

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

# **Vírus do Nilo Ocidental: Encefalomielite Equina**

Inês da Silva Leal

**MI** 2024



**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**  
**Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar**  
**Universidade do Porto**

**Inês da Silva Leal**

**Vírus do Nilo Ocidental: Encefalomielite Equina**

**Área científica:** Medicina e Cirurgia de Equinos

**Orientador(es):** Professor Doutor Tiago de Melo Silva Ramos Pereira

**Co-orientador(es):** Doutora Elza Hollenbach

**Porto, 2024**

## RESUMO

O meu período de estágio curricular realizou-se na sua integridade na Clínica de Equinos de Ondesterpoort, da Universidade de Pretória em África do Sul, local onde tive o privilégio de acompanhar uma equipa de clínicos e staff altamente qualificada no diagnóstico e tratamento de cavalos de desporto e lazer. Durante estes quatro meses, alternei entre Medicina Interna e Cirurgia de Equinos, onde obtive a oportunidade de observar uma multitude de casos e aprofundar o conhecimento que adquiri nos últimos seis anos de formação em Medicina Veterinária. Este período de aprendizagem, despoletou particularmente o meu interesse por Medicina Equina, nomeadamente por Neurologia.

O seguinte trabalho aborda as características do Vírus do Nilo Ocidental e a sua manifestação neurológica em equídeos, a Encefalomielite Equina, tendo em consideração que o estudo deste vírus em equinos, não é apenas de importância para a sanidade desta espécie, mas também para a saúde humana. Neste sentido, este relatório incide nas limitações de diagnóstico e tratamento desta doença, a sua gestão epidemiológica, prevenção e a abordagem hospitalar de quadros clínicos neurológicos de etiologia viral.

O caso apresentado neste relatório, relata o desenvolvimento desta patologia numa égua de desporto de 4 anos, incidindo na sua hospitalização e na gestão de um quadro clínico neurológico de etiologia viral.

Deste modo, o relatório encontra-se dividido em duas partes, revisão bibliográfica sobre o Vírus do Nilo Ocidental e o correspondente quadro de Encefalomielite Equina provocada por este, e o caso clínico que pude acompanhar e documentar durante o meu período de estágio.

**PALAVRAS-CHAVE:** Vírus do Nilo Ocidental; Encefalomielite Equina; Zoonose

## CASUÍSTICA E PROCEDIMENTOS

Casuística observada entre 15 de janeiro e 3 de maio de 2024.

SISTEMA	OVAH – ONDERSTEPOORT EQUINE CLINIC
<b>MUSCULOESQUELÉTICO</b>	
Abcesso subsolar	1
Artrite séptica	1
Deslocamento dorsal do palato mole	1
Desmite do ligamento plantar	1
Desmite do ligamento suspensor	1
Doença de navicular	2
Encarceramento epiglótico	1
Fratura da mandíbula	1
Fratura do olecrânio	1
Fratura do sesamoide proximal	1
Hemiplegia faríngea	2
Instabilidade do palato	3
Laceração perfurante	3
Laminite aguda	2
Laminite crónica	1
Ossificação dos ligamentos colaterais	1
Osteoartrite	3
Osteocondrite dissecante	2
Patologia do dorso	3
Sinovite cervical	1
Sobreposição dos processos espinhosos	1
Tendinite do tendão flexor digital profundo	1
<b>DIGESTIVO</b>	
Cólica inespecífica	7
Cólica recorrente	1
Colite eosinofílica	1
Deslocamento dorsal direito do cólon	4
Deslocamento dorsal esquerdo do cólon	2
Deslocamento ventral do cólon	2
Doença inflamatória intestinal	1
Encarceramento nefroesplénico	3
Enterite proximal	2
Enterocolite	1
Hiperplasia linfocítica da faringe	2
Impactação cecal	1

Impactação da flexura esternal	1
Impactação da flexura pélvica	8
Impactação do cólon maior	1
Impactação ileal	3
Lesão do intestino delgado	2
Obstrução do intestino delgado	1
Obstrução laríngea	1
Peritonite	2
Rutura da mucosa retal	1
Timpania cecal	1
Torsão da flexura diafragmática	1
Torsão do colon	1
Úlceras gástricas (EGUS)	6
<b>CARDIOVASCULAR</b>	
Bloqueio atrioventricular de 2ª grau	1
Contração atrial prematura	1
Murmúrio holodiastólico de 2º grau	1
Taquicardia atrial	2
<b>OFTALMOLÓGICO</b>	
Conjuntivite	1
Queratite superficial	2
Úlcera da córnea	1
Uveíte	2
Uveíte Equina Recorrente	1
<b>RESPIRATÓRIO</b>	
Asma Equina	5
Broncopneumonia	3
Pneumonia por aspiração	3
Rinite	1
Sinusite	1
<b>ONCOLÓGICO</b>	
Carcinoma de células escamosas	2
Sarcóide	1
<b>INFECIOSO</b>	
Piroplasmose	3
<i>Rhodococcus equi</i>	2
Salmonelose	2
<b>DERMATOLÓGICO</b>	
Celulite	2
Dermatite bacteriana	1
Dermatite por picada de insetos	2
Infeção de incisão cirúrgica	2

Urticária	1
<b>NEUROLÓGICO</b>	
Encefalomyelite Equina	1
Epilepsia Equina Juvenil	1
<b>UROGENITAL</b>	
Cistite hemorrágica	1
Hérnia escrotal	1

Procedimentos observados entre 15 de janeiro e 3 de maio de 2024.

PROCEDIMENTOS	OVAH – ONDERSTEEPOORT EQUINE CLINIC
<b>MUSCULOESQUELÉTICO</b>	
Aplicação de penso	>20
Artrocentese	2
Artroscopia	2
Biópsia	1
Bloqueios anestésicos	>10
Cirurgia ortopédica - fratura do olecrânio	1
Desmotomia do ligamento interespinhoso	1
Detetor de claudicação	5
Divisão axial transoral	1
Exame de ato compra-venda	>10
Exame de claudicação	>20
Injeção intra-articular	>10
Mesoterapia	3
Nodulectomia	2
<b>DIGESTIVO</b>	
Abdominocentese	>10
Entubação nasogástrica	>20
Gastroscoopia	>10
Laparotomia	5
Palpação retal	>20
<b>CARDIOVASCULAR</b>	
Ecocardiograma	2
Eletrocardiograma de esforço	1
Eletrocardiograma dinâmico (24h)	2
<b>OFTALMOLÓGICO</b>	
Desbridamento de úlcera da córnea	1
Enucleação	1

Exame oftalmológico	5
Coloração com fluoresceína	>10
Implante de ciclosporina supra-coroidal	1
<b>RESPIRATÓRIO</b>	
Aspirado transtraqueal	3
Endoscopia do trato respiratório	8
Endoscopia em esforço	1
Lavagem broncoalveolar	4
<b>NEUROLÓGICO</b>	
Colheita de LCR	1
Exame neurológico	2
<b>ECOGRAFIA</b>	
Abdominal	>20
Membros	>10
Outros	3
Torácica	14
<b>RADIOGRAFIA</b>	
Membros	>20
Outros	5
<b>GERAL</b>	
Cateterização intravenosa	>20
Cateterização urinária	5
Injeção intramuscular	>20
Injeção intravenosa	>20
Injeção subcutânea	>20
<b>OUTROS</b>	
Amputação peniana	1
Castração	1
Cistoscopia	1
Eutanásia	7
Exame odontológico	1
Necrópsia	3
Ressonância Magnética	1
Tomografia Computorizada	1

# ÍNDICE

RESUMO .....	I
CASUÍSTICA E PROCEDIMENTOS .....	II
1. Introdução .....	1
2. Revisão Bibliográfica .....	2
2.1 Vírus do Nilo Ocidental .....	2
2.1.1 Virologia .....	2
2.1.2 Epidemiologia.....	3
2.1.3 Transmissão.....	4
2.1.4 Patogénese.....	5
2.2 Encefalomielite Equina por Vírus do Nilo Ocidental .....	6
2.2.1 Patologia.....	6
2.2.2 Sinais clínicos.....	7
2.2.3 Diagnóstico.....	8
2.2.4 Tratamento .....	9
2.2.5 Fatores de risco e prognóstico .....	11
2.2.6 Prevenção e Profilaxia .....	12
2.2.7 Abordagem One Health e Vírus do Nilo Ocidental.....	13
3. Caso clínico.....	15
3.1 Identificação do paciente.....	15
3.2 História clínica e Anamnese .....	15
3.3 Exame Clínico e Neurológico.....	16
3.4 Exames Complementares e Diagnósticos Diferenciais .....	17
3.5 Terapêutica .....	18
3.6 Hospitalização e Maneio .....	18
3.7 Exame <i>post-mortem</i> .....	20
4. Discussão.....	21
5. Conclusão .....	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	24
ANEXOS .....	28

## ABREVIATURAS

<b>BHE</b>	Barreira hematoencefálica
<b>BID</b>	Administração duas vezes ao dia
<b>BPM</b>	Batimentos por minuto
<b>CRI</b>	Taxa de infusão constante
<b>DGAV</b>	Direção Geral de Alimentação e Veterinária
<b>EHV</b>	Herpesvírus Equino
<b>EPI</b>	Equipamento de proteção individual
<b>INIAV</b>	Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária
<b>IM</b>	Injeção intramuscular
<b>IV</b>	Injeção intravenosa
<b>LCR</b>	Líquido cefalorraquidiano
<b>PO</b>	Administração por via oral
<b>PT</b>	Proteínas totais
<b>QID</b>	Administração quatro vezes ao dia
<b>RHB</b>	Rosadas, húmidas e brilhantes
<b>qRT-PCR</b>	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
<b>RPM</b>	Respirações por minuto
<b>SC</b>	Injeção subcutânea
<b>SID</b>	Administração uma vez ao dia
<b>SNC</b>	Sistema nervoso central
<b>SNP</b>	Sistema nervoso periférico
<b>TID</b>	Administração três vezes ao dia
<b>TRC</b>	Tempo de repleção capilar
<b>WNV</b>	<i>West Nile Virus</i> (Vírus do Nilo Ocidental)

## 1. Introdução

Na atualidade, a Encefalomielite Equina por Vírus do Nilo Ocidental é uma patologia neuroinvasiva, que apresenta incidência global. Este vírus afeta uma multitude de espécies, no entanto, os equinos e humanos são especialmente suscetíveis à sua natureza neurotrópica. Os mecanismos de patogénese são alvos de investigação, e cada vez existe mais interesse pelo desenvolvimento de modelos de risco para melhor prever surtos epidemiológicos.

O vírus foi descrito pela primeira vez na África Oriental e a sua disseminação para o continente europeu e americano, resultou na infeção de dezenas de milhares de equinos e seres humanos. A emergência de *WNV* no mundo ocidental, constituiu uma ameaça a populações de equídeos naïve que rapidamente sucumbiram às manifestações neurológicas características deste vírus. Apesar de haver casos humanos descritos no século passado, o surto da doença em equinos em 1999 nos Estados Unidos da América, demonstrou a capacidade zoonótica da doença e o perigo que constitui para a saúde pública.

