


FEBRE DO NILO OCIDENTAL EM EQUÍDEOS NO BRASIL: novo desafio aos médicos-veterinários

West Nile Fever in Brazilian horses: new challenge for veterinarians

Aila Solimar Gonçalves Silva¹; Izabelle Silva Rehfeld²; Beatriz Senra Álvares da Silva Santos³; Luisa Feliciano de Souza Franklin⁴; Raffaella Bertoni Cavalcanti Teixeira⁵; Zélia Inês Portela Lobato⁶; Maria Isabel Maldonado Coelho Guedes⁷; Érica Azevedo Costa^{7*} 

***Autor Correspondente:** Érica Azevedo Costa. Laboratório de Pesquisa em Virologia Animal, Bloco E, sala 204. Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Antônio Carlos 6627, Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG, Brasil. CEP: 31270-901
E-mail: azevedoec@yahoo.com.br

Como citar: SILVA, Aila Solimar Gonçalves *et al.* Febre do Nilo Ocidental em equídeos no Brasil: novo desafio aos médicos-veterinários. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, São Paulo, v.19, n.1, 2021. e38082. Doi [10.36440/recmvz.v19i1.38082](https://doi.org/10.36440/recmvz.v19i1.38082)

Cite as: SILVA, Aila Solimar Gonçalves *et al.* West Nile Fever in Brazilian horses: new challenge for veterinarians. **Journal of Continuing Education in Veterinary Medicine and Animal Science of CRMV-SP**, São Paulo, v.19, n.1, 2021. e38082. Doi [10.36440/recmvz.v19i1.38082](https://doi.org/10.36440/recmvz.v19i1.38082)

Resumo

O vírus do Nilo Ocidental (VNO) é um arbovírus transmitido principalmente por mosquitos do gênero *Culex* e responsável pela doença Febre do Nilo Ocidental (FNO). Foi identificado no Brasil pela primeira vez em 2009, através de um estudo soro-epidemiológico em equídeos e, desde então, a presença de anticorpos contra o VNO e/ou ácido nucleico viral tem sido identificado em seres humanos, equídeos e aves. Por causar infecções neurológicas em animais e humanos, é considerado um problema

1 Médica-veterinária, doutoranda no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

2 Médica-veterinária, pós-doutoranda no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

3 Bióloga, pós-doutoranda no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

4 Aluna de graduação em veterinária e iniciação científica no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

5 Médica-veterinária, professora adjunta no Setor de Clínica de Equinos, do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

6 Médica-veterinária, professora titular no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil

7 Médica-veterinária, professora adjunta no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil



Este é um artigo publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Attribution, que permite uso, distribuição e reprodução em qualquer meio, sem restrições desde que o trabalho original seja corretamente citado.

global de saúde pública. O controle da FNO está intimamente relacionado à atuação dos médicos-veterinários na vigilância, principalmente, de casos em equídeos, animais considerados sentinelas na identificação da doença.

Palavras-chave: Encefalites. Equídeos. Zoonoses. Febre do Nilo. Arbovirozes.

Abstract

The West Nile virus is an arbovirus transmitted mainly by *Culex* mosquitoes and responsible for West Nile Fever (FNO) disease. It was identified in Brazil for the first time in 2009, through a seroepidemiological surveillance in equids and, since then, the presence of antibodies against the virus and/or viral nucleic acid has been identified in humans, horses and birds. The virus is responsible for neurological infections in animals and humans, and is considered a global public health problem. The control of WNF is closely related to the role of veterinarians, mainly in the surveillance of cases in equines, animals considered sentinels in the identification of the disease.

Keywords: Encephalitis. Equines. Zoonosis. West Nile virus. Arboviruses

Introdução

A Febre do Nilo Ocidental (FNO) é uma arbovirose cujos hospedeiros vertebrados naturais são algumas espécies de aves que atuam como amplificadoras do vírus e como fonte de infecção para os mosquitos. Os humanos e os equídeos são considerados hospedeiros acidentais e terminais, uma vez que a viremia ocorre em níveis insuficientes para infectar os mosquitos, encerrando o ciclo de transmissão (CASTILLO-OLIVARES; WOOD, 2004).

Segundo a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), o vírus do Nilo Ocidental (VNO) tem uma ampla gama de hospedeiros, podendo replicar em pássaros, répteis, anfíbios, mamíferos, mosquitos e carrapatos (OIE, 2019; BRASIL, 2020). VNO é um dos agentes etiológicos de doenças neurológicas em aves susceptíveis, equídeos e também no ser humano, integrando a lista de doenças de notificação obrigatória da OIE (OIE, 2019).

Os equinos são altamente suscetíveis ao WNV e surtos de doenças neurológicas geralmente precedem casos humanos. Nesse sentido, a vigilância equina tem sido essencial para fornecer um alerta precoce às autoridades de saúde pública e animal em vários países, incluindo o Brasil.

Desta forma, considerando o crescente número de casos no mundo e a circulação do VNO no território nacional, o objetivo dessa revisão é de caráter informativo objetivando orientar os médicos-veterinários sobre a epidemiologia, sinais clínicos, ciclo de transmissão viral e realização da coleta adequada de material biológico em equídeos.

FNO no Brasil

O VNO foi descrito pela primeira vez no Brasil em 2009, por meio da detecção de anticorpos em cavalos na região do Pantanal, Mato Grosso do Sul (PAUVOLID-CORRÊA *et al.*, 2011). Posteriormente, novas evidências sorológicas foram descritas em aves domésticas, cavalos, asininos e em humanos na mesma região, bem como nos estados nordestinos da Paraíba e do Piauí, sugerindo a disseminação do vírus pelo país (MELANDRI *et al.*, 2012; OMETTO *et al.*, 2013; PAUVOLID-CORRÊA *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2013; VIEIRA *et al.*, 2015). Entretanto, somente em 2018, o vírus foi identificado e isolado do sistema nervoso central (SNC) de equídeos com afecção neurológica no Estado do Espírito Santo (SILVA *et al.*, 2019; MARTINS *et al.*, 2019).

