



---

**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Relatório de Estágio

**Clínica e Cirurgia de Equinos**

**Maria Francisca Alexandre Quaresma**

Orientador(es) | Elisa Maria Bettencourt

Constança Moreira da Fonseca Sepúlveda

Évora 2020

---

---

---

---



**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Relatório de Estágio

## **Clínica e Cirurgia de Equinos**

**Maria Francisca Alexandre Quaresma**

Orientador(es) | Elisa Maria Bettencourt

Constança Moreira da Fonseca Sepúlveda

Évora 2020

---

---

---

---



O relatório de estágio foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Rui Ferreira (Universidade de Évora)

Vogais | Elisa Maria Bettencourt (Universidade de Évora) (Orientador)  
Margarida Simões (Universidade de Évora) (Arguente)

# Agradecimentos

---

À minha família, por serem as pessoas com maior paciência para os meus momentos de *stress*, por permitirem que cumpra todos os meus objetivos e por estarem presentes em todos os momentos mais importantes da minha vida. Obrigada por tudo, por todo o apoio e por me terem mudado as fraldas.

À minha orientadora, Professora Elisa Bettencourt, por toda a paciência, orientação e conselhos durante a realização do relatório de estágio. Obrigada por me ter inspirado a vertente equina, por todo o apoio e disponibilidade durante o curso.

À Dra. Constança Fonseca, minha orientadora externa, por todos os conhecimentos que me transmitiu, a paciência que teve com a minha lentidão, pelos momentos de trabalho, pelos momentos de diversão e por me ter iniciado no mundo do *multitasking*.

Ao Dr. Gonçalo Silva, à Dra. Mariana Magalhães, à Dra. Teresa Rosa e ao Professora Luís Lamas, por toda a disponibilidade e empenho para ensinar. Obrigada por me permitirem pertencer a uma equipa de excelentes profissionais.

À Dra. Joana Pimenta e ao Dr. Tiago Ribeiro, internos do Hospital da FMV, por todos os momentos, todos os conhecimentos e todas as responsabilidades que me proporcionaram durante os três meses de estágio. Vocês são incansáveis e fizeram com que o meu estágio fosse o mais produtivo e divertido ao mesmo tempo. Muito obrigada por tudo.

Aos meus colegas de estágio, obrigada por todos os momentos de descontração que me proporcionaram, pelo apoio e interajuda durante o estágio.

A todos os meus amigos, do curso e fora, por estarem sempre presentes nos momentos mais importantes, por todo o apoio que me deram durante o curso e por serem os melhores que se podia ter ao lado.

# Resumo

---

O presente relatório foi redigido de modo a descrever as atividades realizadas no âmbito do estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora. O estágio foi realizado em clínica de equinos. O relatório está dividido em duas partes. Numa primeira parte é apresentada a casuística acompanhada em regime ambulatorio, durante os três primeiros meses de estágio, seguida da casuística em regime hospitalar, nos últimos três meses de estágio, onde serão descritos alguns casos clínicos nas diversas áreas da clínica de equinos. Desta forma é possível diferenciar a casuística nos dois tipos de ambiente, assim como compreender um pouco do panorama da clínica de equinos em Portugal. Na segunda parte do relatório é descrito um estudo epidemiológico sobre o Vírus do Nilo Ocidental, em Portugal.

**Palavras-chave:** Equino, clínica, cirurgia, cólicas, anestesia

# Equine clinics and surgery

## Abstract

---

The current report was written to describe the activities carried out under the ambit integrated internship of the master's degree in Veterinary Medicine of the University of Évora. The internship was realized in equine clinic. The report is divided in two parts. In the first part is presented the casuistics followed in ambulatory, during the first three months of internship, followed by casuistics in a hospital environment, in the last three months of internship, where will be described some clinical cases within the varial clinical areas. This way it's possible to differentiate the type of casuistics in both types of environment. On the second part it's describe a epidemiology study of West Nile Virus in Portugal.

**Keywords:** Equine, clinics, surgery, colic, anesthesia

# Índice Geral

---

<b>Agradecimentos</b> .....	i
<b>Resumo</b> .....	ii
<b>Abstract</b> .....	iii
<b>Índice de figuras</b> .....	vi
<b>Índice de gráficos</b> .....	viii
<b>Índice de tabelas</b> .....	ix
<b>Abreviaturas</b> .....	xi
<b>1 – Introdução</b> .....	1
<b>2 – Casuística</b> .....	3
2.1 Casuística médica e cirúrgica .....	4
2.1.1 Ações profiláticas .....	5
2.1.2 Dermatologia .....	9
2.1.3 Sistema reprodutor .....	16
2.1.4 Sistema neurológico .....	19
2.1.5 Sistema cardiorrespiratório .....	24
2.1.6 Oftalmologia .....	31
2.1.7 Ortopedia .....	35
2.1.8 Sistema digestivo .....	46
2.2.9 Neonatologia .....	53
<b>3 – Estudo Epidemiológico do Vírus do Nilo Ocidental</b> .....	56
<b>3.1 Revisão Bibliográfica</b> .....	56
3.1.1 – Etiologia .....	56
3.1.2 – Enquadramento histórico e epidemiologia da doença .....	58
3.1.3 – Transmissão .....	62
3.1.4 – Sinais clínicos .....	711
3.1.5 – Diagnóstico .....	74
3.1.6 – Tratamento .....	78
3.1.7 – Controlo e prevenção .....	79
<b>3.2 Estudo Epidemiológico</b> .....	84
3.2.1 – Introdução .....	84
3.2.2 – Objetivos .....	84
3.2.3 – Material e métodos .....	84
3.2.4 – Resultados e discussão .....	86
3.2.5 – Considerações finais .....	99

<b>4 – Conclusão</b> .....	100
<b>4 – Referências Bibliográficas</b> .....	102
<b>5 - Anexos</b> .....	111



# Índice de Figuras

---

Figura 1 – A: Aparelho de dentisteria; B e C: Aparelho de radiologia; D: Ecógrafo; E: Equipamento de laser.....	3
Figura 2 – A: Ferida na orelha antes de tratamento; B: Ferida na boca antes de tratamento; C: Ferida na boca após tratamento médico.....	10
Figura 3 – A: Caso clínico de sarcoide no estágio em ambulatório B: Caso clínico de melanoma ventral à cauda.....	13
Figura 4 – Ameloblastoma com localização na mandíbula rostral.....	13
Figura 5 – Ciclo de vida do <i>Gasterophilus</i> sp.1.....	14
Figura 6 – Membro posterior esquerdo com edema.....	15
Figura 7 – Vesícula embrionária no dia 12 pós-ovulação.....	17
Figura 8 – Vários procedimentos realizados na sutura de Caslick (A – corte de mucosa e pele ao longo da junção mucocutânea; B e C – sutura descontínua ao longo da incisão realizada; D – colocação de spray de alumínio.....	19
Figura 9 – Localização do trauma (setas pretas).....	20
Figura 10 – Trajeto do nervo supraescapular.....	20
Figura 11 – Equino com perda de peso devido a lesão do motoneurônio inferior.....	21
Figura 12 – Fundo do olho de equino com doença do neurónio motor inferior.....	21
Figura 13 – Postura do equino em estação.....	22
Figura 14 – Localização dos vários pontos a radiografar na região cervical e das apófises espinhosas.....	23
Figura 15 – Boletim de resultados do hemograma com alterações circunscritas a preto.....	23
Figura 16 – Resultados das análises bioquímicas com alterações circunscritas a preto.....	24
Figura 17 – Representação da terminologia utilizada para caracterizar um sopro cardíaco.....	26
Figura 18 – Áreas de auscultação cardíaca sendo que P, A e M representam a válvula pulmonar, aórtica e mitral, respetivamente do lado esquerdo enquanto que T representa a válvula tricúspide do lado direito.....	26
Figura 19 – Equino com edema no escroto.....	27
Figura 20 – Algumas etapas executadas durante a toracocentese.....	31
Figura 21 – Estruturas do olho equino.....	32
Figura 22 – Lesões observadas no caso de uveíte anterior. A: presença de fibrina e edema; B: presença de úlcera.....	33
Figura 23 – Lâmina corada de conteúdo proveniente da raspagem de córnea.....	34
Figura 24 – Testes de flexão realizado num exame de claudicação.....	37
Figura 25 – A: Aplicação de LASER no dorso devido a lombalgia; B: Aplicação de LASER no ligamento suspensor do boleto devido a desmopatia.....	40

Figura 26 – A: Ferração ortopédica para desmíte do colateral lateral da art. IFD; B: Ferração ortopédica para desmíte LSB e tendinite do TFDS.....	41
Figura 27 – Infiltração de articulação intervertebral .....	42
Figura 28 – Evolução de osteoartrite .....	43
Figura 29 – Algumas etapas executadas na infiltração .....	44
Figura 30 – Sistema <i>Triadan</i> Modificado .....	50
Figura 31 – A: Presença de pontas de esmalte; B: Presença de gancho na face rostral do segundo pré-molar .....	50
Figura 32 – Execução da dentisteria.....	51
Figura 33: A - Estrutura morfológica do vírus; B - Genoma viral. ....	57
Figura 34: Ciclo de transmissão do VNO. ....	62
Figura 35: Mecanismo de disseminação viral após a entrada na pele .....	64
Figura 36: Mesencéfalo de equino infetado com VNO apresentando petéquias multifocais ....	73
Figura 37: A - Núcleo de neurónio no tronco cerebral de equino com cromatólise e acumulação de VNO intracitoplasmática; B - Espinhal medula de equino com infiltração focal severa de neutrófilos na glia e VNO intracitoplasmática em células da glia e neutrófilos; C - Espinhal medula de equino com infiltração linfocítica perivascular e fibras infetadas. Imagens histológicas observadas por teste imunohistoquímico utilizando a técnica da peroxidase indireta e coloração hematoxilina-eosina .....	74
Figura 38: Mapas com localizações dos surtos reportados no ADNS, em 2017.....	88
Figura 39: Mapas com localizações dos surtos reportados no ADNS, em 2018.....	89
Figura 40: Mapa com localizações dos surtos reportados na ADNS, em 2019 .....	89

# Índice de gráficos

---

Gráfico 1 – Distribuição dos casos clínicos em função das áreas clínicas consideradas (n= 381) .....	4
Gráfico 2 – Distribuição dos casos clínicos em função das áreas clínicas consideradas no estágio em ambulatório (n=306) .....	5
Gráfico 3 – Distribuição dos casos clínicos em função das áreas clínicas consideradas no estágio em regime hospitalar (n= 75) .....	5
Gráfico 4 – Diagrama de acontecimentos biológicos no sistema linfático .....	15
Gráfico 5 - Número de publicações relacionados com o vírus do Nilo Ocidental ao longo dos anos, no Mundo e em Portugal .....	59
Gráfico 6 - A – Variação do nível de virémia em função do tempo, em três espécies animais; B – Variação da probabilidade de transmissão viral consoante a virémia .....	69
Gráfico 7 – Temperatura média mensal ao longo do ano, na Europa, nos anos de 2017, 2018 e 2019.....	92
Gráfico 8 – Precipitação média mensal ao longo do ano, na Europa, nos anos de 2017, 2018 e 2019.....	92

# Índice de tabelas

---

Tabela 1 – Distribuição dos casos clínicos em função dos procedimentos da área clínica de ações profiláticas (n= 122, 32%).....	6
Tabela 2 - Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área clínica de dermatologia, em ambulatório (n= 30, 9,8%).....	9
Tabela 3 - Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área clínica de dermatologia, no hospital (n= 7, 9,3%) .....	9
Tabela 4 - Distribuição dos casos clínicos em função dos procedimentos de controlo e procedimentos cirúrgicos da área clínica do sistema reprodutor (n= 11, 2,89%) .....	16
Tabela 5- Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área clínica do sistema neurológico (n= 7, 1,6%) .....	20
Tabela 6 - Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área clínica do sistema cardiorrespiratório, no estágio em ambulatório (n= 15, 4,9%) .....	25
Tabela 7 - Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área clínica do sistema cardiorrespiratório, no estágio em hospital (n= 9, 12%) .....	25
Tabela 8 – Sinais clínicos dentro de cada fase da doença.....	28
Tabela 9 - Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área clínica de oftalmologia (n= 8, 2%).....	31
Tabela 10 – Escala de claudicação proposta pela AAEP .....	35
Tabela 11 - Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área clínica da ortopedia, no estágio em ambulatório (n=63, 20,6%) .....	38
Tabela 12 – Estruturas lesionadas nos tecidos moles (n=19) .....	39
Tabela 13 – Distribuição do número de casos de osteoartrite em função da articulação envolvida (n=19) .....	42
Tabela 14 – Distribuição dos casos clínicos médicos em função das afeções da área da ortopedia (n=19, 14,7%).....	44
Tabela 15 – Distribuição dos casos clínicos cirúrgicos em função das afeções da área da ortopedia (n=11, 25,3%).....	44
Tabela 16 – Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área do sistema digestivo (n=59, 19,28%).....	48
Tabela 17 – Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área do sistema digestivo (n=18, 24%).....	52
Tabela 18: Espécies de mosquitos mais abundantes na Europa e em Portugal .....	66
Tabela 19: Sinais clínicos neurológicos mais e menos comuns e sinais clínicos secundários associados a infeção pelo vírus da febre do Nilo Ocidental .....	72

