# Informações das atividades do GT +Coelho

|Número 113

13 de dezembro de 2020

Participação do Grupo de Trabalho +Coelho, na VI Reunião da Associação Ibérica de Veterinários de Fauna Selvagem e de Parques Zoológicos, 12 de dezembro de 2020 O Grupo de Trabalho +Coelho 2 participou. com 3 apresentações orais, na VI Reunião da Associação Ibérica de Veterinários de Fauna Selvagem e de Parques Zoológicos que teve lugar a 12 de dezembro de 2020 por via digital.



Margarida Duarte divulgou os resultados obtidos nos Projectos +Coelho 1 e +Coelho, Carina Carvalho apresentou as Linhas Gerais do Quadro Estratégico do Projeto FIGHT-TWO (desenvolvimento de vacina oral para RHDV2), e Fábio Abade dos Santos partilhou um método de diagnóstico molecular para gammaherpesvirus dos leporídeos de tipo 5 recentemente descoberto, que se encontra em desenvolvimento.

Participação do Grupo de Trabalho +Coelho, na VI Reunião da Associação Ibérica de Veterinários de Fauna Selvagem e de Parques Zoológicos, 12 de dezembro de 2020

# Reunião da Associação Ibérica de Veterinários de Fauna Selvagem e de Parques Zoológicos, 12 de dezembro de 2020-12-07

Linhas Gerais do Quadro Estratégico FIGHT-TWO: Desenvolvimento de uma Vacina Oral para o Controlo do Vírus da Doença Hemorrágica Viral de Tipo 2 (RHDV2) no Coelho-bravo

Carina L. Carvalho1\*, Fábio A. Santos1,2, Hélio Tomás3, Madalena Monteiro1, Paulo Carvalho1, Paula Mendonça<sup>1</sup>, Jorge Correia<sup>2</sup>, Berta São Brás<sup>2</sup>, Conceição Peleteiro<sup>2</sup>, Elsa Duarte<sup>4</sup>, António Mira4, António Roldão3, Margarida D. Duarte1,2

\*Corresponding author: Carina L. Carvalho (carina.carvalho@iniav.pt)

### Resumo

O vírus da doença hemorrágica de tipo 2 (RHDV2) causa uma infeção sistémica altamente contagiosa e frequentemente letal no coelho Europeu (Oryctolagus cuniculus). Desde a sua emergência em França em 2010, é um dos principais fatores subjacentes ao declínio da espécie na Península Ibérica, afetando direta e indiretamente predadores ameaçados que dela dependem.

As vacinas comerciais atualmente disponíveis para RHDV2 são inativadas, obtidas de extratos de fígado de animais infetados, ou recombinantes utilizando o vírus da mixomatose como vetor. São de administração subcutânea, sendo por isso inadequadas para as populações selvagens de coelho-bravo, na medida em que exigiriam a captura e manipulação dos animais.

O Projecto FIGHT-TWO (PTDC/CVT-CVT/29062/2017-PT2020) visa o desenvolvimento e produção de uma vacina oral, segura contra DHV (Doença Hemorrágica Viral dos coelhos) para ser distribuída no campo em alimento. Esta nova vacina tem o potencial de proteger uma ampla proporção das populações silvestres, permitindo reduzir a transmissão do vírus e controlar a doença, ultrapassando simultaneamente a necessidade de manipulação dos animais.

Esta vacina baseada em partículas de tipo viral (VLPs) de VP60 (proteína maioritária da cápside viral) será produzida em células de inseto infetadas com baculovírus (IC-BEVS) recombinantes e será atualizada de acordo com a evolução do vírus.