A comprovação da ampla disseminação da doença em território nacional ocorreu com novos eventos reportados em 2019, caracterizados pelo acometimento de pacientes humanos no Piauí

e de cavalos com sintomas neurológicos em São Paulo e Ceará (OIE, 2019; COSTA, *et al.* 2019). Adicionalmente, a identificação de novos casos positivos em humanos, um equino no Estado do Piauí, bem como de dois equinos no Estado de São Paulo e um no Estado de Minas Gerais, indicam a necessidade de ampliar o estudo epidemiológico e diagnóstico do vírus no país (COSTA *et al.*, 2021 – pre-print). Na Figura 1, estão representados os estados brasileiros onde foi relatada a ocorrência de FNO em diferentes hospedeiros (aves, equídeos e/ou humanos).

Figura 1: Estados brasileiros onde a presença de FNO foi reportada, por sorologia ou RT-PCR, em aves, equídeos e/ou humanos. Região Centro-Oeste (MT- Mato Grosso; MS- Mato Grosso do Sul); Região Sudeste (ES – Espírito Santo; Minas Gerais – MG; SP- São Paulo); Região Nordeste (CE – Ceará; PB – Paraíba; PI – Piauí)



Fonte: COSTA *et al.* (2019). Adaptada em 2020.

Etiologia e o ciclo de transmissão da FNO

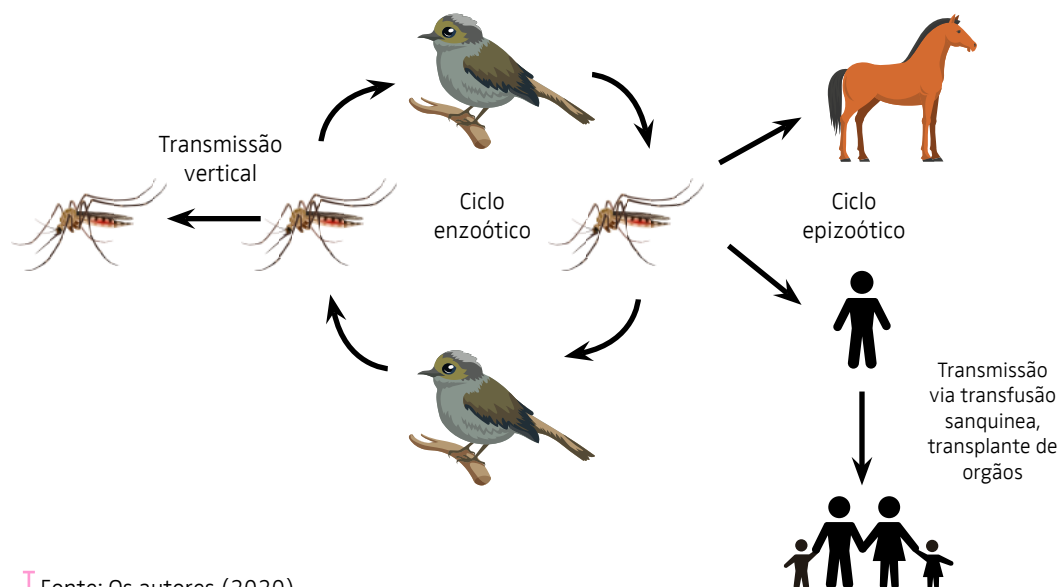
A FNO é causada por um vírus RNA envelopado com polaridade positiva e classificado na família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus* (COLPITTS *et al.*, 2012; ICTV, 2019). O VNO integra o grupo dos arbovírus de grande importância para a saúde humana e animal, assim como os vírus da dengue (DENV), da zika (ZIKV), da chikungunya (CHIKV), da encefalite de Saint Louis (SLEV), das encefalites equinas do leste (EEEV), do oeste (WEEV) e venezuelana (VEEV). Os arbovírus são mantidos na natureza por ciclos complexos envolvendo hospedeiros invertebrados (mosquitos, carrapatos) e hospedeiros vertebrados, como mamíferos e aves silvestres e, embora esta não seja uma classificação taxonômica, é uma denominação muito utilizada (CHARREL, 2016; LAMBERT; LANCIOTTI, 2016).

O ciclo de transmissão do VNO ocorre por meio da picada de mosquitos, principalmente do gênero *Culex*, durante seu repasto sanguíneo em aves silvestres, caracterizando um ciclo enzoótico. Mais de 300 espécies de aves são consideradas suscetíveis e desenvolvem alta viremia (CHANCEY *et al.*, 2015).

Além da transmissão do vírus para os hospedeiros vertebrados, os mosquitos possuem a capacidade de transmitir o patógeno para sua progênie, através de transmissão transovariana. Isso permite que o vírus permaneça no ambiente através da prole dos mosquitos infectados, mesmo que as condições ambientais (por exemplo, temperatura e pluviosidade) encontrem-se desfavoráveis para proliferação e atividade do mosquito. (NASCI *et al.*, 2001; CHAPMAN *et al.*, 2018).

A transmissão do VNO ocorre também em equídeos e humanos, através do repasto sanguíneo de mosquitos infetados (ciclo epizoótico). Esses hospedeiros são terminais, isto é, não desenvolvem viremia suficiente para que possam participar do ciclo de transmissão do vírus (COLPITTS *et al.*, 2012). A transmissão ao ser humano também pode ocorrer por transfusão sanguínea, transplantes de órgãos e via placentária (RIOS *et al.*, 2007; CHANCEY *et al.*, 2015). Na figura 2 está representado o ciclo de transmissão do vírus do Nilo Ocidental.

Figura 2: Ciclo de transmissão do vírus do Nilo Ocidental



Fonte: Os autores (2020).

Manifestação Clínica

A manifestação clínica em cada hospedeiro é variável. As aves podem apresentar alterações neurológicas como desorientação, ataxia, tremores e inclinação da cabeça, seguidas de óbito. Embora sejam positivas na detecção de anticorpos contra o vírus, aves domésticas como galinhas e perus são aparentemente refratárias, não apresentando doença clínica (PAUVOLID-CORRÊA; VARELLA, 2008).

Em humanos a infecção é assintomática em grande parte da população infectada. Cerca de 20% dos acometidos apresentam sinais clínicos inespecíficos como febre, dor no corpo e mialgia, enquanto que 1,5 a 3% pode ter a forma mais grave da doença (forma neuroinvasiva), caracterizada por quadros de meningite, encefalite e paralisia evoluindo para o óbito (DAVIS *et al.*, 2006; COLPITTS *et al.*, 2012).