Tabela 20: Número de casos em 2017-2019, na Europa, retirados da OIE.....	86
Tabela 21: Número de casos entre 2017-2019, na Europa, retirados do ADNS.....	87
Tabela 22: Número de casos em Portugal, entre 2017-2019. (Fonte: DGAV) .....	90
Tabela 23: Número de análises realizadas e animais testados, em Portugal, entre 2017-2019 ... .....	91
Tabela 24 – Coeficiente de correlação entre a temperatura média mensal entre 2017-2019 e o número de surtos, em equinos, de VNO entre 2017-2019 .....	94
Tabela 25 – Coeficiente de correlação entre a temperatura média mensal e o número de surtos, em equinos, de VNO nos anos de 2017, 2018 e 2019 .....	94
Tabela 26 – Coeficiente de correlação entre a precipitação média mensal entre 2017-2019 e o número de surtos, em equinos, de VNO entre 2017-2019 .....	95
Tabela 27 – Coeficiente de correlação entre a precipitação média mensal e o número de surtos, em equinos, de VNO nos anos de 2017, 2018 e 2019 .....	95

# Abreviaturas

---

- ADNS** – Sistema de notificação de doenças animais
- DGAV** – Direção Geral de Alimentação e Veterinária
- DIE** – Documento de identificação equina
- ECDC** – Centro europeu de controlo e prevenção de doenças
- FEI** – Federação equestre internacional
- FEP** – Federação equestre portuguesa
- FNO** – Febre do Nilo Ocidental
- FR** – Frequência relativa
- IFD** – Interfalângica distal
- IgG** – Imunoglobulina G
- IM** – Intramuscular
- INIAV** – Instituto nacional de Investigação Agrária e Veterinária
- IV** – Intravenoso
- LSB** – Ligamento suspensor do boleto
- NCBI** - *National Center for Biotechnology Information*
- NMI** – Neurónios motores inferiores
- NMS** – Neurónios motores superiores
- OIE** – Organização mundial de saúde animal
- PCR-RT** – Reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa
- PO** – *Per os*
- PRP** – Plasma rico em plaquetas
- TFDS** – Tendão flexor digital superficial
- VNO** – Vírus do Nilo Ocidental
- WAHIS** - Sistema de Informação da Saúde Animal Mundial

# 1 – Introdução

---

O presente relatório tem como propósito descrever as atividades desenvolvidas durante o estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, da Universidade de Évora. O estágio teve uma duração de seis meses, repartidos em dois locais distintos, sendo que os três primeiros meses, entre cinco de setembro até trinta de novembro, decorreram na região de Lisboa, em regime ambulatorio. Nos últimos três meses, de dois de dezembro até vinte e oito de fevereiro, o estágio decorreu nas instalações da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, na Tapada da Ajuda, em ambiente hospitalar.

Nos primeiros três meses, a estagiária acompanhou a Dra. Constança Moreira da Fonseca em regime ambulatorio, decorrendo, na maioria das vezes, nas zonas com um raio de 50 km à volta de Lisboa. Durante o estágio exerceu-se serviços médico-veterinários circulando pelos vários centros hípicas, picadeiros, entre outros, com um transporte adaptado à função. Dentro dos vários procedimentos, a estagiária teve a oportunidade de realizar uma série de procedimentos médico veterinários como administração de fármacos por diferentes vias intramuscular (IM), endovenosa (IV) ou oral (PO), realização de sessões de tratamento por laser, realização e interpretação de radiografias e ecografias, colocação de cateter, preparação de membros para tratamentos intra-articulares, entre outros. Para além disso, a estagiária acompanhou a Dra. Constança Fonseca nas provas de *endurance* ou resistência equestre, como médica-veterinária oficial, onde foi possível conhecer esta vertente do desporto equino. Neste estágio, a estagiária teve a oportunidade de aplicar os conhecimentos teóricos e práticos adquiridos em contexto académico para a atividade quotidiana na clínica de equinos, assim como o desenvolvimento de várias competências como responsabilidade, autonomia e comunicação.

Nos últimos três meses, a estagiária permaneceu nas instalações do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária, em Lisboa, no Serviço de Cirurgia e Urgências de Equinos. Neste, a estagiária acompanhou a Dra. Teresa Rosa, a Dra. Mariana Magalhães, o professor Luís Lamas e o professor Gonçalo Silva assim como os internos Tiago Ribeiro e Joana Pimenta nos vários casos que foram referenciados, como urgências médicas e cirúrgicas assim como consultas eletivas nas várias áreas clínicas. Este estágio permitiu a participação ativa nos serviços de internamento e de cuidados intensivos. A estagiária realizou vários procedimentos clínicos como exames clínicos diários, administração de medicação, de acordo com o plano de tratamento estabelecido, e exames complementares de seguimento do caso, como ecografia e radiologia, sendo estimulada à sua interpretação. Para além disso, a estagiária teve a oportunidade de acompanhar vários casos de urgências como cólicas médicas estando envolvida no momento de admissão, assim como nos procedimentos subsequentes, como entubação nasogástrica, palpação transretal, ecografia abdominal, entre outros. Acompanhou igualmente, cólicas cirúrgicas, participando nas mesmas na anestesia ou como circulante na sala

de cirurgia. Em relação às consultas, foram acompanhados vários casos clínicos referenciados dentro das várias áreas como ortopedia, oftalmologia, infecciosas, sistema neurológico, entre outras.

Por fim, o presente relatório inclui uma revisão bibliográfica sobre o vírus do Nilo Ocidental onde é descrito o agente infeccioso, a fisiopatogenia, sinais clínicos, tratamento e medidas de controlo e prevenção do mesmo. A revisão é complementada com um estudo epidemiológico onde é possível observar a evolução da infeção nos equinos pelo VNO na Europa, entre 2017 e 2019.



## 2 – Casuística

---

### 3 Estágio em ambulatório

O estágio em ambulatório teve a duração de três meses, sendo que, durante esse tempo a estudante passou pela clínica médica e cirúrgica em regime de ambulatório acompanhando a Dra. Constança Moreira da Fonseca durante a semana, assim como a Dra. Rita Delgado durante as urgências noturnas e fins-de-semana. A sua atividade era realizada com carros equipados com o material essencial à clínica diária, assim como, alguns equipamentos mais específicos tais como a máquina de dentisteria (Terafloat), ecógrafo e sondas ecográficas, aparelho de laser e o aparelho de radiologia (figura 1). Os casos acompanhados durante este período serão descritos na casuística médica e cirúrgica. Durante estes meses também foi possível acompanhar a médica-veterinária nas provas de *endurance* equestre.



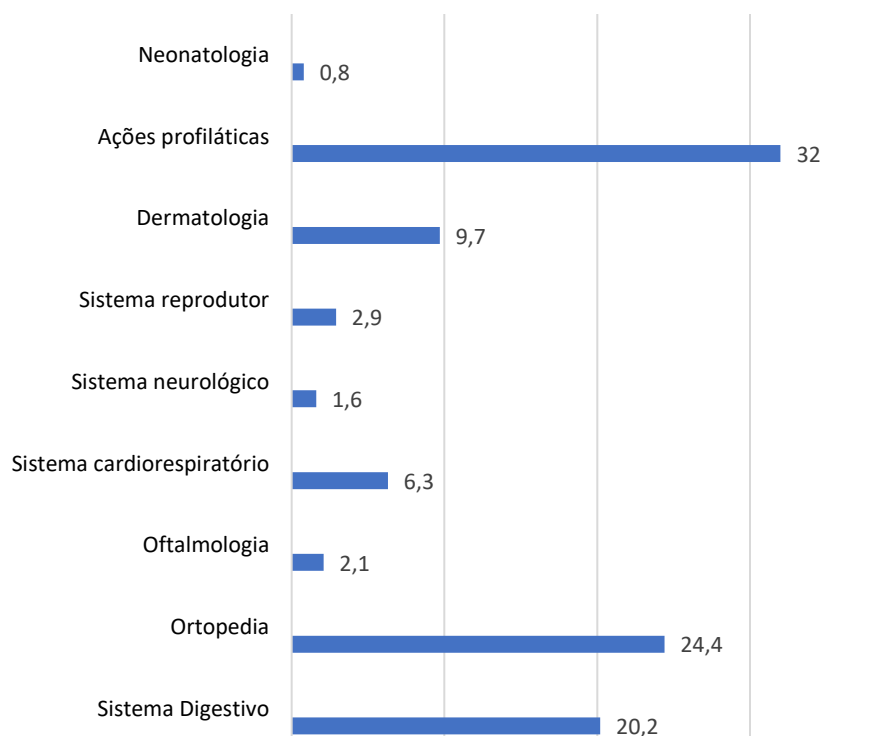
**Figura 1** – A: Aparelho de dentisteria; B e C: Aparelho de radiologia; D: Ecógrafo; E: Equipamento de laser

### 3 Estágio em regime hospitalar

O estágio em regime hospitalar teve a duração de três meses, com início a dois de dezembro e término a vinte e nove de fevereiro. Este estágio ocorreu na Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, no serviço de cirurgia e urgência equina, onde a estagiária acompanhou os médicos-veterinários de serviço e os internos nas consultas médicas das várias áreas clínicas, nas cirurgias de urgência ou cirurgias de eleição, assim como na unidade de cuidados intensivos. O hospital dispõe de um serviço completo com equipamentos essenciais permitindo realizar exames mais específicos e acompanhar casos clínicos mais críticos.

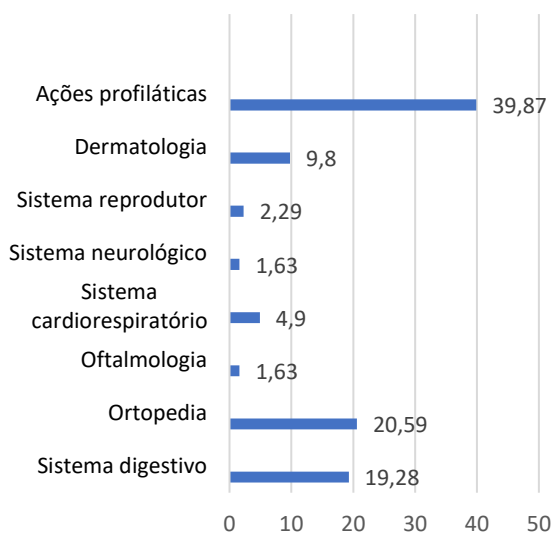
## 2.1 Casuística médica e cirúrgica

Neste capítulo irá ser descrita a casuística assistida durante os seis meses de estágio, tanto médica como cirúrgica. Foram acompanhados 381 casos clínicos, 306 no estágio em ambulatório e 75 no estágio em hospital, entre cavalos e pôneis divididos nas várias áreas da clínica equina. A distribuição da casuística pode ser observada no gráfico 1. A frequência relativa está expressa em valor percentual, sendo calculada pelo rácio entre o número de casos de uma categoria e o número de casos totais (FR, %).

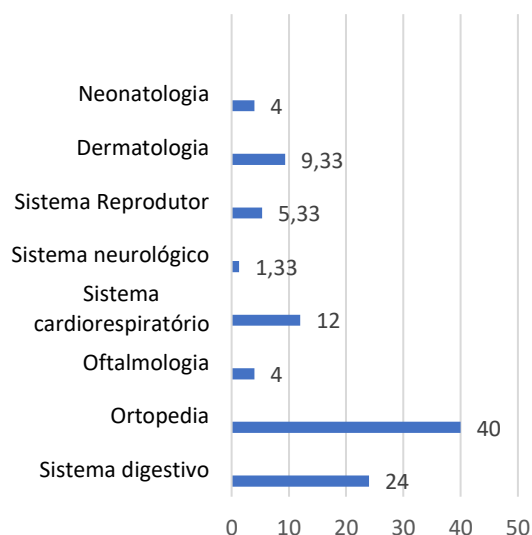


**Gráfico 1** – Distribuição dos casos clínicos em função das áreas clínicas consideradas (n= 381, 100%)

O gráfico 1 destaca as áreas com maior casuística, nomeadamente ações profiláticas, sistema digestivo e ortopedia. Estas áreas apresentam o maior número de casos, uma vez que são três áreas que incluem procedimentos muito requisitados na clínica de equinos. Por outro lado, o gráfico demonstra um reduzido número de casos na área da neonatologia, sistema neurológico e oftalmologia. Os gráficos 2 e 3 correspondem à distribuição da casuística discriminada nos dois estágios, o ambulatório e o hospitalar.