A manifestação clínica em equinos, é de natureza neurológica e revela-se maioritariamente por sinais clínicos como ataxia e fraqueza muscular. Contudo, a sua apresentação pode variar e incluir diversas afeções neurológicas e não neurológicas, sendo que os seus sinais clínicos não são patognomónicos. A infeção por *WNV* é maioritariamente subclínica, no entanto, a sua manifestação clínica e aguda resulta em encefalomielites não supurativas, com envolvimento do sistema nervoso central, em estruturas como o cérebro, tronco encefálico, cerebelo e medula espinal. O diagnóstico desta patologia é obtido através de exames laboratoriais como PCR e serologia e o seu tratamento é conservativo e de suporte, salientando a importância de maneio hospitalar adjuvante.

O seguinte trabalho aborda as características de *WNV* e a doença que provoca em equinos, que apesar de ser incomum, constitui uma preocupação de maior interesse na Medicina Equina. Atualmente, ainda apresenta uma ameaça em diversas regiões de África, Europa e América, afetando fatalmente os animais que a contraem. O seu estudo e compreensão em equinos é de extrema importância não só para esta espécie, mas também para a saúde humana, sendo necessário abordar o seu impacto a nível global sob uma perspectiva de *One Health*.

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1 Vírus do Nilo Ocidental

#### 2.1.1 Virologia

O WNV pertence à família *Flaviridae* e género *Flavivirus* (Angenvoort et al., 2013; Colpitts et al., 2012). Nesta família existem mais de 70 vírus, sendo o WNV o mais conhecido e estudado da atualidade. Os vírus desta família possuem uma cadeia RNA simples de polaridade positiva encapsulada por um envelope de formato esférico (11-kb de comprimento) (Angenvoort et al., 2013; Colpitts et al., 2012). Estes vírus possuem 3 tipos de proteínas estruturais, C, PrM e E, e 7 tipos de proteínas não estruturais, NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5 (Colpitts et al., 2012). As proteínas estruturais mencionadas estão envolvidas no encapsulamento do RNA e no suporte das estruturas físicas responsáveis pela endocitose e fusão do envelope com as células do hospedeiro. As restantes proteínas não estruturais desempenham as funções de RNA síntese, polimerase, metiltransferase, protease e helicase (Chambers et al., 1990; Colpitts et al., 2012). O género *Flavivirus* pode ser dividido em 4 tipos filogenéticos ou linhagens. A linhagem 1 pode ser subdivida em 3 sublinhagens (1a-1c), sendo que o 1a é geograficamente disperso, 1b representa variantes do Este da Ásia e Austrália e 1c está mais intimamente ligado a estirpes isoladas na Índia (Colpitts et al., 2012; Lim et al., 2011). A linhagem 2, inicialmente apenas encontrada em África e Madagáscar, surgiu na Europa em 2004. Estas duas linhagens estão associadas a surtos recentes de casos de infeção humana e equina nos últimos 10 anos (Angenvoort et al., 2013). A linhagem 3 é reconhecida por apresentar dificuldade em replicar em hospedeiros vertebrados. Uma hipótese aponta para uma especificidade apenas para vetores (Aliota et al., 2012). A linhagem 4 foi isolada em carraças de uma região do Sudeste Russo. Atualmente não existem evidências suficientes para sustentar a hipótese da linhagem 3 e 4 provocarem doença em humanos e equinos (Angenvoort et al., 2013).

Este género de vírus apresenta 8 tipos de complexos antigénicos com origem em neutralização cruzada com outros vírus, nomeadamente *Japanese Encephalitis Virus* (JEV), *Murray Valley Encephalitis Virus* (MVEV) e *St. Louis Encephalitis Virus* (SLEV) (Angenvoort et al., 2013). Desta forma, estes vírus são agrupados no grupo serocomplexo JEV.

### 2.1.2 Epidemiologia

O *WNV* foi isolado pela primeira vez numa mulher febril, em 1937 em Uganda no distrito de *West Nile* (Ostlund et al., 2001). Na década de 50, as características deste vírus foram estudadas mais atentamente, após vários surtos da doença ocorrerem no Egito, onde o vírus foi isolado em vetores, pessoas e aves. Durante este surto, determinou-se que as aves eram um potencial hospedeiro enzoótico relevantes na transmissão do vírus, mas foi apenas na década seguinte que a patogenicidade de *WNV* em aves foi reconhecida após um surto em Israel onde foi observado encefalite, paralisia e morte de diversas espécies desta classe de animais (Ostlund et al., 2001). Durante 1950s e 1970s, houve uma diminuição de interesse no estudo deste vírus, no entanto continuaram-se a verificar surtos esporádicos em humanos em Israel (Cantile et al., 2000). No decorrer deste período, o isolamento de *WNV* em equinos foi observado na Europa como casos isolados com risco pouco significativo.

O *WNV* foi reintroduzido no mundo ocidental no início do milénio, e um novo interesse pela doença foi despoletado pela rápida disseminação do vírus no Norte de África, Europa Ocidental, Estados Unidos da América e Israel (Lecollinet et al., 2019). O padrão de migração de aves infetadas do Norte e Este de África e Médio Oriente, acredita-se ter contribuído na disseminação do vírus, inicialmente para a Europa e mais tarde para a América. O estudo de sequências virais destas aves, comprovaram a sua origem geográfica (Charrel et al., 2003). Em 2004, a linhagem 2 de *WNV* surgiu na Europa provocando o primeiro grande episódio epidemiológico no continente (Lecollinet et al., 2019).

Em 1999 um surto de *WNV* em Nova Iorque, resultou em elevada morbidade e mortalidade tanto em humanos como em animais (maioritariamente aves) (Ostlund et al., 2001). O contacto deste vírus com a população naïve animal e humana demonstrou-se devastadora, sendo que resultou na rápida disseminação de *WNV* pelo Norte e Sul da América (Ostlund et al., 2001). Na Europa, a reintrodução de *WNV* linhagem 1 ocorreu entre 1996-2000, maioritariamente no Mediterrâneo e Europa Ocidental. No entanto, não se detetou a mesma morbidade e mortalidade observada nos Estados Unidos (Lecollinet et al., 2019). Em 2004, observou-se o isolamento de linhagem 2 na Europa, mais usualmente associada a apresentação neurológica e com maior taxa de fatalidade em equinos. Esta linhagem era anteriormente associada a menor patogenicidade do que a linhagem 1, uma vez que locais com infeção histórica como África do Sul, apresentavam surtos com elevada seroprevalência e mínima apresentação de sinais clínicos (Guthrie et al., 2003).

A doença em equinos, Encefalomielite por *WNV*, foi descrita pela primeira vez na década de 60 inicialmente no Egito e surgiu posteriormente em França, Portugal e Chipre (Lecollinet et al., 2019). Concomitantemente aos surtos observados em aves e humanos no fim da década de 90, a

Encefalomielite Equina provocada por *WNV* foi identificada em Marrocos em 1996, Itália em 1998, e Estados Unidos da América, França e Israel em 2000 (Cantile et al., 2000). Após o surto de 1999, a incidência aumentou significativamente na América do Norte, atingindo o seu pico em 2002 com aproximadamente 27 000 casos (Cantile et al., 2000). Desde então foram observados episódios esporádicos de *WNV* na África do Sul em 2007, Europa em 2010 e Austrália em 2011 (Angenvoort et al., 2013).

Atualmente, a infecção por *WNV* tanto em humanos como equinos apresenta uma distribuição mundial, sendo endêmica na Europa, América do Norte, Médio Oriente e Oeste Asiático (Colpitts et al., 2012). Do grupo de arbovírus é o vírus com maior distribuição geográfica no mundo, e isto deve-se essencialmente à capacidade de adaptação a diferentes ecossistemas e à transmissão facilitada através de vetores vertebrados e não vertebrados (Angenvoort et al., 2013)

### **2.1.3 Transmissão**

O ciclo enzoótico de *WNV* é caracterizado pela transmissão entre vetores artrópodes, nomeadamente mosquitos *Culex* spp. e aves passeriformes, sendo este último o principal reservatório do vírus (Angenvoort et al., 2013; Long, 2014). Durante o processo de hematofagia dos artrópodes em hospedeiros vertebrados, a injeção de saliva na camada subdérmica, permite a disseminação de *WNV* no espaço extravascular (Colpitts et al., 2012; Styer et al., 2007). O *WNV* provoca elevados níveis de virémia em aves e baixa patogenicidade, o que facilita a disseminação viral através de vetores que se alimentam deste grupo de animais (Toribio, 2022). Em particular, os corvídeos desempenham um papel importante na amplificação epidémica, uma vez que após infecção atingem elevados títulos de virais de determinadas estirpes (Angenvoort et al., 2013). A resposta aviária à infecção por *WNV* depende da espécie e estirpe viral, sendo que dependendo do tipo de ave afetada, poderá existir maior predisposição para manifestação da doença e morte, em contraste com outros grupos que apenas atuam como veículos de *WNV* (Lim et al., 2011).

Outros vetores artrópodes, como *Aedes* spp. são responsáveis pela transmissão a humanos e equinos (Angenvoort et al., 2013), uma vez que estes mosquitos, em contraste com *Culex* spp., são hematófagos menos discriminatórios nos animais em que se alimentam. No entanto, o Ser Humano e o cavalo são hospedeiros com um papel irrelevante no ciclo enzoótico, sendo considerados hospedeiros fim de linha (Angenvoort et al., 2013). Apesar destes hospedeiros desenvolverem síndromes neurológicas, a infecção não se traduz em virémia suficiente para infetar vetores invertebrados, de forma a continuar o ciclo biológico. Ou seja, a infecção de humanos e equinos provoca infecção, mas limita o contágio direta ou indiretamente a vetores artrópodes. Outros pequenos

mamíferos podem ser infetados por *WNV*, contudo não representam uma ameaça significativa no ciclo enzoótico e disseminação viral.

A ampliação viral é influenciada pela estação do ano, tipo de vetor, tipo de hospedeiro, estado imunitário do hospedeiro e a estirpe viral em questão. Dependendo da localização geográfica, o ciclo de vida dos vetores segue o clima local, sendo sazonal no hemisfério norte na altura de primavera e verão. Em locais tropicais a emergência de vetores pode ocorrer durante todo o ano (Angenvoort et al., 2013). Em contraste, em climas temperados, o *WNV* é mantido pelos hospedeiros vertebrados como as aves e pequenos mamíferos, nas épocas frias, observando-se uma maior incidência de infecção em hospedeiros suscetíveis a desenvolvimento de doença nas estações quentes, como a primavera e o verão.

#### **2.1.4 Patogénese**

O *WNV* é transmitido através da saliva de artrópodes hematófagos, injetada na camada subdérmica da pele do hospedeiro. A inoculação deste vírus em pequenos mamíferos, permitiu melhor compreender a sua patogénese (Olivares & Wood, 2004). Após inoculação periférica, o vírus é replicado ao nível das células dendríticas Langerhans e queratócitos (Saiz et al., 2021). Estas células são responsáveis pelo transporte do vírus até aos gânglios linfáticos regionais, onde este prolifera, e é posteriormente disseminado para o baço, rins e fígado (Rossi et al., 2011; Samuel & Diamond, 2006). O *WNV* é neurotrópico e atinge o sistema nervoso central através de uma combinação de mecanismos. Atualmente, não existe consenso nos métodos pelo qual este fenómeno ocorre, mas foram sugeridas as seguintes possibilidades: a infecção direta através da barreira hematoencefálica, extravasamento capilar e disseminação viral através de neurónios periféricos (Rossi et al., 2011). Ao avaliar experimentalmente a resposta de pequenos roedores à infecção por *WNV*, verificou-se que altos títulos virais não implicam patologia encefálica (Samuel & Diamond, 2005). No estudo indicado, virémia elevada seria suficiente para provocar encefalite, após transpor a barreira hematoencefálica (Samuel & Diamond, 2005). Proteínas do hospedeiro como Drak2, ICAM-1, MIP e MMP-9 facilitam a permeabilidade do *WNV* através da BHE (Aliota et al., 2012).