Semelhante ao que ocorre em humanos, a maior parte dos equinos acometidos é assintomática e, quando apresentam doença clínica, geralmente, apresentam quadros mais brandos e posterior recuperação. Entretanto, estima-se que em cerca de 10 % dos equídeos infectados, a doença pode evoluir para uma meningoencefalite grave, podendo resultar em óbito (CASTILLO-OLIVARES; WOOD, 2004). Em asininos e muars esta proporção ainda não está muito clara, embora o acometimento clínico destes animais pelo vírus do Nilo Ocidental já tenha sido descrito (MURGUE *et al.*, 2001; SILVA *et al.*, 2019).

Ocorrência da FNO e de outras encefalites nos equídeos

O vírus do Nilo Ocidental pode acometer equídeos de qualquer idade e os sinais clínicos mais brandos como febre, depressão e anorexia são descritos na fase de viremia, que é curta e pode ser seguida pela recuperação do animal (CASTILLO-OLIVARES; WOOD, 2004).

A forma de apresentação clínica da doença mais grave é a neuroinvasiva, com acometimento neurológico e que ocorre após entrada do vírus no sistema nervoso central do animal (GOEHRING, 2008). O mecanismo pelo qual o vírus atravessa a barreira hematoencefálica ainda é desconhecido. Embora várias hipóteses tenham sido sugeridas, a maioria delas ainda não possui fundamentação sólida devido à baixa viremia que é descrita nesses animais (CANTILE *et al.*, 2001; CASTILLO-OLIVARES; WOOD, 2004).

Os sinais clínicos neurológicos relacionados à FNO são ataxia, fraqueza generalizada ou dos membros, paresia/paralisia dos membros, fasciculações ou tremores musculares, rigidez ou relutância em caminhar, marcha hiperométrica ou cambaleante, déficits proprioceptivos, movimentos de pedalagem, postura anormal da cabeça, ranger de dentes, convulsões, decúbito e/ou incapacidade de manter-se em pé, febre e cegueira (ANGENVOORT, *et al.*, 2013; AUTORINO *et al.*, 2002; CANTILE *et al.*, 2001; CASTILLO-OLIVARES; WOOD, 2004; OSTLUND *et al.*, 2001; SALAZAR *et al.*, 2004).

No Brasil, os sinais clínicos descritos em equídeos com quadro agudo de afecção neurológica foram tremores musculares, ataxia dos membros anteriores, decúbito lateral, disfagia, movimentos de pedalagem, paralisia de membros pélvicos, perda de sensibilidade e trismo mandibular (SILVA *et al.*, 2019).

No entanto, essas alterações mencionadas para FNO não são patognomônicas, sendo encontradas em outras encefalites que acometem esses animais. Desta forma, diferentes condições patológicas e agentes etiológicos estão associados às desordens neurológicas nos equídeos e, entre as causas de encefalites virais estão importantes zoonoses como raiva, encefalites equina do leste (EEE), oeste (WEE) e venezuelana (VEE) e a encefalite de Saint Louis (SLE) (RECH; BARROS, 2015; KUMAR; PATIL, 2017). Portanto, apenas o exame clínico não será capaz de subsidiar um diagnóstico definitivo, sendo necessária a confirmação por exame laboratorial.

A taxa de mortalidade resultante da infecção neurológica por FNO nestes animais pode ser de 20 a 45%, porém sugere-se que esse percentual possa ser superior (CANTILE *et al.*, 2001; OSTLUND *et al.*, 2001).

Diagnóstico

O diagnóstico para FNO tem início com anamnese e exame clínico. A avaliação clínica do animal é uma das ferramentas de detecção da doença, considerando os sinais clínicos citados anteriormente (KLEIBOEKER *et al.*, 2004; CASTILLO-OLIVARES & WOOD, 2004; OSTLUND *et al.*, 2001). No entanto, a confirmação deverá ser feita por exames laboratoriais pela detecção direta do vírus e/ou pela presença de anticorpos. No quadro 1 estão descritos o tipo de amostra clínica e os testes diagnósticos realizados para FNO (CASTILLO-OLIVARES & WOOD, 2004; DE FILETTE *et al.*, 2012; HIROTA *et al.*, 2013; COSTA *et al.*, 2021).

Quadro 1: Testes diagnósticos aplicados para amostras coletadas de equídeos antes e após o óbito

Amostras biológicas coletadas	Métodos diagnósticos realizados
Soro Líquido cefalorraquidiano (LCR)	<u>Detecção de Anticorpos (Testes Indiretos):</u> <ul style="list-style-type: none"> • Ensaio imunoenzimático (ELISA) • Teste de neutralização por redução de placas de lise (PRNT)
Sangue total (com anticoagulante EDTA) Soro LCR SNC (post-mortem)	<u>Detecção direta do vírus (Testes Diretos):</u> <ul style="list-style-type: none"> • RT-PCR*; Real Time RT-PCR • Isolamento viral em cultivo de células • Imunohistoquímica (IHQ)

*RT-PCR: Reação em Cadeia pela Polimerase precedida da Transcrição Reversa

Fonte: Os autores (2020).

Embora a infecção pelo VNO seja caracterizada por uma viremia curta e de baixa carga viral, principalmente em neutrófilos e macrófagos, antes da manifestação clínica, a identificação deste arbovírus em hemácias durante a manifestação clínica da doença pode ser feita, através de técnicas diagnósticas como *nested*-RT PCR e *Real Time* RT-PCR, podendo auxiliar na vigilância epidemiológica de FNO e consequentemente no controle e prevenção da disseminação viral (COSTA *et al.*, 2021).

Adicionalmente, é importante enfatizar que, assim como outras encefalites em equinos são zoonoses, como a raiva, a notificação ao Serviço Veterinário Oficial (SVO) de qualquer caso suspeito ou diagnóstico laboratorial de FNO é obrigatória, segundo IN 50/2013 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (Mapa), 2018.

Coleta de material (*post mortem*)

Antes de qualquer procedimento para a coleta de amostras biológicas de animal com sinais clínicos neurológicos ou suspeito de doença neurológica, o médico-veterinário deve atentar-se para algumas importantes informações que estão descritas no Quadro 2.

