt alder på tæven er beskrevet som betydende for udbredelsen i en farm (Chriél, 1997).

Der optræder en tidlig form af fedtede hvalpe - fra fødsel til ca 3 ugers alderen, og en sen form, der optræder fra slutningen af maj til begyndelsen af juni, hvor hvalpene er 3-8 uger gamle. Begge typer af "fedtede hvalpe" har samme symptombillede, ved den tidlige form ses effekt af antibiotika behandling, men den sene form forekommer samtidig med, at hvalpene begynder at æde minkfoder og har derfor formodentlig diætetiske årsager (Clausen & Dietz, 2004).

Betegnelsen "fedtede hvalpe" skyldes, at minkhvalpene har et fedtet lag på huden, især i nakke og på poter og omkring klo-randen, hvilket skyldes en øget udskillelse fra hudens talgkirtler (Clausen & Dietz, 2004).

Derudover ses der diarré. Symptomerne (eg. diarre, fedtet hud, sorte belægninger ved klo-randen) har ingen diagnostisk værdi. Hvalpene dehydrerer meget hurtigt og dør hvis ikke der iværksættes behandling. I Vetstat er der registreret en massiv ordination af medicin til brug i mink i dieperioden (maj). Forbruget har været højt og fortsat stigende igennem de seneste 10 år. Enkelte farme får ordineret medicin svarende til behandling af alle tæver dagligt i hele dieperioden (Jensen, Chriél, pers. medd.). Dette illustrerer tydeligt den frygt for udbrud af "fedtede hvalpe" og dermed risiko for store tab af hvalpe, som den enkelte avler har, men også at medicin anvendes i stor udstrækning for at minimere betydningen af sekundære infektioner.

13.2 Projektets formål og forventningerne til effekten af projektets indsats

Projektets formål er at undersøge betydningen af immunologiske forhold hos såvel minktæven som hvalpene på udvikling af fedtede hvalpe, og hvorledes disse immunologiske parametre spiller sammen med bakteriologiske, virologiske og managementmæssige faktorer i udviklingen af syndromet.

Forventningen er, at der på den ene side erhverves ny metodemæssig erfaring indenfor metoder til måling og vurdering af immunologiske parametre hos mink, og at denne viden på den anden side kan bruges til at forstå samspillet mellem immunsystemet og andre faktorer, som har indflydelse på minkhvalpenes sundhed og udvikling af sygdom. Denne viden vil bidrage til at forstå patogenesen ved fedtede hvalpe, hvilket er nødvendigt for at anviser forebyggende og behandlingsmæssige tiltag, herunder i bedste fald metoder og stoffer, optimalt i form af fodertilskud, der kan benyttes til at forebygge syndromet hos hvalpene.

13.3 Projektets sammenhæng og synergieffekter til viden på området og andre projekter

Projektet er en naturlig del af den forskning i sygdomme hos pelsdyr der udføres på DTU-Vet og som skaber grundlag for bedre diagnostik og rådgivning til minkavlerne. Projektet har fokus på den del af minkåret, hvor

der anvendes mest medicin – specifikt til forebyggelse af sygdomme som følge af redemiljøets naturlige smitstoffer. Ved en styrkelse af tævernes og dermed også hvalpenes modstandskraft vil der ses stærkere og sundere mink og mindre medicin behøves i produktionen. Projektet fokuserer på perioden før, under og kort tid efter fødsel og belyser dermed problemstillingen med de profylaktiske piller, mens et andet projekt (søgt af KU-Sund) har fokus på behandlingsaspektet, samt tarm- og hud patologi. Projektet skal være med til at rekruttere unge velkvalificerede medarbejdere og skabe viden og indsigt på et såvel højt videnskabeligt som praktisk anvendeligt niveau til gavn for pelsdyrerhvervet.

Der er også en stor grad af synergi med PhD projektoplæg fra Københavns Universitet vedrørende diarre i diegivningsperioden med fokus på ætiologi og risikofaktorer i forbindelse med diarre efter hvalpens 2. leveuge. Det forventes at de to projekter komplementere hinanden og muliggør en stor grad af samarbejde og om muligt resultere i fælles publikation mellem de to PhD-studerende.