**Gráfico 2** – Distribuição dos casos clínicos em função das áreas clínicas consideradas no estágio em ambulatório (n= 306, 80,3%)



**Gráfico 3** – Distribuição dos casos clínicos em função das áreas clínicas consideradas no estágio em regime hospitalar (n=75, 19,6%)

Ao comparar os dois gráficos, é possível observar que as áreas mais representativas do gráfico 1, a ortopedia e o sistema digestivo, coincidem nos dois estágios realizados. Os elevados números nestas áreas justificam-se por serem áreas com bastante importância clínica. Já a área das ações profiláticas, apresenta uma grande prevalência, mas está incluída apenas no estágio em ambulatório. Esta diferença é compreensível, uma vez que essa área abrange procedimentos de rotina passíveis de realizar em ambulatório.

Alguns casos clínicos que a estagiária teve a oportunidade de acompanhar serão descritos nos próximos capítulos, divididos pelas várias áreas clínicas, sendo possível assinalar algumas diferenças notórias entre o regime em ambulatório e o regime hospitalar.

### 2.1.1 Ações profiláticas

Dentro desta área estão incluídos os vários procedimentos efetuados ao longo do estágio tais como vacinação, desparasitação, identificação eletrónica, realização de resenho e exame

em ato de compra. Esta área clínica apenas foi observada durante o estágio em ambulatório. A tabela 1 representa o número absoluto de cada procedimento.

**Tabela 1** – Distribuição dos casos clínicos em função dos procedimentos da área clínica de ações profiláticas (n= 122, 32%)

	Número de casos
Vacinação	58
Desparasitação	37
Identificação eletrónica	4
Resenho	17
Exame em ato de compra	6

58 / 122 ≈ 47,5% O maior número de procedimentos refere-se à vacinação uma vez que a vacina para a profilaxia da *influenza* equina é obrigatória em provas tuteladas pela Federação Equestre Internacional (FEI) (FEI, 2019). As apresentações comerciais existentes no mercado, nomeadamente a ProteqFlu-Te® e a Equip FT®, incluem o toxoide imunopurificado do tétano (*Clostridium tetani*) logo, a imunização é efetuada para os dois agentes em simultâneo, apesar da profilaxia do tétano não ser obrigatória pela FEI.

Todas as administrações foram efetuadas na tábua do pescoço, por via intramuscular, de acordo com os protocolos regulamentados pela FEI. Esta indica que deve ser efetuada uma primovacinação composta por duas inoculações, separadas por 21 a 92 dias. Os cavalos cuja primovacinação esteja validada pelo médico-veterinário poderão participar em provas antes dos reforços. O primeiro reforço deve ser realizado até sete meses após a finalização da primovacinação, enquanto que os reforços seguintes deverão ser administrados num prazo máximo de seis meses, com uma tolerância de 21 dias. Nos equinos que não participam em concursos, a revacinação pode ser anual. Caso não tenham esses intervalos assegurados, os equinos em questão não poderão participar em provas federadas, assim como cavalos que tenham sido vacinados num espaço de tempo inferior a sete dias até à data do evento (FEI, 2019).

No caso dos poldros, o aconselhado é esperar até os mesmos atingirem seis meses de idade para iniciar a primovacinação, uma vez que o nível de anticorpos de origem maternal poderá influenciar a imunização ativa dos poldros (House *et al.*, 2008).

37 / 122 ≈ 30,3% A desparasitação também é um procedimento realizado com grande frequência, uma vez que as consequências da sua ausência afetam a saúde e bem-estar. Existem diversos princípios ativos utilizados na desparasitação, tais como ivermectina, moxidectina ou praziquantel que, individualizados ou em associação, constituem as

apresentações comerciais mais vulgarmente utilizadas como: *Equest*® pramox, *Ecomectin*® e *Noromectin*® duo. Todas as desparasitações foram administradas via oral com o auxílio de uma bisnaga, que possui uma escala com a quantidade a administrar dependendo do peso do equino.

A pasta *Ecomectin*® possui apenas um tipo de anti-helmíntico na sua constituição, a ivermectina. A sua ação passa por eliminar a maior parte dos nemátodos que surgem com frequência nos equinos, mas é ineficaz contra cestodes ou formas enquistadas. As associações de anti-helmínticos são uma forma de aumentar o espetro de ação surgindo várias combinações como a de praziquantel e ivermectina (*Noromectin*® duo). Esta é responsável por ser eficaz na eliminação da maioria dos parasitas encontrados, incluindo céstodes. No entanto, esta associação não é eficaz contra as formas enquistadas de *Cyathostomum* spp., sendo a moxidectina, o princípio ativo que maior demonstrou eficácia nos vários estudos realizados (Xiao, Herd e Majewski, 1994; Monahan *et al.*, 1996; Cobb e Boeckh, 2009). Por esse motivo, a apresentação *Equest*® pramox, que possui na sua fórmula moxidectina e praziquantel, é considerada como uma das apresentações mais eficazes, tendo como maior limitação o custo elevado. A moxidectina é um princípio ativo que necessita de algum cuidado quando é administrada, pois pode causar toxicidade em equinos em baixa condição corporal. O fármaco concentra-se seletivamente no tecido adiposo, pelo seu carácter lipofílico logo, na ausência de gordura, o princípio ativo pode passar a barreira hematoencefálica tornando-se tóxico para os equinos (DGAV, 2018).

$$\frac{17}{122} \times 100 = 13,9\%$$

$$\frac{4}{122} \times 100 = 3,3\%$$

A identificação e registo de equinos é obrigatória. Por esse motivo, a União Europeia possui um extenso e detalhado regulamento referente à identificação dos mesmos. Neste regulamento está descrito que a identificação de um equino necessita dos seguintes elementos (Comissão europeia,

2008):

- Um documento de identificação de equinos (DIE) único e vitalício ou passaporte que possua um número universal (Universal Equine Life Number – UELN) que identifique o mesmo;
- Um método que assegure a ligação inequívoca entre o documento de identificação e o equino;
- Uma base de dados, Registo Nacional de Equinos (RNE), que registe os elementos de identificação relativos ao equino com base no UELN.

Para a obtenção do DIE é necessário realizar o resenho gráfico e descritivo bem como a aplicação de um microchip por via intramuscular. O facto de um proprietário solicitar um resenho ao médico-veterinário não implica que o equino não possua um microchip anterior, daí o número dos procedimentos serem diferentes. Em relação à colocação do microchip, estes

foram administrados intramuscular na tábua do pescoço do lado esquerdo, sendo uma preferência da médica-veterinária em relação à colocação no ligamento nugal, com a devida assepsia anterior com álcool a 96%, sendo posteriormente confirmada a sua leitura com um leitor de microchip. Os resenhos foram executados com o auxílio visual do livro *Identificação de Equinos* (Portas, 2010).

A maioria dos procedimentos realizados durante o estágio foram requisitados para a emissão do DIE para equinos de produção e rendimento cuja capa é verde e será representado de *Livro Verde*, sendo, nesses casos, cumprido os aspetos anteriormente referidos. Apenas num caso, a médica-veterinária foi requisitada para a emissão do DIE para equinos registados, cujo documento terá capa azul e será designado de *Livro Azul*. Nesse caso foi necessário o preenchimento do Certificado de Identificação (pedido do DIE) assim como os documentos para a inscrição no livro genealógico (Barbosa, 2014)

$\frac{6}{1} 2 \sum 1 0 \oplus 4,9 \%$  O exame em ato de compra é um procedimento requisitado pelo comprador do equino em questão, para que o médico-veterinário determine se o cavalo está, ou não, apto para desempenhar a função pretendida pelo comprador (Carter, 2009).

O exame deve ser realizado de forma metódica, efetiva e profissional para adquirir o maior número de informação para o comprador. Possui várias etapas tais como:

1. **História progressa:** esta etapa deve ser preenchida com a colaboração do vendedor, respondendo a algumas perguntas sobre a história do equino até há data, tais como vacinação, cirurgia, desparasitações, claudicações, afeções médicas ou terapias executadas anteriormente;
2. **Exame em repouso e à distância:** avaliação do equino à distância para observação de aparência geral e a sua conformação, podendo destacar algumas alterações como edema, cicatrizes, nódulos ou outras marcas (Carter, 2009);
3. **Exame físico:** na terceira etapa realiza-se um exame físico rigoroso em repouso avaliando vários pontos essenciais como (Carter, 2009):
  - a. Dentes – avaliar a idade ou alterações do foro dentário
  - b. Olhos – exame oftalmológico
  - c. Laringe e traqueia – palpação de assimetria (hemiplegia laríngea)
  - d. Tórax – auscultação do trato respiratório e a auscultação cardíaca
  - e. Membros e dorso – avaliar presença de edema, assimetrias ou dor assim como avaliar os cascos com o auxílio de pinça de cascos
  - f. Abdómen – observar presença de cicatrizes devido a anteriores cirurgias e realizar auscultação abdominal dos quatro quadrantes

- g. Região peri-anal, genitália e caudal – observar presença de tumores
4. **Exame de claudicação:** nesta fase é realizado um exame de claudicação, onde vão ser avaliados os aprumos e andamentos. Se for identificada uma claudicação, o médico veterinário, juntamente com o comprador, pode decidir suspender o exame, identificar de forma mais detalhada qual a razão de claudicação para chegar a um prognóstico ou continuar com o exame em ato de compra realizando radiografias e outros testes complementares (Carter, 2009);
  5. **Radiografias:** existem vários protocolos a realizar dependendo do valor do negócio e do destino do equino, que pode ser acordado entre o médico-veterinário e o comprador. Esses protocolos variam no número de raio-x, podendo variar entre 16, 18, 24 ou 32;
  6. **Exames complementares:** podem ser realizados exames complementares quando são pedidos pelo comprador e se for conveniente como no caso de ecografia e análises sanguíneas para hemograma ou bioquímicas.

Durante o estágio foram realizados seis exames em ato de compra sendo que nem todos foram finalizados devido a alterações observadas no exame de claudicação. É um exame dispendioso, mas, no entanto, é crucial para uma compra segura e com todas as informações necessárias para o futuro do equino.

## 2.1.2 Dermatologia

Neste capítulo foram inseridos os casos clínicos da área da dermatologia observados no estágio em ambulatório e no estágio em hospital. Durante o primeiro estágio surgiram 30 casos, e durante o segundo foram observados 7, sendo que, a distribuição dos mesmos pode ser observada na tabela 2 e 3.

**Tabela 2** - Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área cínica de dermatologia, em ambulatório (n= 30, 9,8%)

	Nº de casos
Feridas	12
Arestins	3
Hipersensibilidade	6
Ovos de <i>Gasterophilus</i> sp.	2
Linfoadenomegália	2
Linfangite	1
Sarcoide	1
Melanoma	3

**Tabela 3** - Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área cínica de dermatologia, no hospital (n= 7, 9,3%)

	Nº de casos
Feridas	4
Sarcoide	1
Ameloblastoma	1
Quisto dentígero	1



### 3 Feridas

As feridas correspondem a 43% desta área clínica. As 12 feridas referidas na tabela 2 correspondem a feridas de pequenas dimensões, cujo tratamento médico em campo é suficiente para resolver a lesão. No entanto, quando são traumas de elevada gravidade, podem levar à laceração de estruturas mais profundas ou em maior extensão, podendo necessitar de cirurgia. Estas situações correspondem a duas das quatro feridas observadas em ambiente hospitalar, como mostra a tabela 3.

A maior parte das feridas ocorre nos membros, onde as complicações são maiores, uma vez que a cicatrização é mais lenta. Este fenómeno deve-se ao facto da epitelização e contração ser tardia, e existir uma maior propensão para desenvolver tecido de granulação exuberante (Theoret e Schumacher, 2016). O tratamento de feridas possui vários fatores limitantes, sendo o principal as restrições económicas, pois o tratamento destas lesões implica um processo muito demorado e dispendioso. Durante o estágio foram acompanhados vários casos, possibilitando a observação das diferenças orçamentais dependendo do caso clínico, assim como diferente disponibilidade dos proprietários face a esses orçamentos.

A maior parte das feridas observadas no estágio em ambulatório deveram-se a traumas feitos na boxe, sem justificação aparente. Desses casos, destacou-se uma ferida na boca e uma ferida na orelha (figura 2) em que o tratamento médico seguiu um plano semelhante ao aplicado em todas as feridas: sedação com detomidina (0,01 mg/kg) e butorfanol (0,02 mg/kg), assepsia da ferida com compressas e solução de clorexidina a 4%, desbridamento para remoção de tecido de granulação, quando aplicável, encerramento com fio de sutura ou agrafos, quando adequado, e, por fim, pulverização com spray de alumínio para uma cicatrização eficaz e impedir a entrada de agentes patogénicos pela solução de continuidade. A estes dois casos foi recomendado a administração PO da associação de sulfadiazina e trimetoprim (Ulfaprisol®), pertencentes ao grupo das sulfonamidas, durante uma semana preventivamente, evitando a infeção da ferida.