Quadro 2: O que o médico-veterinário deve saber antes de proceder a coleta de material

O que o médico-veterinário deve saber antes de proceder a coleta de material:

- 1** - O médico-veterinário, assim como seu auxiliar na necropsia, deve estar com vacinação para raiva e tétano em dia, incluindo sorologia para verificação de título protetor (anticorpos) no caso da raiva.
- 2** - Para coleta de material, equipamentos de proteção individual (EPIs) devem ser utilizados: Dois pares de luvas, jalecos e/ou macacão que proteja os braços, máscara e óculos de proteção, além de botas e aventais laváveis e/ou descartáveis para uso na necropsia.
- 3** - Os instrumentos (tesouras, facas, machadinho) a serem utilizados na necropsia deverão estar limpos e higienizados com detergente e álcool 70%
- 4** - A necropsia deve ser realizada em local com sombra, sem incidência direta do sol.
- 5** - A identificação dos potes de coleta (nome do animal e órgão coletado) deve ser realizada antes do início da necropsia.
- 6** - Tenha sempre papel e caneta em mãos e peça para um auxiliar anotar todas as alterações observadas no animal durante o procedimento.

† Fonte: Os autores (2020).

Para os animais que vieram a óbito em surtos ou mortes agudas, o diagnóstico *post mortem* é fundamental, pois vai possibilitar a confirmação de um diagnóstico presuntivo ou mesmo apoiar uma suspeita. Assim, o exame macroscópico completo no momento da necropsia do animal é essencial para o diagnóstico definitivo e este deverá ser executado por um médico-veterinário que deverá reconhecer as particularidades de cada sistema, bem como as possíveis alterações encontradas (RECH; BARROS, 2015).

Para o diagnóstico de FNO e das outras encefalites, como a raiva, durante a necropsia, deverão ser coletados fragmentos de hipocampo, córtex cerebral, cerebelo, tronco encefálico, tálamo e medula, conforme recomendado no Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros (PNCRH): Procedimentos para coleta de amostras suspeitas de raiva e EET, disponível no site do Mapa (BRASIL, 2016).

Em equinos, a medula é essencial para o diagnóstico de várias doenças neurológicas e, quando possível, o ideal é que fragmentos de medula sejam coletados nos três seguimentos (cervical, torácico e lombar) (RECH; BARROS, 2015).

Adicionalmente, é importante que fragmentos de outros órgãos sejam coletados, principalmente para diagnóstico diferencial. Deve-se coletar fígado, baço, coração, rins, pulmões e intestinos, além de linfonodos e fragmentos de músculos quando estes estiverem com alguma alteração macroscópica visível (FURR, 2008a; FURR, 2008b; DEL PIERO, 2008; BRASIL, 2010).

Durante a necropsia, as amostras coletadas devem ser colocadas no gelo ou já armazenadas sob refrigeração (4°C) para evitar degradação do material, e conseqüentemente, inviabilização dos vírus que podem estar presentes nos tecidos e possível degradação do material genético viral. Este procedimento é essencial para um diagnóstico preciso, pois o material genético viral pode ser degradado em amostras mal conservadas ou autolisadas, interferindo nas técnicas laboratoriais (BRASIL, 2009; LAMBERT; LANCIOTTI, 2016).

Relatar casos de doenças neurológicas em herbívoros ao SVO é mandatório no Brasil (BRASIL, 2009). Portanto, a necropsia é sempre necessária para confirmação do diagnóstico.

Como enviar o material para o laboratório?

Para o diagnóstico ser eficiente e preciso, o recebimento de material em condições adequadas é de extrema importância. Os fragmentos dos órgãos coletados devem ser armazenados em potes de boca larga, que possuam boa vedação, identificados de maneira legível e dentro de saco plástico duplo e resistente. Estes devem ser enviados refrigerados (2-8°C). Entretanto, quando o tempo entre coleta e chegada ao laboratório exceder o período de 24 horas, deve-se congelar (-20°C) o material para ser enviado (BRASIL, 2009).

Além do envio do material fresco refrigerado, deve-se coletar fragmentos dos tecidos em formalina 10% tamponada (Para um litro de solução: 100 ml formaldeído 37%; 4 g de fosfato de sódio monobásico; 6,5g de fosfato de sódio dibásico e 900 ml de água destilada). A proporção a ser seguida é de 1:10 de tecido e solução de formalina tamponada, respectivamente. Dessa forma, o formaldeído fixará os tecidos para que seja possível o exame histopatológico que, somado aos outros testes laboratoriais, auxilia no diagnóstico conclusivo da doença (BRASIL, 2009).

Para diagnóstico *ante-mortem*, recomenda-se que o sangue total seja coletado em tubos com anticoagulantes, preferencialmente EDTA (tubo de tampa roxa) enquanto, para coleta do soro, o tubo não deve conter anticoagulante (tubos de tampa vermelha) ou tubos que contenham o gel separador (tubos de tampa amarela). O LCR deve ser acondicionado em tubo de polipropileno (tubo tipo *Falcon*) com tampa rosqueável ou no próprio tubo de coleta de soro (tubo de tampa vermelha), sem nenhum tipo de conservante. Todos estes materiais devem ser mantidos sob refrigeração (2 a 8°C) com envio em até 48 horas após a coleta (RIOS *et al.*, 2007; SANTA CATARINA, 2017; COSTA *et al.*, 2021).

Para identificação do material, recomenda-se o uso de esparadrapos e/ou etiquetas marcadas com caneta esferográfica azul ou preta. O nome do animal ou o seu número de registro a ser preenchido nesta etiqueta deve ser o mesmo que consta no formulário enviado para o Laboratório do SVO, acompanhado da amostra (BRASIL, 2016). Deve-se evitar as identificações de difícil leitura ou o uso de caneta hidrocor que sai facilmente na manipulação do material. Importante evitar o envio de *pool* de amostras de animais diferentes em um mesmo recipiente, sendo ideal utilizar um pote amostral por animal suspeito. Estes procedimentos facilitam a rastreabilidade, caso seja necessário fazê-la (BRASIL, 2010).

