

# O VÍRUS DA FEBRE DO NILO CIRCULA NO DF?

Professor orientador: Lucas Edel Donato

Alunas: Tayane Leal Luza e Ana Beatriz Grilo de  
Melo

PROGRAMA DE  
INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
PIC/CEUB

**RELATÓRIOS DE PESQUISA**  
VOLUME 10 Nº 1- JAN/DEZ  
**2024**



**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - CEUB  
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

**TAYANE LEAL LUZA  
ANA BEATRIZ GRILO DE MELO**

**O VÍRUS DA FEBRE DO NILO CIRCULA NO DF?**

Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica apresentado à Assessoria de Pesquisa e Extensão.  
Orientação: Lucas Edel Donato

**BRASÍLIA  
2025**



## RESUMO

A Febre do Nilo Ocidental (FNO), causada pelo West Nile virus (WNV), e a encefalite de Saint Louis (SLEV) configuraram-se como arboviroses de importância crescente para a saúde pública e animal, capazes de desencadear quadros neurológicos graves em humanos e equídeos. No Brasil, os equídeos são considerados sentinelas epidemiológicos relevantes, pois apresentam alta suscetibilidade à doença e permitem a detecção precoce da circulação viral em áreas de risco. Diante desse cenário, este estudo teve como objetivo avaliar a circulação de WNV e SLEV no Distrito Federal por meio da detecção de anticorpos neutralizantes em equídeos, utilizando o teste de neutralização por redução de placas (PRNT<sub>80</sub>), técnica reconhecida como padrão-ouro para a sorologia de flavivírus. Para a realização do estudo, foram analisadas 96 amostras de soro de equídeos. Inicialmente, as amostras foram submetidas ao PRNT<sub>80</sub>, que identificou reatividade em 18 (18,7%) animais para SLEV e em 3 (3,1%) para WNV. Posteriormente, as amostras positivas foram avaliadas no PRNT<sub>80</sub>, que confirmou a presença de anticorpos neutralizantes em diferentes níveis de resposta imune. Para SLEV, quatro amostras inicialmente positivas tornaram-se negativas, enquanto as demais apresentaram títulos variando entre 1:20 e 1:80. Para o WNV, apenas uma das três amostras manteve soropositividade, apresentando título elevado de 1:320. Não foram observadas amostras com reatividade simultânea para os dois vírus. Esses resultados confirmam a exposição prévia dos equídeos avaliados a ambos os arbovírus e corroboram a circulação de SLEV e WNV no Distrito Federal, evidenciando a importância da vigilância epidemiológica baseada em equídeos como ferramenta de detecção precoce. O estudo alcançou seus objetivos, fornecendo dados relevantes para a compreensão da epidemiologia regional de flavivírus e reforçando a necessidade de estratégias contínuas de monitoramento. Além disso, destaca-se a relevância da abordagem Saúde Única, que integra saúde animal, humana e ambiental, como eixo essencial para o enfrentamento das arboviroses emergentes. Dessa forma, a pesquisa contribui tanto para o avanço do conhecimento científico quanto para a formulação de medidas preventivas que visam minimizar riscos à saúde coletiva e fortalecer as ações de vigilância no Brasil.

**Palavras-chave:** vírus do Nilo Ocidental; encefalite de Saint Louis; equídeos; vigilância epidemiológica; saúde única

**SUMÁRIO**

<b>1</b>	<b>Introdução</b>	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>Fundamentação teórica</b>	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>Método</b>	<b>10</b>
<b>4</b>	<b>Resultados e discussão</b>	<b>12</b>
<b>5</b>	<b>Considerações finais (ou Conclusões)</b>	<b>13</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>14</b>
	<b>APÊNDICES</b>	<b>15</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>16</b>

## 1 Introdução

### 1.1. Contextualização Global e Histórica da FNO

A Febre do Nilo Ocidental (FNO) representa uma arbovirose emergente de significativa importância global, sendo causada pelo West Nile virus (WNV). Este patógeno pertence ao gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*, e é primariamente transmitido por mosquitos, com destaque para as espécies do gênero *Culex* (Johnson et al., 2023; Bruno et al., 2025).

O WNV foi inicialmente isolado em Uganda no ano de 1937. Durante várias décadas, sua circulação permaneceu predominantemente restrita às regiões da África, Europa e Ásia, onde as manifestações clínicas associadas aos surtos eram geralmente de febre leve (Fiocruz, 2020; D'Amore, 2023). Contudo, a partir da década de 1990, uma notável alteração no perfil epidemiológico da doença foi observada. Surtos tornaram-se mais frequentes e passaram a ser associados a quadros neurológicos graves, com eventos marcantes na Romênia (1996), Israel (1998) e Rússia (1999) (Brüssow et al., 2025).

A introdução do WNV nas Américas, especificamente em Nova Iorque em 1999, marcou um ponto de inflexão, inaugurando uma fase de rápida disseminação. O vírus estabeleceu-se nos Estados Unidos da América e subsequentemente se espalhou para o Canadá, América Central e do Sul (Tsai, 2025; Fiocruz, 2022). A mudança no perfil epidemiológico e patogênico do FNO, com o aumento da frequência e gravidade dos surtos, incluindo uma maior proporção de casos neurológicos, sugere que o vírus pode ter evoluído para cepas mais virulentas. Essa evolução pode ter sido impulsionada pela interação com populações suscetíveis, como idosos e imunocomprometidos, especialmente em ambientes urbanos (Silverj, 2024). A adaptação do vírus a novas ecologias de vetores e hospedeiros nas Américas pode ter favorecido a seleção de cepas mais patogênicas ou a amplificação da transmissão em novas dinâmicas.

### 1.2. Relevância da FNO para a Saúde Pública e Animal, com Foco na Situação nas Américas e no Brasil

Atualmente, o WNV é reconhecido como o agente etiológico mais relevante de encefalite viral em humanos e animais em escala mundial (Moges et al., 2020). No continente americano, há registros de mais de 27.500 casos humanos, reportados nos EUA desde 1999, resultando em mais de 1.000 óbitos. Além disso, foram registrados mais de 25.000 casos em equinos (Pauvolid-Corrêa, 2008).

A disseminação do vírus para o hemisfério sul foi confirmada pela detecção de animais infectados a partir do ano de 2005. Evidências de soropositividade em equídeos foram

encontradas na Colômbia, Venezuela, Brasil e Uruguai, e o isolamento viral foi reportado na Argentina em 2006 (Pauvolid-Corrêa, 2008; Fiocruz, 2020). No Brasil, o primeiro caso humano de FNO foi diagnosticado no Piauí em 2014, com outros nove casos confirmados na mesma região (Fiocruz, 2020). As primeiras evidências da circulação viral em equinos no país foram identificadas no Pantanal em 2009, e mais recentemente, entre 2018 e 2020, o vírus foi detectado em Minas Gerais, Piauí e São Paulo (Fiocruz, 2022). A ecologia brasileira, caracterizada por um clima tropical e condições ambientais favoráveis, torna o país particularmente suscetível à FNO, representando um sério risco para a saúde pública em áreas com temperaturas adequadas para a proliferação do vetor (Rossi et al., 2023).

### **1.3. Importância dos Equinos como Sentinelas Epidemiológicos**

Embora humanos e equinos sejam considerados hospedeiros acidentais e terminais do WNV, a suscetibilidade dos equinos ao desenvolvimento de sinais neurológicos, muitas vezes fatais, confere a eles um papel crucial como "sentinelas" na detecção da circulação viral em uma determinada área (Fiocruz, 2022; DGAV, 2023). A manifestação clínica da doença nesses animais serve como um alerta precoce para a presença do vírus no ambiente, permitindo que as autoridades de saúde pública implementem medidas de vigilância e controle antes que a infecção se dissemine amplamente para a população humana (Bigeard, 2024).

O projeto de iniciação científica, que se concentra na avaliação sorológica de amostras de equinos do Distrito Federal, alinha-se diretamente a essa estratégia de vigilância. A monitorização de equinos pode revelar a atividade viral em uma região, mesmo antes da ocorrência de casos humanos. No entanto, a dependência exclusiva de equinos para a vigilância pode gerar uma lacuna na compreensão da circulação viral em outras espécies de mamíferos que, embora incidentalmente infectadas, podem não desenvolver doença clínica aparente ou não são rotineiramente monitoradas (Saúde, 2023). Essa potencial subestimação da real extensão da circulação viral no ecossistema, especialmente em regiões de alta biodiversidade como o Brasil, ressalta a necessidade de uma abordagem de "Saúde Única" (One Health). Tal perspectiva integrada, que considera a saúde humana, animal e ambiental, é fundamental para preencher essas lacunas de conhecimento e aprimorar a capacidade de resposta a arboviroses emergentes (Moges et al., 2020).

## **1.4. Objetivos**

### **1.4.1 Objetivo geral**

Investigar a circulação do vírus da Febre do Nilo Ocidental em equinos no Distrito Federal por meio de técnicas sorológicas e moleculares.

### **1.4.2 Objetivos específicos**

- Realizar testes sorológicos e moleculares nas amostras coletadas dos equinos de diferentes regiões do Distrito Federal, para detectar anticorpos e DNA do vírus Febre do Nilo Ocidental;
- Investigar possíveis fatores de risco associados à infecção pela Febre do Nilo Ocidental, como a localização geográfica, e mapear a distribuição dos casos positivos e identificar as áreas de maior risco;
- Estimar a positividade de equídeos com anticorpos anti-FNO;
- Realizar a análise descritiva dos animais diagnosticados reagentes e/ou positivos
- Realizar análise espacial com mapas temáticos dos equídeos reagentes e/ou positivos

## 2 Fundamentação teórica

### 2.1. Agente Etiológico

#### 2.1.1. Classificação e Estrutura Geral

O West Nile virus (WNV) é um vírus de RNA de fita simples, com sentido positivo, classificado dentro do gênero *Flavivirus*, pertencente à família *Flaviviridae* (Johnson et al., 2023). Morfologicamente, o WNV é um vírus envelopado, de formato esférico, com um diâmetro aproximado de 50 nanômetros (CAPES, 2023). O genoma de RNA do vírus é encapsulado por um nucleocapsídeo, que é formado pela proteína C (capsídeo). Externamente, o envelope viral é composto pelas proteínas M (membrana) e E (envelope), as quais se organizam em homodímeros antiparalelos, conferindo à partícula viral uma simetria icosaédrica (Ramalingam, 2025).