**Figura 2** – A: Ferida na orelha antes de tratamento; B: Ferida na boca antes de tratamento; C: Ferida na boca após tratamento médico

Há que ter especial atenção quando as feridas se localizam em regiões com potencial envolvimento sinovial. Qualquer estrutura sinovial pode ser afetada, no entanto, as estruturas associadas aos membros, principalmente regiões mais distais, são as mais afetadas (Baxter,



2004). Durante o estágio foi observado um caso clínico mais complexo, uma vez que, o cavalo apresentou duas lesões de pequenas dimensões em locais distintos, uma na zona medial do membro posterior esquerdo junto à articulação fêmuro-tíbio-patelar e outra na região caudal da canela do mesmo membro. Estas lesões foram causadas por uma queda accidental no *paddock*, sendo a médica-veterinária chamada de urgência para as observar. Quando as lesões agudas com possível envolvimento sinovial, com menos de seis a oito horas, são tratadas de forma adequada, tendem a ter um prognóstico superior, pois são lesões com maior probabilidade de apresentarem contaminação sinovial sem uma infecção estabelecida (Baxter, 2004). A abordagem inicial, com palpação e observação das lesões, permitiu constatar não existirem evidências de envolvimento sinovial. No entanto, é essencial realizar um tratamento médico intensivo. Este reuniu princípios ativos para diminuir a inflamação, utilizando anti-inflamatórios, e antimicrobianos da classe das cafalosporinas e dos aminoglicosídeos. Foi prescrito fenilbutazona (Phenylarthritis®, na dose 2,2 mg/kg IV, uma vez por dia), ceftiofur (Cemay®, na dose 2 mg/kg IM, uma vez por dia) e gentamicina (Gentayet®, na dose 6,6 mg/kg IV, uma vez por dia). Para diminuir a tumefação e inflamação da canela foi realizado um penso compressivo com dimetilsulfóxido (DMSO). No segundo dia, o edema da canela reduziu de dimensões, mas foi realizado outro penso compressivo, para continuar a diminuir o edema existente. Após uma semana de tratamento, a tumefação desapareceu e as feridas estavam em processo de cicatrização.

Das feridas observadas em regime hospitalar destaca-se o caso de uma égua com uma laceração de grande extensão, de tal modo que cortou o tendão flexor digital profundo, o tendão flexor digital superficial na sua totalidade e atingiu a bainha digital. Estas situações são uma urgência, ao atingir as estruturas sinoviais, como já foi referido, sendo essencial a lavagem sinovial para remover bactérias, produtos inflamatórios ou detritos. A mesma lavagem foi realizada por artroscopia, em sala de cirurgia, assim que a égua deu entrada no hospital veterinário.

### <sup>3</sup> **Arestins**

Os arestins são uma dermatite muito comum provocada, na maioria das vezes, pela bactéria *Dermatophilus congolensis*. A infecção nos equinos está facilitada quando se associam condições como humidade e presença de soluções de continuidade, levando a lesões caracterizadas por perda de pelo e vermelhidão da região e, por vezes, podem surgir crostas. É essencial evitar que o animal contacte com ambientes húmidos, sendo este o principal elemento do manejo médico (Marsella, 2013). Para além disso, é importante adotar várias medidas de higiene como limpeza e secagem dos membros após a realização do duche e limpeza frequente das camas, para evitar acumulação de humidade. Durante o estágio foram observados três casos de arestins, sendo que o tratamento médico baseou-se na administração IV de gentamicina (dose de 6,6 mg/kg diário, durante três dias) e limpeza diária da zona lesionada com solução de

clorexidina, de modo a remover as crostas. No final da lavagem é essencial secar, para remover o ambiente húmido propício à infeção.

### <sup>3</sup> **Hipersensibilidade**

Os casos de hipersensibilidade observados no estágio em ambulatório manifestaram-se com crostas, em que a causa mais comum foi hipersensibilidade aos *Culicoides*. É a dermatite pruriginosa mais comum no mundo causada pelos antigénios presentes na saliva destes insetos que, por sua vez, são responsáveis por causar um desequilíbrio no sistema imunológico, com respostas imunitárias imediatas (tipo I) e retardadas (tipo IV) (Bergvall, 2013). Pelo facto de ser uma dermatite pruriginosa, pode levar a lesões auto-traumáticas como alopecia, crostas, úlceras ou liquenificação (Ann M. Hargis e Sherry Myers, 2017). O tratamento em casos agudos envolveu a administração de corticosteroides, nomeadamente dexametasona sistémica (Vetacort® IM) e/ou prednisolona oral, cuja atuação incide na supressão do gene ou inibição do fator kappa B estando este, por sua vez, envolvido na resposta alérgica (White, Yu e Acvd, 2006). No caso preventivo foi recomendada a administração oral de suplemento Picorex® de 26 g/dia. Este produto é responsável por eliminar potenciais estimuladores do sistema imunológico, tais como toxinas provenientes da dieta, impedindo a resposta imunológica exagerada aquando de uma picada de *Culicoides sp.* (Girovet, sem data).

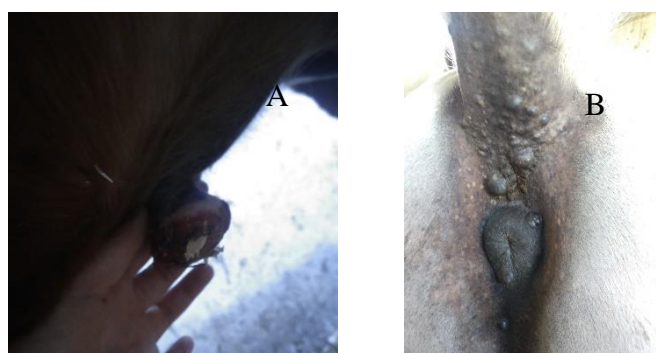
### <sup>3</sup> **Neoplasias**

Foram observados três tipos de neoplasias cutâneas, o sarcoide, o melanoma e o ameloblastoma, num total de seis casos. Desses seis casos, dois entram na clínica cirúrgica, nomeadamente as neoplasias observadas no estágio em hospital.

O sarcoide é uma das neoplasias cutâneas não metastáticas, mas localmente agressivas, mais comum nos equinos. O caso observado no primeiro estágio, localizou-se na região abdominal (figura 3A), no entanto também se pode encontrar com elevada frequência na cabeça, comissura labial, região cervical, membros ou genitália (Cremasco e Sequeira, 2010). Já o caso observado no segundo estágio, localizou-se no dorso do equino. Os sarcoides possuem inúmeras classificações dependendo das dimensões, das características morfológicas ou biológicas (agressividade). Conforme o tipo de sarcoide, existe um protocolo terapêutico mais adequado dentro das várias abordagens sejam cirúrgicas (excisão cirúrgica, crioterapia ou laser de dióxido de carbono), intralesionais (radioterapia, braquiterapia intersticial, cisplatina intratumoral) citotóxicas tópicas ou imunomoduladoras (White, Yu e Acvd, 2006). No primeiro caso, não foi recomendada nenhuma intervenção terapêutica, uma vez que a massa invadia tecidos mais profundos, a sua excisão poderia acarretar vários problemas pós-operatórios, o animal apresentava idade avançada e não tinha sido observado aumento de tamanho do sarcoide ao longo do tempo. No segundo caso, os proprietários tinham interesse na sua remoção, mas ao mesmo tempo queriam manter o poldro em trabalho diário. Por isso, optou-se por

colocação de elásticos na base da massa, de forma a promover a necrose tecidual e queda da mesma por si só.

O melanoma é uma neoplasia infiltrativa pigmentada bastante comum dentro da espécie equina. São encontrados na derme profunda, principalmente em equinos ruços, em zonas por baixo da cauda, região perianal, lábios e pálpebras (Moore *et al.*, 2013). A excisão cirúrgica, utilização de fármacos citotóxicos intratumorais (cisplatina e carboplatina), a radiação, a imunoterapia e a inoculação de vacinas que ativem o sistema imunitário são algumas das abordagens terapêuticas, que podem ser utilizadas para o tratamento dos melanomas (MacKay, 2019). Os três casos visualizados durante o estágio localizaram-se ventralmente à cauda (figura 3B), eram de pequenas dimensões e pertenciam a equinos de pelagem russa. Nestes casos não foi realizado nenhum procedimento cirúrgico, mas foi recomendada a administração oral diária de cimetidina, na dose 2,5 mg/kg, de forma a diminuir a progressão.



**Figura 3** – A: Caso clínico de sarcoide no estágio em ambulatório B: Caso clínico de melanoma ventral à cauda

O ameloblastoma é tumor benigno localmente agressivo. A sua origem pode estar associada a remanescentes de epitélio odontogénico podendo surgir na mandíbula ou maxila, não estando relacionada com o aparecimento de metástases. É um tumor que leva à destruição do tecido ósseo envolvente e com elevada percentagem de recidiva quando tratado de forma conservativa. Por esse motivo, o tratamento de escolha é a ressecção em bloco com amplas margens (Mendez-Angulo *et al.*, 2014). O caso que surgiu durante o estágio corresponde a uma égua com 20 anos de idade, que apresentava uma massa na porção rostral da mandíbula (figura 4), anteriormente diagnosticada com carcinoma das células escamosas pelo veterinário referente. O planeamento cirúrgico foi realizado com cuidado e avaliação

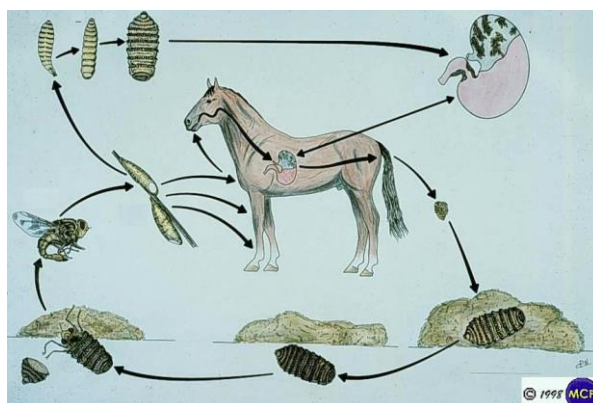


**Figura 4** – Ameloblastoma com localização na mandíbula rostral

imagiológica, para avaliar quais os tecidos afetados e as margens necessárias para a excisão cirúrgica. Foi realizada uma mandibulectomia rostral até dois centímetros antes da sínfise, para não causar instabilidade. A massa foi enviada para laboratório, cujo resultado histopatológico foi de ameloblastoma. Surgiram algumas complicações pós cirúrgicas como hemorragia e deiscência da sutura, mas foram corrigidas de modo a assegurar o melhor pós-operatório.

### 3 Ovos de *Gasterophilus sp.*

Foram observados dois casos clínicos de presença de ovos de *Gasterophilus sp.* no pelo dos equinos. A mosca de *Gasterophilus sp.* é responsável por depositar os seus ovos no pelo principalmente nos membros. O ciclo continua quando o equino lambe os membros onde estão os ovos, acabando por transferir a larva em estado L1 para a cavidade oral. A larva é então deglutida passando para o estômago, em estado de L2 onde se fixa na porção não glandular ou na margus plicatus. A larva passa a estado L3 onde pode ficar alojada durante oito a dez meses antes de passar pelas fezes. Já no solo, a larva transforma-se em pupa permanecendo nesta durante três a cinco meses antes de emergir a mosca adulta como mostra a figura 5. (Nielsen, 2019)



**Figura 5** – Ciclo de vida do *Gasterophilus sp.1*

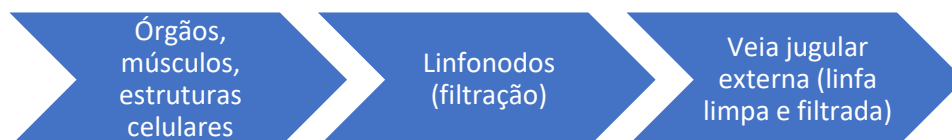
Fonte: <http://www.icb.usp.br/~marcelcp/Imagens/musc12.jpg>, acessado a 19-03-2020

As infestações de *Gasterophilus sp.* ocorrem, como visto anteriormente, no trato digestivo. Podem provocar várias afeções no trato gastrointestinal, tais como cólicas, devido a úlceras gástricas e intestinais, obstruções, vólvulos ou anemia levando a sinais como emagrecimento, palidez das mucosas ou prostração (Nielsen, 2019).

Nos casos que foram observados os ovos no pelo dos equinos, foi aconselhada a remoção dos mesmos com o auxílio de uma lâmina descartável ou tosquiadora. A ivermectina é o princípio ativo mais indicado, uma vez que, possui elevada eficácia na eliminação do parasita, tanto nos estados orais como nos gástricos (Nielsen, 2019). Por esse motivo, os dois equinos foram desparasitados no momento que foram detetados os ovos dos mesmos.

### 3 Afeções do sistema linfático

Durante o estágio em ambulatório decorreram três casos relacionados com o sistema linfático, com manifestações cutâneas. O sistema linfático possui um papel fundamental no equilíbrio corporal recolhendo e transportando o fluido intersticial com células sanguíneas mortas, toxinas ou bactérias para o sistema venoso. O fluido intersticial, por sua vez, permite que várias substâncias, como nutrientes, circulem por várias células ao preencher os espaços entre os músculos, órgãos ou estruturas celulares. A linfa segue um caminho com apenas uma direção passando pelos vários pontos descritos no gráfico 4 (Blenntoft, 2012).