Em seguida, os potes devidamente fechados contendo as respectivas amostras (embalagem primária), devem ser acondicionados em sacos plásticos (embalagem secundária) e colocados em caixa de isopor contendo gelo reciclável, ou gelos separados em sacos plásticos ou garrafas pets bem fechados, em quantidade suficiente para manter as amostras refrigeradas e/ou evitar seu descongelamento rápido (embalagem terciária). A caixa de isopor deve estar com a tampa com encaixe perfeito, vedada com

auxílio de fitas (crepe, durex) e devidamente identificadas com informações de remetente e destinatário. É obrigatório conferir se a caixa está bem fechada e sem vazamentos para que não apresente riscos para as pessoas que irão manipular a mesma durante o transporte (BRASIL, 2016).

Deve-se enviar junto ao material, o histórico e informações clínicas do animal preenchidas corretamente no Formulário de Aquisição de Exames, disponível no site do órgão de saúde animal de cada estado. Além do preenchimento dos campos disponíveis no questionário, pode-se anexar informações adicionais no campo de observação e identificar (sublinhando ou circulando) os sinais clínicos mais pertinentes.

Antes do envio das amostras, o médico-veterinário deve seguir alguns passos descritos no Quadro 3. O envio das amostras, principalmente os fragmentos de SNC, deverão ser encaminhadas para o laboratório oficial de saúde animal, do SVO de cada Estado. No site do Mapa estão disponíveis as informações e localização dos laboratórios oficiais de cada região do país (<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pnsa/notificacao-de-doencas>).

Quadro 3: Envio de amostras para diagnóstico – Check list

Envio de amostras para diagnóstico – Check list

- ✔ Certificar se o material está corretamente armazenado
- ✔ Verificar a disponibilidade do laboratório oficial em receber as amostras
- ✔ Entrar em contato com o laboratório avisando sobre a data de envio e provável chegada do material
- ✔ Em caso de uso dos correios enviar o número de rastreamento para o laboratório

Fonte: Os autores (2020).

O laboratório oficial executará o exame para raiva (imunofluorescência direta e prova biológica) e, em caso de diagnóstico negativo, as amostras serão encaminhadas para laboratórios credenciados e/ou oficiais de cada região (LACEN; Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária - LFDAs) pelo Mapa. Nestes laboratórios serão efetuados o diagnóstico de outras encefalites como VNO.

Importante ressaltar que tecidos em estado de autólise avançada devido à coleta tardia, acondicionados com quantidade de gelo insuficiente para refrigeração e tempo extensivo entre coleta e envio ao laboratório, não poderão ser utilizados para exames, comprometendo assim, a realização do diagnóstico.

Destinação de carcaças e resíduos

O descarte de carcaças e eventuais resíduos da necropsia devem ser efetuados rapidamente para evitar contaminação de pessoas, animais e do ambiente. O processo de eliminação das carcaças deve ser realizado por incineração, enterro ou qualquer outro procedimento que garanta a eliminação do agente infeccioso no ambiente, em locais onde animais e pessoas não tenham acesso e, principalmente, longe de cursos de água e/ou fontes subterrâneas (EMBRAPA, 2019). Como não há uma legislação específica no Brasil, sugere-se que o médico-veterinário entre em contato com o órgão responsável pela investigação de zoonoses ou SVO de seu Estado, para que o material classificado como infectante e de risco biológico seja devidamente descartado, bem como para obter maiores informações da destinação apropriada das carcaças.

Para facilitar essa limpeza, assim como o descarte da carcaça, sugere-se que a necropsia seja realizada em cima de lona grossa preta que deverá ser devidamente descartada após a necropsia, mas nunca enterrada com a carcaça.

A desinfecção química de instrumentais cirúrgicos, vestuários ou do ambiente onde foi realizada a necropsia do equídeo deverão seguir as recomendações descritas para o vírus da raiva, conforme revisão sobre raiva disponível no site do Mapa (BRASIL, 2017). O vírus da raiva, usualmente de transmissão pelo contato direto, é pouco resistente aos agentes químicos (éter, clorofórmio, sais minerais, ácidos e álcalis fortes), aos agentes físicos (calor, luz ultravioleta) e às condições ambientais, como dessecação, luminosidade e temperatura excessiva. No caso da desinfecção química de instrumentais cirúrgicos, vestuários ou do ambiente, são indicados o hipoclorito de 2 a 2,5% (geralmente, a água sanitária comercial já possui concentração de princípio de cloro ativo entre 2% e 2,5%), formol a 10%, glutaraldeído a 1-2%, ácido sulfúrico a 2%, fenol e ácido clorídrico a 5% ou creolina a 1%, dentre outros, deixando a solução agir por no mínimo 30 minutos (BRASIL, 2017; OMS, 2004).

Controle de FNO – Importância do médico-veterinário

Um dos aspectos fundamentais no controle da transmissão dos arbovírus é a detecção precoce do vírus ou a identificação do aumento da sua atividade (CHARREL, 2016). Para VNO, o monitoramento é realizado por meio de estudos de soroprevalência e detecção viral no SNC, principalmente em epizootias de aves e equídeos (PETROVIC *et al.*, 2018). Atualmente, a detecção viral em hemácias de equídeos com manifestação clínica de FNO também tem sido realizado no Brasil (PETROVIC *et al.*, 2018; COSTA *et al.*, 2021).

Os equídeos são animais considerados sentinelas, isto é, podem indicar a circulação do VNO em uma área e/ou região. Esses animais apresentam maior susceptibilidade viral que o ser humano. Desta maneira, os casos clínicos em equídeos, em sua maioria, precedem casos em humanos (PETROVIC *et al.*, 2018; ECDC, 2013). Conseqüentemente, o médico-veterinário, que é responsável pela saúde desses animais, é essencial no processo de vigilância de FNO.

A vigilância epidemiológica em equídeos tem sido implementada com sucesso em vários países. Nos EUA e na Europa, o serviço veterinário passou a atuar em conjunto com setores de saúde humana na implementação dos programas de vigilância da prevalência de FNO. Esta ação resultou em um sistema de saúde único e no controle do vírus, principalmente por sua detecção precoce (OSTLUD *et al.*, 2001; ECDC, 2013). Após os surtos que ocorreram em 1999 nos EUA, os médicos-veterinários do país foram orientados quanto à ocorrência da FNO nos equinos por um processo de educação continuada passando a atuar ativamente no campo. Assim, os novos casos de infecção pelo vírus em outras regiões no território norte-americano foram prontamente detectados e medidas de controle foram tomadas para prevenir novos surtos de FNO na população (BOSCO-LAUTH; BOWEN, 2019).