O genoma do WNV possui aproximadamente 11.000 nucleotídeos, ou 11 kilobases. Caracteristicamente, ele contém uma única e longa *Open Reading Frame* (ORF), que é traduzida em uma única poliproteína. Esta poliproteína é posteriormente processada para gerar as 10 proteínas virais distintas. O genoma é flanqueado por regiões não codificantes (UTRs) nas extremidades 5' e 3' (Davis et al., 2024)

As UTRs do WNV são altamente estruturadas, contendo motivos de RNA que desempenham funções cruciais em diversas etapas do ciclo de vida viral, incluindo a replicação, transcrição, tradução e empacotamento do genoma (Zhu, 2024). A extremidade 3' do genoma é singular por não possuir uma cauda poli-A, terminando em vez disso com uma sequência conservada CUOH. A integridade e a conformação dessas estruturas secundárias de RNA conservadas nas UTRs 3' e 5' são essenciais para a viabilidade do vírus. Além disso, a formação de duplos-filamentos de longo alcance entre as regiões terminais 5' e 3' do genoma permite que ele alterne entre conformações linear e ciclizada, um processo funcionalmente importante para o ciclo viral (Davis et al., 2024).

A complexidade da biologia molecular do WNV, evidenciada pelas estruturas intrincadas do RNA e pela necessidade de metilação do cap para infectividade e evasão imune, é notável. O vírus replica-se em "pacotes de vesículas" dentro do retículo

endoplasmático (RE), um processo que induz estresse celular. Essa sofisticação não apenas otimiza a replicação viral, mas também serve como uma estratégia de evasão da resposta imune inata do hospedeiro (Zheng, 2025). A capacidade do WNV de manipular a maquinaria celular e contornar as defesas do hospedeiro torna o desenvolvimento de antivirais e vacinas um desafio complexo, pois os alvos virais podem ser intrinsecamente ligados a mecanismos de replicação e evasão. A compreensão aprofundada dessas estruturas de RNA riboregulatórias, que se dobram com mínima dependência do hospedeiro, pode revelar novos alvos para o desenvolvimento de fármacos (Davis et al., 2024). A identificação desses alvos "pan-flavivirais" sugere uma abordagem terapêutica mais ampla, com potencial para tratar doenças causadas por vírus relacionados, como Dengue e Zika, o que é de grande relevância para a saúde pública global, especialmente em regiões onde múltiplos flavivírus são endêmicos (Davis et al., 2024).

### **2.1.3. Proteínas Virais e Funções**

A poliproteína do WNV, após ser traduzida, é clivada por proteases celulares e virais em três proteínas estruturais e sete proteínas não-estruturais (NS). As proteínas estruturais incluem a proteína C (capsídeo), a prM/M (pré-membrana/membrana) e a E (envelope). As proteínas não-estruturais são NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5 (O'Brien et al., 2023).

A proteína E (Envelope) é fundamental para a entrada do vírus nas células hospedeiras. Ela sofre mudanças conformacionais dependentes do pH no endossomo, permitindo a fusão das membranas viral e endossomal. A proteína C (Capsídeo) é responsável por formar o nucleocapsídeo, que encapsula o genoma de RNA. As proteínas prM/M (Pré-membrana/Membrana) estão envolvidas na montagem e maturação do vírion; a clivagem da prM para M pela furina é um passo crucial para a formação de partículas infecciosas maduras (Xiong, 2022)

Entre as proteínas não-estruturais, a proteína NS5 desempenha um papel vital como a polimerase viral (RNA-dependente RNA polimerase) e também codifica uma metiltransferase, sendo indispensável para a replicação viral. A metilação adequada da estrutura cap nas posições N-7 da guanina e 2'-OH da ribose é necessária para a

infectividade ótima do RNA do WNV, e a metilação em 2'-OH tem sido associada à evasão da imunidade inata do hospedeiro. A proteína NS1 existe em formas celular e secretada, é altamente imunogênica e pode estar envolvida na replicação viral. Em geral, as proteínas não-estruturais são cruciais para a replicação do genoma e para o processo de montagem do vírion (Tseng, 2024)

#### **2.1.4. Replicação Viral**

A replicação do WNV ocorre de forma intrincada em membranas associadas ao retículo endoplasmático (RE) da célula hospedeira. Esse processo induz uma significativa remodelação das membranas intracelulares, levando à formação de estruturas conhecidas como "pacotes de vesículas" (VPs). Essas VPs são os locais onde se encontram os intermediários de replicação de RNA de fita dupla (dsRNA). Para que a replicação ocorra, é necessária a síntese de uma fita de RNA negativa, que serve como molde para a produção de novas fitas de RNA positivas, as quais serão empacotadas em vírions progenitores ou utilizadas para traduzir proteínas virais adicionais. A replicação do WNV e o acúmulo de suas proteínas não-estruturais no RE induzem estresse no RE, ativando a resposta de proteína não-dobrada (UPR), um mecanismo de defesa celular que o vírus de alguma forma modula para seu próprio benefício (Wang et al., 2013; Samuel et al., 2006).

#### **2.2. Hospedeiros Acidentais e Terminais**

Humanos e equinos são classificados como hospedeiros acidentais e terminais (ou *dead-end hosts*) do WNV. Isso significa que, embora possam ser infectados e desenvolver a doença, a viremia (nível de vírus no sangue) nesses hospedeiros é geralmente de curta duração e em concentrações insuficientes para infectar novos mosquitos, interrompendo assim o ciclo de transmissão (Petersen et al., 2012; Saúde, 2023).

Outros mamíferos e primatas não-humanos também podem ser infectados, mas sua importância epidemiológica na manutenção do ciclo viral é menos conhecida (Saúde, 2023). Há estudos que sugerem um possível papel de répteis jovens na transmissão viral em áreas de alta densidade populacional desses animais (Pauvolid-Corrêa, 2008),

indicando uma complexidade na ecologia do vírus que ainda requer maior investigação.

### 2.3. Vetores

Os mosquitos do gênero *Culex* são reconhecidos como os vetores primários e mais competentes do WNV. A distribuição geográfica do vírus está intrinsecamente ligada às espécies de *Culex* presentes em cada região. Por exemplo, *Culex tarsalis*, *Culex quinquefasciatus* e *Culex pipiens* são vetores chave nos Estados Unidos, enquanto *Culex univittatus* é mais relevante na África, *Culex pipiens* e *Culex modestus* na Europa, e *Culex annulirostris* na Austrália (Moges, 2020; Taheri, 2025).

A capacidade de transmissão do WNV não se restringe a poucas espécies; mais de 65 espécies de mosquitos já foram encontradas infectadas pelo WNV, e cerca de 150 espécies já foram identificadas com o vírus (Moges et al., 2020). Os "mosquitos ponte", que se alimentam tanto de aves quanto de mamíferos, são cruciais para a transmissão do vírus para humanos e equinos, facilitando o *spillover* do ciclo enzoótico para hospedeiros acidentais (García-Carrasco, 2023). Além dos mosquitos, o WNV também foi isolado de outros artrópodes, como carrapatos (duros e moles), percevejos de andorinha e ácaros de galinha, embora o papel desses vetores alternativos na epidemiologia da FNO seja menos compreendido (Moges et al., 2020).

### 3.4. Ciclo de transmissão

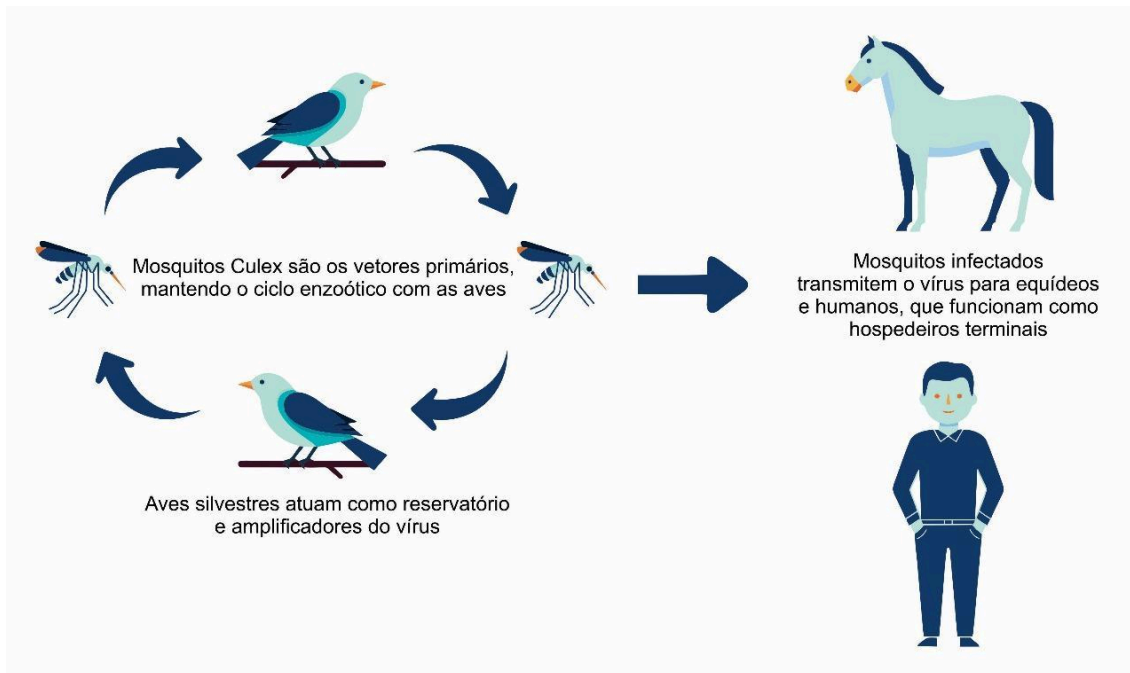
#### 3.4.1. Ciclo Enzoótico e Hospedeiros Primários

O WNV é mantido na natureza através de um ciclo enzoótico complexo, que envolve primariamente mosquitos, especialmente do gênero *Culex*, e aves silvestres (Wang et al., 2013; Petersen et al., 2012). As aves silvestres desempenham um papel central nesse ciclo, atuando como hospedeiros reservatórios e amplificadores do vírus. Elas desenvolvem altos níveis de viremia, tornando-se uma fonte eficaz de infecção para os mosquitos que se alimentam de seu sangue (Saúde, 2023; Fiocruz, 2022).