**Gráfico 4** – Diagrama de acontecimentos biológicos no sistema linfático  
Adaptado de (Blenntoft, 2012)

Uma das características do sistema linfático nos equinos é o facto de necessitarem de movimentos físicos para a circulação linfática. Ao diminuir os movimentos há diminuição da capacidade de drenagem, causando edema, principalmente nos membros (Blenntoft, 2012).

Um dos casos observado na área do sistema linfático deveu-se a um equino com tumefação em todo o membro posterior esquerdo. Realizou-se um exame físico e exame de claudicação, onde foram detetadas algumas alterações como edema, dor, calor e claudicação de grau 2/5 na escala da AAEP (AAEP, sem data). Ao observar o membro, este estava tumefacto, em todo o seu comprimento, como representado na figura 6. O diagnóstico presuntivo foi linfangite.

A linfangite provoca o aparecimento de edema subcutâneo, principalmente nos membros posteriores, de forma abrupta, com sinal de *godet*. A presença de uma solução de continuidade, pode permitir a entrada de agentes infecciosos. Estes podem entrar no sistema linfático causando inflamação que, por sua vez, restringe a drenagem. Ao longo do tempo, a drenagem vai sendo cada vez mais difícil levando à acumulação de linfa no membro, caracterizada por tumefação generalizada (Kennon Keckler, 2012). É uma afeção cujo tratamento deve ser rápido e agressivo, de modo a evitar que se torne um caso crónico. Neste caso, o tratamento prescrito foi de administração de dexametasona e hidroclorotiazida (Diurizone®, na dose 10 ml/dia IM), ceftiofur (Cemay®, na dose 2mg/kg IM), dexametasona (Vetacort®, na dose 0,1 mg/kg IM) e suxibutazona (Danilon®, na dose 3,1 mg/kg, duas vezes ao dia PO) abrangendo a área de antimicrobianos, diuréticos, corticosteroides e anti-inflamatórios não-esteroides. Para além disso,



**Figura 6** – Membro posterior esquerdo com edema

foi recomendado o uso de gelo no membro. O tratamento permitiu uma diminuição do edema no membro e, no final deste, o equino já não apresentava claudicação.

### <sup>3</sup> **Quisto dentífero**

Por fim, foi observado uma afeção do foro dermatológico que necessitou de intervenção cirúrgica, o quisto dentífero. O quisto dentífero foi observado no estágio em contexto hospitalar. A principal queixa dos proprietários era de presença de exsudado purulento na base da orelha esquerda, sendo esse um dos sinais mais comuns quando estamos perante um quisto dentífero (Gaughan, 2010). Os quistos dentíferos são um afeção congénita, pouco comum, que ocorre após a migração de tecido odontogénico que se fixa em várias áreas, sendo a mais comum a região temporal (Peixoto *et al.*, 2016). Foi feita a tricotomia na zona suspeita de drenagem, mas à palpação não foram sentidas alterações. Posteriormente realizaram-se exames imagiológicos à cabeça. Esse meio de diagnóstico é o mais indicado para localizar o quisto e avaliar qual a melhor abordagem cirúrgica. Na imagem destacou-se uma zona de radiolucência de pequenas dimensões, o que levou à decisão de uma técnica cirúrgica em estação que permitiu a remoção da fístula e do quisto com sucesso.

## 2.1.3 Sistema reprodutor

No que concerne ao sistema reprodutor observaram-se procedimentos de controlo ou maneio e procedimentos cirúrgicos, que envolvem o sistema reprodutor. A tabela 4 representa a distribuição do número de procedimentos realizados durante os estágios, tanto em ambulatório como em hospital.

**Tabela 4** - Distribuição dos casos clínicos em função dos procedimentos de controlo e procedimentos cirúrgicos da área cínica do sistema reprodutor (n= 11, 2,89%)

	Número de casos
Diagnóstico de gestação	4
Controlo reprodutivo	1
Orquiectomia	5
Sutura de <i>Caslick</i>	1

Dos procedimentos efetuados, quatro deles correspondem a diagnósticos de gestação sendo três positivos e um negativo. Nos equinos é comum realizar uma ecografia transretal para diagnóstico precoce de gestação entre as duas e três semanas pós ovulação, sendo o procedimento repetido cinco a seis semanas pós ovulação para avaliar perda embrionária

precoce. No entanto, não é recorrente a ecografia transretal nos meses seguintes para seguir a gestação devido ao risco de doença perinatal (Murase *et al.*, 2014). Durante a consulta de diagnóstico de gestação deve-se avaliar a zona externa do períneo para observar alterações, como presença de secreções ou má conformação vulvar. A má conformação vulvar pode levar à contaminação do trato reprodutivo e levar a perdas embrionárias (Curcio *et al.*, 2019).

Um dos diagnósticos de gestação foi efetuado apenas por palpação, visto que era uma gestação muito avançada, e foi possível sentir a cabeça do feto durante a palpação. Os outros três casos foram avaliados por ecografia transretal sendo que, em dois deles, observaram-se vesículas embrionárias, cuja forma é arredondada com líquido no interior (ecograficamente anecoico), representado na figura 7, sendo o diagnóstico considerado positivo. No outro caso, não foi encontrada nenhuma vesícula no interior do útero, como nos outros casos, considerando o diagnóstico de gestação negativo.



**Figura 7 – Vesícula embrionária no dia 12 pós-ovulação**

Por vezes é possível confundir uma vesícula embrionária com quistos endometriais, devido à aparência ecográfica, logo é imprescindível saber diferenciar para que não haja falsos positivos. Os quistos endometriais são estruturas com líquido no seu interior podendo ter origem glandular ou linfática, seja por razões de estrangulação, devido a fibrose periglandular, ou por obstrução dos canais linfáticos, respetivamente (Stanton, Steiner e Pugh, 2004). Durante o estágio foram observados três quistos endometriais numa égua diagnosticada anteriormente. Estes não tinham desenvolvimento no tamanho e no número desde a última ecografia, por isso não foi realizado nenhum tratamento, pois não estavam a afetar a história reprodutiva.

Em relação aos procedimentos cirúrgicos, foi possível observar e participar em duas cirurgias diferentes. Uma orquiectomia e uma sutura de *Caslick*, enquanto que no estágio em regime hospitalar, foram realizadas quatro orquiectomias.

A orquiectomia realizada no primeiro estágio ocorreu num equino, cujo comportamento agressivo de garanhão impedia o maneio no trabalho. Apesar das vantagens da cirurgia, existem inúmeras complicações possíveis tais como eventração, peritonite ou hemorragia, e essas devem ser comunicadas aos proprietários (Kilcoyne, 2013). Em campo é possível realizar a castração em estação ou em decúbito lateral, sendo que o critério em que a médica-veterinária se baseou na decisão foi a permissão, ou não, do toque nos testículos sem o equino estar



sedado. A castração realizada durante o estágio realizou-se em decúbito lateral, garantindo uma maior segurança para os cirurgiões, assim como para o cavalo.

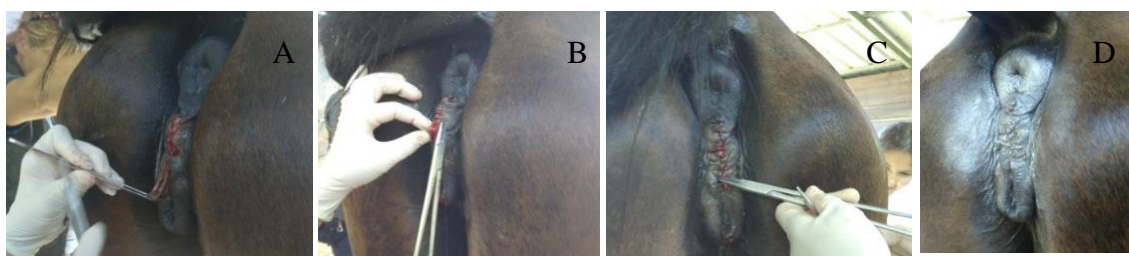
Antes da cirurgia é importante realizar um exame físico, incluindo a palpação dos testículos, para descartar possível criptorquidismo ou herniação. O equino é sedado com uma associação de um  $\alpha$ 2-agonista, como a detomidina (dose 0,01 mg/kg) e um opioide, como o butorfanol (dose 0,02 mg/kg), seguindo de indução de anestesia com uma associação de ketamina (Ketamidor®, dose 2,2 mg/kg IV) e diazepam (dose 0,05 mg/kg IV). A área de cirurgia foi preparada de forma asséptica com o uso de iodopovidona, passando para a anestesia local, de cada um dos testículos, com lidocaina a 2%. A técnica cirúrgica utilizada foi a aberta, onde o folheto visceral da túnica vaginal é incidido, expondo o testículo e o cordão espermático. Esta técnica implica o corte do ligamento da cauda do epidídimo, responsável por ligar o epidídimo à túnica vaginal, e a emasculação apenas do cordão espermático, tendo sido separada a porção vascular e não vascular (Kilcoyne, 2013). Para além do uso do emasculador, também foram realizadas ligaduras à volta do cordão, evitando hemorragias pós-operatórias. Foi instituído um manejo médico pós-operatório com antibiótico e anti-inflamatório, para prevenir posteriores infeções e inflamação.

As orquiectomias realizadas durante o segundo estágio decorreram também em decúbito, sob anestesia geral. No entanto, foram realizadas em decúbito dorsal. Há que realçar que esta técnica, em decúbito dorsal, implica um maior tempo cirúrgico podendo originar várias consequências, tais como maior pressão no dorso e, por consequente, na aorta abdominal. As consequências físicas da anestesia relacionadas com essa situação, são mais evidentes em cavalos mais pesados, uma vez que a pressão exercida ainda é maior, podendo levar a diminuição na pressão sanguínea ou diminuição da perfusão a nível respiratório. É essencial uma monitorização anestésica para evitar tais alterações. Por outro lado, as complicações pós-operatórias são menores levando a um tempo de internamento menor (Silva-Meirelles *et al.*, 2017). As orquiectomias são realizadas de modo a melhorar o comportamento do ganhão, assim como facilitar o manejo, quando os equinos têm baixo valor genético. Três dos quatro casos incluídos neste procedimento ocorreram por essa mesma razão. O outro caso foi de um equino com história anterior de cólica por hérnia inguinal reduzida manualmente. Os proprietários decidiram que a melhor solução seria a orquiectomia, com encerramento do anel inguinal, para evitar novos casos de hérnia. No hospital a técnica cirúrgica utilizada é a semi-aberta, onde o folheto parietal da túnica vaginal é incidido, de modo a inspecionar uma potencial herniação. De seguida, o cordão espermático, juntamente com a túnica vaginal, é emasculado durante 10 minutos (Kilcoyne, 2013). No pós-operatório, os equinos seguem um protocolo terapêutico com a administração de suxibutazona (Danilon®, diariamente, durante 3 dias) e antibiótico preventivo. Apenas em dois casos surgiu edema escrotal sendo aconselhado alguns passeios curtos, assim como duche frio na zona. Não foram detetadas outras complicações pós-operatórias sendo dada alta hospitalar uns dias após a cirurgia.



A segunda cirurgia do estágio em ambulatório foi uma sutura de *Caslick* que se realizou numa égua gestante que possuía má conformação perineal. Esta condição pode levar a abortos ou partos prematuros devido a infecção do trato genital por via ascendente, sendo essencial a prevenção destas situações (Marchiori Sena *et al.*, 2016).

Inicialmente foi realizado um exame físico para assegurar que não havia alterações que comprometessem a cirurgia, assim como um exame ecográfico para verificar se a égua continuava gestante. Uma vez que todos os exames estavam conforme o previsto, a égua foi submetida a uma assepsia da zona perineal e anestesia local com lidocaína a 2% na junção mucocutânea nas regiões a serem incididas. O procedimento inicia-se com o corte de 0,5 cm de largura de mucosa de cada bordo da comissura vulvar, sendo que o corte deve ser estendido até ao soalho pélvico. Os dois bordos da mucosa vulvar da comissura vulvar dorsal são unidos com uma sutura descontínua utilizando fio de sutura absorvível ou não absorvível (figura 8). Neste caso, foi utilizado um fio de sutura absorvível e, cerca de 10 a 14 dias antes da data prevista do parto, deve ser revertida a vulvoplastia (Dascanio e McCue, 2014).



**Figura 8** – Vários procedimentos realizados na sutura de Caslick (A – corte de mucosa e pele ao longo da junção mucocutânea; B e C – sutura descontínua ao longo da incisão realizada; D – colocação de spray de alumínio)

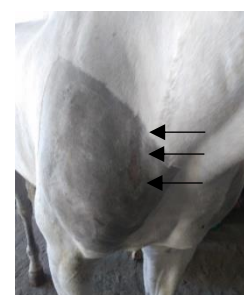
## 2.1.4 Sistema neurológico

As doenças do sistema neurológico têm uma elevada importância e necessitam de um diagnóstico precoce, na medida em que, algumas afeções possuem carácter zoonótico e podem representar um risco à saúde pública. A tabela 5 representa os 7 casos observados durante os estágios, abrangendo situações de traumatismo, degeneração, síndrome neuromuscular e afeções do foro infeccioso.