13.4 Projektets indhold - projektaktiviteter og forventede resultater - hvordan skal effekterne skabes

Det her foreslåede projekt indeholder fire delkomponenter med henblik på at belyse sygdomskomplekset systematisk: (a) et immunologisk, (b) et bakteriologisk, (c) et virologisk og (d) et managementmæssigt delstudium. Projektet foreslås udført som et erhvervsPhD projekt, hvor de fire delstudier samles i et sammenhængende projekt. Forventningen er, at der kan identificeres faktorer, der har indflydelse på mængden af immunglobuliner i mælken og dermed er af afgørende betydning for hvalpenes modstandskraft mod almindelige smitstoffer i redemiljøet.

Hos minkhvalpe ses en betydelig stigning af immunglobuliner (Ig) i serum 8 dage efter fødsel (post partum), hvilket kunne indikere at der i denne periode sker en betydelig overførsel af maternelle antistoffer fra mælken til hvalpene, og ikke alene via råmælk (kolostrum) (Coe & Race, 1978).

Der skal etableres en ELISA til detektion og kvantificering af specifikke immunglobuliner mod virus identificeret gennem de virologiske undersøgelser (se senere) i tævens og/eller hvalpenes serum. Dette skal vurderes i sammenhæng med forekomst af "fedtede hvalpe". Kvaliteten af råmælken (kolostrum) skal vurderes gennem såvel totalniveauet, som niveauerne af specifikke immunglobuliner og korrelationen mellem niveauet af immunglobuliner i mælken skal sammenholdes med de opnåede serumkoncentrationer hos hvalpene.

I post partum perioden undersøges derfor den lokale produktion af Ig i yvervævet i forhold til hvalpenes Ig niveau i serum og deres risiko for udvikling af "fedtede hvalpe syndromet". Der laves immunhistokemiske farvninger af yvervævet for at identificere og kvantificere mængden af IgG og IgA producerende plasmaceller, dette gøres hos forskellige grupper af tæver (1.- 2. års tæver; drægtige, ved fødsel, post partum) og fundene sammenlignes mellem grupperne i forhold til udvikling af "fedtede hvalpe" i kuldene. Proof of concept for evt. betydning af maternelt immunglobulin (hvis indikeret af de analytiske forsøg) kan foretages ved fodring med veldefinerede mængder immunglobulin med veldefineret specificitet over for putative agens (hvis et sådan er indikeret) eller blot med poolen, oprenset immunglobulin og registrering af sygdomsfrekvens hos hvalpene.

Udsvedning af sekret fra de apocrine kirtler i hvalpenes nakkeregion er den primære årsag til de "fedtede hvalpes" våde/olierede udseende. De apokrine kirtlers udvikling i de første 3 leveuger undersøges histologisk hos normale og fedtede hvalpe mhp at identificere eventuelle udviklingsmæssige eller inflammatoriske forskelle mellem disse to grupper.