De forma semelhante aos humanos e pequenos mamíferos, os equinos também desenvolvem patologia a nível do tronco cerebral, hipocampo e medula espinhal (Samuel & Diamond, 2006). Os mecanismos de difusão neurológica de *WNV* em cavalos diferem de modelos já estudados, incluindo pequenos roedores e aves. Caracteristicamente, os equinos possuem níveis de títulos virais mais baixos durante um período mais curto de tempo após infecção (Bunning et al., 2002). Desta maneira, a difusão viral a nível capilar e replicação em células endoteliais não são consideradas nesta espécie, em

prol da hipótese de disrupção e transporte através da BHE por células mononucleadas e transporte axonal retrógrado (Saiz et al., 2021). Na fase inicial de infeção, o transporte de *WNV* através da BHE é mediado por células e proteínas endógenas, que por sua vez despoleta a indução de resposta inflamatória, com recurso a citocquinas e metaloproteinases (MMPs). Este processo aumenta a permeabilidade da BHE, favorecendo transporte viral posterior, característico desta patologia neuroinvasiva (Lim et al., 2011).

## **2.2 Encefalomielite Equina por Vírus do Nilo Ocidental**

### **2.2.1 Patologia**

De forma geral, humanos, equinos e aves apresentam a capacidade de desenvolver inflamação difusa do SNC, mas os sintomas e patofisiologia da doença diferem substancialmente entre espécies (Steele et al., 2000).

A patologia de *WNV* em equinos caracteriza-se por encefalomielite não supurativa e disfunção neuronal (Angenvoort et al., 2013). No entanto, a manifestação da doença não é garantida após infeção, sendo que a maioria dos equinos permanecem assintomáticos (Toribio, 2022). Estima-se que 10 a 39% dos cavalos infetados manifestam doença clínica (Toribio, 2022), mas em um estudo de infeção experimental observou-se patologia neurológica de 10 a 15% da amostra, em contraste, outro estudo apresentou uma taxa de infeção de 8% (Angenvoort et al., 2013). Adicionalmente, acreditava-se que a manifestação da doença em equinos limita-se a uma apresentação neurológica, no entanto não existe investigação atual para excluir outros tipos de manifestações (Angenvoort et al., 2013).

Os mecanismos de lesão neurológica em equinos ainda não são conhecidos factualmente, mas assimilam-se aos observados em humanos (Naveed et al., 2024). O período de incubação pode variar de 3 a 15 dias (Toribio, 2022), mas em estudos de infeção experimental observou-se manifestação de sinais clínicos 7 a 9 dias após inoculação (Bunning et al., 2002).

Achados macroscópicos em equídeos infetados com *WNV*, aquando momento de necrópsia, incluem congestão, hemorragia e edema das meninges, córtex, tronco encefálico, tálamo, hipotálamo, medula oblonga e medula espinal (Toribio, 2022). Especificamente, lesões como hiperémia meníngea, exsudados subdurais com fibrina e áreas focais de hemorragia no tronco encefálico e medula espinal (Olivares & Wood, 2004). É relevante mencionar que as lesões macroscópicas podem ser ligeiras ou estar mesmo ausentes (Scott Weese et al., 2003). A nível histopatológico, a infeção por *WNV* é caracterizada por encefalomielite não-supurativa do SNC (Naveed et al., 2024). Ao nível do tálamo, mesencéfalo, rombocéfalo e gânglios basais é observada morte celular por piroptose (Naveed et al., 2024). Concomitantemente, são observadas mudanças inflamatórias com degeneração neuronal

generalizada e necrose em casos agudos (Naveed et al., 2024). A microgliose é um achado comum, bem como a formação de nódulos gliais, proliferação de astrócitos e infiltração perivascular de células inflamatórias (Bielefeldt-Ohmann et al., 2017). Nas meninges pode ser observada hiperémia ligeira e na medula espinal as alterações restringem-se à substância cinzenta dos cornos ventrais e laterais (Bielefeldt-Ohmann et al., 2017). O SNP também é afetado na infecção de WNV em equinos, sendo que este vírus apresenta predileção para nervos motores cranianos (Naveed et al., 2024).

Como referido anteriormente, outras apresentações da doença em cavalos ainda são tema de investigação, no entanto, existem casos documentados de manifestação de sinais clínicos não neurológicos, incluindo oftálmicos, musculoesqueléticos e cardíacos (Angenvoort et al., 2013; Kuchtey et al., 2003).

### **2.2.2 Sinais clínicos**

A infecção por WNV não possui sinais clínicos patognomónicos, o que dificulta a sua identificação e diagnóstico (Angenvoort et al., 2013). Equinos que contraem este vírus podem apresentar uma multitude de sinais clínicos neurológicos e não neurológicos em casos pontuais (Snook et al., 2001). Após a inoculação de WNV, os sinais clínicos iniciais podem ser subtis e difíceis de identificar. Contudo, alterações de comportamento, letargia, pirexia, anorexia, claudicação e sinais semelhantes a cólica podem estar presentes (Seino et al., 2007). As alterações comportamentais, tais como depressão, hiperexcitabilidade, agressividade, podem surgir com diferentes manifestações e alternar no decorrer e progressão da patologia. Normalmente, a primeira indicação de doença neurológica é desenvolvimento de ataxia (Angenvoort et al., 2013), que se manifesta acompanhada de fraqueza e fasciculações musculares, decúbito prolongado e paralisia (Leblond et al., 2007).

Outros sinais clínicos menos comuns, incluem déficite dos pares cranianos e febre após a fase de inoculação. Indicações de déficite dos pares cranianos, tais como fotofobia, cegueira, hiperestesia, disfagia, bruxismo e *circling*, foram descritos em estudos de infeção experimental de WNV em equídeos (Snook et al., 2001). Manifestações não neurológicas podem ocorrer, no entanto são raras as apresentações sistémicas. Alguns dos sinais clínicos sistémicos descritos na literatura, incluem disfunção urinária, icterícia, dor cervical e torácica, cólica, prolapso retal e anemia (Leblond et al., 2007). Patologia oftalmológica como uveíte em humanos infetados por WNV já foi descrita na literatura, no entanto, em equinos ainda não é conclusivo a este tipo de manifestação (Kuchtey et al., 2003; Naveed et al., 2024b).

A maioria das infeções por WNV em equinos apresentam manifestações subclínicas, contudo a taxa de mortalidade em manifestações clínicas é reportada como sendo de 22 a 36% (Naveed et al.,

2024). Déficits neurológicos residuais permanecem em 10 a 20 % dos casos após recuperação da encefalomielite por *WNV* (Paré, 2008). No entanto, num estudo retrospectivo com inclusão de 46 casos de encefalomielite por *WNV*, observou-se a reversão de sequelas 12 meses após o fim de hospitalização em 90% dos animais com déficits residuais (Porter et al., 2003).

### 2.2.3 Diagnóstico

O diagnóstico de *WNV* em equinos é baseado em exames laboratoriais devido, não só à natureza subclínica da maioria dos casos, mas também devido ao facto de não apresentar sinais clínicos patognomónicos (Olivares & Wood, 2004). Desta forma, é necessário recorrer a testes de diagnóstico como serologia e PCR para identificar corretamente o agente etiológico e distinguir de outros vírus causadores de encefalite viral. Contudo, é essencial manter uma abordagem global perante cada caso, incidindo nos sinais clínicos, anamnese, história clínica, estado vacinal do animal e dados epidemiológicos de *WNV* na região (Toribio, 2022).

O exame clínico geral é de extrema importância, principalmente no início do quadro clínico, de forma a não menosprezar indicações subtis de sinais neurológicos que apenas se tornarão mais evidentes com a progressão da patologia. Na suspeita de doença neurológica ou probabilidade de infeção por *WNV*, o exame neurológico deve ser efetuado no seguimento do exame geral. Este último, permite estimar o local de lesão nervosa e excluir lesões musculoesqueléticas que possam provocar ataxia e fraqueza muscular.

O exame neurológico do cavalo deve adaptar-se à condição do animal, tendo em conta as limitações de movimento, adoção de decúbito e alterações comportamentais com o objetivo de garantir a segurança do clínico e do equino (Hahn, 2022). É iniciado pela determinação de estado mental do animal, seguido pelo exame da cabeça e pares cranianos com especial atenção a assimetrias da face, postura, tonalidade muscular, funções motoras e sensitivas e visão. Posteriormente, prossegue-se caudalmente, com a avaliação do pescoço e tórax, e períneo. Após o exame estático, quando possível, é avaliado a marcha e postura, com ênfase no movimento dos membros, equilíbrio e reflexos. Em equinos em decúbito, na impossibilidade de avaliar a marcha, a localização da lesão é dificultada, sendo necessário adaptar o exame neurológico à condição do animal (Hahn, 2022). Nestes casos, os clínicos encontram-se mais dependentes da história clínica proporcionada pelo proprietário do cavalo.

Perante a presença de sinais neurológicos, devem ser ponderados os possíveis diagnósticos diferenciais. O primeiro recurso disponível para clínicos que praticam tanto em campo como ambiente hospitalar são as análises sanguíneas, como o hemograma e análises bioquímicas. Apesar destes

métodos não revelarem a presença de infecção por *WNV*, permitem melhor entender a condição do equino e descartar patologias primárias como origem da apresentação neurológica (Toribio, 2022).

A análise de LCR pode ser benéfica para agregar mais informação sobre o estadió da patologia, no entanto não é um método de confirmação e diagnóstico de encefalomielite por *WNV* (Toribio, 2022). As amostras de LCR podem ser avaliadas macroscopicamente, pela cor e aspeto do líquido, citologicamente e ainda podem ser enviadas para serologia. Os achados mais comuns compatíveis com *WNV*, incluem o aumento de proteínas totais e pleocitose linfocítica mononuclear (Toribio, 2022).

A confirmação de infecção por *WNV* é efetuada através de testes serológicos e PCR, nomeadamente a deteção de anticorpos IgM aquando manifestação clínica, ou o isolamento de antigénios *WNV* ou RNA em tecido nervoso no exame post-mortem (Angenvoort et al., 2013). Adicionalmente, existem métodos qRT-PCR capazes de deteção de *WNV*, no entanto apresentam limitações na janela de tempo que podem ser aplicados, devido à fase de virémia bastante curta em equinos de 4 a 6 dias, sendo que apenas os resultados positivos apresentam significância diagnóstica (Bunning et al., 2002). Desta forma, a serologia é preferível à qRT-PCR na presença de manifestação clínica. Os métodos serológicos incluem *IgM antibody capture ELISA* (MAC-ELISA), IgG ELISA, ensaio de inibição de aglutinação, fixação de complemento, ensaio de imunofluorescência (IFA) e teste de neutralização por redução de placas (PRNT). O método preferencial em equinos é MAC-ELISA, uma vez que a deteção de anticorpos IgM é o melhor indicador de infecção recente por *WNV*, sendo que persiste no organismo por apenas 3 meses e não são encontrados facilmente em cavalos vacinados contra este vírus (Olivares & Wood, 2004). Tendo em conta a natureza de reação cruzada entre diferentes Flavivírus, podem ser necessários testes de neutralização cruzada para confirmar a deteção *WNV* (Angenvoort et al., 2013). A serologia pode ser realizada em amostras de sangue, LCR e tecidos *post-mortem* (Olivares & Wood, 2004).