**Tabela 5-** Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área cínica do sistema neurológico (n= 7, 1,6%)

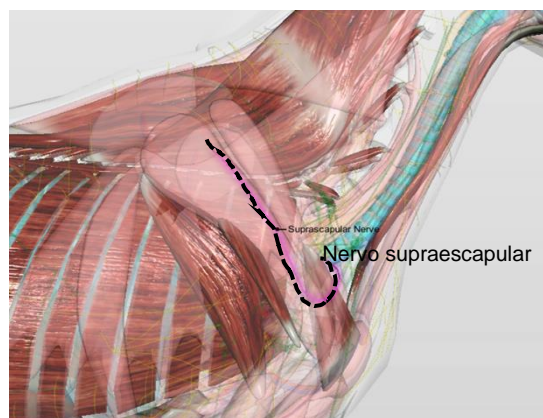
	Número de casos
Lesão no nervo supraescapular	1
Doença do neurónio motor inferior	2
<i>Shivering</i>	1
Vírus do Nilo Ocidental	1
Afeção neurológica desconhecida	2

O primeiro caso clínico refere-se a um equino que sofreu um trauma durante o trabalho desportivo ao embater contra uma porta. O local de trauma principal ocorreu na face cranial da escápula deixando uma marca no mesmo local, como mostra a figura 9. O equino apresentou um movimento de abdução da escápula do membro anterior esquerdo, não fixando o membro ao tronco, sendo este movimento característico de lesão do nervo supraescapular comumente referido como *sweeney shoulder*. O nervo supraescapular segue um trajeto mais superficial, demonstrado na figura 10, e é responsável pela inervação do músculo infra e supraespinhoso.



**Figura 9** – Localização do trauma (setas pretas)

A longo prazo, os músculos inervados por esse nervo vão atrofiar realçando a espinha da escápula (Fonteque *et al.*, 2017). O tratamento iniciou-se com dexametasona (Vetacort®, na dose 0,1 mg/kg IM), flunixinameglumina (Nixyvet®, na dose 1,1 mg/kg IV) e associação de tiamina, cianocobalamina e piridoxina (Neurobion®). Para além disso, foi recomendado um repouso total em boxe durante várias semanas. Ao longo dos dias notou-se uma atrofia nos músculos sendo aconselhada a compra de um eletro-estimulador para ajudar a diminuir a atrofia. Mais tarde, foi iniciado um protocolo de laser para promover a diminuição da inflamação do nervo supraescapular e potenciar uma eventual regeneração. Ao fim de dois meses, após um repouso total e o uso de electroestimulador, não foram observadas melhorias



**Figura 10** – Trajeto do nervo supraescapular  
 Fonte:  
<http://equinerehabolutions.com.au/2019/07/24/case-study-sweeney-shoulder/> acedido a 23-03-2020

no exame de claudicação, indicando um mau prognóstico. Por decisão dos proprietários, o equino foi eutanasiado dois meses mais tarde.

Em relação à doença do neurónio motor inferior, observaram-se dois casos durante o estágio em ambulatório. É uma afeção neurodegenerativa que pode surgir, maioritariamente, em equinos permanentemente estabulados, impossibilitando o acesso à pastagem durante longos períodos, e sem acesso a feno de boa qualidade. Estas condições podem levar à carência de vitamina E, quando este não é suplementado na dieta, sendo esse um fator de risco para a doença do neurónio motor inferior. A vitamina E consegue prevenir a peroxidação dos lípidos associados às membrana, uma vez que tem a capacidade de eliminar os radicais livres. Sem esta, os neurónios motores são sujeitos à lesão oxidativa dos ácidos gordos poli-insaturados que possuem na sua membrana, levando à sua degeneração, principalmente nos cornos ventrais da medula espinhal e tronco cerebral (Silveira Nóbrega *et al.*, 2013). A lesão nos neurónios motores manifesta-se principalmente por debilidade, perda de peso, atrofia muscular progressiva, tremores musculares (fasciculações), decúbito prolongado e fraqueza (Husulak *et al.*, 2016). Os músculos posturais, ou seja, os músculos responsáveis pela postura com elevada percentagem de fibras do tipo I, são o principal grupo a atrofiar devido à exigência de oxigenação dos neurónios motores que inervam estes músculos, sendo, portanto, suscetíveis ao dano oxidativo. Esta intensa atrofia é justificativa de vários sinais como o decúbito prolongado, atrofia muscular progressiva e a repetida troca de apoio nos membros pélvicos. Um dos sinais que auxilia no diagnóstico é uma lesão na retina com padrão mosaico, com remanescentes não digeridos da peroxidação de lípidos, ou seja, são depositados lipopigmentos na zona tapetal da retina (Silveira Nóbrega *et al.*, 2013).

Os casos observados foram diagnosticados pela história clínica, uma vez que, eram equinos confinados, sem acesso a um paddock, não suplementados com vitamina E, que progressivamente foram perdendo peso, demonstrando debilidade, tremores musculares e postura concentrada (figura 11).

Ao realizar um exame oftalmológico com o oftalmoscópio, verificou-se um padrão mosaico na retina característico da doença do neurónio motor inferior, como representado na figura 12. Associando a história progressiva ao exame físico, chegou-se ao diagnóstico presuntivo desta afeção. A doença do neurónio motor afeta apenas os neurónios motores inferiores (NMI), sendo que os sinais clínicos, durante o exame neurológico, seriam diferentes caso afetasse os neurónios motores superiores (NMS). Estes localizam-se principalmente no tronco encefálico e têm a capacidade



**Figura 11** – Equino com perda de peso devido a lesão do motoneurônio inferior



**Figura 12** – Fundo do olho de equino com doença do neurónio motor inferior (Riis *et al.*, 1999)

de inibir os neurónios motores inferiores. Ou seja, quando a lesão ocorre nos NMI ocorre uma paralisia flácida (redução do tónus), enquanto que, se a lesão ocorrer nos NMS, a paralisia é espástica (aumento do tónus) (Riet-Correa, Riet-Correa e Schild, 2002). Foi recomendada a suplementação de vitamina E na dieta, na dose de 5000 UI/dia, de forma a recuperar a conformação física do equino (Clair Thunes, 2019). Um dos casos clínicos deixou de ser seguido pela médica-veterinária, não sendo conhecido, portanto, o desfecho. No outro caso, o equino foi eutanasiado, uma vez que, os proprietários administraram a suplementação de vitamina E de forma intermitente, impedindo a recuperação do equino.

O caso de *shivering* avançado surgiu num equino, cuja afeção, foi identificada ao realizar um exame de claudicação. O proprietário do equino referiu que o mesmo esteve estabulado até à data, sem história de trauma. O *shivering* é característico de uma síndrome neuromuscular ou síndrome nervosa crónica, com etiologia neurológica, miopática, genética, infecciosa ou traumática. Os sinais clínicos podem ser intermitentes, ocasionais ou latentes, sendo que, em estádios mais precoces, podem nem ser detetados. Podem surgir nos músculos da região pélvica, dos membros posteriores e da cauda, sendo associados a espasmos involuntários e periódicos. Em casos mais avançados, o membro fica flexionado e fixo com alguns espasmos, podendo ser projetado de forma abrupta para trás. Estes movimentos ocorrem durante uns momentos até que o membro é recolocado lentamente no chão (Baird *et al.*, 2006). Este caso clínico apresentava sinais avançados de tal forma, que não era possível ferrar o membro afetado. Não existem tratamentos efetivos, sendo que, os sinais podem melhorar ou regredir após longos períodos de descanso, no entanto, estes retornam assim que o trabalho é recomeçado (Baird *et al.*, 2006).

No estágio realizado em regime hospitalar surgiu um caso clínico de um equino que tinha alteração na locomoção e postura em estação estático (figura 13). O andamento do equino era caracterizado por uma abdução inconsistente marcada nos membros posteriores durante o trote em linha reta. A consulta passou pelas várias fases do exame de claudicação, incluindo os bloqueios perineurais, no entanto, não houve alteração no padrão de abdução dos membros podendo indicar uma lesão



**Figura 13** – Postura do equino em estação

neuromuscular. Esse diagnóstico presuntivo foi suportado pela reação exagerada durante a palpação do dorso na região próxima ao garrote, indicando a suspeita de uma lesão vertebral.

Quando há suspeita de uma lesão neuromuscular é realizado um exame neurológico, associado à consulta de claudicação. No entanto, esta foi realizada no dia seguinte, para evitar respostas mascaradas devido aos bloqueios anestésicos. Este exame possui quatro etapas principais: avaliação do estado mental, exame dos nervos cranianos, reflexos espinais e avaliação do músculo, postura e andamento (Johnson e Acvim-Laim, 2010). Deste exame destacou-se uma relutância nos movimentos de ventroflexão do pescoço, hipermetria dos

membros anteriores, déficit de propriocepção quando a cabeça é elevada, arrastamento dos membros posteriores, em andamento para trás, e arrastamento dos membros posteriores quando submetido a círculos apertados. Para completar o exame foi realizado o exame radiológico da região cervical e das apófises espinhosas como mostra a figura 14.



**Figura 14** – Localização dos vários pontos a radiografar na região cervical e das apófises espinhosas

Verificou-se um ligeiro estreitamento do canal medular na região compreendida entre as vértebras C5 e C6 bem como de C6 e C7. No entanto, as alterações radiográficas são ligeiras e não permitem confirmar a estenose do canal, tendo sido recomendada a realização de uma mielografia para confirmação. No entanto, este não foi realizado enquanto a estagiária estava no estágio não tendo sido observado o evoluir deste caso clínico.

Em relação do caso de foro infeccioso, foi observado um caso de vírus do Nilo Ocidental. Os sinais clínicos eram de sintomatologia neurológica, nomeadamente tremores no lábio inferior e ataxia. Ao realizar exame físico observou-se uma temperatura de 38,5°C. Foram realizadas análises sanguíneas cujos resultados apresentam-se na figura 15 e 16.

<b>HEMOGRAMA</b>			
Eritrocitos	5,63	$\times 10^6/\text{mm}^3$	5,5 - 12,9
Hemoglobina	10,3	g/dL	8,0 - 19,0
Hematócrito	26,8	%	24,0 - 53,0
V.G.M.	47,5	$\mu\text{m}^3$	37,0 - 58,0
H.G.M.	18,4	pg	12,3 - 19,3
C.H.G.M.	38,6	g/dL	31,0 - 38,6
R.D.W.	17,9	%	12,0 - 27,0
<b>LEUCOCITOS</b>	<b>4,9</b>	$\times 10^3/\text{mm}^3$	5,4 - 14,3
<b>Formula Leucocitária</b>			
Linfocitos	20,5 %	$\times 10^3/\text{mm}^3$	1,50- 7,70
Monocitos	2,7 %	$\times 10^3/\text{mm}^3$	0,0- 1,50
Neutrófilos	75,6 %	$\times 10^3/\text{mm}^3$	2,30- 9,60
Eosinófilos	1,0 %	$\times 10^3/\text{mm}^3$	0,00- 1,00
Basófilos	0,2 %	$\times 10^3/\text{mm}^3$	0,00- 0,50
<b>PLAQUETAS</b>			
MPV	107	$\times 10^3/\text{mm}^3$	90 - 350
PCT	10,3	$\mu\text{m}^3$	5,0 - 20,0
PDW	0,2	%	0,200 - 0,500
	65,0	%	40.6 - 65.2

**Figura 15** – Boletim de resultados do hemograma com alterações circunscritas a preto.

<b>BIOQUIMICA</b>			
<b>UREIA</b>	34,0	mg/dL	20 - 40
<b>CREATININA</b>	1,12	mg/dL	0,8 - 1,8
<b>BILIRRUBINAS</b>			
Bilirrubina total	6,87 (A) (D)	mg/dL	0,5 - 3,5
Bilirrubina directa	0,13	mg/dL	
Bilirrubina indirecta	6,74	mg/dL	

**Figura 16** – Resultados das análises bioquímicas com alterações circunscritas a preto.

Ao avaliar os boletins, foi possível destacar algumas alterações como leucopénia com linfopenia, anemia e algumas alterações hepáticas como aumento da bilirrubina não conjugada. O aumento da bilirrubina não conjugada pode dever-se a uma situação de jejum ou piroplasmose. Foi pedido PCR para identificação de Babesia e Theileria, o qual deu negativo. A sintomatologia nervosa levou à suspeita de Vírus do Nilo Ocidental. A DGAV foi contactada, uma vez que é uma doença de declaração obrigatória, e o processo para a realização da análise foi iniciado. Foi enviada uma amostra de sangue para o instituto nacional de investigação agrária e veterinária (INIAV), onde se realizou o diagnóstico por medição de anticorpos. O diagnóstico foi confirmado. A segunda parte do relatório inclui uma descrição bibliográfica onde este tema vai ser abordado de forma detalhada.