Além dos programas de vigilância, o controle e prevenção de FNO é realizado por meio da vacinação dos equídeos. As vacinas disponíveis comercialmente são inativadas, confere proteção contra duas linhagens do vírus e são utilizadas em países da Europa e em algumas regiões nos EUA (ECDC, 2013; ANGENVOORT, *et al.*, 2013). No Brasil, a vacina contra FNO não foi licenciada. Uma vez que, para inserção de um programa vacinal, é necessária uma avaliação completa da situação epidemiológica da doença, bem como a caracterização do vírus circulante. Embora tenha ocorrido diminuição dos casos clínicos nos cavalos após a implantação da vacinação em 2003 nos EUA, relatos de animais acometidos ainda foram reportados, totalizando, aproximadamente, 28 mil equinos com infecção por FNO até final de 2017 (BOSCO-LAUTH & BOWEN, 2019). Além disso, em locais com histórico de longa exposição e vacinação como nos EUA, a interpretação de determinados testes diagnósticos é dificultada pela presença de anticorpos contra o vírus, limitando os estudos de soroprevalência (PETROVIC *et al.*, 2018). No caso de humanos, a vacinação ainda não está licenciada até o momento, porém, inúmeros estudos têm sido realizados, propondo diferentes tipos de vacinas (DE FILETTE *et al.*, 2012).

Considerações finais

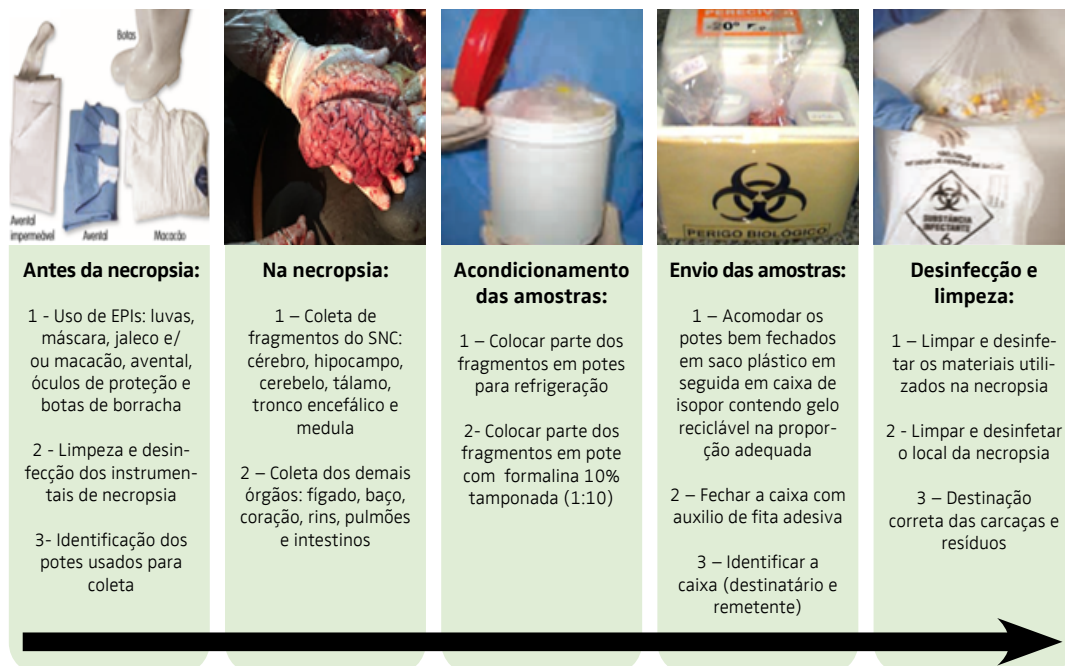
O Brasil possui condições favoráveis para estabelecimento e propagação de muitos arbovírus, como o vírus da FNO. Além das condições climáticas e territoriais favoráveis à proliferação e à atuação dos vetores, e à presença de vetores competentes e aves susceptíveis, o país possui um dos maiores rebanhos equídeos do mundo. Portanto, a presença de FNO inspira cuidados e requer atuação ativa do médico-veterinário na detecção precoce do vírus prevenindo, assim, a ocorrência de surtos.

No entanto, embora FNO seja uma preocupação importante para os médicos-veterinários e, também, para proprietários de equídeos no Brasil, a raiva ainda constitui a mais importante zoonose a ser controlada nesses animais. Relatos de profissionais do campo e laboratórios de diagnóstico descrevem a ocorrência desse vírus em muitos equídeos sendo reportada a negligência quanto à vacinação dos animais contra raiva e a falta do uso de equipamentos de proteção (EPs) de profissionais na coleta de material. A raiva é uma doença fatal nos mamíferos, inclusive humanos, causando encefalomielite aguda seguida de óbito.

Além disso, apesar das doenças do sistema nervoso representarem parte importante nos diagnósticos de enfermidades nos equídeos, existe uma dificuldade na determinação etiológica relacionada, principalmente, com a coleta e envio incorreto de material após o óbito do animal.

Com base nas informações do texto, a Figura 3 descreve, resumidamente, o passo a passo da conduta do médico-veterinário antes, durante e após a necropsia nos equídeos. Essas informações, bem como os materiais coletados durante o processo, são úteis para o diagnóstico, não apenas de FNO, mas da maioria das encefalites (virais, bacterianas, fúngicas ou parasitárias). A coleta e envio do material é de responsabilidade do médico-veterinário e são etapas essenciais do processo, e as recomendações devem ser prontamente seguidas para que não haja interferência no diagnóstico. &

Figura 3: Passo a passo das etapas de coleta, acomodação e envio das amostras para o laboratório e procedimento após a necropsia.



Fonte: Fotos 1, 3 e 5 - Manual Pan Americano de coleta - Mapa/OPAS (2010), adaptados em 2020; Foto 2 - Imagem cedida pelo médico-veterinário Marcos Antônio Correia Rodrigues da Cunha (2018); Foto 4 - Manual Técnico de Controle de Raiva dos Herbívoros - Mapa (2019), adaptado em 2020.