A lista de diagnósticos diferenciais perante um quadro clínico não específico de sinais neurológicos, deve incluir outros flavivírus, alfavírus, botulismo, raiva, mieloencefalite protozoária equina, mieloencefalite por Herpesvírus, encefalopatia hepática, doença de Borna, leucoencefalomalacia, polineurite, síndrome de *wobblers*, mieloencefalite degenerativa equina e intoxicação (Toribio, 2022).

#### **2.2.4 Tratamento**

O tratamento de encefalomielite por *WNV* consiste em terapêutica de suporte sintomático, com o intuito de minimizar o processo inflamatório e assemelha-se ao tratamento instituído na ocorrência de qualquer tipo de encefalite viral (Toribio, 2022). Devido às diferentes apresentações da

doença, o tratamento deverá adaptar-se e ir de encontro às necessidades de cada equino (Snook et al., 2001).

Os anti-inflamatórios não esteroides são determinantes no tratamento inicial dos sinais clínicos de encefalomielite por *WNV*, sendo o fármaco de eleição desta classe, a Flunixinina Meglumina (1,1mg/kg, IV ou PO, BID) (Toribio, 2022). Este fármaco, não só auxilia na diminuição do processo inflamatório a nível do SNC, mas também é adjuvante na redução da pirexia (Long 2002). Alguns anti-inflamatórios glucocorticoides são descritos como alternativas, como a Dexametasona (0,05 – 0,10 mg/kg, IV, SID) e Metilprednisolona (1 – 2 mg/kg, SID), apesar de serem de uso controverso pela possibilidade de potenciar a virémia de *WNV* (Porter et al., 2003). A Dexametasona é um anti-inflamatório de última opção e é geralmente administrado a equinos em estadios tardios da doença e em animais em decúbito, nos quais a Flunixinina Meglumina não surte efeito (Long et al., 2002). Dimetilsulfóxido (0,1 – 1 g/kg, IV, solução 10%, SID), é também um fármaco utilizado em infeções neurológicas agudas e patologias não infecciosas, bem como a fenilbutazona (1,1 – 2,2 mg/kg, SID ou BID) (Toribio, 2022).

A fluidoterapia intravenosa está indicada em casos que apresentem desidratação e/ou desequilíbrios eletrolíticos e ácido-base, a uma taxa de administração base (taxa de manutenção) de 40 a 60 ml/kg/dia (Crabtree & Epstein, 2021). Alimentação parental pode ser contemplado como reforço calórico ou mesmo como substituição de alimento, em casos em que o animal se encontra em decúbito permanente e/ou apresenta déficit neuronais que o impeçam de se alimentar (Snook et al., 2001).

Com o intuito de reduzir o edema do SNC e medula espinal, pode ser administrado Manitol (0,25 – 2 g/kg, IV, solução de 20%, durante 20 minutos, TID) ou taxa de infusão constante de solução salina hipertónica de 3 a 7% (Toribio, 2022).

O uso de antibióticos é recorrente devido à natureza ambígua dos sinais clínicos e de forma profilática, com o intuito de evitar infeções secundárias (Toribio, 2022). A administração de antioxidantes, como Vitamina E, também é indicada em casos de encefalomielite viral, de maneira a mitigar que lesões oxidativas neuronais progridam (Toribio, 2022).

O recurso a sedativos, tranquilizantes e anticonvulsivos pode ser necessário em quadros clínicos caracterizados por alterações comportamentais agudas, inquietação, tremores e fasciculações musculares e convulsões. Um estudo retrospectivo de 2003, indica o uso de Acepromazina (0,02 mg/kg IV ou 0,05 mg/kg IM), Xilazina (0,5 – 1,0 mg/kg, IV), Butorfanol (0,01 – 0,02 mg/kg IV ou IM) e Detomidina (0,02 - 0,04 mg/kg, IV ou IM) (Porter et al., 2003). Complementarmente, podem ser adotadas medidas de manejo de modo a evitar hiperexcitabilidade e atenuar hiperestesia, como a diminuição da luminosidade nas infraestruturas de estabulação e colocação de algodão no canal auditivo para reduzir estímulos auditivos (Angenvoort et al., 2013).

Em ambiente hospitalar, a abordagem a casos neurológicos, antes da confirmação do agente etiológico deve incluir o isolamento do animal em estábulos separados dos demais equinos presentes. O equipamento EPI deve ser usado pelos clínicos e tratadores, durante contacto próximo com o cavalo, até serem descartados diagnósticos diferenciais como raiva e alfavírus (Snook et al., 2001). Se as instalações o possibilitarem, o equino deve permanecer não só isolado, mas também numa boxe acolchoada de maneira a minimizar o risco de lesões autoinfligidas, especialmente importante em equinos extremamente atáxicos (Snook et al., 2001). Adicionalmente, animais em decúbito permanente necessitam de cuidados especiais, como a alteração da posição de decúbito frequentemente, auxílio na estação por meios mecânicos e estímulo e esvaziamento manual de urina, se assim for necessário.

### **2.2.5 Fatores de risco e prognóstico**

Os principais modelos preditivos de infecção de *WNV* na Europa incluem as rotas de migração de aves, temperatura máxima mensal e anual e presença de rios e locais de baixa altitude (Schwarz & Long, 2023). Um estudo realizado em África, determinou que as variáveis que provocam atividade enzoótica, são a presença de aves, temperatura elevada, proximidade a corpos de água parada e a agricultura local (García-Carrasco et al., 2023). Os fatores preditivos epizooticos são semelhantes aos enzoóticos, sendo que presença de vetores, hospedeiros (reservatórios), níveis de população e proximidade a culturas agrícolas irrigadas são considerados fatores preditivos de surtos de *WNV* (García-Carrasco et al., 2023). Nos Estados Unidos da América, verificou-se que a presença de aves reservatório apresentam mais peso como fator de risco do que o clima e demografia (Humphreys et al., 2021). Outro estudo realizado na América do Sul, observou que os padrões de infecção acompanham os movimentos de aves migratórias e emergência de vetores, sendo que na primavera verificaram-se infecções por *WNV* em regiões a norte e na altura do outono em regiões mais a sul, atingindo pico de incidência no meio do verão (Lorenz et al., 2022). Dois estudos na América Central e do Sul, determinaram que a precipitação apresenta correlação com casos equinos, no entanto verificou-se que a incidência de infecções é maior em períodos de seca, juntamente com temperaturas elevadas (Lorenz et al., 2022; Pauvalid-Corrêa et al., 2014).

As atividades agrícolas e regiões rurais estão mais associadas a maior taxa de seroprevalência e doença neuroinvasiva em humanos e equinos (Schwarz & Long, 2023). Um estudo na Alemanha, estipulou 6 variáveis intimamente associadas a seroprevalência de *WNV* em equinos (Ganzenberg et al., 2022). Verificou-se que os pôneis apresentam menor risco de infecção do que cavalos de estatura normal, que pode ser explicado devido à preferência dos vetores por animais com menos densidade

folicular e diferente composição da sudorese (Paz & Semenza, 2013). Os equinos com acesso a pasto 24 horas apresentam um maior risco de seropositividade do que equinos sem acesso permanente ao pasto, o que pode ser explicado pela exposição elevada a picadas por artrópodes (Ganzenberg et al., 2022).

A idade não aparenta ser um fator preditivo de doença, contudo existem estudos contraditórios que reportam maior incidência em animais geriátricos e outros em animais adultos (Porter et al., 2003; Schwarz & Long, 2023). Outros estudos independentes apresentam mortalidade elevada para animais com menos de 1 ano de idade, quando infetados por *WNV* (Schwarz & Long, 2023).

Estudos realizados em roedores mostram a correlação entre aumento dos níveis de *stress*, imunossupressão e aumento da replicação viral *in vivo*, no entanto esta possibilidade ainda não foi verificada em equinos (Bertram et al., 2021).

O prognóstico para infecção por *WNV* em equinos, baseia-se essencialmente na severidade dos sinais neurológicos (Bertram et al., 2021). Deste modo, não é possível estimar concretamente o desfecho da doença apenas pela contração da infecção. A taxa de mortalidade por encefalomielite por *WNV*, foi de 39% durante o episódio epizootico de 1999 nos Estados Unidos (Snook et al., 2001), e este número permaneceu semelhante nos anos seguintes até ao desenvolvimento de profilaxia eficaz. Atualmente a taxa de mortalidade em equinos que contraem manifestação clínica *WNV* ronda os 30%, sendo que os animais que desenvolvem doença clínica aguda e com progressão para adoção de decúbito apresentam uma taxa de mortalidade de 70% (Bertram et al., 2021).

### **2.2.6 Prevenção e Profilaxia**

A prevenção da infecção por *WNV* é realizada maioritariamente com recurso a profilaxia por vacinação, no entanto, deve ser complementado com medidas de manejo para limitar a exposição dos equinos aos artrópodes transmissores de doença (Angenvoort et al., 2013). Deste modo, deverão ser evitados locais de pasto próximos a corpos de água parada e pastoreio 24h nas épocas de reprodução dos mosquitos (Toribio, 2022). O uso de inseticidas e repelentes é indicado quando os equinos se encontram em liberdade e é aconselhado o uso de barreiras físicas, como máscaras e mantas de moscas, nas épocas de maior risco de infecção, bem como reduzir as atividades no exterior nas alturas de maior atividade dos artrópodes, como o crepúsculo (Toribio, 2022).

Existem atualmente no mercado vacinas recombinantes vivas e vacinas inativadas, para a linhagem 1 e 2 de *WNV* (Angenvoort et al., 2013). As vacinas podem ser monovalentes, mas várias das disponíveis são polivalentes e englobam outras encefalites de origem viral como EHV-1, EHV-4, tétano,

Influenza Equina, *Venezuelan, Western e Eastern Equine Encephalomyelitis* (Toribio, 2022). As vacinas desenvolvidas apresentam eficácia na profilaxia, sendo que apenas 2,2% dos cavalos vacinados acabam por desenvolver doença clínica (Joó et al., 2017). A vacinação é iniciada em poldros de 4 a 6 meses, seguida de uma ou duas imunizações de reforço, com um mês de intervalo, e repetidas anualmente (Angenvoort et al., 2013). Em zonas endémicas, equinos com menos 4 anos devem ser submetidos a reforço 2 a 3 vezes por ano (Long, 2014). Em éguas gestantes, essencialmente em zonas tropicais, deve-se considerar a imunização um mês antes do parto (Toribio, 2022). Acreditava-se que a imunidade de cavalos inficionados ou vacinados perdurava por um período de 12 a 24 meses, contudo, um estudo mais recente no âmbito de controlo e vigilância de *WNV* com recurso a métodos serológicos, determinou que as vacinas disponíveis atualmente conferem apenas proteção por menos de 12 meses (Joó et al., 2017; Seino et al., 2007).

### **2.2.7 Abordagem One Health e Vírus do Nilo Ocidental em Portugal**

A versatilidade de hospedeiros de *WNV*, implica uma investigação dos seus padrões de infeção, com recurso ao estudo das espécies afetadas e espécies reservatório, e as suas respetivas interações (Naveed et al., 2024). Vários fatores abióticos podem influenciar estas relações interespecie e contribuir para a prevalência da doença, evidenciando a necessidade de uma abordagem One Health no controlo, monitorização e prevenção de *WNV* (Naveed et al., 2024).