Entre as aves, corvídeos e passeriformes são particularmente suscetíveis à infecção por WNV e podem apresentar alta mortalidade, especialmente na América do Norte, onde

essa alta mortalidade em aves pode intensificar a transmissão do vírus (Weaver et al., 2014; DGAV, 2023). Aves migratórias são consideradas os principais agentes de disseminação do WNV, contribuindo para sua propagação na América do Norte e em escala global (Weaver et al., 2014; CFSPH, 2013).

Figura - 1



Fonte: do Autor

### 3.2.4. Mecanismos de Transmissão

O principal mecanismo de transmissão do WNV para humanos e equinos é através da picada de mosquitos infectados (Hayes et al., 2012; Saúde, 2023). No entanto, formas mais raras de transmissão também foram documentadas, incluindo transfusão sanguínea, transplante de órgãos, aleitamento materno e transmissão transplacentária (Saúde, 2023). Essas vias alternativas, embora menos comuns, são importantes para a vigilância e as medidas de biossegurança.

### 3.2.5. Fatores que Influenciam a Transmissão

A dinâmica de transmissão do WNV é influenciada por uma complexa interação de fatores ambientais, ecológicos e individuais. Fatores ambientais e climáticos, como temperatura, precipitação e uso do solo, desempenham um papel significativo (Silva et

al., 2023; Wang et al., 2023). Temperaturas mais elevadas podem acelerar a replicação viral no mosquito, encurtar o período de incubação extrínseco (tempo que o vírus leva para se replicar no mosquito até que ele se torne infeccioso), promover o aumento das populações de vetores e aumentar a eficiência da transmissão (Wang et al., 2023; Paz et al., 2015). A faixa ótima de temperatura para a transmissão do WNV é identificada entre 22,7 °C e 30,2 °C (Wang et al., 2023).

A precipitação, por sua vez, apresenta efeitos contraditórios. Chuvas intensas podem aumentar a disponibilidade de locais de reprodução para mosquitos, mas também podem diluir nutrientes para as larvas, diminuindo sua taxa de desenvolvimento (Paz et al., 2015). Períodos de seca, por outro lado, podem concentrar mosquitos e aves em fontes de água restantes, aumentando a interação e acelerando a amplificação do WNV (Paz et al., 2015). A umidade relativa também se correlaciona positivamente com a dinâmica populacional dos vetores e a morbidade em humanos (Paz et al., 2015). Fenômenos como invernos mais quentes e verões mais quentes, decorrentes das mudanças climáticas, têm contribuído para o aumento das taxas de infecção por WNV (Wang et al., 2023).

A co-ocorrência de redes de pesquisa destaca a crescente importância das mudanças climáticas e fatores ambientais na dinâmica do WNV (Silva et al., 2023). As projeções indicam que o aquecimento global pode expandir a prevalência da infecção em aves para latitudes mais altas, à medida que temporadas de atividade mais longas permitem mais eventos de transmissão (Wang et al., 2023). Além disso, o aumento da temperatura pode indiretamente alterar a transmissão do WNV ao modificar a ecologia dos hospedeiros aviários, como o aninhamento precoce, que pode alinhar a eclosão dos filhotes com os picos de população de mosquitos, aumentando a exposição de aves jovens aos vetores (Wang et al., 2023).

### **3.5. Epidemiologia**

#### **3.3.1. Distribuição Geográfica Global**

O West Nile virus, desde seu primeiro isolamento em Uganda em 1937, expandiu-se para uma vasta região do globo, sendo atualmente considerado o agente causador

mais importante de encefalite viral em escala mundial (Petersen et al., 2014; Moges et al., 2020). Inicialmente restrito à África, Oriente Médio e partes da Ásia, onde causava surtos de febre leve (Petersen et al., 2014), o vírus atravessou o Atlântico em 1999, sendo detectado em Nova Iorque, EUA (Petersen et al., 2011; Rana, 2023). Atualmente, o WNV está presente em todos os continentes, exceto na Antártida (Weaver et al., 2014; Rana, 2023), com transmissão relatada na Europa, Oriente Médio, África, Índia, partes da Ásia, Austrália (na forma do vírus Kunjin, um subtipo de WNV), América do Norte e partes da América Central e Caribe (Hayes et al., 2012).

### **3.3.2. Incidência e Padrões de Surtos**

Historicamente, o WNV estava associado a surtos dispersos temporalmente de doença febril leve (Venkata et al., 2023). No entanto, a partir de meados da década de 1990, a epidemiologia e as características clínicas do vírus parecem ter mudado, com surtos mais frequentes e associados a doenças mais graves, especialmente infecções do sistema nervoso central (SNC) (Wang et al., 2023; Rana, 2023). O surto de 2002 na América do Norte foi sem precedentes em termos de número de casos e disseminação geográfica (Murphy et al., 2021).

A taxa de infecção em populações afetadas pode variar. Em epidemias na África, até 55% da população foi infectada, enquanto em surtos mais recentes na Europa e América do Norte, as taxas de ataque foram significativamente menores, geralmente abaixo de 5% (Marois et al., 2020). A maioria das pessoas infectadas com WNV é assintomática (aproximadamente 80%) (Rana, 2023). Cerca de 20% dos indivíduos infectados desenvolvem febre do Nilo Ocidental, uma doença febril autolimitada (Rana, 2023). A doença neuroinvasiva (meningite, encefalite ou mielite) ocorre em menos de 1% dos infectados, mas com uma taxa de mortalidade de aproximadamente 10% (Rana, 2023). A incidência de casos neuroinvasivos varia anualmente, e a subnotificação é provável devido à alta taxa de infecções assintomáticas (Rana, 2023). Surtos tendem a ocorrer no final do verão e outono, alinhados com o ciclo de vida do mosquito vetor e a amplificação no ciclo ave-mosquito-ave (Rana, 2023).

### 3.3.3. Fatores de Risco Epidemiológicos

Os fatores de risco para a infecção por WNV estão principalmente relacionados à exposição a mosquitos infectados em áreas rurais e silvestres (Saúde, 2023). Para as formas graves da doença, a idade avançada (acima de 50 anos) é o principal fator de risco, com indivíduos acima de 80 anos apresentando risco 43 vezes maior de desenvolver sintomas neurológicos (Paraná, 2021; Murray et al., 2020). Comorbidades como diabetes mellitus, hipertensão arterial sistêmica, doenças renais, neoplasias e imunossupressão também aumentam o risco de quadros mais graves (Paraná, 2021; Alkhayyat et al., 2024). Pacientes imunossuprimidos, em particular, apresentam maior risco de complicações e desfechos desfavoráveis, incluindo maior necessidade de internação em unidade de terapia intensiva e ventilação mecânica, e uma taxa de mortalidade significativamente mais alta (Alkhayyat et al., 2024).

Fatores climáticos, como temperatura e precipitação, também são cruciais. Temperaturas mais altas aceleram a replicação viral e encurtam o período de incubação extrínseco nos mosquitos, aumentando a abundância de vetores e a eficiência da transmissão (Wang et al., 2023). Eventos climáticos extremos, como secas, podem concentrar mosquitos e aves em fontes de água limitadas, intensificando a interação e a transmissão (Silva et al., 2023). A urbanização e a presença de "ilhas de calor" em áreas metropolitanas também podem aumentar o risco de infecção (Wang et al., 2023).

### 3.3.4. Situação nas Américas e no Brasil

Desde sua introdução na América do Norte em 1999, o WNV rapidamente se estabeleceu e se disseminou (Wang et al., 2025). Nos EUA, entre 1999 e 2015, foram registrados quase 44.000 casos confirmados e prováveis, com mais de 20.000 casos de doença neuroinvasiva (Rana, 2023). A transmissão do WNV se espalhou dramaticamente de Nova Iorque para o norte, sul e oeste dos EUA, tornando-se sazonalmente endêmica em algumas áreas (D'Amore et al., 2023).

No Hemisfério Sul, a disseminação do vírus foi confirmada pela detecção de animais infectados. A soropositividade em equídeos foi observada na Colômbia e Venezuela, e

o isolamento viral na Argentina (Pauvalid-Corrêa, 2008). No Brasil, as primeiras evidências da presença do vírus foram encontradas em 2009, em um estudo com cavalos no Pantanal (Fiocruz, 2022). O primeiro caso humano de FNO no país foi diagnosticado no Piauí em 2014, seguido por outros nove casos confirmados na mesma região (Fiocruz, 2020). Mais recentemente, trabalhos de pesquisa expandiram o conhecimento sobre a doença no país, detectando o WNV pela primeira vez em Minas Gerais e confirmando sua circulação no Piauí e em São Paulo, a partir de amostras de cavalos doentes coletadas entre 2018 e 2020 (Fiocruz, 2022). A escassez de casos humanos na América Latina e Caribe, apesar das condições ecológicas favoráveis à transmissão de arbovírus, é surpreendente e pode estar relacionada a cepas virais atenuadas ou à falta de vigilância adequada (Hayes et al., 2012). A vigilância enzoótica em equídeos é crucial para monitorar a circulação do vírus no território brasileiro (Pauvalid-Corrêa, 2008).

#### **4.4. Patogênese**

##### **4.4.1. Mecanismos de Infecção e Disseminação Viral**

A infecção por WNV em humanos e equinos geralmente se inicia com a picada de um mosquito infectado. Após a inoculação, o vírus replica-se localmente na derme, no sítio da inoculação, e/ou nos linfonodos de drenagem (Karim, 2023). Essa replicação inicial leva ao desenvolvimento de viremia, que é a disseminação sistêmica do vírus na corrente sanguínea (Holmes et al., 2024). O WNV é um flavivírus neurotrópico, o que significa que tem a capacidade de invadir o sistema nervoso central (SNC) (Vidaña, 2020).

A entrada do WNV nas células *in vitro* tem sido associada a moléculas como DC-SIGN, DC-SIGN-R e a integrina  $\alpha\beta 3$  (Samuel et al., 2006). Após a ligação, o vírus entra nas células por endocitose mediada por receptor, possivelmente envolvendo vesículas revestidas por clatrina (Samuel et al., 2006). A alteração do pH no endossomo desencadeia uma mudança conformacional na proteína E do envelope, resultando na fusão das membranas viral e endossomal e na liberação do nucleocapsídeo viral no citoplasma (Wang et al., 2013; Samuel et al., 2006).