Referências

- ANGENVOORT, J. *et al.* West Nile viral infection of equids. **Veterinary Microbiology**, v. 167, n. 1-2, p. 168–180, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.08.013>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113513004124?via%3Dihub>. Acesso em: 04 de fev. 2021.
- AUTORINO, G. L. *et al.* West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy. **Emerging Infectious Diseases**, v.8, n.12, p.1372–1378, 2002. DOI: <https://dx.doi.org/10.3201/eid0812.020234>. Disponível em: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/8/12/02-0234_article. Acesso em: 04 de fev. 2021.
- BOSCO-LAUTH, A. M.; BOWEN, R. A. West Nile Virus: Veterinary Health and Vaccine Development. **Journal of Medical Entomology**, v.56, n.6, p.1463-1466, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/jme/tjz125>. Disponível em: <https://academic.oup.com/jme/article-abstract/56/6/1463/5572123?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 04 de fev. 2021.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Controle da raiva dos herbívoros: manual técnico**. Brasília, DF, 2009, p.1-124. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/raiva-dos-herbivoros-e-eeb/MANUAL_RAIVAHORBIVOROS2009.pdf. Acesso em: 02 fev. 2021.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Saúde Animal. Coordenação Geral de Combate a Doenças. **Manual veterinário de colheita e envio de amostras: manual técnico**. Cooperação Técnica Mapa/OPAS-Panaftosa para o Fortalecimento dos Programas de Saúde Animal do Brasil. Rio de Janeiro: Panaftosa-Opas/OMS, 2010. Disponível em: <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/33893>. Acesso em: 02 fev. 2021.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. PNCRH: Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros. **Procedimentos para coleta de amostras suspeitas de raiva e EET**, Brasília, DF, 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, **Programas de Saúde animal: raiva dos herbívoros e eeb** Revisão sobre Raiva, Brasília, DF, 2017. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/raiva-dos-herbivoros-e-eeb/RevisosobreRaiva2017.pdf>. Acesso em: 02 fev. de 2021.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação-geral de Planejamento e Avaliação Zoossanitária. **Nota Técnica nº 5, de 1º março de 2018**. Febre do Nilo Ocidental - Orientações ao Serviço Oficial de Saúde Animal. Disponível em: <http://www.aged.ma.gov.br/files/2018/06/febre-do-nilo.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2021.
- CANTILE, C. *et al.* Pathologic and Immunohistochemical Findings in Naturally Occurring West Nile Virus Infection in Horses. **Veterinary Pathology**, v.38, n. 4, p.414–431, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1354/vp.38-4-414>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1354/vp.38-4-414>. Acesso em: 04 de fev. 2021.
- CASTILLO-OLIVARES, J.; WOOD, J. West Nile virus infection of horses. **Veterinary Research**, v. 35, n. 4, p. 467-483, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1051/vetres:2004022>. Disponível em: <https://www.vetres.org/articles/vetres/abs/2004/04/V4014/V4014.html>. Acesso em: 04 de fev. 2021.
- COSTA, E.A. *et al.* Epidemiological surveillance of West Nile virus in the world and Brazil: relevance of equine surveillance in the context of “One Health”. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 56, n. 4, e164335, 2019. DOI: <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2019.164335>. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/164335>. Acesso em: 04 de fev.2021.

- CHANCEY, C. *et al.* The Global Ecology and Epidemiology of West Nile Virus. **BioMed Research International**, vol. 2015, p. 1-20, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/376230>. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/376230/>. Acesso em: 04 de fev. 2021.
- CHAPMAN, G. E. *et al.* The challenges posed by equine arboviruses. **Equine Veterinary Journal**, v.50, n.4, p.436-445, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/evj.12829>. Disponível em: <https://beva.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/evj.12829>. Acesso em: 04 de fev. 2021.
- CHARREL, R.N. Diagnosis of arboviral infections-A quagmire of cross reactions and complexities. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v.14, n.1, p.11-12, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2016.01.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1477893916000089?via%3Dihub>. Acesso em: 04 de fev. 2021.
- COLPITTS, T. M. *et al.* West Nile Virus: Biology, Transmission, and Human Infection. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 4, p. 635–648, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.00045-12>. Disponível em: <https://cmr.asm.org/content/25/4/635>. Acesso em: 04 de fev. 2021.
- COSTA, E. A. *et al.* West Nile virus detection in horses in three Brazilian states. **bioRxiv-The preprint server for biology**, 09 jan. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1101/2021.01.06.425363>. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.01.06.425363v3>. Acesso em: 02 fev. 2021.
- DAVIS, L. E. *et al.* West Nile Virus Neuroinvasive Disease. **Annals of Neurology**, v. 60, n. 3, p. 286-300, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1002/ana.20959>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ana.20959>. Acesso em: 04 de fev. 2021.
- DE FILETTE, M. *et al.* Recent progress in West Nile virus diagnosis and vaccination. **Veterinary Research**, v. 43, n. 16, p. 1-15, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1186/1297-9716-43-16>. Disponível em: <https://veterinaryresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/1297-9716-43-16>. Acesso em: 04 de fev. 2021.
- DEL PIERO, F.; ROBERTSON, J.L. The basics of equine neuropathology. In: FURR, M.; REED, S. (Ed.) **Equine Neurology, Second Edition**. Iowa: Blackwell Publishing, p.157-166, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781118993712.ch16>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781118993712.ch16>. Acesso em: 04 de fev. 2021.
- ECDC. **West Nile virus risk assessment tool**. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control, p. 1-24, 2013. DOI: <https://doi.org/10.2900/85718>. Disponível em: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/west-nile-virus-risk-assessment-tool>. Acesso em: 04 de fev. 2021.
- EMBRAPA. Métodos de destino final de animais mortos de médio e grande porte no Brasil. **Comunicado técnico**, n. 144, Brasília, DF, p. 1-14, set. 2019.
- FURR, M. Clostridial neurotoxins: Botulism and Tetanus. In: FURR, M.; REED, S. (Ed.) **Equine Neurology**. Iowa: Blackwell Publishing, p.221-229, 2008a. DOI: <https://doi.org/10.1002/9780470376461.ch17>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470376461.ch17>. Acesso em: 04 de fev. 2021.
- FURR, M. Miscellaneous Infections of the Central Nervous System. In: FURR, M.; REED, S. (Ed.) **Equine Neurology**. Iowa: Blackwell Publishing, p.231-233, 2008b. DOI: <https://doi.org/10.1002/9780470376461.ch18>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470376461.ch18>. Acesso em: 04 de fev. 2021.
- GOEHRING, L. Viral diseases of the nervous system. In: FURR, M.; REED, S. (Ed.) **Equine Neurology**. Iowa: Blackwell Publishing, p.169 – 186, 2008.
- HIROTA J. *et al.* Application of West Nile virus diagnostic techniques. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 11, n. 8, p. 793 - 803, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1586/14787210.2013.814824>. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1586/14787210.2013.814824>. Acesso em: 04 de fev. 2021.