Devido à suscetibilidade dos equídeos à infeção por *WNV* e à existência de profilaxia eficaz por vacinação, esta espécie é um indicador útil para o desenvolvimento de sistemas de monitorização, vigilância e controlo (García-Carrasco et al., 2023). Com este princípio em mente, são possíveis verificar vários estudos publicados que avaliam a correlação entre modelos de estudo de risco e de incidência em equinos e em humanos, nos quais foi possível observar que estão intimamente relacionados (García-Carrasco et al., 2023).

A vigilância de seroprevalência em populações de equídeos, também constitui uma ferramenta importante na abordagem *One Health* para combater *WNV*, no entanto apresenta limitações em regiões geográficas com animais previamente vacinados (García-Carrasco et al., 2023). Na União Europeia, foram estabelecidos esporadicamente programas de vigilância por seroprevalência em países como, por exemplo, Itália e Espanha, no entanto, este modelo não é aplicável ou sustentável economicamente para todos os estados-membros (Young et al., 2019). Salientado a necessidade de uma perspetiva multidisciplinar que inclui estudos da migração aviária, do clima, da sazonalidade, das características geográficas locais e atividades agrícolas (Naveed et al., 2024).

Um surto recente de *WNV* em Portugal, ocorreu em 2015 na região do Algarve, historicamente reconhecida como zona de risco para *WNV*, que mobilizou a DGAV a consciencializar veterinários e tutores sobre esta patologia (Barros et al., 2017). Este incidente levou à iniciação de controlo de casos suspeitos e cavalos que partilhavam as mesmas instalações, que resultou na identificação de 10 diagnósticos positivos para *WNV* na região do Algarve e Alentejo (Barros et al., 2017). Em 2016, o mesmo fenómeno foi observado com outros 10 equinos, mas apresentou um aumento da taxa de mortalidade (50%), daquela observada em 2015 (20%) (Barros et al., 2017). Contudo, não foram iniciadas campanhas de vigilância de seroprevalência na região. Desde 2015, são observados focos de *WNV* nestas regiões, sendo que em 2022 ocorreram os casos mais recentes em Portugal e na Europa (DGAV, 2022). Neste sentido, a DGAV em parceria com o INIAV imitiu uma ficha técnica sobre *WNV* e apelou à declaração obrigatória da doença (DGAV, 2022).

Um estudo de 2023 realizado na Península Ibérica, avaliou a interação de modelos de risco em equinos e humanos, de forma a determinar possíveis regiões de risco epizootico, que coincidem com a existência de fatores abióticos anteriormente referidos (García-Carrasco et al., 2023). Este concluiu que a incidência de casos em equinos e humanos se encontra relacionada com a proximidade a corpos de água e zonas secas, demonstrado na figura C1 no anexo C, como na região sul de Portugal e Espanha e próximo a grandes rios (García-Carrasco et al., 2023).

### 3. Caso clínico

#### 3.1 Identificação do paciente

**Tabela 1.** Identificação do equino

Espécie	Equino
Raça	Cruzado de <i>Irish Sport Horse</i>
Idade	4 anos
Sexo	Fêmea
Peso	≈ 420 kg

#### 3.2 História clínica e Anamnese

No dia 2 de Março de 2024, foi admitida na *Onderstepoort Equine Clinic* do Hospital Veterinário da Universidade de Pretoria, uma égua de 4 anos, cruzada de *Irish Sport Horse*. A queixa primária era a apresentação de ataxia e pirexia de origem inespecífica. Perante um caso de pirexia de origem desconhecida e ataxia generalizada, foram tomadas as providências para isolar a égua dos restantes pacientes internados, afastando-a da área principal da clínica, numa boxe almofadada. Medidas de segurança foram implementadas devido à natureza dos sinais clínicos, e foi vedada a secção da clínica onde se encontrava a égua, com pedilúvios e tendas de isolamento, sendo fornecido EPIs ao staff e alunos aos quais foi concebido acesso ao animal.

O veterinário que facilitou a referência para a Universidade de Pretoria, disponibilizou a história clínica e detalhou o tratamento implementado *a priori*. No dia 27 de Fevereiro de 2024, o veterinário primário havia sido chamado para tratar sinais de uveíte na égua em questão. No mesmo estabelecimento, três outros equinos apresentaram sinais oftalmológicos semelhantes. Todos os cavalos no mesmo alojamento, incluindo o caso relatado, foram tratados devidamente para uveíte. O veterinário acrescentou que alguns dos casos oftalmológicos apresentaram pirexia concomitante. Após o tratamento administrado, os restantes equinos melhoraram a sua condição, no entanto a égua apresentou uma temperatura de 40°C no dia 1 de Março de 2024. Perante um quadro persistente de pirexia e leve corrimento nasal, foi administrado Oxitetraciclina, Flunixin Meglumina e Dexametasona, bem como reforço da vacina do Tétano. No dia seguinte, os sinais pioraram, em particular a pirexia e foi registada temperatura de 41°C. Adicionalmente, à temperatura elevada e corrimento nasal, ataxia também foi observada. Sem melhoria após o tratamento implementado e o desenvolvimento de sinais neurológicos, a égua foi referida à clínica de *Onderstepoort* para melhor

avaliar a sua condição. A anamnese completa não pode ser realizada, uma vez que não houve contacto direto com o proprietário aquando da chegada da égua.

### 3.3 Exame Clínico e Neurológico

**Tabela 2.** Parâmetros clínicos observados no exame clínico de admissão hospitalar.

Temperatura	37,9°C	Mucosas e TRC	RHB e =2 segundos
Frequência Cardíaca	52 bpm	Borborismos	1 em todos os quadrantes
Frequência Respiratória	44 rpm	Pulso digital	Normal

Aquando da apresentação inicial, a égua encontrava-se alerta e hiperresponsiva, apesar de manifestar ataxia generalizada. Foi possível observar taquicardia e taquipneia ligeira, a temperatura de 41°C havia reduzido significativamente para 37,9°C, após tratamento administrado previamente ao transporte para o hospital. Os restantes parâmetros encontravam-se dentro dos limites normais.

O exame neurológico foi realizado na sequência do exame geral e foi adaptado devido à condição do animal. O exame realizou-se maioritariamente em estação, sendo que a sua postura e andamento foram avaliados no deslocamento para o local de isolamento, durante o qual se observou ataxia generalizada grau 3 na escala de *Mayhew* e a adoção de postura de apoio e andamento amplo. Já dentro da zona de isolamento, prosseguiu-se com o exame neurológico no qual se verificou hiperestesia e hiper-reactividade a estímulos sensoriais, paralisia e assimetria facial do lado direito do rosto, fasciculações musculares, anisocoria e ausência do reflexo pupilar indireto no olho direito. Para finalizar o exame físico, foi realizada palpação rectal na qual foi verificado bexiga cheia e flácida à palpação, no entanto momentos mais tarde verificou-se a capacidade de urinar sem estímulo, o que descartou a hipótese de lesão do neurónio motor inferior.

A avaliação neurológica permitiu limitar a zona de possível lesão neurológica ao mesencéfalo e tronco cerebral, o que indicou juntamente com a pirexia, a possibilidade de encefalite ou encefalomielite de origem infecciosa viral. Desta forma, foi constituída uma lista de possíveis diagnósticos diferenciais.

### 3.4 Exames Complementares e Diagnósticos Diferenciais

Como possíveis diagnósticos diferenciais foram consideradas as seguintes patologias com quadros clínicos semelhantes de origem neurológica: Raiva, Herpesvírus, *African Horse Sickness*, *West Nile Virus* e *Equine Encephalosis Virus*. Após o exame físico foram recolhidas amostras sanguíneas para hemograma, gasometria venosa e hematócrito nos quais se destacaram as seguintes alterações: leucocitose neutrofílica (aumento de neutrófilos maduros) marcada e leve alcalose respiratória e desequilíbrio eletrolítico.

**Tabela 3.** Valores relevantes observados nos resultados do hemograma e gasometria venosa no dia 2 de Março de 2024.

Hemograma	Resultados	Valores de referência	Gasometria Venosa	Resultados	Valores de referência
Leucócitos (x 10 <sup>9</sup> /L)	14,89	4,7-11,0	pH	7,51	7,32-7,44
Neutrófilos (x 10 <sup>9</sup> /L)	12,37	3,4-5,4	pCO <sub>2</sub> (mmHg)	24,9	38-48
Hematócrito (%)	35	31-56	Na (mmol/L)	129	136-144

Com o intuito de descartar trauma como possível origem dos sinais clínicos neurológicos, foi realizada uma radiografia do crânio, no entanto não foram verificadas quaisquer alterações ou indicações de fratura. Devido à avaliação primária de bexiga flácida e distendida, foi também realizada urianálise que não revelou alterações significativas.

Adicionalmente, foram recolhidas amostras sanguíneas e *swab* nasal para análise qPCR de EHV-1 e EHV-4, e amostras sanguíneas para qPCR de *Babesia caballi* e *Theileria equi*. Os resultados de qPCR foram negativos com a exceção de *T.equi*, que apresentou um valor positivo de Ct = 33,6 (Ct, *cycle threshold*, >30, considera-se positivo).

Durante a hospitalização foram ainda realizados outros exames complementares, como endoscopia, colheita de LCR, repetição de análises sanguíneas (anexo A, tabelas A1, A2, A3 e A4) e recolha de amostras para PCR e serologia. A colheita de LCR foi efetuada no dia seguinte após admissão, sob sedação e em estação. A técnica escolhida teve em consideração as consequências inerentes à administração de anestesia geral a um equino com suspeita de raiva, sendo que a prioridade no momento do exame seria a segurança dos clínicos e staff. A punção ecoguiada foi realizada ao nível das vértebras C1-C2, sob sedação com Detomidina. A avaliação do aspeto macroscópico do LCR revelou xantocromia, isto é, coloração amarelada do LCR que normalmente apresenta ser incolor e transparente. A presença de xantocromia pode implicar a presença de um

processo de hemólise, que por sua vez indica a possibilidade de hemorragia, processo inflamatório e infiltrativo (transudação de proteínas) a nível da medula espinal e espaço aracnoide. O resultado citológico revelou baixa celularidade, sendo que 92% das células nucleadas seriam pequenas células mononucleadas e 8% grandes células nucleadas, e dissociação albuminocitológica (proteína total = 82 g/L). A presença de xantocromia e dissociação proteína-citológica são achados inespecíficos, associados a infiltração de proteínas sanguíneas através da BHE, produção localizada de imunoglobulinas, necrose ou lesão dos tecidos locais e obstrução da circulação de LCR e a sua absorção. Estes fenómenos ocorrem em processos inflamatórios, degenerativos, compressivos ou neoplásicos.

No dia 4 de Março de 2024, foi colhida uma amostra sanguínea para serologia de *WNV*. O resultado deste exame só foi obtido no dia 17 de Março de 2024, confirmando a etiologia do quadro clínico como *WNV*. O *WNV* B-ELISA apresentou um resultado de 6, sendo que amostras de soro com 40 ou acima deverão ser consideradas negativas e igual a 40 ou abaixo são positivas para *WNV*.

### **3.5 Terapêutica**

Na sequência do exame clínico inicial, exame neurológico e exames complementares, a seguinte terapêutica de suporte foi implementada: fluidoterapia intravenosa, Vitamina E, Flunixin Meglumina e Enoxaparina sódica. Durante a hospitalização foram acrescentados ao plano terapêutico, antibióticos como Ampicilina e Gentamicina e após recolha de LCR foi também administrado Dexametasona. O esquema completo para a duração da hospitalização, dose, quantidade, via e frequência de administração pode ser observado na tabela B1 no anexo B.