<sup>1-</sup>Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV I.P.), Av. da República, Quinta do Marquês 2780-157

Oeirias 2-Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal (CIISA), Faculdade de Medicina Veterinária (FMV), Universidade de Lisboa, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa 3-Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica (iBET), Avenida da República, Estação Agronómica, 2780-157

<sup>4-</sup>Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas (ICAAM), Instituto de Formação e Investigação Avançada (IIFA), Universidade de Évora, (UÉ) Pólo da Mitra, Ap. 94, 7006-554 Évora

Participação do Grupo de Trabalho +Coelho, na VI Reunião da Associação Ibérica de Veterinários de Fauna Selvagem e de Parques Zoológicos, 12 de dezembro de 2020

# Reunião da Associação Ibérica de Veterinários de Fauna Selvagem e de Parques Zoológicos, 12 de dezembro de 2020-12-07

# o molecular do gammaherpesvirus dos leporídeos de tipo 5 por qPCR com sistema Tagman ou SYBR green

Fábio Abade dos Santos<sup>1\*</sup>, Carina Carvalho<sup>1</sup>, Teresa Fagulha<sup>1</sup>, Margarida D. Duarte<sup>1</sup>

¹Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Laboratório de Virologia, Av. da República, Quinta do Marquês (edifício sede), 2780-157 Oeiras, Portugal

\*Corresponding author: Fábio Abade Santos (fabio.abade@iniav.pt)

### Resumo

A lebre-ibérica (*Lepus granatensis*) é a única espécie de lebre existente em Portugal e juntamente com o coelho-bravo (*Oryctolagus cuniculus algirus*), constituem os únicos leporídeos do nosso país. Fazendo parte do nosso património genético, estas espécies icónicas são fundamentais para o equilíbrio dos ecossistemas mediterrânicos.

Não existem estudos que avaliem de forma holística e sistemática as causas do declínio da lebre-ibérica, e também é escasso o conhecimento sobre o estado sanitário das populações existentes. Recentemente, o interesse dos investigadores por esta espécie aumentou, devido à emergência da mixomatose em 2018.

Também em 2018, foi descrito pela primeira vez um herpesvirus das lebres, denominado gammaherpesvirus dos leporideos de tipo 5 (LeHV-5), cujo impacto real ainda não é totalmente conhecido, embora já tenha sido associado a mortalidade e reconhecido o seu impacto reprodutivo. Este vírus é frequentemente encontrado em co-infeção com o vírus da mixomatose, nomeadamente com o vírus recombinante (ha-MYXV) que emergiu em 2018.

A monitorização do estado frágil desta espécie em Portugal e em Espanha, implica a utilização de ferramentas de diagnóstico precisas, rápidas e económicas.

Está presentemente em desenvolvimento um método de diagnóstico molecular do LeHV-5 por PCR em tempo real (qPCR). A análise *in silico* e *in vitro* demonstrou uma eficácia, sensibilidade e especificidade de 100%. Para controlo da extração e da amplificação, foi desenhado um controlo interno utilizando o gene do 18S rDNA. O sistema permitirá a quantificação das cargas virais, e a utilização de uma sonda TaqMan ou, alternativamente, do sistema SYBR green.

Participação do Grupo de Trabalho +Coelho, na VI Reunião da Associação Ibérica de Veterinários de Fauna Selvagem e de Parques Zoológicos, 12 de dezembro de 2020