#### 4.4.2. Interação Vírus-Hospedeiro e resposta imune

A patogênese da infecção por WNV é um equilíbrio complexo entre a virulência viral e as respostas imunes inata e adaptativa do hospedeiro (Samuel et al., 2006). Embora a maioria das infecções seja assintomática, em uma proporção de indivíduos, a doença pode progredir para quadros graves, especialmente em idosos e imunocomprometidos (Samuel et al., 2006; Alkhayyat et al., 2024).

A resposta imune inata, a primeira linha de defesa, envolve proteínas celulares receptoras de reconhecimento de padrões (PRRs), como os receptores Toll-like (TLRs) e os receptores RIG-I-like (RLRs), que detectam padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) virais. A ativação desses PRRs inicia cascatas de sinalização que levam à indução de proteínas antivirais efetoras e citocinas/quimiocinas pró-inflamatórias (Zong et al., 2020). A imunidade adaptativa é a defesa específica e duradoura do organismo contra o Vírus do Nilo Ocidental (VNO), distinguindo-se da imunidade inata por sua capacidade de memória imunológica. Ela é orquestrada por linfócitos B e T. Os linfócitos B produzem anticorpos neutralizantes, principalmente contra a proteína do envelope (E) do vírus, impedindo sua entrada em células não infectadas. Paralelamente, os linfócitos T citotóxicos (CD8+) eliminam diretamente as células já infectadas pelo VNO, enquanto os linfócitos T auxiliares (CD4+) coordenam a resposta imune, auxiliando a produção de anticorpos pelos linfócitos B e sustentando a ação dos CD8+, o que é crucial para a depuração viral, especialmente no sistema nervoso central (SNC). A formação de células de memória B e T após a infecção garante uma proteção amplificada e mais rápida em futuras exposições, sendo fundamental para o controle do vírus e a prevenção de doenças graves, como as neuroinvasivas (Stonedahl, 2022).

No SNC, a resposta imune deve ser rigidamente controlada para evitar danos neuronais irreversíveis, mas tanto a imunidade inata quanto a adaptativa contribuem para a neuroproteção e a neurodestruição, dependendo do contexto da infecção (Fang, 2024).

#### **4.4.3. Neuroinvasão e Neuropatogênese**

Para um vírus neurotrópico como o WNV invadir o SNC, ele deve superar barreiras extraneurais e neurais (Purtha et al., 2014). A disseminação hematogênica é considerada a principal via de entrada do WNV no cérebro durante uma infecção natural, exigindo que o vírus atravesse a barreira hematoencefálica (BHE) (Lim et al., 2014; Purtha et al., 2014). O mecanismo exato pelo qual o WNV transpassa a BHE ainda é controverso, mas hipóteses incluem o transporte transcelular de vírions através de células endoteliais infectadas, a liberação de vírus progenitores da superfície abluminal, ou um mecanismo de "cavalo de Troia" via diapedese de leucócitos infectados (Lim et al., 2014; Purtha et al., 2014).

Uma vez no SNC, neurônios são as células primárias alvo do WNV, embora a replicação viral também ocorra em células endoteliais cerebrais e astrócitos (Lim et al., 2014). O dano neuronal é mais prevalente no tronco cerebral e nos neurônios do corno anterior da medula espinhal (Samuel et al., 2006). Fatores que aumentam a progressão da infecção do SNC em idosos podem incluir aqueles que comprometem a BHE (como hipertensão) ou aumentam a duração e o nível da viremia (como disfunção imune) (Murray et al., 2020).

#### **4.5. Sinais clínicos em humanos**

##### **4.5.1. Espectro Clínico Geral**

A infecção pelo WNV em humanos apresenta um espectro clínico variado, sendo que a maioria dos indivíduos infectados (aproximadamente 80%) permanece assintomática (Rana, 2023). Cerca de 20% dos indivíduos desenvolvem sintomas, que podem variar de leves a severos, com acometimento do sistema nervoso central (SNC) ou periférico (Saúde, 2023; Pauvolid-Corrêa, 2008). O período de incubação em humanos geralmente varia de 2 a 14 dias (Saúde, 2023).

##### **4.5.2. Febre do Nilo Ocidental (FNO Leve)**

A forma leve da doença, conhecida como Febre do Nilo Ocidental (FNO), é caracterizada por um início súbito de sintomas inespecíficos, frequentemente semelhantes aos de uma síndrome viral (Rana, 2023; Saúde, 2023). Os sinais comuns incluem febre aguda, mal-estar, anorexia, náusea, vômito, dor nos olhos, dor de cabeça (cefaleia), dor muscular (mialgia) e linfadenopatia (Saúde, 2023;). Um exantema máculo-papular ou roseolar, que pode envolver pescoço, tronco, braços e pernas, também pode ser observado em 20% a 50% dos casos (Saúde, 2023).

#### **4.5.3. Doença Neuroinvasiva do Nilo Ocidental (DNNO)**

A forma mais grave da infecção pelo WNV é a Doença Neuroinvasiva do Nilo Ocidental (DNNO), que ocorre em aproximadamente 1 em cada 150 indivíduos infectados (Saúde, 2023). A idade avançada (acima de 50 anos) é o fator de risco mais importante para o desenvolvimento de doença neurológica (Murray et al., 2020; Paraná, 2021). As manifestações clínicas da DNNO incluem principalmente meningite, encefalite ou meningoencefalite (Saúde, 2023).

A encefalite é o quadro mais comum entre as manifestações neurológicas, podendo apresentar febre, fraqueza, sintomas gastrointestinais e alteração do estado mental (Saúde, 2023; Alkhayyat et al., 2024). Outras apresentações neurológicas incluem fraqueza muscular severa, paralisia flácida aguda (poliomielite-símile), ataxia, sinais extrapiramidais (tremor, mioclonia, parkinsonismo), anormalidades dos nervos cranianos, mielite, neurite óptica e polirradiculoneurite (Saúde, 2023; Jain et al., 2019). A paralisia flácida aguda associada ao WNV é geralmente assimétrica e sem envolvimento sensorial, e a lesão é localizada nas células do corno anterior da medula espinhal (Murray et al., 2020). A mortalidade após a infecção neuroinvasiva é de aproximadamente 10%. Sequelas neurológicas a longo prazo são comuns, afetando mais de 50% dos pacientes e incluindo fadiga, cefaleias crônicas, perda de memória, dificuldade para caminhar, fraqueza muscular e depressão (Murray et al., 2020).

#### **4.5.4. Outras Manifestações Clínicas e Complicações**

Além das manifestações febris e neurológicas, outras complicações e manifestações clínicas raras foram relatadas. Manifestações oculares, como corioretinite e vitrite, são as mais frequentemente descritas após a febre e a doença neuroinvasiva (Sozzi et al., 2022). Lesões corioretinianas associadas ao WNV podem ter uma aparência "em alvo" e distribuição distinta, sendo consideradas sugestivas da infecção (Sozzi et al., 2022). Casos de neurite óptica também foram descritos (Sozzi et al., 2022).

Outras manifestações menos comuns incluem rbdomiólise, hepatite e pancreatite, especialmente em casos de doença grave (Sozzi et al., 2022). Miocardite e arritmias cardíacas também foram observadas (Sozzi et al., 2022). A detecção de RNA do WNV na urina de pacientes, mesmo anos após a doença aguda, sugere a possibilidade de persistência viral, embora as implicações clínicas ainda precisem de mais investigação (Sozzi et al., 2022).

#### **4.6. Sinais clínicos em equinos**

##### **4.6.1. Manifestações Clínicas e Taxa de Mortalidade**

Assim como em humanos, apenas uma pequena porcentagem de equinos infectados pelo WNV apresenta sintomas clínicos (Pauvolid-Corrêa, 2008). No entanto, quando sintomáticos, os cavalos podem desenvolver quadros neurológicos graves, que podem ser fatais (DGAV, 2023). A taxa de mortalidade em equinos com doença neurológica pode variar de 30% a 40% (Venter et al., 2017).

Os sinais clínicos mais comuns em equinos incluem ataxia (incoordenação motora), letargia, fasciculações musculares (tremores involuntários), e fraqueza (Venter et al., 2017). Outras manifestações podem incluir depressão severa, paralisia facial, cegueira, pressão da cabeça contra objetos, e até mesmo recumbência (incapacidade de se levantar), sendo este último um forte preditor de óbito (CFSPH, 2013; Stone et al., 2004). Febre pode estar presente, mas não é um sinal comum em todos os casos (Pauvolid-Corrêa, 2008; CFSPH, 2013). Complicações secundárias, como injúrias ou infecções pulmonares adquiridas durante o decúbito prolongado, podem agravar o curso da doença (CFSPH, 2013). Cavalos que se recuperam geralmente mostram melhora em sete dias, mas cerca de 10-20% podem permanecer com sequelas

neuroológicas, como fraqueza persistente em membros, baixa tolerância ao exercício, atrofia muscular ou alterações comportamentais (CFSPH, 2013).

#### **4.6.2. Particularidades da Doença Neurológica em Equinos**

A doença neurológica em equinos é notavelmente semelhante à observada em humanos, com ambos os hospedeiros mamíferos desenvolvendo doença debilitante e óbito (O'Brien et al., 2023). A patologia mais significativa em casos fatais é a meningoencefalomielite não supurativa, especialmente no tronco cerebral e na medula espinhal (Reis et al., 2015). A identificação de RNA viral e antígeno viral concentra-se principalmente em fibras nervosas e células gliais nessas regiões (Reis et al., 2015).

Estudos de surtos na Hungria sugerem que o vírus da linhagem 2, que circula na Europa Central, provoca sinais clínicos e mortalidade semelhantes às cepas da linhagem 1a em equinos. A ocorrência de FNO em equinos tem sido utilizada para antecipar a extensão espacial e temporal do risco da doença, melhorar a vigilância e mitigar os impactos econômicos na indústria equina (Dunn et al., 2021).