### **3.6 Hospitalização e Maneio**

No dia 2 de Março de 2024, após admissão, foi implementada a terapêutica de suporte referida anteriormente, durante a espera de resultados conclusivos quanto à etiologia do quadro clínico, nomeadamente fluidoterapia, Lactato de Ringer CRI (60ml/kg/dia), anti-inflamatório não esteroide, Flunixin Meglumina (1,1mg/kg, IV, BID), Vitamina E (5000 IU/kg, PO, SID) e Enoxaparina sódica (0,5 mg/kg, SC, SID). Foram também oferecidos alimento e água sob monitorização de ingestão hora a hora. Duas horas após o fornecimento de alimento, observou-se o desenvolvimento de obstrução esofágica demonstrada pela presença de disfagia, sialorreia, tosse e movimentos repetidos de distensão cervical. O alimento e água foram retirados da boxe e procedeu-se à resolução da obstrução

através de entubação nasogástrica e a partir da qual foi possível identificar a localização do bolo alimentar ao nível da entrada torácica do esófago. Esforços foram realizados para desobstruir através da administração de fluídos pela via oral. Com o objetivo de melhor avaliar a extensão da obstrução e a integridade esofágica, foi realizada uma endoscopia sob sedação (Detomidina, 0,01-0,02mg/kg, IV e Butorfanol, 0,025-0,05mg/kg, IV). Após resolução da obstrução através de fluidoterapia por via oral, o exame complementar foi repetido e permitiu verificar fraca motilidade esofágica e impactação gástrica com início no esfíncter cardíaco e ocupação total do estômago. No seguimento da obstrução esofágica foram adicionados dois antibióticos de amplo espectro ao plano terapêutico, Ampicilina (20mg/kg, IV, QID) e Gentamicina (6,6mg/kg, IV, SID), e o alimento foi retirado permanentemente devido à motilidade esofágica reduzida e impactação gástrica. Concomitantemente, houve deterioração marcada dos sinais clínicos neurológicos ao longo do primeiro dia de internamento, sendo que a ataxia e a paralisia e assimetria facial mostraram-se mais pronunciadas e foi também observado a adoção de decúbito esternal em quatro ocasiões diferentes. O estado mental também deteriorou sendo que ao fim do dia a égua já não se encontrava hiperresponsiva, mas sim letárgica e deprimida.

No dia 3 de Março de 2024, realizou-se a colheita de LCR ecoguiada ao nível das vértebras C1-C2, em estação e sob sedação (Detomidina, 0,01-0,02mg/kg, IV). No exame macroscópico de LCR foi observada xantocromia e os resultados citológicos revelaram dissociação albumino-citológica. Imediatamente após a colheita de LCR, foi administrado Dexametasona (0,1 mg/kg, IV, SID) ao plano terapêutico. De forma semelhante ao que foi observado no dia anterior, a égua demonstrou deterioração progressiva dos sinais neurológicos, nomeadamente o agravamento da anisocoria e paralisia e assimetria facial. Adicionalmente foi observada fraqueza muscular, que se tornou bastante evidente ao final do 2º dia de hospitalização, pela ocorrência de quedas no início da noite e que perduraram durante a madrugada do dia 4 de Março.

No dia seguinte, verificou-se o mesmo padrão de deterioração de estado mental e sinais neurológicos, com fraqueza muscular marcada e quedas repetitivas. Notou-se ainda, o desenvolvimento de edema facial agudo, mais pronunciado no lado direito. Neste dia, 4 de Março de 2024, a égua apresentou-se pela primeira vez em decúbito lateral, acompanhado de espasmos musculares, nistagmos vertical e respiração apneustica. Este episódio ocorreu durante 5 minutos e a égua levantou-se imediatamente depois. Ao longo do dia, a égua adotou preferencialmente decúbito esternal intercalado com estação e ocasionalmente decúbito lateral por meros minutos. Foram repetidos os exames laboratoriais como hemograma, análise bioquímica, gasometria venosa e análise triglicéridos e foram recolhidas amostras sanguíneas para serologia para *WNV*. A partir dos resultados laboratoriais foi possível ajustar o plano terapêutico e desta forma foram adicionados Cloreto de Sódio 5%, Dextrose 50% e Sulfato de Magnésio à fluidoterapia.

Durante a madrugada do dia 5 de Março de 2024, a égua alternou entre decúbito esternal e lateral com escassos momentos em estação, sendo que a partir das 5:00 horas da manhã adotou permanentemente decúbito lateral direito. Foram recolhidas amostras para análise de creatinina quinase, aspartato aminotransferase e proteína amilóide A. Foram realizadas várias tentativas de a levantar, mas sem sucesso e às 10:00 da manhã foi observado novamente respiração apneustica, desconforto e movimentos involuntários dos membros (pontapear). Devido à incapacidade de estação, desconforto generalizado e o estado mental depressivo a comatoso, foi tomada a decisão de eutanasiar a égua com Fenobarbital sódico (60mg/kg, IV).

### **3.7 Exame *post-mortem***

O exame post-mortem apenas se realizou no dia 7 de Março de 2024, por questões de segurança devido à natureza incerta do agente etiológico. Imediatamente após eutanásia foram recolhidas amostras frescas de tecido nervoso para teste de fluorescência para Raiva, PCR para EHV-1 e EHV-4. O resultado do teste de fluorescência para Raiva foi obtido no dia 7 de Março de 2024, como negativo, sendo que desta forma procedeu-se para o exame de necrópsia.

Os achados macroscópicos incluíram congestão difusa e aguda do cérebro, baço e pulmões e erosão gástrica multifocal aguda. Adicionalmente, foi possível observar icterícia generalizada dos tecidos.

A análise histopatológica do SNC revelou a presença de lesões mais severas ao nível da matéria cinzenta do cérebro, mais proeminente no tronco cerebral, caracterizado por infiltração intramural e perivascular de linfócitos, macrófagos e um número reduzido de neutrófilos, congruente com inflamação mononuclear ou não supurativa. Adicionalmente, foram observadas áreas focais e localmente extensivas de gliose e infiltração de macrófagos para o neurópilo. A matéria branca encontrava-se moderadamente rarefeita com degeneração da mielina e leve aumento difuso da celularidade. As meninges que revestem o cerebelo estavam moderadamente infiltradas por inflamação mononuclear semelhante. A medula espinhal apresentava as secções cervical, torácica e lombar com lesões de hemorragia acentuada nomeadamente na matéria cinzenta, sendo que a severidade da hemorragia era mais acentuada nos segmentos mais caudais.

A partir das lesões observadas foi possível diagnosticar encefalite e vasculite cerebral, cerebelar e do tronco cerebral, grave, difusa, subaguda e não supurativa associada a meningite cerebelar localmente extensa, moderada a grave e subaguda, e hemorragia difusa da substância cinzenta da medula espinhal. Foi apurado que o quadrado clínico apresentado seria consistente com

as lesões no exame post-mortem, indicando meningoencefalite não supurativa com suspeita de etiologia viral.

#### 4. Discussão

O caso apresentado demonstra a ambiguidade de sinais clínicos e apresentações de uma encefalomielite de origem viral. A inespecificidade do quadro clínico obriga a uma visão ampla das possíveis etiologias e a implementação de terapia de suporte. Apesar da grande variedade de diferentes famílias e gêneros de vírus que podem provocar encefalites em equinos, a abordagem é semelhante em qualquer dos casos. A égua em questão apresentou um quadro neurológico acompanhada de piroxia, o que indica a existência de infecção e inflamação. Sabendo que a obtenção de um diagnóstico definitivo é apenas possível através da realização de exames laboratoriais, torna-se essencial implementar de imediato tratamento de suporte, como fluidoterapia e anti-inflamatórios, durante o período de espera da confirmação da etiologia. Em consideração da possibilidade de zoonose, deverão ser implementadas medidas de segurança para prevenir a disseminação da doença tanto em ambiente hospitalar como nas instalações do animal, salientando não só a saúde animal, mas também a humana. Neste caso, a apresentação da égua com sialorreia e hiperestesia apontou para a possibilidade de ser uma infecção por Raiva, que apesar de ser raro em equinos já foi observado em África do Sul. A égua não se encontrava vacinada contra a Raiva e abordou-se o caso clínico com seriedade devido à incerteza da etiologia e o potencial zoonótico. O corrimento nasal e piroxia, no entanto, apontou para a possibilidade de infecção por EHV que foi devidamente descartada pela realização de dois qPCR, um após admissão e o segundo no exame *post-mortem*. Devido à localização geográfica, foram também tidos em consideração *African Horse Sickness* e Piroplasmose. São duas doenças que não apresentam normalmente quadros neurológicos, no entanto, devem integrar a lista de diagnósticos diferenciais. O *WNV*, juntamente com EHV e Raiva, constituem as doenças mais prováveis em casos neurológicos de origem viral. No caso apresentado, foram excluídos a maior parte dos diagnósticos diferenciais por qPCR de amostras sanguíneas, e mais tarde por amostras de tecidos aquando do exame de necrópsia, contudo o resultado positivo para *WNV* foi apenas obtido por serologia, vários dias após a eutanásia do animal.

Como foi referido anteriormente, o diagnóstico final não influencia o plano terapêutico nestes casos, desta forma o plano instituído nesta égua seria o mesmo se o diagnóstico final fosse qualquer outro dos diagnósticos diferenciais. O tratamento implementado inicialmente de fluidoterapia, Flunixin-Meglumina, vitamina E e Enoxaparina sódica, teve o objetivo de tratar os sinais iniciais de

inflamação, controlar pirexia, providenciar analgesia e fornecer reforço anti-oxidativo ao sistema nervoso. A Enoxaparina sódica foi introduzida no sentido de prevenir trombose em caso de infeção por EHV-1 e EHV- 4, sendo que este vírus provoca abortos e necrose isquémica da medula espinal através de mecanismos de tromboembolismo (Stokol et al., 2018). Após o episódio de obstrução esofágica foram adicionadas ao tratamento, dois antibióticos de largo espectro, Ampicilina e Gentamicina, como tratamento profilático para pneumonia de aspiração e o desenvolvimento de infeções oportunistas. Durante a hospitalização, a égua apresentou em diversos momentos a adoção de respiração apneustica, no entanto, não foi possível determinar a origem deste fenómeno, uma vez que não foi investigado de forma aprofundada. Aquando da realização da colheita de LCR, foi administrada Dexametasona imediatamente após o procedimento, anti-inflamatório esteroide, de maneira a prevenir o agravamento dos sinais neurológicos de origem iatrogénica. A continuação da administração de Dexametasona foi justificada pela deterioração dos sinais neurológicos, todavia esta aplicação poderá ser controversa pela agressividade de tratamento durante um processo infeccioso viral (Long et al., 2002). A dextrose, cloreto de sódio e sulfato de magnésio foram adicionados à fluidoterapia intravenosa, de forma a colmatar os desequilíbrios eletrolíticos determinados nas análises laboratoriais e como suporte glicolítico, devido à presente fraqueza muscular persistente e progressiva.