## 2.1.5 Sistema cardiorrespiratório

A área clínica do sistema cardiorrespiratório inclui as afeções cardíacas e respiratórias que foram observadas durante os estágios. A distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área clínica do sistema cardiorrespiratórios, nos dois estágios, está representada na tabela 6 e 7.



**Tabela 6** - Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área clínica do sistema cardiorrespiratório, no estágio em ambulatório (n= 15, 4,9%)

		Nº
<b>Sistema cardiovascular</b>	Sopro cardíaco de origem desconhecida	6
	Sopro cardíaco por estenose da aorta	1
	Bloqueio atrioventricular	1
	Icterícia pré-hepática de etiologia desconhecida	1
<b>Sistema respiratório</b>	Obstrução recorrente das vias aéreas inferiores (RAO)	2
	Pneumonia	1
	Infeção do trato respiratório inferior	3

**Tabela 7** - Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área clínica do sistema cardiorrespiratório, no estágio em hospital (n= 9, 12%)

		Nº
<b>Sistema cardiovascular</b>	Pericardite	1
	Piroplasmose	1
<b>Sistema respiratório</b>	Sinusite fúngica	1
	Sinusite bacteriana	1
	Pneumonia	3
	Pleuropneumonia	1
	Hemiplegia laríngea	1

### 3 Sistema cardiovascular

Um bom funcionamento do sistema cardiovascular é essencial para o trabalho desportivo. É crucial a avaliação deste durante o exame físico, seja durante o exame em ato de compra, devido a queixas da parte dos proprietários por intolerância ao exercício, ou simplesmente num exame físico de rotina.

A história pregressa do equino também pode ter elevada importância, uma vez que existem várias características que podem auxiliar no diagnóstico tal como a idade, ambiente, tipo de trabalho e *performance* (Reef, 1985). Ao realizar o exame físico, deve-se avaliar a presença de pulso jugular, a frequência respiratória e cardíaca, presença de edema ventral ou dos membros assim como distensão abdominal, mucosas (hidratação e tempo de repleção capilar (TRC)) e tempo de retração da prega cutânea (Reef, 1985). No entanto, devemos ter em conta que, nem todas as anomalias encontradas durante o exame físico implicam intolerância ao exercício, logo a interpretação dos achados deve ser feita com cuidado (Mitten, 1996).

Durante o estágio em ambulatório, foram detetados vários casos de sopros cardíacos, em que cinco foram auscultados com maior intensidade do lado esquerdo e os outros restantes do lado direito. Um dos sopros foi identificado posteriormente com ecocardiografia como

estenose da aorta estando, por esse motivo, fora da contabilização dos sopros cardíacos de origem desconhecida da tabela.

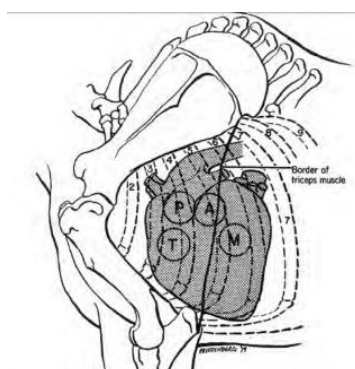
Os achados na auscultação cardíaca, juntamente com alterações clínicas no exame físico, podem indicar as possíveis origens, no entanto devem ser avaliadas de forma cuidada e, sempre que possível, realizar uma ecocardiografia com *doppler* para chegar ao diagnóstico (Reef, 1995). Para podermos caracterizar o sopro cardíaco (figura 17) devemos ter em conta vários aspetos como (Reef, 1995):

1. **Fase no ciclo cardíaco em que ocorre o sopro:** sistólico, diastólico, contínuo
2. **Período em que o sopro é detetado:** pré-, durante, pós-, holo- ou pan-
3. **Intensidade do sopro devido à quantidade e velocidade do fluxo sanguíneo**



**Figura 17** – Representação da terminologia utilizada para caracterizar um sopro cardíaco. Adaptado de (Fregin, 1992)

Para além disso, também é importante localizar o sopro, de acordo com as válvulas cardíacas. As válvulas semilunares (pulmonar e aórtica) e atrioventricular mitral são auscultadas no lado esquerdo, enquanto que, a válvula atrioventricular tricúspide é mais audível do lado direito do tórax, nas localizações representadas na figura 18.

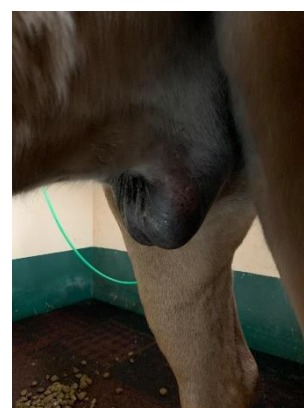


**Figura 18** – Áreas de auscultação cardíaca sendo que P, A e M representam a válvula pulmonar, aórtica e mitral, respetivamente do lado esquerdo enquanto que T representa a válvula tricúspide do lado direito. Adaptado de (Fregin, 1992)



Os sopros cardíacos fisiológicos são comuns nos equinos e, normalmente, são um achado clínico, quando do exame físico, sem significado clínico. Correspondem ao fluxo sanguíneo pelos grandes vasos durante a sístole ventricular (Reef, 1995). Em relação aos patológicos, o sopro cardíaco sistólico mais comum é o sopro de refluxo por insuficiência da mitral, apresentando-se como holossistólico ou pansistólico. Esse refluxo ocorre devido a uma insuficiência valvular, associado a vários sinais clínicos, que se deve ter em conta durante a consulta como intolerância ao exercício, tosse, recuperação mais prolongada ou aumento da frequência respiratória (Reef, 1995). Estas suspeitas devem ser todas confirmadas com ecocardiografia de modo a chegar a um diagnóstico definitivo para ser instituída a melhor terapêutica.

Do lado direito é possível auscultar sopros cardíacos referentes à válvula da tricúspide, sendo que, a causa mais comum é o sopro de refluxo por insuficiência da mesma. Pode-se apresentar como holossistólico ou pansistólico e, nos casos menos severos, é raro estarem associados a sinais clínicos (Reef, 1995). Durante o primeiro estágio, surgiu um caso de um equino com edemas no escroto (figura 19) e ventralmente com um sopro cardíaco de elevada intensidade no lado direito holossistólico. Foi recomendada a realização de uma ecocardiografia uma vez que os sinais clínicos de edema se desenvolvem em casos de insuficiência da tricúspide severa. Os proprietários não estavam dispostos a realizar esse exame de diagnóstico, mas reformaram o equino para segurança da cavaleira.



**Figura 19** – Equino com edema no escroto

Por fim, o último caso representado na tabela 6 refere-se a um caso de um equino, que surgiu repentinamente com coloração icterícia das mucosas. A icterícia foi um achado clínico durante uma consulta de claudicação proveniente de um trauma. As mucosas gengivais assim como as da conjuntiva apresentaram uma coloração amarela. Foram realizadas análises sanguíneas para hemograma e bioquímicas, onde se detetou um aumento da bilirrubina não conjugada e leucopénia com neutropenia. As análises hepáticas GGT, AST, FA e ácidos biliares encontravam-se dentro dos parâmetros fisiológicos. O aumento da bilirrubina não conjugada, associada à ausência de alterações hepáticas, indica uma icterícia pré-hepática em que os diagnósticos diferenciais incluem anomalias hemolíticas ou jejum principalmente (Lavoie e Hinchcliff, 2008). Pela anamnese foi descartada a hipótese de jejum prolongado, por isso foi pedido a realização de PCR para *Babesia* sp., *Theileria* sp. e *Anaplasma* sp. pois são responsáveis por causar anemia hemolítica. O resultado veio negativo removendo também a doença hemolítica por hemoparasitismo dos diferenciais. Durante as semanas seguintes foram realizadas análises de controlo da hiperbilirrubinemia, mas esta não se alterou. O equino esteve sempre clinicamente normal e sem sinais de doença sistémica. Após algumas semanas foi

realizada uma ecografia abdominal, onde não foram detetadas alterações. É um caso clínico interessante uma vez que não se chegou a nenhum diagnóstico, mesmo após dois meses sem alterações na coloração das gengivas ou nas análises bioquímicas.

Em relação à casuística da área do sistema cardiorrespiratório, do estágio em regime hospitalar, foram observadas duas afeções diferentes das anteriores, nomeadamente a pericardite e a piroplasmose.

A pericardite é uma doença inflamatória caracterizada por acumulação de fluido, fibrina ou tecido fibroso no espaço entre os dois folhetos do pericárdio (Sage, 2006). É uma doença caracterizada por sons cardíacos “abafados” e taquicardia. Podem surgir outros sinais mais inespecíficos, como febre, edema ventral, perda de peso ou letargia (Reimer, 2013). A etiologia de pericardite equina nem sempre é conhecida sendo a pericardite idiopática o diagnóstico mais comum (Sage, 2006).

O tratamento é baseado inicialmente pela sua etiologia, ou seja, se há suspeita de pericardite bacteriana devem ser administrados antibióticos de largo-espectro e caso seja viral ou imuno-mediada devem ser prescritos corticosteroides, apesar desta terapêutica ser controversa. Quando a acumulação de fluido é de tal maneira grande, que compromete a função cardíaca, é importante realizar uma pericardiocentese e lavagens com soro fisiológico associado a antibióticos (Sage, 2006). Durante o estágio surgiu um caso de uma égua cujo diagnóstico final foi de pericardite, no entanto apenas foi descoberto quando foi realizada a necropsia, uma vez que não apresentou sinais que indicassem a existência de pericardite, mas sim hemorragia interna, como consequência do parto, que decorreu nas 12 horas anteriores.

O caso clínico cujo diagnóstico foi piroplasmose deveu-se a um equino que foi submetido a cirurgia devido a um episódio de cólica. Após a cirurgia surgiu com picos de febre diagnosticado, posteriormente, com piroplasmose por *Theileria equi*. A piroplasmose equina é uma doença parasitária transmitida por carrapatos cujos agentes infecciosos são a *Babesia caballi* e *Theileria equi* (Onyiche *et al.*, 2019). Uma vez que haja infeção por parte destes agentes, os equinos passam a ser portadores. É possível distinguir várias fases sendo que dependendo de cada uma há sinais clínicos característicos representados na tabela 8 (Pelzel-McCluskey e Traub-Dargatz, 2015).

**Tabela 8 – Sinais clínicos dentro de cada fase da doença**

Fase aguda	Fase subaguda	Fase crónica
Febre	Anorexia	Inapetência
Icterícia	Letargia	Perda de condição corporal
Anemia	Perda de peso	Perda de performance
Hemoglobinúria	Anemia	
Morte	Edema nos membros	

A fase crónica inclui sinais inespecíficos que, por vezes, podem nem possuir anomalias clínicas. Estes equinos continuam a ser portadores podendo infetar vetores que, consequentemente, irão infetar outros cavalos (Pelzel-McCluskey e Traub-Dargatz, 2015). Os portadores assintomáticos poderão voltar a ter sinais clínicos caso sejam submetidos a exercícios prolongados ou situações de *stress*, por exemplo (Onyiche *et al.*, 2019).

O equino em questão apresentou aumento de temperatura, uns dias após a cirurgia estando a piroplasmose na lista de diagnósticos diferenciais, juntamente com infeção do local de incisão ou tromboflebite da veia onde foi colocado o cateter. Foi realizado um exame ao equino e foram enviadas amostras de sangue para despiste de piroplasmose. Após a confirmação por PCR da presença de *Theileria equi*, o equino foi submetido a um tratamento com dipropionato de imidocarb (Imizol®, numa dose 4 mg/kg) administrado em 4 ou 5 locais intramuscular, não excedendo os 5 ml por local, separado em duas etapas com 72h de diferença. O tratamento não teve complicações e o equino recuperou dos sinais clínicos.

### 3 Sistema respiratório

Em relação ao sistema respiratório foram observadas várias afeções, mas todas comuns na prática clínica equina. A obstrução recorrente das vias aéreas inferiores (RAO) foi observada em dois equinos no primeiro estágio. Ambos tiveram queixas dos proprietários de tosse e dificuldade respiratória. Surge em equinos com mais de sete anos, quando estes são expostos a pó ou um alergénio na box ou *paddock* e são inalados. Ocorre uma resposta imunitária em resposta ao mesmo, caracterizada por broncoconstrição, produção de muco e inflamação broncoalveolar com produção de neutrófilos (Wilson e Robinson, 2015). Estes sinais clínicos são característicos das alterações celulares do líquido broncoalveolar observadas ao realizar uma citologia a partir da lavagem broncoalveolar recolhido por endoscopia. Deve ser avaliada a função pulmonar (Couëtil *et al.*, 2016).