#### **4.6.3. Importância como Sentinelas**

Os equinos são considerados excelentes sentinelas para a vigilância do WNV (Fiocruz, 2022). Sua alta suscetibilidade à doença neurológica e a facilidade de identificação de animais doentes e coleta de amostras biológicas os tornam indicadores precoces da circulação do vírus em uma área (Pauvolid-Corrêa, 2008; Fiocruz, 2022). A ocorrência de casos de FNO em equinos serve como um alerta para as autoridades de saúde pública e veterinária, indicando a necessidade de intensificar a vigilância e as medidas de controle de vetores, visando proteger tanto a saúde animal quanto a humana (DGAV, 2024).

### **4.7. Diagnóstico**

#### **4.7.1. Métodos Diagnósticos em Humanos**

O diagnóstico da Febre do Nilo Ocidental em humanos é crucial para a vigilância epidemiológica e para a gestão de casos e surtos. O teste diagnóstico mais comum e de

escolha para a FNO é a detecção de anticorpos IgM contra o WNV em amostras de soro ou líquido cefalorraquidiano (LCR), utilizando a técnica de captura de anticorpos IgM (MAC-ELISA) (Saúde, 2023). A IgM pode ser detectada no soro a partir do 5º dia após o início dos sintomas (Saúde, 2023). A presença de anticorpos IgM no LCR é particularmente indicativa de infecção do SNC, pois a IgM não atravessa a barreira hematoencefálica (Lebrun et al., 2020). Em pacientes com encefalite ou meningite, anticorpos IgM são detectáveis no LCR em pelo menos 90% dos casos dentro de 8 dias do início dos sintomas (Lebrun et al., 2020).

É importante notar que pacientes recentemente vacinados contra outros flavivírus (como febre amarela ou encefalite japonesa) ou infectados por flavivírus relacionados (como Dengue, Zika, Saint Louis) podem apresentar resultados falso-positivos no IgM-ELISA devido à reatividade cruzada (Saúde, 2023). Nesses casos, o teste de neutralização por redução de placa (PRNT) pode ser utilizado para distinguir reações sorológicas cruzadas, embora esteja disponível apenas em laboratórios de referência (Lebrun et al., 2020).

Outras provas diagnósticas incluem a detecção do genoma viral por técnicas moleculares como a RT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction), que pode ser útil em certas configurações clínicas, especialmente em pacientes imunocomprometidos onde o desenvolvimento de anticorpos pode ser tardio ou ausente (Saúde, 2023; Tappe et al., 2024). O RNA do WNV pode ser detectado em soro, LCR e urina, sendo a urina uma amostra promissora para detecção em fases mais tardias da doença (Tappe et al., 2024). O isolamento viral também é uma opção diagnóstica, especialmente para espécies não conhecidas como suscetíveis (Saúde, 2023; CFSPH, 2013).

Em termos de exames complementares, a análise do LCR em pacientes com doença neuroinvasiva geralmente revela glicose normal, proteína elevada (geralmente <150 mg/dL) e pleocitose moderada (geralmente <500 células/ $\mu$ L), com predomínio de linfócitos, embora neutrófilos possam predominar na fase inicial da infecção (Petersen et al., 2015). Exames de imagem, como a ressonância magnética (RM) do crânio, são mais úteis que a tomografia computadorizada (TC) para identificar inflamação do SNC,

podendo mostrar hiperintensidades em T2 em tálamo, gânglios da base e cornos anteriores, ou realce leptomeníngeo e periventricular (Murray et al., 2020).

#### 4.7.2. Métodos Diagnósticos em Equinos

Em equinos, a viremia é de curta duração e baixa, o que torna a sorologia o método mais comum para a confirmação de casos clínicos (van Rijn et al., 2020). A detecção de anticorpos IgM específicos para WNV por ELISA é um teste amplamente utilizado e tem se mostrado eficaz na detecção de resposta imune primária, com boa sensibilidade e especificidade (Bielefeldt-Ohmann et al., 2011). O teste de neutralização por redução de placa (PRNT) também é empregado, embora possa faltar especificidade em casos de exposição prévia a outros flavivírus (Bielefeldt-Ohmann et al., 2011).

A detecção de WNV no cérebro e na medula espinhal por imuno-histoquímica ou hibridização *in situ* é um método diagnóstico importante em casos de necropsia (Reis et al., 2015). A RT-PCR também pode ser utilizada para detectar o RNA viral em amostras de tecidos (Bielefeldt-Ohmann et al., 2011). A coleta de amostras de sangue, soro e LCR deve ser realizada o mais precocemente possível para otimizar o diagnóstico etiológico (Saúde, 2023).

#### 4.7.3. Desafios e Diagnóstico Diferencial

O diagnóstico da FNO pode ser desafiador devido à sua ampla gama de apresentações clínicas e à sobreposição de sintomas com outras arboviroses e doenças neurológicas (Saúde, 2023; Rana, 2023). O diagnóstico diferencial inclui meningite e encefalite bacterianas, e outras encefalites virais causadas por vírus como o herpes simplex tipo 1, varicela-zoster, enterovírus, e outros flavivírus como Dengue, Zika, Chikungunya, Febre Amarela, Encefalite de St. Louis e Encefalite Japonesa (Saúde, 2023; Rana, 2023). A reatividade cruzada sorológica entre flavivírus é uma complicação significativa, exigindo testes confirmatórios como o PRNT (Saúde, 2023).

A abordagem sindrômica é a mais indicada para a vigilância da FNO, focando na identificação de pacientes com quadros neurológicos de etiologia viral (encefalite,

meningite, meningoencefalite, paralisia flácida aguda) sem causa conhecida (Saúde, 2023). A vigilância ativa, no entanto, é muitas vezes dificultada pela falta de financiamento em muitos países, levando a uma provável subnotificação de casos (Rana, 2023).

#### **4.8. Prevenção e controle**

##### **4.8.1. Estratégias de Controle Vetorial**

O controle de vetores é a medida mais efetiva para prevenir e controlar a transmissão do WNV para humanos e outros animais (Ferraguti et al., 2021). As estratégias de controle vetorial baseiam-se em uma abordagem de manejo integrado de pragas, que inclui vigilância, eliminação de locais de reprodução de mosquitos e manejo de larvas e mosquitos adultos utilizando pesticidas para manter as populações de mosquitos baixas (Hribar et al., 2022).

A aplicação de larvicidas é uma estratégia preferida em muitos cenários, pois visa o mosquito em sua fase aquática, antes que se torne um adulto voador e transmissor (Loh et al., 2023). Durante surtos ou iminência de surtos, a ênfase se desloca para o controle agressivo de mosquitos adultos, utilizando adulticidas para reduzir rapidamente a abundância de mosquitos infectados e picadores (Loh et al., 2023). A eficácia das medidas de controle vetorial depende de múltiplos fatores e requer um sistema de vigilância multidisciplinar integrado, além de planos de resposta predefinidos (Ocampo et al., 2019). A identificação das espécies de mosquitos mais importantes na transmissão para humanos, como *Culex pipiens* e *Culex restuans*, é crucial para direcionar os esforços de controle (Ocampo et al., 2019).

##### **4.8.2. Vacinação**

Atualmente, existem vacinas eficazes para equinos, e sua introdução nas populações equinas dos EUA a partir de 2002 resultou em uma redução significativa de casos de WNV nesses animais, sendo os casos esporádicos geralmente atribuídos a equinos não vacinados ou sub-vacinados (Omilabu et al., 2024). As vacinas disponíveis para equinos incluem vacinas inativadas, atenuadas e recombinantes, com a vacina de poxvírus de canário expressando glicoproteínas do WNV sendo particularmente promissora e

amplamente comercializada . A vacinação de cavalos é recomendada em zonas de risco (DGAV, 2024).

Em contraste, uma vacina comercial para uso humano ainda não está licenciada (Bitencourt et al., 2022). Embora várias vacinas candidatas tenham sido desenvolvidas e testadas em estudos pré-clínicos e ensaios clínicos de fases I e II com resultados promissores em termos de segurança e indução de imunidade antiviral, a percepção de uma relação custo-benefício desfavorável para a vacinação em massa é frequentemente citada como motivo para a ausência de uma vacina licenciada para humanos (Bitencourt et al., 2022). No entanto, a implementação de um programa de vacinação direcionado pode ser viável se uma vacina segura e eficaz for disponibilizada (Bitencourt et al., 2022). A caracterização das respostas imunes protetoras em equinos vacinados pode fornecer informações fundamentais para o desenvolvimento e avaliação de vacinas humanas (Omilabu et al., 2024).

#### **4.8.3. Medidas de Proteção Individual e Conscientização Pública**

Além do controle vetorial, a redução da exposição humana aos mosquitos é fundamental. Medidas de proteção individual incluem o uso de telas em portas e janelas, vestir roupas apropriadas (camisas de manga comprida e calças longas), especialmente durante os períodos de pico de atividade dos mosquitos (Mponzi et al., 2022). O uso de repelentes de mosquitos também é uma medida eficaz (Sudhakaran et al., 2021).

A conscientização pública e a educação sobre a doença e as medidas preventivas são cruciais para aumentar a adoção de comportamentos preventivos (Gosselin et al., 2016). Campanhas de saúde pública devem focar em reforçar essas medidas individuais, bem como na eliminação de criadouros de mosquitos peridomésticos (Gosselin et al., 2016).

#### **4.8.4. Vigilância Integrada e Abordagem "One Health"**

A complexidade da epidemiologia do WNV, influenciada por fatores intrínsecos (genética viral e do vetor, competência do vetor e do hospedeiro) e extrínsecos (temperatura, precipitação, uso do solo), exige uma abordagem integrada de vigilância e controle (Moges et al., 2020). A vigilância deve abranger humanos, animais (especialmente aves e equinos) e mosquitos, permitindo uma compreensão abrangente da dinâmica da transmissão (Fiocruz, 2022).

A abordagem "One Health" (Saúde Única) é essencial para o manejo do WNV, reconhecendo a interconexão entre a saúde humana, animal e ambiental (Moges et al., 2020). Essa perspectiva multifatorial é necessária para entender os fatores que influenciam o risco de infecção e para desenvolver sistemas de vigilância e estratégias de saúde pública integrados (Silva et al., 2023). Estudos longitudinais e análises que considerem as interações entre patógeno, vetor, hospedeiros vertebrados e ambiente são fundamentais para uma melhor compreensão da dinâmica do WNV e para a redução de sua transmissão, especialmente diante dos desafios impostos pelas mudanças climáticas (Moges et al., 2020). A colaboração entre diferentes setores, incluindo saúde humana, veterinária e ambiental, é imperativa para uma resposta eficaz à FNO.