É relevante salientar que este caso não só apresentou sinais neurológicos tipicamente associados a *WNV*, mas também sinais atípicos. A queixa inicial que levou o proprietário a procurar o veterinário referenciador, foi o desenvolvimento de uveíte e pirexia por um grupo de 4 cavalos que residem no mesmo espaço. Como foi referido anteriormente nos sinais clínicos de *WNV*, as manifestações oftalmológicas são incomuns e atualmente ainda não existe consenso quanto ao mecanismo que poderá provocar este fenómeno (Kuchtey et al., 2003). A égua também aparentou desenvolver paralisia ou hipomotilidade esofágica e gástrica, que pode estar intimamente relacionada com déficit neuronal de vários pares cranianos envolvidos na deglutição e motilidade do esófago (Snook et al., 2001). Apesar destas manifestações não estarem associadas a *WNV* na literatura, não se devem excluir como possíveis apresentações da mesma, devido à natureza não patognomónica desta infeção. Numa nota mais compatível com *WNV*, podemos verificar que dos 4 casos observados no mesmo estábulo, apenas 1 animal desenvolveu doença clínica, sendo que os restantes apresentaram uma manifestação subclínica, facilmente tratada com terapia antipirética e anti-inflamatória. A coexistência de dois fenómenos patológicos, é possível, no entanto é necessário salientar a possibilidade de os sinais iniciais observados no dia 27 de Fevereiro em diversos equinos, serem apenas uma demonstração da fase de incubação viral.

## 5. Conclusão

Atualmente, a infecção por *WNV* é uma preocupação válida e constante a nível global. Os surtos epizooticos anteriores, essencialmente no início do milénio, indica-nos a natureza catastrófica desta patologia, não só em equinos, mas também na saúde humana.

A encefalomielite por *WNV* é uma patologia neuroinvasiva com resultados frequentemente incompatíveis com retorno à carreira desportiva dos equinos e com uma taxa de fatalidade considerável. A sua natureza maioritariamente subclínica, a apresentação de sinais clínicos não patognomónicos, bem como o diagnóstico demorado, apresentam implicações na abordagem destes casos.

Deste modo, é evidente não só a necessidade de investir na investigação de modelos preditivos de incidência, fatores de risco e correlação com doença humana e espécies reservatórias, mas também promover a prevenção e profilaxia. Os avanços científicos realizados até ao momento, nomeadamente na profilaxia por vacinação, proporcionaram a diminuição da incidência e taxa de mortalidade equina. Contudo, deverá haver um esforço contínuo pela comunidade científica e veterinária de zelar pela vigilância e monitorização de *WNV* em zonas endémicas, de modo a prevenir surtos desta patologia, tendo em conta todos os seus fatores bióticos e abióticos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aliota, M. T., Jones, S. A., Dupuis, A. P., Ciota, A. T., Hubalek, Z., & Kramer, L. D. (2012). Characterization of Rabensburg virus, a Flavivirus closely related to West Nile virus of the Japanese encephalitis antigenic group. *PLoS ONE*, *7*(6), 3–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039387>
- Angenvoort, J., Brault, A. C., Bowen, R. A., & Groschup, M. H. (2013). West Nile viral infection of equids. *Veterinary Microbiology*, *167*(1–2), 168–180. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.08.013>
- Barros, S. C., Ramos, F., Fagulha, T., Duarte, M., Henriques, A. M., Waap, H., Luís, T., Costa, T., Amador, R.,
- Quintans, S., & Fevereiro, M. (2017). West Nile virus in horses during the summer and autumn seasons of 2015 and 2016, Portugal. *Veterinary Microbiology*, *212*(November), 75–79. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.11.008>
- Bertram, F. M., Thompson, P. N., & Venter, M. (2021). Epidemiology and clinical presentation of west nile virus infection in horses in south africa, 2016–2017. *Pathogens*, *10*(1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/pathogens10010020>
- Bielefeldt-Ohmann, H., Bosco-Lauth, A., Hartwig, A. E., Uddin, M. J., Barcelon, J., Suen, W. W., Wang, W., Hall, R. A., & Bowen, R. A. (2017). Characterization of non-lethal West Nile Virus (WNV) infection in horses: Subclinical pathology and innate immune response. *Microbial Pathogenesis*, *103*, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2016.12.018>
- Bunning, M. L., Bowen, R. A., Bruce Cropp, C., Sullivan, K. G., Davis, B. S., Komar, N., Godsey, M. S., Baker, D., Hettler, D. L., Holmes, D. A., Biggerstaff, B. J., & Mitchell, C. J. (2002). Experimental infection of horses with West Nile virus. *Emerging Infectious Diseases*, *8*(4), 380–386. <https://doi.org/10.3201/eid0804.010239>
- Cantile, C., Di Guardo, G., Eleni, C., & Arispici, M. (2000). Clinical and neuropathological features of West Nile virus equine encephalomyelitis in Italy. *Equine Veterinary Journal*, *32*(1), 31–35. <https://doi.org/10.2746/042516400777612080>
- Chambers, T. J. (1990). Flavivirus Genome Organization, Expression and Replication. *Annual Reviews Microbiology*, *44*. <https://doi.org/10.1081/CEH-200048870>
- Charrel, R. N., Brault, A. C., Gallian, P., Lemasson, J. J., Murgue, B., Murri, S., Pastorino, B., Zeller, H., De Chesse, R., De Micco, P., & De Lamballerie, X. (2003). Evolutionary relationship between Old World West Nile virus strains: Evidence for viral gene flow between Africa, the Middle East, and Europe. *Virology*, *315*(2), 381–388. [https://doi.org/10.1016/S0042-6822\(03\)00536-1](https://doi.org/10.1016/S0042-6822(03)00536-1)
- Colpitts, T. M., Conway, M. J., Montgomery, R. R., & Fikrig, E. (2012). West Nile virus: Biology, transmission, and human infection. *Clinical Microbiology Reviews*, *25*(4), 635–648. <https://doi.org/10.1128/CMR.00045-12>
- Crabtree, N. E., & Epstein, K. L. (2021). Current Concepts in Fluid Therapy in Horses. *Frontiers in Veterinary Science*, *8*(March). <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.648774>
- DGAV. (2022). *Evolução da doença em Portugal*. 2–4. <https://www.dgav.pt/animais/conteudo/animais-de-producao/equideos/saude->
- Ganzenberg, S., Sieg, M., Ziegler, U., Pfeffer, M., Vahlenkamp, T. W., Hörügel, U., Groschup, M. H., & Lohmann, K. L. (2022). Seroprevalence and Risk Factors for Equine West Nile Virus Infections in Eastern Germany, 2020. *Viruses*, *14*(6), 1–21. <https://doi.org/10.3390/v14061191>
- García-Carrasco, J. M., Muñoz, A. R., Olivero, J., Segura, M., García-Bocanegra, I., & Real, R. (2023). West Nile virus in the Iberian Peninsula: using equine cases to identify high-risk areas for humans.

- Eurosurveillance*, 28(40), 1–8. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2023.28.40.2200844>
- Guthrie, A. J., Howell, P. G., Gardner, I. A., Swanepoel, R. E., Nurton, J. P., Harper, C. K., Pardini, A., Groenewald, D., Visage, C. W., Hedges, J. F., Balasuriya, U. B., Cornel, A. J., & MacLachlan, N. J. (2003). West Nile virus infection of Thoroughbred horses in South Africa (2000-2001). *Equine Veterinary Journal*, 35(6), 601–605. <https://doi.org/10.2746/042516403775467180>
- Hahn, C. (2022). Neurological Examination of Horses. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 38(2), 155–169. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2022.05.001>
- Humphreys, J. M., Young, K. I., Cohnstaedt, L. W., Hanley, K. A., & Peters, D. P. C. (2021). Vector surveillance, host species richness, and demographic factors as west nile disease risk indicators. *Viruses*, 13(5), 1–18. <https://doi.org/10.3390/v13050934>
- Joó, K., Bakonyi, T., Szenci, O., Sárdi, S., Ferenczi, E., Barna, M., Malik, P., Hubalek, Z., Fehér, O., & Kutasi, O. (2017). Comparison of assays for the detection of West Nile virus antibodies in equine serum after natural infection or vaccination. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 183, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.10.015>
- Kuchtey, R. W., Kosmorsky, G. S., Martin, D., & Lee, M. S. (2003). Uveitis Associated With West Nile Virus Infection. *Archives of Ophthalmology*, 121(11), 1648–1649. <https://doi.org/10.1001/archophth.121.11.1648>
- Leblond, A., Sandoz, A., Lefebvre, G., Zeller, H., & Bicout, D. J. (2007). Remote sensing based identification of environmental risk factors associated with West Nile disease in horses in Camargue, France. *Preventive Veterinary Medicine*, 79(1), 20–31. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.11.008>
- Lecollinet, S., Pronost, S., Croupier, M., Beck, C., Gonzalez, G., Leblond, A., & Tritz, P. (2019). Viral equine encephalitis, a growing threat to the horse population in Europe? *Viruses*, 12(1). <https://doi.org/10.3390/v12010023>
- Lim, S. M., Koraka, P., Osterhaus, A. D. M. E., & Martina, B. E. E. (2011). West Nile virus: Immunity and pathogenesis. *Viruses*, 3(6), 811–828. <https://doi.org/10.3390/v3060811>
- Long, M. T. (2014). West nile virus and equine encephalitis viruses: New perspectives. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 30(3), 523–542. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2014.08.009>
- Long, M. T., Ostlund, E. N., Porter, M. B., & Crom, R. L. (2002). Equine West Nile Encephalitis : Epidemiological and Clinical Review for Practitioners. *Aaep*, 48, 1–6.
- Lorenz, C., De Azevedo, T. S., & Chiaravalloti-Neto, F. (2022). Impact of climate change on West Nile virus distribution in South America. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 116(11), 1043–1053. <https://doi.org/10.1093/trstmh/trac044>
- Naveed, A., Eertink, L. G., Wang, D., & Li, F. (2024a). *Lessons Learned from West Nile Virus Infection : Vaccinations in Equines and Their Implications for One Health Approaches*.
- Naveed, A., Eertink, L. G., Wang, D., & Li, F. (2024b). Lessons Learned from West Nile Virus Infection: Vaccinations in Equines and Their Implications for One Health Approaches. *Viruses*, 16(5), 781. <https://doi.org/10.3390/v16050781>
- Olivares, J. C., & Wood, J. (2004). *Review article West Nile virus infection of horses*. 35, 467–483. <https://doi.org/10.1051/vetres>
- Ostlund, E. N., Crom, R. L., Pedersen, D. D., Johnson, D. J., Williams, W. O., & Schmitt, B. J. (2001). Equine West Nile encephalitis, United States. *Emerging Infectious Diseases*, 7(4), 665–669. <https://doi.org/10.3201/eid0704.017412>
- Paré, J. (2008). Special Report Rapport spécial. *Expeng.Anr.Msu.Edu*, 2008(10), 619–622.

[http://expeng.anr.msu.edu/sites/animalwelfare/files/Dry\\_Foods\\_and\\_Disease\\_1\\_\(Buffington,\\_2008\).pdf](http://expeng.anr.msu.edu/sites/animalwelfare/files/Dry_Foods_and_Disease_1_(Buffington,_2008).pdf)

Pauvolid-Corrêa, A., Campos, Z., Juliano, R., Velez, J., Nogueira, R. M. R., & Komar, N. (2014). Serological Evidence of Widespread Circulation of West Nile Virus and Other Flaviviruses in Equines of the Pantanal, Brazil. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002706>

Paz, S., & Semenza, J. C. (2013). Environmental drivers of West Nile fever epidemiology in Europe and Western Asia--a review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(8), 3543–3562. <https://doi.org/10.3390/ijerph10083543>

Porter, M. B., Long, M. T., Getman, L. M., Giguère, S., Mackay, R. J., Lester, G. D., Alleman, A. R., Wamsley, H. L., Franklin, R. P., Jacks, S., Buergelt, C. D., & Detrisac, C. J. (2003). *West Nile Virus encephalomyelitis in horses : 46 cases ( 2001 )*. 222(9), 1241–1247.