Tidligere undersøgelser tyder på, at raske mink ikke besidder nogen stabil tarmflora, men en flora med variabel sammensætning, hvor bl.a. *E. coli*, mælkesyrebakterier, enterokokker og stafylokokker hyppigt er til stede (Vulfson *et al.* 2003). For både *E. coli* og stafylokokker viste den tidligere undersøgelse, at antallet steg i de første leveuger, og herefter var faldende. En anden undersøgelse viste en høj grad af diversitet blandt *E. coli*, både med hensyn til serotyper, hæmolyse og resistensforhold, og der var ikke nogen forskelle mellem dyr med og uden diarre (Vulfson *et al.* 2001). I forbindelse med fedtede hvalpe syndromet er der ikke foretaget tilsvarende undersøgelser, som har sammenlignet bakteriologiske fund hos raske, henholdsvis fedtede hvalpe. Derfor udtages tarmindehold fra fedtede hvalpe og raske hvalpe samt fra tæverne hos de respektive kuld, og der foretages bakteriologisk undersøgelse ved udsæd på selektive og non-selektive medier. Som minimum foretages kvalitative undersøgelser, og såfremt prøvematerialet tillader det, tillige kvantitative undersøgelser. Der udtages materiale til eventuel senere isolering af DNA og sekventering af 16S rDNA. Tilsvarende udtages fra fedtede hvalpe prøver fra afficerede hudområde til bakteriologisk undersøgelse. Prøver fra samme områder udtages fra raske hvalpe. Prøvetagning påbegyndes straks symptomer opstår, inden behandling med antibiotika påbegyndes, og fortsætter, indtil udbruddet er overstået. Kvalitative og kvantitative forskelle i bakteriesammensætning og antal vurderes statistisk. Tidligere studier af forekomsten af virus i forbindelse med af "fedtede hvalpe" har fokuseret på tæver og hvalpe efter fødsel. Der ønskes her at sætte fokus på forekomsten af virus hos tæverne før fødsel gennem screening efter ("nye") virus med Next generation sequencing (NGS) i serum, fæces og evt. milt, da der ikke kendes mange virus fra mink som potentielt kunne være involveret. Kandidatvirus identificeret ved NGS, testes med specifikke PCR assay, der udvikles som del af projektet. Der udføres tillige undersøgelser med specifikke PCR assays, som allerede er etableret på DTU-Vet for fx astrovirus, ADV, MeV, CDV, coronavirus og rotavirus.

Der indsamles data omkring fodrings- og pasningsrutiner på de inkluderede farme, der evalueres i en epidemiologisk sammenhæng med de øvrige fund og resultater.

Referencer:

Chriél, M., 1997. Lad minktæverne selv bestemme. Dansk Pelsdyravl, 60,196-198.
Clausen T.N., Dietz H.H. 2004. Wet kits in mink, a review. Proc. of VIII Int. Cong. in Fur Animal Prod. Eds: Urlings, B., Spruijt, B., Ruis, M., Boekhorst, L. The Netherlands, p 87-91.
Coe JE, Race RE. 1978. Ontogeny of mink IgG, IgA, and IgM. Proc Soc Exp Biol Med. 157:289-92.
Vulfson, L., K. Pedersen, M. Chriél, K. Frydendahl, T. Holmen Andersen, M. Madsen, H.H. Dietz. 2001. Serogroups and antimicrobial susceptibility among *Escherichia coli* isolated from farmed mink (*Mustela vison* Schreiber) in Denmark. Vet. Microbiol. 79,143-153.
Vulfson, L., K. Pedersen, M. Chriél, T. Holmen Andersen, H.H. Dietz. 2003. Assessment of the aerobic faecal microflora of mink (*Mustela vison* Schreiber) with emphasis on *Escherichia coli* and *Staphylococcus intermedius*. Vet. Microbiol. 93,235-245.

13.5 Projektets organisering, herunder evt. samarbejde med andre parter

Projektet fokuserer på perioden før, under og kort tid efter fødsel og belyser dermed problemstillingen med de profylaktiske briller, mens et andet projekt (søgt af KU-Sund) har fokus på behandlingsaspektet, samt tarm- og hud patologi. Samarbejde mellemprojekterne vil kunne sikre fælles indsamling af data og materiale med henblik på at reducere omkostninger til disse områder. Der skal ansøges om støtte til gennemførelse af erhvervsPhD i Forsknings- og Innovationsstyrelsen.

Projektkoordinator er Specialkonsulent Mariann Chriél (dyrlæge, PhD). CV vedlagt.

PhD-vejleder er Professor Peter Heegaard, PhD-vejleder (cand. scient, PhD). CV vedlagt.

Ansøger til FI er Diagnostisk veterinær Tina Struve (dyrlæge, PhD), København Diagnostik.

Øvrige medarbejdere i projektet er PhD-studerende (NN), Professor Karl Pedersen (dyrlæge, PhD), Forsker Mette Sif Hansen (dyrlæge, PhD), samt Forsker Charlotte Hjulsager (cand. scient, PhD).