### 3 Método

A Secretaria de Agricultura do Distrito Federal (SEAGRI) dispõe de um cadastro de equídeos utilizados para tração em área urbana no Distrito Federal. Neste cadastro constam 1.700 equídeos distribuídos por diversas regiões administrativas do território federal, entretanto a própria Secretaria assume que este dado é subestimado. Ademais cabe destacar última atualização deste cadastro foi realizada no ano de 2016. Esta desatualização é justificada pela publicação da Lei Distrital 5.756/14 que dispõe sobre a proibição da circulação de veículos de tração animal em vias do Distrito Federal. Diante do exposto para fim do cálculo amostral será adotado um quantitativo desconhecido de animais (população infinita). Cabe destacar que esta metodologia é aceitável na epidemiologia quando há o desconhecimento da população alvo do estudo. Neste sentido entende-se que a unidade de interesse (amostral) é o equídeo, e a prevalência (frequência relativa), é a estimativa de parâmetro que se deseja conhecer. Portanto será considerado a população infinita, a expectativa de frequência a ser utilizada é baseada nos achados de Feitosa e cols. (2012), de 20%. O intervalo de confiança de 95%, e a precisão ou erro de amostragem aceita, considerada para esse estudo de 5%. Por fim, aplicados os valores à fórmula o resultado para o tamanho amostral alcançado foi de 246 animais considerando a população infinita.

Para a detecção de anticorpos neutralizantes contra o vírus da encefalite de Saint Louis (SLEV) e o vírus do Nilo Ocidental (WNV), foi empregado o Teste de Neutralização por Redução de Placas (PRNT), reconhecido como padrão-ouro na sorologia de flavivírus (Curen,2020).

Inicialmente, as amostras de soro foram submetidas ao PRNT<sub>80</sub>, no qual diluições seriadas do soro foram incubadas com uma quantidade conhecida de partículas virais. Essa mistura foi inoculada em monocamadas de células suscetíveis (células Vero), posteriormente recobertas por um meio semissólido, geralmente à base de metilcelulose, que restringe a disseminação do vírus. Após um período de incubação, foram observadas e contadas as placas de lise celular formadas pela ação viral. O título

sorológico foi definido como a maior diluição capaz de reduzir em 80 % o número de placas em comparação ao controle viral sem soro (Bernal, 2018)

As amostras que apresentaram soropositividade no PRNT<sub>80</sub> foram novamente analisadas pelo PRNT<sub>90</sub>, em diluições variando de 1:20 a 1:640. Esse procedimento de confirmação foi adotado devido à maior especificidade do PRNT<sub>90</sub>, o que reduz a chance de reações cruzadas entre flavivírus, um fenômeno comum nesse grupo viral (Ribeiro, 2020).

#### 4 Resultados e discussão

Das 96 amostras de soro de equídeos avaliadas pelo teste de neutralização por redução de placas (PRNT), observou-se soropositividade tanto para o vírus da encefalite de Saint Louis (SLEV) quanto para o vírus do Nilo Ocidental (WNV). No PRNT<sub>80</sub>, utilizado como triagem inicial, 18 (18,7 %) amostras apresentaram reatividade para SLEV, enquanto três (3,1 %) foram reativas para WNV.

As amostras soropositivas foram posteriormente submetidas ao PRNT<sub>90</sub>, em diluições seriadas de 1:20 a 1:640, a fim de confirmar a presença de anticorpos neutralizantes com maior especificidade. Para o SLEV, verificou-se que quatro (22,2 %) das amostras inicialmente reativas apresentaram-se soronegativas no PRNT<sub>90</sub>. Entre as demais, cinco (27,7 %) apresentaram títulos de 1:20; seis (33,3 %) títulos de 1:40; e três (16,6 %) títulos de 1:80.

Em relação ao WNV, apenas uma (33,3 %) das três amostras inicialmente positivas no PRNT<sub>80</sub> manteve soropositividade no PRNT<sub>90</sub>, apresentando título elevado de 1:320. Não foram identificadas amostras com positividade simultânea para ambos os vírus nos testes confirmatórios.

Esses resultados indicam exposição prévia dos equídeos aos flavivírus avaliados, corroborando a circulação de SLEV e WNV no Distrito Federal. Além disso, a detecção de títulos neutralizantes reforça a importância da vigilância contínua desses arbovírus, considerando seu impacto em saúde animal e potencial relevância em saúde pública.

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram a presença de anticorpos neutralizantes contra o vírus da encefalite de Saint Louis (SLEV) e o vírus do Nilo Ocidental (WNV) em equídeos do Distrito Federal, confirmando a circulação local de ambos os arbovírus. No total, 18,7% das amostras apresentaram soropositividade para SLEV no PRNT<sub>80</sub>, enquanto 3,1% foram reativas para WNV, sendo que apenas uma amostra foi confirmada no PRNT<sub>90</sub>, com título elevado (1:320). Essa diferença sugere maior prevalência de exposição ao SLEV na região, achado que está em consonância com estudos prévios realizados no Brasil, que apontam a circulação mais constante e

difundida desse vírus em comparação ao WNV (PAUVOLID-CORRÊA et al., 2011; SILVA et al., 2013).

A literatura demonstra que o SLEV possui ampla distribuição no território brasileiro, sendo detectado em diferentes regiões e associado tanto a hospedeiros humanos quanto a animais (FIGUEIREDO, 2019). Em estudos realizados no Centro-Oeste, região que inclui o Distrito Federal, foram relatadas taxas de soropositividade semelhantes ou superiores às encontradas aqui, reforçando a ideia de que o SLEV apresenta um padrão de circulação enzoótica no Brasil (PAUVOLID-CORRÊA et al., 2011). Dessa forma, a detecção de quase 20% de equídeos positivos neste estudo reforça o papel desses animais como sentinelas epidemiológicos e confirma os achados prévios de circulação viral nessa região.

Em contraste, a baixa frequência de soropositividade para o WNV encontrada no presente trabalho confirma a percepção de que esse vírus, embora já detectado em diferentes estados brasileiros, ainda não apresenta padrão de dispersão ampla e contínua (VIEIRA et al., 2015; MARTINS et al., 2019). A presença de apenas uma amostra confirmada, com título elevado, sugere exposição mais recente ou resposta imune robusta naquele indivíduo específico, o que está de acordo com relatos isolados de transmissão ativa do WNV em aves e equídeos no Brasil (MARTINS et al., 2019). Resultados semelhantes foram descritos em estudos internacionais, como nos Estados Unidos, onde surtos de WNV ocorreram de forma esporádica em determinadas áreas, enquanto o SLEV mantinha circulação enzoótica (CURREN et al., 2020).

A ausência de positividade simultânea para SLEV e WNV nas mesmas amostras, observada aqui, também é compatível com a literatura, que indica baixa frequência de coinfeções entre flavivírus em equídeos. Estudos realizados em áreas endêmicas dos Estados Unidos, onde ambos os vírus co-circulam, mostraram que, embora a circulação simultânea seja possível, a sobreposição de infecções em um mesmo hospedeiro é rara, possivelmente devido a diferenças temporais de transmissão e à ecologia dos vetores (CURREN et al., 2020).

A análise dos títulos sorológicos obtidos fornece informações adicionais sobre o padrão de exposição dos animais. Enquanto a maioria das amostras positivas para SLEV apresentou títulos baixos (1:20 a 1:80), compatíveis com infecções antigas ou de baixa intensidade, a amostra positiva para WNV exibiu título elevado (1:320), indicativo de resposta imune mais recente ou intensa. Esse padrão é semelhante ao descrito por Ribeiro et al. (2020), que destacam que títulos baixos em PRNT refletem memória imunológica residual, enquanto títulos mais altos tendem a indicar contato recente com o agente. Assim, os resultados sugerem que o SLEV circula de forma endêmica no Distrito Federal, enquanto o WNV pode estar associado a episódios de transmissão mais esporádicos.

Do ponto de vista metodológico, a estratégia de utilizar o PRNT<sub>80</sub> como triagem e o PRNT<sub>90</sub> como confirmatório mostrou-se adequada. Como destacado por Curren et al. (2020) e Bernal et al. (2018), os testes sorológicos convencionais, como ELISAs, apresentam limitação importante em regiões onde múltiplos flavivírus co-circulam, devido à possibilidade de reatividade cruzada. Nesse contexto, a adoção do PRNT<sub>90</sub> neste estudo permitiu maior especificidade na detecção de anticorpos neutralizantes, reduzindo a probabilidade de resultados falso-positivos. A metodologia aplicada, portanto, está alinhada às recomendações internacionais para vigilância sorológica em áreas endêmicas de flavivírus.

De maneira geral, ao comparar os resultados aqui obtidos com a literatura revisada, observa-se clara convergência: (i) maior prevalência do SLEV em relação ao WNV no Brasil, confirmada neste estudo para o Distrito Federal; (ii) circulação ainda restrita do WNV, mas com evidências de eventos recentes de transmissão; e (iii) importância do uso de métodos confirmatórios altamente específicos, como o PRNT<sub>90</sub>, em investigações sorológicas de flavivírus. Esses achados, além de confirmarem o cenário epidemiológico descrito em trabalhos anteriores, ampliam o conhecimento sobre a circulação de arbovírus no Centro-Oeste brasileiro e reforçam a necessidade de vigilância integrada em saúde animal e humana.

## 5 Considerações finais

As análises sorológicas de equídeos no Distrito Federal confirmaram a exposição a dois flavivírus: o vírus da encefalite de Saint Louis (SLEV) e o vírus do Nilo Ocidental (WNV). Dos 96 cavalos testados, 18,7% apresentaram anticorpos para SLEV e 3,1% para WNV. A maioria dos animais reativos para SLEV possuía títulos sorológicos baixos, sugerindo exposições passadas e a circulação endêmica do vírus na região. Em contraste, apenas um animal teve um título alto para WNV, o que pode indicar uma exposição mais recente ou uma resposta imune intensa nesse caso específico. Nenhuma coinfeção foi identificada nas amostras analisadas.