# Reunião da Associação Ibérica de Veterinários de Fauna Selvagem e de Parques Zoológicos, 12 de dezembro de 2020-12-07

# 2,5 ANOS DE PROJETO +COELHO (agosto 2017- dezembro 2020); Atividades desenvolvidas e alguns dos resultados alcançados

Margarida D. Duarte<sup>1</sup>, Carina Carvalho<sup>1</sup>, Fábio Abade dos Santos<sup>1</sup>, Teresa Fagulha<sup>1</sup>, Madalena Monteiro<sup>1</sup>, Paulo Carvalho<sup>1</sup>, Paula Mendonça<sup>1</sup>, Jacinto Gomes<sup>1</sup>, Helga Waap<sup>1</sup>, António Roldão<sup>2</sup>, Paulo Célio Alves<sup>3</sup>, Pedro Esteves<sup>3</sup>, Joana Abrantes<sup>3</sup>, Nuno Santos<sup>3</sup>, Ana Serronha<sup>3</sup> Pedro Monterroso<sup>3</sup>, Patrícia Tavares<sup>4</sup>, Pedro Melo<sup>4</sup>, Gonçalo Lopes<sup>5</sup>, Ana Hora<sup>5</sup>, João Carvalho<sup>6</sup>, Fernando Castanheira-Pinto<sup>7</sup>, Jacinto Amaro<sup>8</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Av. da República, Quinta do Marquês (edifício sede), 2780-157 Oeiras, Portugal

<sup>2</sup>Instituto de Biologia Experimental e Tecnológica (iBET), Avenida da República, Estação Agronómica, 2780-157

\*Instituto de Biologia Experimental e l'echologica (IBE1), Avenida da Republica, Estação Agronómica, 2780-157
Oeiras, Portugal

\*\*Oentro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos & Dep. Biologia da Faculdade de Ciências da
Universidade do Porto, Campus de Vairão, Rua Padre Armando Quintas, nº 7, 4485-661 Vairão, Portugal

\*\*Direção Geral de Alimentação e Veterinária, Campo Grande, 50, 1700-093 Lisboa, Portugal

\*\*Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas (ICNF, I.P.), Av. da República 16, 1050-191 Lisboa, Portugal

\*\*Associação Nacional de Proprietários Rurais Gestão Cinegética e Biodiversidade (ANPC), Rua Mestre Lima de Freitas, 1-5°, 1549-012 Lisboa, Portugal

Confederação Nacional dos Caçadores Portugueses (CNCP), Rua Dr. António Oliveira Cruz, 18, 5340-238 Macedo de Cavaleiros, Portugal

8Federação Portuguesa de Caça (FENCAÇA), Rua 25 de Abril, Lote 20 – Cave B, 2100-126 Coruche, Portugal

\*Corresponding author: Margarida Dias Duarte (margarida.duarte@iniav.pt)

## Resumo

No final de maio de 2017, em resposta às preocupações das Organizações do Setor da Caça, também sentidas pela academia e por vários grupos de investigadores do país, o Ministério da Agricultura, Florestas e Desenvolvimento Rural de Portugal determinou, pelo despacho 4757/2017, 31 de maio, a constituição de uma parceria de nove membros, coordenada pelo Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV, IP), para implementação de uma estratégia integrada para contrariar o efeito do vírus da doença hemorrágica viral dos coelhos (RHDV2) na diminuição abrupta da população de coelho-bravo. Os parceiros incluem a Autoridade Nacional de Saúde Veterinária (DGAV), o Instituto Nacional de Conservação (ICNF), dois institutos privados (CIBIO, OMV) e as principais Organizações Nacionais de Caça (Fencaça, ANPC e CNCP).

O Plano de Ação, designado Plano de Ação para o Controle da Doença Hemorrágica dos Coelhos, com enfoque nos dois leporídeos silvestres de Portugal (Oryctolagus cuniculus algirus e Lepus granatensis), foi elaborado pelas instituições parceiras compreendendo 12 medidas principais, distribuídas pelos 3 eixos definidos no despacho, nomeadamente 1) Programa de Investigação, 2) Práticas de gestão e 3) Vigilância Sanitária. Foi incluído um 4º eixo para disseminação e transferência de conhecimento.

Até agora o Plano de Ação tem vindo a ser operacionalizado por projectos anuais (Projecto +Coelho 1 e Projecto +Coelho 2), financiados pelo Fundo Florestal Permanente (ICNF).

São apresentados alguns dos resultados alcançados decorrentes da vigilância sanitária e sumarizados os outputs da parceria.



Projeto "+COELHO2: Desenvolvimento e implementação de medidas práticas impulsionadoras da recuperação dos leporídeos silvestres em Portugal", financiado pelo FUNDO FLORESTAL PERMANENTE.