Rossi, S. L., Ross, T. M., & Evans, J. D. (2011). West Nile Virus Shannan. *Clin Lab Med*, 30(1), 47–65. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2009.10.006>.West

Saiz, J. C., Martín-Acebes, M. A., Blázquez, A. B., Escribano-Romero, E., Poderoso, T., & Jiménez de Oya, N. (2021). Pathogenicity and virulence of West Nile virus revisited eight decades after its first isolation. *Virulence*, 12(1), 1145–1173. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1908740>

Samuel, M. A., & Diamond, M. S. (2005). *Alpha / Beta Interferon Protects against Lethal West Nile Virus Infection by Restricting Cellular Tropism and Enhancing Neuronal Survival*. 79(21), 13350–13361. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.21.13350>

Samuel, M. A., & Diamond, M. S. (2006). Pathogenesis of West Nile Virus Infection: a Balance between Virulence, Innate and Adaptive Immunity, and Viral Evasion. *Journal of Virology*, 80(19), 9349–9360. <https://doi.org/10.1128/jvi.01122-06>

Schwarz, E. R., & Long, M. T. (2023). Comparison of West Nile Virus Disease in Humans and Horses: Exploiting Similarities for Enhancing Syndromic Surveillance. *Viruses*, 15(6). <https://doi.org/10.3390/v15061230>

Scott Weese, J., Baird, J. D., DeLay, J., Kenney, D. G., Staempfli, H. R., Viel, L., Parent, J., Smith-Maxie, L., & Poma, R. (2003). West Nile virus encephalomyelitis in horses in Ontario: 28 Cases. *Canadian Veterinary Journal*, 44(6), 469–473.

Seino, K. K., Long, M. T., Gibbs, E. P. J., Bowen, R. A., Beachboard, S. E., Humphrey, P. P., Dixon, M. A., & Bourgeois, M. A. (2007). Comparative efficacies of three commercially available vaccines against West Nile virus (WNV) in a short-duration challenge trial involving an equine WNV encephalitis model. *Clinical and Vaccine Immunology*, 14(11), 1465–1471. <https://doi.org/10.1128/CVI.00249-07>

Snook, C. S., Hyman, S. S., Del Piero, F., Palmer, J. E., Ostlund, E. N., Barr, B. S., Desrochers, A. M., & Reilly, L. K. (2001). West Nile virus encephalomyelitis in eight horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(10), 1576–1579. <https://doi.org/10.2460/javma.2001.218.1576>

Steele, K. E., Linn, M. J., Schoepp, R. J., Komar, N., Geisbert, T. W., Manduca, R. M., Calle, P. P., Raphael, B. L., Clippinger, T. L., Larsen, T., Smith, J., Lanciotti, R. S., Panella, N. A., & McNamara, T. S. (2000). Pathology of fatal west nile virus infections in native and exotic birds during the 1999 outbreak in New York City, New York. *Veterinary Pathology*, 37(3), 208–224. <https://doi.org/10.1354/vp.37-3-208>

Stokol, T., Serpa, P. B. S., Brooks, M. B., Divers, T., & Ness, S. (2018). Subcutaneous administration of low-molecular-weight heparin to horses inhibits ex vivo equine herpesvirus type 1-induced platelet activation. *Frontiers in Veterinary Science*, 5(MAY), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00106>

Styer, L. M., Kent, K. A., Albright, R. G., Bennett, C. J., Kramer, L. D., & Bernard, K. A. (2007). Mosquitoes inoculate high doses of West Nile virus as they probe and feed on live hosts. *PLoS Pathogens*, 3(9),

1262–1270. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0030132>

Toribio, R. E. (2022). Arboviral Equine Encephalitides. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 38(2), 299–321. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2022.04.004>

Young, J. J., Coulombier, D., Domanović, D., Zeller, H., Gossner, C. M., Aberle, S., Schmoll, F., Christova, I., Chakarova, S., Novosel, I. P., Koliou, M., Kriz, B., Paty, M. C., Lecollinet, S., Pervanidou, D., Antoniou, S. E., Nagy, O., Mezei, E., Malik, P., ... Socan, M. (2019). One health approach for West Nile virus surveillance in the European Union: Relevance of equine data for blood safety. *Eurosurveillance*, 24(16). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.16.1800349>

## ANEXO A

### Exames laboratoriais realizados durante hospitalização

**Tabela A1.** Alterações no hemograma realizado no dia 4 de Março de 2024.

Hemograma	Resultados	Valores de referência
Linfócitos ( $\times 10^9/L$ )	0,75	1,9-4,4
Neutrófilos ( $\times 10^9/L$ )	8,16	3,4-5,4
Hematócrito (%)	32	31-56

**Tabela A2.** Alterações nas análises bioquímicas realizadas no dia 4 de Março de 2024.

Bioquímica	Resultados	Valores de referência
Globulina (g/L)	25,9	28-44
Glucose (mmol/L)	5,9	3,1-5,0
Bilirrubina Total ( $\mu\text{mol/L}$ )	91,3	8,3-30,2
Ureia (mmol/L)	3,5	3,8-7,7
Creatinina ( $\mu\text{mol/L}$ )	101	105-170
Triglicérides (mmol/L)	1,2	0,1-1,0
PT (g/L)	57,9	66-78

**Tabela A3.** Alterações na gasometria venosa realizada no dia 4 de Março de 2024.

Gasometria Venosa e Eletrólitos	Resultados	Valores de referência
Sódio (mmol/L)	130	136-144
Magnésio (mmol/L)	0,68	0,7-1,04

**Tabela A4.** Alterações nas análises bioquímicas realizadas no dia 5 de Março de 2024.

Bioquímica	Resultados	Valores de referência
Soro amilóide A (mg/L)	25,3	0-24

## ANEXO B

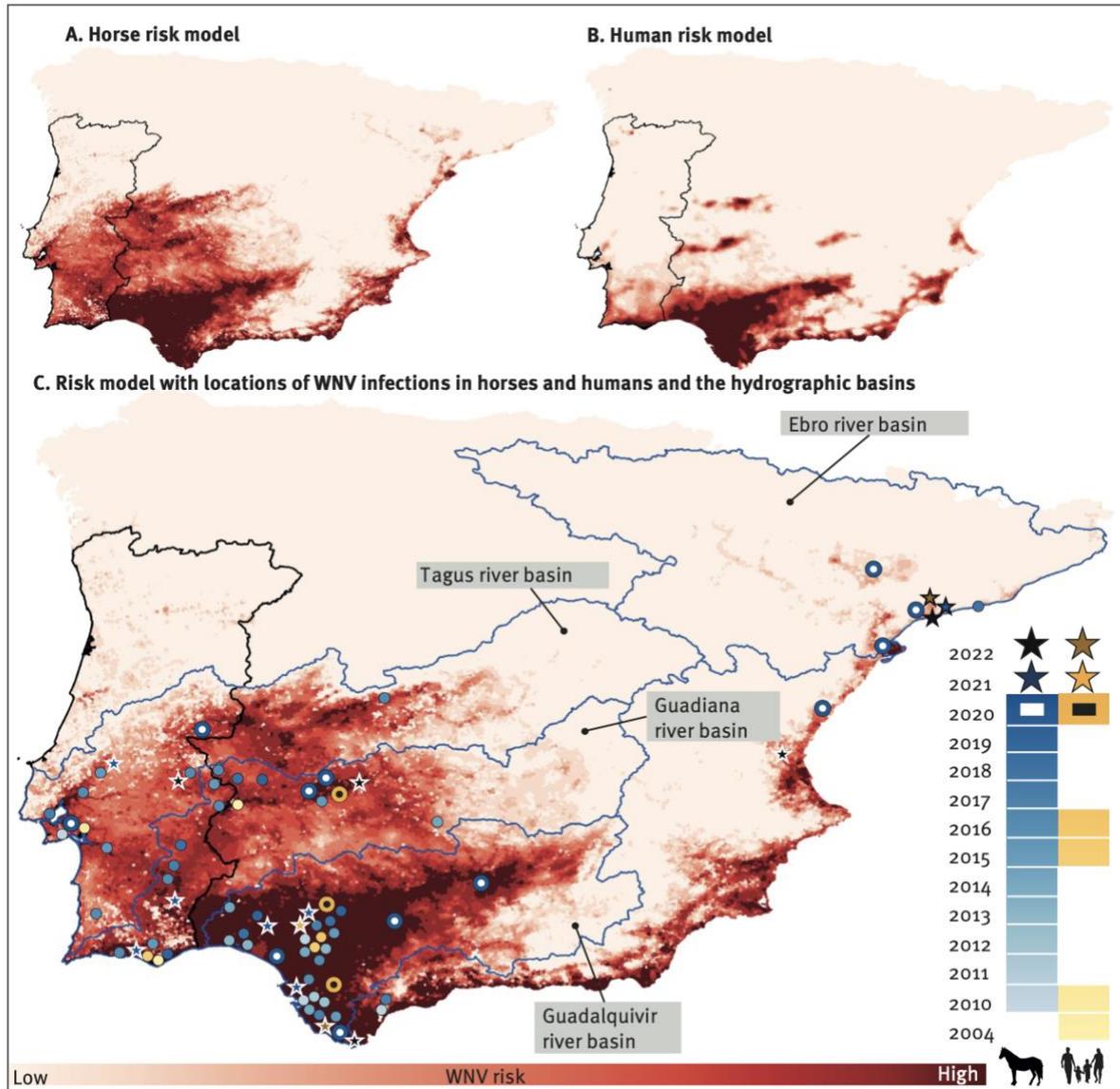
### Plano de tratamento do caso clínico

**Tabela B1.** Plano terapêutico adotado durante a hospitalização.

Fármaco	Dose	Quantidade	Via de administração	Frequência de administração
Ampicilina	20 mg/kg	19 ampolas	IV	QID
Cloreto de sódio 5%	-	4000ml	IV	SID
Dexametasona	0,1 mg/kg	20 ml	IV	SID
Dextrose 50%	-	60 ml	IV	CRI
Enoxaparina sódica	0,5 mg/kg	2 ml	SC	SID
Flunixinina Meglumina	1,1 mg/kg	9 ml	IV	BID
Gentamicina	6,6 mg/kg	56 ml	IV	SID
Lactato de Ringer	60ml/kg/dia	1L/hora	IV	CRI
Sulfato de magnésio	-	5 ml	IV	CRI
Vitamina E	5000 IU/kg	12,5 ml	PO	SID

## ANEXO C

### Modelos de estudo de risco na Península Ibérica para WNV



**Imagem C1.** Modelos de risco equino e humano e a localização geográfica de grandes rios na Península Ibérica. Os casos de infeção por WNV em equinos identificados a azul e casos humanos identificados a amarelo. Identificados com estrelas, indicam surtos observados em 2021 e 2022 (García-Carrasco et al., 2023).

# **Medicina e Cirurgia de Equinos do Mestrado Integrado Em Medicina Veterinária**

Inês da Silva Leal

ICBAS

