

|Número 92
6 de outubro de
2019

Informações das atividades do GT +Coelho

Participação do Grupo de Trabalho +Coelho, na 5ª Reunião Internacional de Parasitas Apicomplexa em Animais de produção, realizada em Berlim 2 a 4 de outubro de 2019.

O Grupo de Trabalho esteve presente na 5^a Reunião Internacional de Parasitas *Apicomplexa* em Animais de produção (**5th International Meeting on Apicomplexan Parasites in Farm Animals**) que se realizou em Berlim de 2 a 4 de outubro, representado por Helga Waap, parasitologista do INIAV e membro da equipa do Projecto +Coelho 2.



Os parasitas pertencentes a este complexo são seres unicelulares (i.e., formados por uma única célula), formadores de esporos (uma das formas como se replicam), e que apenas crescem no interior de uma célula viva (parasitas intracelulares obrigatórios).

Alguns exemplos mais conhecidos de parasitas pertencentes a este grupo taxonómico de protozoários que inclui cerca de 5000 espécies, são *Babesia*, causadora de babesiose, *Plasmodium*, agente da malária e *Toxoplasma gondii*, causador de toxoplasmose.

Besnoitia e *Neospora*, são agentes patogénicos relevantes para o gado.

Participação do Grupo de Trabalho +Coelho, na 5ª Reunião Internacional de Parasitas Apicomplexa em Animais de produção, realizada em Berlim 2 a 4 de outubro de 2019.

Neste congresso, o Grupo de Trabalho apresentou um trabalho intitulado “*Serological survey of Neospora spp. and Besnoitia spp. in wild rabbits in Portugal*”.

O rastreio parasitológico foi efetuado em soros de coelho-bravo ($n=385$), preparados a partir de amostras de sangue recolhidas em animais caçados nas épocas venatórias de 2017/2018 e de 2018/2019, amostrados no âmbito do Projecto +Coelho. Os anticorpos foram pesquisados pela técnica de imunofluorescência indireta (IFAT).



Helga Waap, no Laboratório de Prasitologia do INIAV, em Oeiras

Não foram encontrados anticorpos contra *Besnoitia spp* em nenhum soro. No entanto, em 13 coelhos foram detetados anticorpos para *N. caninum* com títulos maioritariamente baixos (1:50), representando uma prevalência global de 3,1% [para um intervalo de confiança de 95% (95% CI): 1,8–5,4%].

Os dados obtidos sugerem que o coelho-bravo não é hospedeiro natural de *B. besnoiti*, mas que o coelho-bravo poderá atuar como hospedeiro reservatório selvagem de *N. caninum* para cães e carnívoros selvagens.

Embora se desconheça o impacto clínico da infecção por *N. caninum* no coelho-bravo, revelada pela seropositividade, esta reflete a presença de contaminação ambiental com oocistos, formas reprodutivas altamente resistentes. O pastoreio de gado nestas áreas poderá assim resultar numa exposição à infecção e transmissão horizontal.

Participação do Grupo de Trabalho +Coelho, na 5ª Reunião Internacional de Parasitas Apicomplexa em Animais de produção, realizada em Berlim 2 a 4 de outubro de 2019.



Serological survey of *Neospora* spp. and *Besnoitia* spp. in wild rabbits in Portugal

FLI
 FEDERAL INSTITUTE FOR VETERINARY MEDICINE

Helga Waap^{1,2}, João Carrilho³, Ana Munhoz³, Jacinto Gomes^{1,2}, Carina Carvalho¹, Mónica Cunha^{1,4,5}, Margarida Duarte^{1,2}, Gereon Schares⁶

¹ Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Oeiras, Portugal, ² CISA, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Portugal, ³ Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, Portugal, ⁴ c-e2c Centre for Ecology, Evolution and Environmental Changes, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Portugal, ⁵ BioSI-Biosystems & Integrative Sciences Institute, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Portugal, ⁶ Friedrich-Loeffler-Institut, Greifswald - Insel Riems, Germany

Introduction

Neospora caninum and *Besnoitia besnoiti* are closely related obligate intracellular cyst-forming coccidia. Both parasites are important pathogens of cattle, causing significant economic losses. While there is evidence that rabbits may be a reservoir species for *N. caninum*, their role in the sylvatic cycle of this parasite is poorly understood.

As for *B. besnoiti*, although several species are experimentally susceptible to infection, in particular rabbits, no other hosts besides cattle have yet been identified.

This study aimed to evaluate the presence of specific antibodies to *Neospora* spp. and *Besnoitia* spp. in naturally exposed rabbits in Portugal.

Materials and Methods

The study involved a total of 385 wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) hunted in different geographical areas in Portugal (Fig. 3).

Serum samples were obtained in the frame of the project Mais Coelho, aimed at implementing an action plan for the control of Rabbit Viral Hemorrhagic Disease and financed by the Portuguese Permanent Forestry Fund.

The number of animals to be sampled was calculated with EpiTools epidemiological calculators¹, using the following inputs: 1) an assumed prevalence of 50%, (2) a confidence level of 95%, and (3) a precision in the estimate of 5% for an unknown population size. Geographical origin of samples was recorded at the municipality level.

Geographical distribution maps were constructed using ArcGIS 10.6.1 software.

Sera were screened for antibodies to *Neospora* spp. and *Besnoitia* spp. by the Immunofluorescent Antibody Test (IFAT) at the commonly used cut-off titre 1:50². Positive and negative IFAT controls for *Neospora* spp. were included in each screening round.

Confidence intervals were calculated using Wilson score intervals ($\alpha = 0.05$; Wilson 1927³)

Endpoint titres	Number of sera
1:50	11
1:40	10
1:30	8
1:20	6
1:10	5
1:5	3
1:2	1
1:1	1
0	0

Figure 1. Endpoint titres determined for positive sera.

Results

A total of 13 rabbits (Fig. 3) were found to be *N. caninum* positive by IFAT at the screening dilution 1:50 (Fig. 1 and 2), resulting in an overall prevalence of 3.1% [95% confidence interval (95% CI): 1.8–5.4%].

Though a few sera showed some degree of fluorescence when tested for *Besnoitia* spp., none of them could be undoubtedly classified as positive.

A: Positive result corresponding to an endpoint titre 1:400; B: Positive result corresponding to an endpoint titre 1:50; C: Negative result.

Discussion

The present results show that rabbits are unlikely natural hosts for *B. besnoiti*, but suggest that they can act as wild reservoir hosts of *N. caninum* for dogs and wild carnivores.

Since infection in rabbits reflects environmental contamination with oocysts, this means that cattle grazing in the same areas may be exposed to horizontal transmission.

Figure 3. Sample origin and number of seropositive results (red).

Contact

Helga Waap
Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária
Email: helga.waat@iniav.pt
Phone: (+351) 214 403 500

References

1. <http://epitools.ausvet.com.au/content.php?page=ithome>
2. Almería S, Vidal D, Ferrer D, Pabón M, Fernández-de-Mera MI, Ruiz-Fons F, Alzaga V, Marco I, Calvete C, Lavin S, Gortazar C, López-Gatius F, Dubey JP (2007). Seroprevalence of *Neospora caninum* in non-carnivorous wildlife from Spain. Vet Parasitol. 143:21-8.
3. Wilson E. (1927). "Probable inference, the law of succession, and statistical inference". Journal of the American Statistical Association 22: 209–212



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