

News on the Fight-2 Project

News nº 4



30th June 2019

Participation of the Fight-two project in the Fauna and Game Management Summit, Oeiras, 28-29 June 2019.

The **FIGHT-2** project participated in the Fauna and Game Management Summit - "Wildlife & Game Management Innovation Summit" - which took place on 28 and 29 of June 2019 at the National Institute of Agricultural and Veterinary Research (INIAV, I.P.) in Oeiras.

In the context of this event, and within the scope of the **FIGHT-2** project - development of an edible vaccine for the control of DHC in the wild rabbit (PTDC / CVTCVT / 29062/2017-PT2020), Carina Carvalho presented a thematic panel with an *in silico analysis of aptitude and suitability of the molecular method used in the diagnosis of RHDV2*, developed in 2014 and published the following year by Duarte et al., 2015.



Carina Carvalho,
DVM, PhD.

Fight-Two Project - Development of an edible vaccine for the control of viral hemorrhagic disease (RHDV2) in wild rabbits

PTDC/CVT-CVT/29062/2017-PT2020 – Fundação para a Ciência e Tecnologia

APTIDÃO DO MÉTODO DE RT-qPCR ESPECÍFICO PARA DETEÇÃO DE RHDV2: ANÁLISE *IN SILICO*

AUTORES

Carina L. Carvalho¹, Fábio Abade dos Santos^{1,2}, Teresa Fagulha¹, Margarida Dias Duarte^{1,2}

1. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), Avenida da República, Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras, carina.carvalho@iniav.pt, teresa.fagulha@iniav.pt, margarida.duarte@iniav.pt

2. Centro de Investigação Interdisciplinar e Sanidade Animal (CIISA), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa, faas@fmv.ulisboa.pt

RESUMO

A doença hemorrágica de coelho (DHC) é uma infeção sistémica altamente contagiosa, muitas vezes letal, do coelho Europeu (*Oryctolagus cuniculus*), e um dos principais fatores do seu declínio. Atualmente, é causada pelo RHDV2 que emergiu em 2010, 28 anos após o vírus clássico, RHDV, ter sido reconhecido na Europa. Como o RHDV2 não se multiplica *in vitro*, o diagnóstico laboratorial depende de métodos moleculares sensíveis.

Em 2015, desenvolvemos e validámos um RT-qPCR específico para deteção de RHDV2, referenciado no manual da OIE. Foi desenhado com base em sequências de RHDV2 de estirpes de Portugal, França e Itália, disponíveis aquela data, na maioria das quais as sequências-alvo dos primers e sonda se encontravam conservadas. Nas poucas estirpes apresentando variabilidade, detetou-se apenas um mismatch por oligómero, geralmente afastado da extremidade 3, não comprometendo, por isso a hibridação.

O RHDV2 é um vírus de RNA de evolução rápida sujeito a uma variabilidade significativa que pode afetar as sequências-alvo dos oligómeros limitando a deteção das estirpes. A análise *in silico* da especificidade do sistema contra sequências de RHDV2 disponíveis a partir de 2015, confirmou que, decorridos 4 anos, o método é adequado para a deteção de estirpes recentes.

A atualização do sistema é essencial para a correta deteção e diagnóstico das estirpes. Um subconjunto destas será selecionado para integrar uma vacina contra RHDV2, comestível e segura (projeto FIGHT-TWO, PTDC / CVT-CVT / 29062/2017-PT2020). A vacina baseada em partículas de tipo viral será produzida num sistema de vetores de expressão de células de inseto-baculovírus e atualizada de acordo com a evolução do RHDV2 num sistema dinâmico aberto.

PALAVRAS-CHAVE

RT-qPCR, RHDV2, métodos moleculares, análise *in silico*