13.6 Effektivurdering af projektet

Projektet skal sikre opbygning af viden og kompetencer indenfor mink immunologi, som også kan anvendes i andre sammenhænge og overfor andre sygdomme. Synergien ved at sikre fokus på én multifaktoriel problemstilling gennem anvendelse af flere diagnostiske kompetencer - her på fedtede hvalpe i perioden kort efter fødsel - vil også kunne anvendes til studier af andre komplekse sundhedsmæssige problemstillinger, så som diarré sidst i dieperioden eller i vækstperioden. Endelig vil der forhåbentlig efter projektet kunne gives konkrete anbefalinger for forebyggelse og behandling af fedtede hvalpe, der kan være med til at nedbringe antibiotikaforbruget, samt reducere hvalpedødeligheden i dieperioden.

13.7 Plan for offentliggørelse, formidling og vidensdeling

Der forventes mindst 3 publikationer i peer review internationale tidsskrifter. Det vil blive besluttet på et senere tidspunkt, hvilke tidsskrifter, der skal publiceres i.

Nationale publikationer i relevante faglige tidsskrifter, såsom Dansk Veterinærtidsskrift og Dansk pelsdyravl

Der forventes en række formidlingsaktiviteter, herunder:

Opstart- og midtvejsseminar. Her vil projektet og dets resultater blive præsenteret for et relevant publikum af forskere og branche.

Minkavlermøder. Den ph.d. studerende vil løbende fremlægge resultater fra projektet ved møder for minkavlere forskellige steder i landet. Ligeledes præsenteres projektet og dets resultater løbende på erfamøder for minkpraktiserende dyrlæger.

Undervisning. Den ph.d. studerende vil blive involveret i undervisning i det omfang, det er relevant.

Faglig årsberetning. Projektets status vil årligt blive offentliggjort i faglig årsberetning, første gang i 2015 og sidste gang i 2017.

14. Projektets finansiering i tilskudsåret 2015

Projektets samlede tilskudsgrundlag i 2015			1.008 t.kr.	100 %
Det ansøgte tilskud i Promilleafgiftsfonden			888 t.kr.	88 %
Eget bidrag			t.kr.	%
Andre offentlige tilskud:	Ansøgt	Bevilget		
1. Innovationsfonden (IF)	Ultimo-14		120 t.kr.	12 %
Andre private tilskud/bidrag:			t.kr.	%

14.1 Bemærkninger til projektets finansiering

PhD-løn finansieres via København Diagnostik og Innovationsfonden, hvor ansøges om et erhvervsPhD-stipendiat ultimo 2014, således der gives mulighed for at identificere en egnet erhvervsPhD-kandidat til projektet.

15. Projektets budget i tilskudsåret 2015

	Det samlede budget (1.000 kr.)
A. Interne lønomkostninger	299
B. Ekstern bistand	
C. Udstyr	178
D. Øvrige projektomkostninger	363
E. Administrative omkostninger / overhead	168
Projektets samlede omkostninger	1.008
F. Indtægter fra projektet	0
G. Anslået scrapværdi for udstyr	0
Projektets samlede tilskudsgrundlag	1.008
Det ansøgte tilskud fra fonden	888
Tilskuddets andel af samlede tilskudsgrundlag (%)	88 %

Omkostninger er opgjort:

Ansøger er momsregisteret og omkostninger er opgjort uden moms: X

Ansøger er ikke momsregisteret og omkostninger er opgjort med moms:

16. Specifikation og bemærkninger til de enkelte hovedposter i budgettet (skal udfyldes)

A. Interne lønomkostninger

Lønkategori	timesats kr. pr. time	timeforbrug	I alt 1.000 kr.
Professor/seniorforsker	519	240	125
TAP (laborant)	262	654	174
I alt			299

B. Ekstern bistand

C. Udstyr

D. Øvrige projektomkostninger

F. Indtægter fra projektet

G. Anslået scrapværdi for udstyr

17. Specifikation af administrative omkostninger / overhead i budgettet jf. punkt 15

Administrationsomkostningernes andel	Anvendt procenttillæg %	Samlet beløb t.kr.
I. Beregnet og fordelt i forhold til lønudgift		
II. Beregnet og fordelt i forhold til samlede projektomkostninger	20	168

Hvilke omkostningstyper er medtaget i beregningen af indirekte administrative omkostninger?

Lønomkostninger, udstyr og øvrige projektomkostninger