O estudo reforça a importância dos equídeos como sentinelas epidemiológicos, que ajudam a identificar a presença de arbovírus no ambiente. A metodologia usada, que combina triagem e testes confirmatórios, mostrou-se eficaz para evitar resultados falsos positivos devido à reatividade cruzada entre os vírus. No entanto, o texto destaca a necessidade de complementar a vigilância sorológica com outras estratégias, como o uso de testes moleculares (RT-PCR) em casos agudos e o monitoramento de aves e mosquitos, que são reservatórios e vetores desses vírus.

Com base nos resultados e nas limitações encontradas, o estudo propõe uma abordagem de Saúde Única (One Health) para a vigilância. Isso inclui a ampliação da amostragem em equídeos, a integração da vigilância animal com a saúde pública, e a avaliação de medidas preventivas, como a vacinação. O objetivo final é fortalecer a capacidade de resposta regional para mitigar os riscos à saúde animal e humana, orientando medidas de prevenção e controle mais adaptadas ao contexto local.

## REFERÊNCIAS

ALKHAYYAT, M. et al. Clinical Characteristics and Outcomes of Neuroinvasive West Nile Virus Infection in Immunosuppressed vs Non-Immunosuppressed Individuals. *JAMA Network Open*, v. 7, n. 3, p. e241857, 2024. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38546642/>. Acesso em: 1 jul. 2025.

BELLINI, R. et al. A review of the vector management methods to prevent and control outbreaks of West Nile virus infection and the challenge for Europe. *Parasites & Vectors*, v. 7, n. 1, p. 323, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25015004/>. Acesso em: 5 jul. 2025.

BERNAL, Lilia J. et al. Human metapneumovirus: laboratory methods for isolation, propagation, and plaque titration. *Intervirology*, v. 61, n. 6, p. 301-306, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1159/000497309>.

BIELEFELDT-OHMANN, H. et al. Evaluation of widely used diagnostic tests to detect West Nile virus infections in horses previously infected with St. Louis encephalitis virus or dengue virus type 2. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 23, n. 2, p. 250–259, 2011. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3122575/>. Acesso em: 3 jul. 2025.

BIGEARD, Clément et al. Molecular Xenomonitoring (MX) allows real-time surveillance of West Nile and Usutu virus in mosquito populations. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 18, n. 12, p. e0012754, 2024. DOI: 10.1371/journal.pntd.0012754.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Boletim eletrônico epidemiológico*. 2004. Disponível em: <https://revistajrg.com/index.php/jrg/article/download/2200/1777/9532>. Acesso em: 1 jul. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Febre do Nilo Ocidental: ciclo de transmissão*. 2016. Disponível em: [http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-49742016000300671](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742016000300671). Acesso em: 5 jul. 2025.

BRUNO, L. et al. West Nile Virus (WNV): One-Health and Eco-Health Global Risks. **Veterinary sciences**, v. 12, n. 3, p. 288, 2025. DOI: 10.3390/vetsci12030288.

BRÜSSOW, H.; FIGUEROLA, J. The Spread of the Mosquito-Transmitted West Nile Virus in North America and Europe. **Microbial biotechnology**, v. 18, n. 3, p. e70120, 2025. DOI: 10.1111/1751-7915.70120.

CAMPBELL, G. L. et al. Diagnosis and Treatment of West Nile Infections. *Infectious Disease Clinics of North America*, v. 25, n. 4, p. 779–792, 2011. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3111824/>. Acesso em: 3 jul. 2025.

CAPES. Portal de Periódicos. *Vírus do Nilo Ocidental estrutura genoma*. 2023. Disponível em: <https://fi-admin.bvsalud.org/document/view/bw8th>. Acesso em: 10 jul. 2025.

CASTILLO-OLIVARES, J. West Nile virus infection of horses. *Veterinary Research*, v. 35, n. 4, p. 467–483, 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15236677/>. Acesso em: 14 jul. 2025.

CASTLE, E. et al. Primary structure of the West Nile flavivirus genome region coding for all nonstructural proteins. *Virology*, v. 147, n. 1, p. 124–135, 1985. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3753811/>. Acesso em: 2 jul. 2025.

CFSPH. Center for Food Security and Public Health. *Febre do Nilo Ocidental*. 2013. Disponível em: <https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pt/west-nile-fever-PT.pdf>. Acesso em: 6 jul. 2025.

CURREN, Emily J. et al. Assessment of immunoglobulin M enzyme-linked immunosorbent assay ratios to identify West Nile virus and St. Louis encephalitis virus infections during concurrent outbreaks of West Nile virus and St. Louis encephalitis virus diseases, Arizona 2015. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, v. 20, n. 8, p. 619-623, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2571>.

D'AMORE, C. et al. West Nile Virus diffusion in temperate regions and climate change. A systematic review. **Le infezioni in medicina**, v. 31, n. 1, p. 20-30, 2023. DOI: 10.53854/liim-3101-4.

DAVIS, T. J. et al. The West Nile virus RNA genome folds with minimal host dependence. *PLoS Biology*, v. 22, n. 1, p. e3002476, 2024. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11260092/>. Acesso em: 10 jul. 2025.

DGAV. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. *Febre do Nilo Ocidental*. 2023. Disponível em: [https://www.dgav.pt/wp-content/uploads/2023/11/FNO\\_OficioCircular\\_21112023.pdf](https://www.dgav.pt/wp-content/uploads/2023/11/FNO_OficioCircular_21112023.pdf). Acesso em: 1 jul. 2025.

DGAV. Direção Geral de Alimentação e Veterinária. *Febre do Nilo Ocidental*. 2024. Disponível em: [https://www.dgav.pt/wp-content/uploads/2024/09/FNO-Nota-informativa\\_setembro2024-1.pdf](https://www.dgav.pt/wp-content/uploads/2024/09/FNO-Nota-informativa_setembro2024-1.pdf). Acesso em: 14 jul. 2025.

DUNN, J. R. et al. Spatiotemporal epidemiology of West Nile disease in horses throughout the contiguous United States. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 15, n. 9, p. e0009712, 2021. Disponível em: [\\_https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34578392/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34578392/). Acesso em: 12 jul. 2025.

FANG, Kevin. Modulation of the central nervous system immune response and neuroinflammation via Wnt signaling in health and neurodegenerative diseases. **IBrain**, v. 10, n. 4, p. 462-476, 2024. DOI: 10.1002/ibra.12185.

FIOCRUZ. Fundação Oswaldo Cruz. *Pela primeira vez, vírus do Nilo Ocidental é detectado em MG*. 2022. Disponível em: <https://www.ioc.fiocruz.br/noticias/pela-primeira-vez-virus-do-nilo-ocidental-e-detectado-em-mg>. Acesso em: 5 jul. 2025.

FIOCRUZ. Fundação Oswaldo Cruz. *Saúde silvestre e humana: de olho na Febre do Nilo Ocidental*. 2020. Disponível em:

<https://www.biodiversidade.ciiss.fiocruz.br/saude-silvestre-e-humana-de-olho-na-febre-do-nilo-ocidental>. Acesso em: 10 jul. 2025.

FREITAS, T. A. S. et al. Vírus do Nilo Ocidental: uma revisão. *Revista Brasileira de Saúde Pública*, v. 2, n. 1, p. 11–20, 2020. Disponível em: <https://rbsp.sesab.ba.gov.br/index.php/rbsp/article/download/2990/2878/23370>. Acesso em: 6 jul. 2025.

GARCÍA-CARRASCO, José-María et al. West Nile virus in the Iberian Peninsula: using equine cases to identify high-risk areas for humans. **Euro Surveillance: Bulletin Européen sur les Maladies Transmissibles = European Communicable Disease Bulletin**, v. 28, n. 40, p. 2200844, 2023. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2023.28.40.2200844.

GOSELIN, P. et al. Cost-effectiveness and acceptability of West Nile virus prevention and control interventions: a multi-criteria decision analysis. *BMC Public Health*, v. 16, n. 1, p. 777, 2016. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4975439/>. Acesso em: 9 jul. 2025.

GRAHAM, A. S. et al. West Nile virus vaccines: a review of human and veterinary vaccine candidates. *Expert Review of Vaccines*, v. 14, n. 2, p. 257–272, 2015. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4279923/>. Acesso em: 9 jul. 2025.

HAYES, E. B. et al. West Nile virus transmission and disease. *Emerging Infectious Diseases*, v. 18, n. 8, p. 1361–1367, 2012. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3320478/>. Acesso em: 14 jul. 2025.

JAIN, S. et al. Movement Disorders in Neuroinvasive West Nile Virus Infections: A Comprehensive Review. *Journal of Movement Disorders*, v. 12, n. 3, p. 149–159, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31392241/>. Acesso em: 6 jul. 2025.

JOHNSON, B. A. et al. West Nile virus: A comprehensive review of its molecular biology, epidemiology, pathogenesis, and control strategies. *Journal of Medical Virology*, v. 96, n. 1, p. e29241, 2023. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10719965/>. Acesso em: 9 jul. 2025.

KARIM, Shazeed-Ul; BAI, Fengwei. Introduction to West Nile Virus. In: \_\_\_\_\_. **West Nile Virus: methods and protocols**. New York: Springer US, 2023. p. 1-7. (Methods in molecular biology, v. 2585). DOI: 10.1007/978-1-0716-2760-0\_1.

KILPATRICK, A. M. et al. West Nile virus: risk for human infection. *Emerging Infectious Diseases*, v. 18, n. 8, p. 1348–1356, 2012. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3298247/>. Acesso em: 12 jul. 2025.

KWAN, J. L. et al. Comparison of human landing catch to traditional mosquito trapping methods for West Nile virus surveillance. *Parasites & Vectors*, v. 15, n. 1, p. 488, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36593496/>. Acesso em: 10 jul. 2025.

LECTURIO. *Vírus do Nilo Ocidental*. 2025. Disponível em: <https://www.lecturio.com/pt/concepts/virus-do-nilo-ocidental/>. Acesso em: 6 jul. 2025.

LIM, S. M. et al. West Nile virus neuroinvasion: mechanisms and consequences. *Trends in Neurosciences*, v. 37, n. 2, p. 93–102, 2014. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3971464/>. Acesso em: 5 jul. 2025.

MARTÍNEZ-PULGARÍN, S. et al. West Nile Virus: An Update on Its Life Cycle, Pathogenesis, and Control Strategies. *Viruses*, v. 13, n. 4, p. 642, 2021. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8043182/>. Acesso em: 1 jul. 2025.