ICTV. **Virus Taxonomy: 2019 Release**. Berlim, jul. 2019. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>. Acesso em: 26 de abr. 2021.

KLEIBOEKER, S. B., *et al.* Diagnosis of West Nile virus infection in horses. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 16, n. 1, p.2–10, jan. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1177/104063870401600102>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/104063870401600102>. Acesso em: 04 de fev. 2021.

KUMAR, R.; PATIL, R. D. Cryptic etiopathological conditions of equine nervous system with special emphasis on viral diseases. **Veterinary World**, v. 10, n.12, p. 1427-1438, 2017. DOI: <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.1427-1438>. Disponível em: <http://www.veterinaryworld.org/Vol.10/December-2017/4.html>. Acesso em: 04 de fev. 2021.

LAMBERT, A.J.; LANCIOTTI, R. S. Laboratory Diagnosis of Arboviruses. In: VASILAKIS, N.; GUBLER, D.J. (Ed.). **Arboviruses: Molecular Biology, Evolution and Control**. Poole, UK: Caister Academic Press, p. 270-275, 2016.

MARTINS, L. C. *et al.* First isolation of West Nile virus in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, vol. 114, p. 1-19, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/0074-02760180332>. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762019000100305&tlng=en. Acesso em: 04 de fev. 2021.

MELANDRI, V. *et al.* Serological detection of West Nile virus in horses and chicken from Pantanal, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.107, n.8, p.1073–1075, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762012000800020>. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762012000800020&lng=en&tlng=en. Acesso em: 04 de fev. 2021.

MURGUE, B. *et al.* West Nile outbreak in horses in southern France, 2000: The return after 35 years. **Emerging Infectious Diseases**, v.17, n.4, p. 692- 696, 2001. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid0704.010417>. Disponível em: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/7/4/01-7417_article. Acesso em: 04 de fev. 2021.

NASCI, R. S. *et al.* West Nile Virus in Overwintering Culex Mosquitoes, New York City, 2000. **Emerging Infectious Diseases**, v. 7, n. 4, p. 742-744, 2001. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid0704.010426>. Disponível em: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/7/4/01-7426_article. Acesso em: 04 de fev. 2021.

OMETTO, T. *et al.* West Nile virus surveillance, Brazil, 2008–2010. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene**, v.107, n.11, p.723–730, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1093/trstmh/trt081>. Disponível em: <https://academic.oup.com/trstmh/article-abstract/107/11/723/1908207?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 04 de fev. 2021.

OMS. **Manual de segurança biológica em laboratório**, 3.ed. Atlanta, Estados Unidos: Organização Mundial da Saúde, 2004. Disponível em: <https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/BisLabManual3rdwebport.pdf>. Acesso em: 27 out. 2019.

OIE. West Nile Fever (WNF), **World Organisation for Animal Health**, 2020. Disponível em: <https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/animal-diseases/West-Nile-fever/> Acesso em: 02 fev. 2021.

OSTLUND, E. N. *et al.* Equine West Nile encephalitis, United States. **Emerging Infectious Diseases**. v. 7, n. 4, p.665–669, 2001. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid0704.010412>. Disponível em: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/7/4/01-7412_article. Acesso em: 04 de fev. 2021.

PAUVOLID-CORRÊA, A.; VARELLA, R. B. Aspectos epidemiológicos da Febre do Oeste do Nilo. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 11, n. 3, p. 463-72, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1415-790X2008000300013>.

PAUVOLID-CORRÊA, A. *et al.* Neutralising antibodies for West Nile virus in horses from Brazilian Pantanal. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 4, p. 467-474, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762011000400014>.

PAUVOLID-CORRÊA, A., *et al.* Serological evidence of widespread circulation of West Nile virus and other flaviviruses in equines of the Pantanal, Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 2, e2706 2014. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002706>.

PETROVIĆ, T. *et al.* Methodology and results of integrated WNV surveillance programmes in Serbia. **PLoS ONE**, v. 13, n.4, e0195439, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195439>. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0195439>. Acesso em: 04 de fev. 2021.

RECH, R.; BARROS, C. Neurological diseases in horses. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 31, n. 2, p. 281–306, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2015.04.010>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0749073915000346?via%3Dihub>. Acesso em: 04 de fev. 2021.

RIOS, M. *et al.* West Nile virus adheres to human red blood cells in whole blood. **Clinical Infectious Diseases**, v. 45, n. 2, p. 181–186, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1086/518850>. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/article/45/2/181/421551>. Acesso em: 04 de fev. 2021.

SANTA CATARINA. Laboratório Central de Saúde Pública de Santa Catarina. **Manual de orientação para coleta, acondicionamento e transporte de amostras biológicas**, Santa Catarina: Laboratório Central de Saúde Pública de Santa Catarina, 2017. Disponível em: <http://lacen.saude.sc.gov.br/arquivos/MCT01.pdf>. Acesso em: 03 fev. 2021.

SILVA, J.R. *et al.* Serologic survey of West Nile virus in horses from Central-West, Northeast and Southeast Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.108, n.7, p.921–923, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/0074-0276130052>. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24037110/>. Acesso em: 04 de fev. 2021.

SILVA, A. S. G. *et al.* West Nile virus associated with equid encephalitis in Brazil, 2018. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 66, n. 1, p. 445–453, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/tbed.13043>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/tbed.13043>. Acesso em: 04 de fev. 2021.

VIEIRA, M. A. C. S. *et al.* West Nile Virus Encephalitis: The First Human Case Recorded in Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.93, n. 2, p. 377-379, 2015. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0170>. Disponível em: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/93/2/article-p377.xml>. Acesso em: 04 de fev. 2021.

Recebido: 09 de setembro de 2020. Aceito: 03 de fevereiro de 2021.