MILLER, R. et al. West Nile virus genome RNA. *Viruses*, v. 6, n. 2, p. 623–649, 2014. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3917430/>. Acesso em: 2 jul. 2025.

MOGES, N. et al. West Nile virus: A global perspective on its pathobiology, epidemiology, diagnostics, control, and “One Health” implications. *Viruses*, v. 12, n. 7, p. 734, 2020. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7400489/>. Acesso em: 10 jul. 2025.

MURRAY, K. O. et al. West Nile Virus: Clinical Manifestations and Neurologic Complications. *Seminars in Neurology*, v. 40, n. 4, p. 419–429, 2020. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7125680/>. Acesso em: 11 jul. 2025.

O'BRIEN, L. M. et al. West Nile Virus Neuroinvasive Disease in Horses and Humans. *Viruses*, v. 15, n. 6, p. 1307, 2023. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10303507/>. Acesso em: 11 jul. 2025.

OMILABU, S. A. et al. West Nile virus infection in equines and humans: A comparative review of epidemiology, pathogenesis, and immune responses. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 11, p. 1358983, 2024. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11125849/>. Acesso em: 8 jul. 2025.

PARANÁ. Secretaria de Estado da Saúde. *Nota Orientativa Arboviroses nº 06/2021: Alerta para a ocorrência de Febre do Nilo Ocidental em Humanos no Paraná*. 2021. Disponível em: [https://www.dengue.pr.gov.br/sites/dengue/arquivos\\_restritos/files/documento/2021-10/NO%20arboviroses%20n%C2%BA%2006\\_2021%20Alerta%20para%20a%20ocorr%C3%Aancia%20de%20Febre%20do%20Nilo%20Ocidental%20em%20Humanos%20no%20Paran%C3%A1%20vers%C3%A3o%20preliminar.pdf](https://www.dengue.pr.gov.br/sites/dengue/arquivos_restritos/files/documento/2021-10/NO%20arboviroses%20n%C2%BA%2006_2021%20Alerta%20para%20a%20ocorr%C3%Aancia%20de%20Febre%20do%20Nilo%20Ocidental%20em%20Humanos%20no%20Paran%C3%A1%20vers%C3%A3o%20preliminar.pdf). Acesso em: 14 jul. 2025.

PAUVOLID-CORRÊA, A. Aspectos epidemiológicos da Febre do Oeste do Nilo. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 11, n. 3, p. 463–472, 2008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbepid/a/vtzgCMr7x6tBmdw3Fr3PcDc/>. Acesso em: 1 jul. 2025.

PAZ, S. et al. Climate change and West Nile virus: a global perspective. *Frontiers in Public Health*, v. 3, p. 76, 2015. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4342965/>. Acesso em: 3 jul. 2025.

PETERSEN, L. R. et al. West Nile virus epidemiology: a global review. *Emerging Infectious Diseases*, v. 20, n. 10, p. 1601–1608, 2014. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4383390/>. Acesso em: 14 jul. 2025.

PETERSEN, L. R. et al. West Nile virus outbreaks and incidence. *Infectious Disease Clinics of North America*, v. 25, n. 4, p. 765–777, 2011. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3111838/>. Acesso em: 7 jul. 2025.

PETERSEN, L. R. et al. West Nile virus: epidemiology and molecular biology. *Infectious Disease Clinics of North America*, v. 26, n. 2, p. 277–290, 2012. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3485754/>. Acesso em: 9 jul. 2025.

PETERSEN, L. R. et al. West Nile virus: prevention and control strategies. *Infectious Disease Clinics of North America*, v. 29, n. 4, p. 717–729, 2015. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4563989/>. Acesso em: 10 jul. 2025.

PURTHA, W. E. et al. West Nile virus neuroinvasion: mechanisms and consequences. *Trends in Neurosciences*, v. 37, n. 2, p. 93–102, 2014. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4113794/>. Acesso em: 1 jul. 2025.

RAMALINGAM, Aishwarya J; KHAN, Sameena. West Nile Fever- a looming risk and a call for effective response. **Journal of Vector Borne Diseases**, 2025. DOI: 10.4103/JVBD.JVBD\_160\_24.

RANA, M. West Nile Virus. *StatPearls*, 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544246/>. Acesso em: 11 jul. 2025.

REIS, C. et al. West Nile Virus Infection in Horses: Detection by Immunohistochemistry, In Situ Hybridization, and ELISA. *Journal of Comparative Pathology*, v. 152, n. 1, p. 11–18, 2015. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25677341/>. Acesso em: 6 jul. 2025.

RIBEIRO, Marizélia R. C. et al. Plaque reduction neutralization test (PRNT) in the congenital Zika syndrome: positivity and associations with laboratory, clinical, and imaging characteristics. *Viruses*, v. 12, n. 11, p. 1244, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/v12111244>.

ROSSI, D. et al. Sensitivity analysis of epidemiological parameters for West Nile virus spread: A modelling study. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 17, n. 5, p. e0011331,

2023. Disponível em: [\\_https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10174579/](https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10174579/). Acesso em: 5 jul. 2025.

SAMUEL, M. A. et al. Pathogenesis of West Nile Virus Infection: a Balance between Virulence, Innate and Adaptive Immunity, and Viral Evasion. *Journal of Virology*, v. 80, n. 19, p. 9349–9360, 2006. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1617273/>. Acesso em: 2 jul. 2025.

SAÚDE. Ministério da Saúde. *Febre do Nilo Ocidental*. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/febre-do-nilo-ocidental>. Acesso em: 5 jul. 2025.

SCHERER, C. B. et al. O vírus do Nilo Ocidental. *Ciência Rural*, v. 39, n. 2, p. 605–612, 2009. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/CJGDTRnsYZ7S4vFNDCZNz4K/?format=pdf>. Acesso em: 6 jul. 2025.

SEJVAR, J. J. Clinical manifestations and outcomes of West Nile virus infection. *Journal of the American Medical Association*, v. 312, n. 2, p. 182–183, 2014. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3939474/>. Acesso em: 4 jul. 2025.

SILVA, R. M. et al. Environmental, ecological, and individual factors influencing West Nile virus transmission: An umbrella review. *One Health*, v. 17, p. 100659, 2023. Disponível em: [\\_https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11876902/](https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11876902/). Acesso em: 13 jul. 2025.

SILVERJ, A. et al. Origin and evolution of West Nile virus lineage 1 in Italy. **Epidemiology and Infection**, v. 152, p. e150, 2024.<sup>1</sup> DOI: 10.1017/S0950268824001420.

STONE, D. M. et al. Risk factors for death in equids with West Nile virus infection. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 225, n. 2, p. 267–272, 2004. Disponível em: [\\_https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15323385/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15323385/). Acesso em: 13 jul. 2025.

STONEDAHL, Sarah et al. Depletion of Microglia in an *Ex Vivo* Brain Slice Culture Model of West Nile Virus Infection Leads to Increased Viral Titers and Cell Death.

**Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 2, p. e0068522, 2022. DOI: 10.1128/spectrum.00685-22.

TAHERI, Shirin et al. Patterns of West Nile virus vector co-occurrence and spatial overlap with human cases across Europe. **One Health**, v. 20, p. 101041, 2025. DOI: 10.1016/j.onehlt.2025.101041.

TAPPE, D. et al. West Nile virus RNA detection in serum, cerebrospinal fluid, and urine: a prospective study. *Journal of Medical Virology*, v. 96, n. 1, p. e29241, 2024. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11551685/>. Acesso em: 5 jul. 2025.

TSAI, W.-Y. et al. Identification of West Nile virus infection by anti-premembrane antibodies in Nicaraguan children prior to 2007-2009. **Microbiology spectrum**, v. 13, n. 7, p. e0004725, 2025. DOI: 10.1128/spectrum.00047-25.

TSENG, Alanna C et al. Membrane Retention of West Nile Virus NS5 Depends on NS1 or NS3 for Enzymatic Activity. **Viruses**, v. 16, n. 8, p. 1303, 2024. DOI: 10.3390/v16081303.

VASCONCELOS, P. F. C. et al. Febre do Nilo Ocidental: uma doença emergente no Brasil? *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 36, n. 1, p. 125–130, 2003. Disponível em: [http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1679-49742003000100002](http://scielo.iec.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1679-49742003000100002). Acesso em: 1 jul. 2025.

VENTER, M. et al. West Nile virus lineage 2 neurologic disease in horses, livestock, and wildlife in South Africa, 2008–2015. *Emerging Infectious Diseases*, v. 23, n. 12, p. 2043–2046, 2017. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5708237/>. Acesso em: 3 jul. 2025.

VIDAÑA, Beatriz et al. West Nile Virus spread and differential chemokine response in the central nervous system of mice: Role in pathogenic mechanisms of encephalitis. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 67, n. 2, p. 799-810, 2020. DOI: 10.1111/tbed.13401

WANG, T. et al. West Nile virus replication cycle. *Viruses*, v. 5, n. 9, p. 2341–2361, 2013. Disponível em: [\\_https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3782267/](https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3782267/). Acesso em: 5 jul. 2025.

WANG, Y. et al. Climate change and West Nile virus: A systematic review. *One Health*, v. 16, p. 100588, 2023. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11127377/>. Acesso em: 2 jul. 2025.

WEAVER, S. C. et al. West Nile virus: vectors, reservoirs, and transmission. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, v. 790, p. 1–17, 2014. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3967159/>. Acesso em: 10 jul. 2025.

XIONG, Junyao et al. Increased Cleavage of Japanese Encephalitis Virus prM Protein Promotes Viral Replication but Attenuates Virulence. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 3, p. e0141722, 2022. DOI: 10.1128/spectrum.01417-22.

You H, Zheng C. A Guideline Strategy for Identifying a Viral Gene/Protein Evading Antiviral Innate Immunity. *Methods Mol Biol.* 2025;2854:9-18. doi: 10.1007/978-1-0716-4108-8\_2. PMID: 39192113.

ZHU, Ying et al. Structure of Essential RNA Regulatory Elements in the West Nile Virus 3'-Terminal Stem Loop. **Journal of Molecular Biology**, v. 436, n. 22, p. 168767, 2024. DOI: 10.1016/j.jmb.2024.168767.