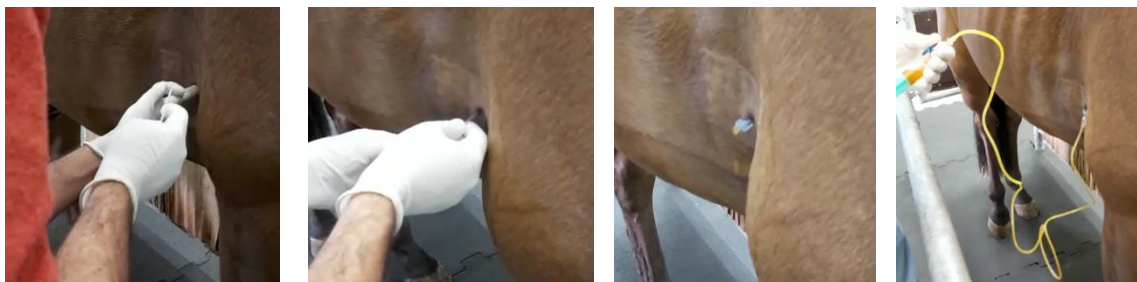
Os dois casos descritos neste capítulo não realizaram exames complementares, uma vez que a história clínica e exame clínico foram suficientes para o diagnóstico presuntivo, tendo respondido ao tratamento. Os sinais clínicos coincidiram com alturas em que os cavalos se encontraram estabulados ou com feno não molhado, sendo que, quando foram aconselhadas medidas para contornar estas situações, estes melhoraram o seu estado. À auscultação, era possível ouvir estertores expiratórios e a respiração era predominantemente abdominal, indicando uma dispneia expiratória com envolvimento do trato respiratório inferior. Para além disso, o equino apresentava tosse e ausência de febre. Foi, então, instituída uma terapêutica médica para melhorar os sinais da crise aguda como o uso de corticosteroides como dexametasona (Vetacort®, na dose 1,1 mg/kg) três dias, e triancinolona (Retardoesteroide®, na dose 0,02 mg/kg), para diminuir a resposta imunitária, assim como o uso de acetilcisteína (Fluimucil®), para fluidificar as secreções. Num dos casos, por ser recorrente, foi prescrito o uso da associação de salmeterol e fluticasona (Seretaide®, para 450 kg dar 8 bombadas), por via

nasal, com funções de broncodilatador e anti-inflamatório, diminuindo a severidade dos sinais clínicos. Deve-se ter em conta que é uma doença que implica alterações no manejo ambiental e que o tratamento pode não ser eficaz, caso haja pouca aderência no melhoramento ambiental (Wilson e Robinson, 2015).

Nos dois estágios surgiram casos de pneumonia. A pneumonia resulta de uma infecção do trato respiratório inferior por bactérias. Esta colonização ocorre quando se associam os fatores de risco como viagens de longo curso sem baixar a cabeça, exercício físico muito intenso ou a submissão a uma anestesia geral, com um estado imunitário deprimido ou uma sobrecarga nos mecanismos de primeira defesa, nas vias aéreas. No início da doença podem surgir vários sinais observados à distância como corrimento nasal, taquipneia, inapetência, letargia e tosse, e sinais clínicos observados durante o exame físico como pirexia e alterações nos sons pulmonares. A infecção pode progredir e atingir o espaço pleural, levando a pleuropneumonia, com consequente acumulação de fluido no mesmo espaço, tal como aconteceu num dos casos no estágio no hospital (Tallon e McGovern, 2018).

O equino no primeiro estágio foi submetido a exames imagiológico, como ecografia, uma vez que possuía sinais clínicos graves como dispneia, letargia e prostração. Pelo ecógrafo foram observadas zonas de pulmão com hepatização na ponta e alguns nódulos junto ao diafragma. O acompanhamento médico não foi realizado pela médica-veterinária que a estagiária estava a acompanhar, pelo que não se conhece a terapêutica médica prescrita nem o desfecho do caso clínico. No entanto, o tratamento usual nestas situações passa por administrar antimicrobianos apropriados, dependendo da cultura e teste de sensibilidade aos antibióticos realizado, e tratamento de suporte como anti-inflamatórios não esteróides, com efeito antipirético, analgésico e anti-inflamatório. Para situações mais severas deve ser considerada a administração de broncodilatadores beta-2-agonistas, como o salbutamol e clenbuterol, e realizar o procedimento de drenagem da efusão pleural, caso indicado (Tallon e McGovern, 2018).

Um dos casos de pneumonia, no segundo estágio, possuía sinais clínicos diferentes no exame físico tais como restos de alimento nas fossas nasais, indicando uma possível pneumonia por aspiração. Neste poldro foi indicada a realização de uma endoscopia para observação do trato respiratório superior onde foram identificadas várias alterações como presença de restos alimentares nas fossas nasais, prolongamento do palato mole, assim como encarceramento do mesmo, e presença de comida na traqueia. No entanto os proprietários decidiram eutanasiar o poldro em vez de realizar a terapêutica médica e cirúrgica sugerida. Em relação aos outros casos de pneumonia, o manejo terapêutico foi semelhante ao descrito anteriormente, onde foram prescritos antibióticos e anti-inflamatórios. No caso da pleuropneumonia realizou-se uma toracocentese de modo a recolher fluido tanto para diagnóstico etiológico como para alívio de alguns sinais clínicos como mostra a figura 20. Este procedimento permitiu chegar à etiologia da pleuropneumonia, adequando a medicação para facilitar a recuperação clínica do equino.



**Figura 20** – Algumas etapas executadas durante a toracocentese.

Em relação às sinusites, os casos surgiram no hospital, referenciados por outros colegas. Foram realizadas endoscopias estáticas, para identificação das lesões e recolha de amostras para confirmação do diagnóstico e diagnóstico etiológico. A sinusite é uma inflamação ou infeção dos seios paranasais, em que o corrimento nasal mucopurulento é o sinal clínico mais comum. O tratamento baseia-se na identificação da etiologia da sinusite e em restaurar os mecanismos de drenagem (Rush, 2014). Os dois equinos foram referenciados para a faculdade, para realizar trepanação dos seios frontais permitindo a lavagem e instilação dos fármacos mais adequados para cada caso. A lavagem foi realizada com lactato de ringer e iodo. Posteriormente foi colocado um dreno, para permitir a lavagem nos dias seguintes. Este procedimento facilitou o tratamento da sinusite e uma recuperação mais rápida dos equinos.

## 2.1.6 Oftalmologia

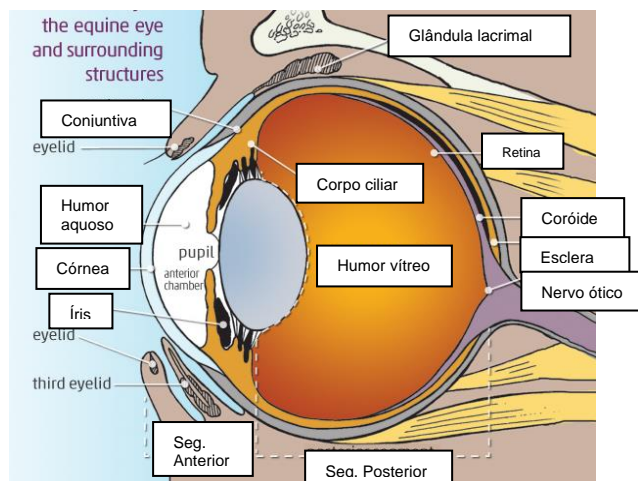
A oftalmologia é uma das áreas clínicas com menor número de casos. A tabela 9 representa a distribuição dos casos clínicos nas afeções observadas durante o estágio. Apesar de ser uma área com pouca casuística, as afeções oculares são comuns nos equinos, sendo que, as percentagens de lesões que possam afetar a visão ou função estão entre os 5 e os 10% (Dwyer, 2012).

**Tabela 9** - Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área cínica de oftalmologia (n= 8, 2%)

	Número de casos
Catarata	1
Uveíte	4
Úlcera	3

O exame oftalmológico é um procedimento fácil de realizar. Durante os estágios foram utilizados instrumentos e materiais portáteis tais como um oftalmoscópio, uma luz, anestésico

tópico oftalmológico e tiras de fluoresceína. As condições para realização do exame oftalmológico nem sempre eram as mais adequadas, no caso do estágio em ambulatório, uma vez que se devem realizar em ambientes escuros e pouco movimentados, o que nem sempre é possível. Para a realização de um bom exame é importante conhecer bem as estruturas oculares (figura 21) e como as estruturas estão interligadas entre si.



**Figura 21** – Estruturas do olho equino.

Fonte: <https://www.horsejournals.com/understanding-equine-vision-and-eye-disease>, acessado a 19/03/2020

O exame passa por várias etapas importantes tais como (Brooks, 2002):

**1. Exame inicial**

- a. Simetria: pupilas, globo ocular, fissura palpebral, arcada orbitária e cabeça
- b. Avaliação: descargas oculares, posição das pestanas e órbita
- c. Retropulsão

**2. Reflexos**

- a. Ameaça: piscar o olho quando a mão ameaça aproximar do olho
- b. Encadeamento: ou Dazzle, quando o olho é exposto a uma luz forte sendo que a resposta deve ser de fechar parte do olho
- c. Resposta pupilar: a exposição à luz deve causar miose (constricção pupilar). Pode-se avaliar o olho contralateral para resposta de reflexo pupilar indireto
- d. Reflexo palpebral
- e. Reflexo corneal

**3. Observação das estruturas oculares com auxílio de oftalmoscópio e luz (Dwyer, 2012):**

- a. Segmento anterior: córnea, humor aquoso, íris

- b. Segmento posterior (após dilatação pupilar com tropicamida): cristalino, humor vítreo, fundo do olho

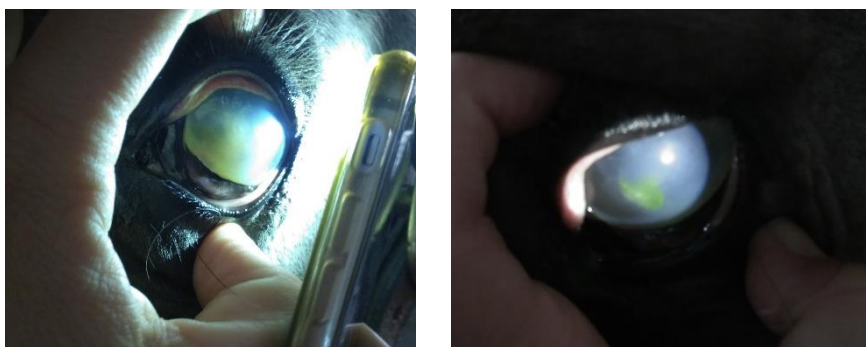
4. **Teste de fluoresceína**

5. **Citologia corneal**

Para além destes pontos referidos anteriormente, existem outras etapas a realizar num exame oftalmológico em ambulatório, mas não foram referidos pois não foram utilizados durante os estágios. Essas etapas incluem meios de diagnóstico adicionais como exames imagiológicos ou testes como Schirmer, Rosa bengala ou tonometria.

Durante o estágio foram observados vários casos de uveíte. Dependendo das estruturas atingidas pode ser anterior (iris e corpo ciliar), posterior (coroide) ou ambas, panuveíte. Durante o estágio foram observados três casos de uveíte anterior e um de panuveíte.

Um dos casos de uveíte anterior, surgiu por motivos de trauma, sendo que os sinais observados no exame oftalmológico foram de dor caracterizados por blefarospasmo, epífora, fotofobia, hiperémia da conjuntiva, fibrina (surge como material branco na câmara anterior – figura 22A), edema da córnea (surge como uma mancha azul – figura 22A) e uma úlcera (figura 22B), corada por fluoresceína no centro do olho. Devido a toda a inflamação, não foi possível observar, inicialmente, o fundo do olho.

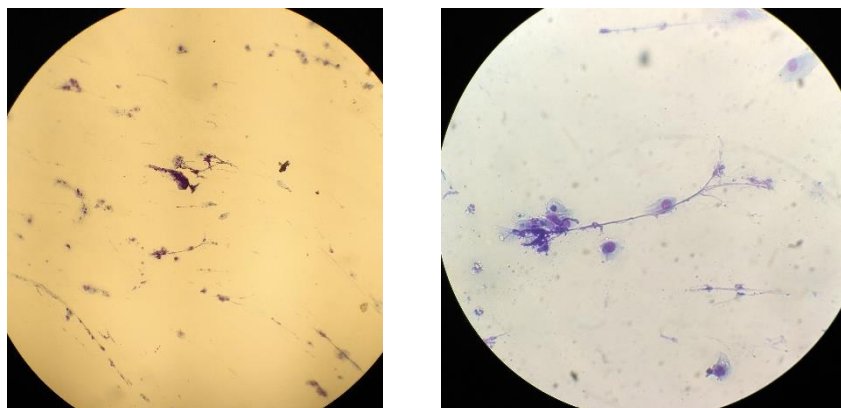


**Figura 22** – Lesões observadas no caso de uveíte anterior. A: presença de fibrina e edema; B: presença de úlcera

Para o tratamento, é importante controlar o processo inflamatório sistemicamente, uma vez que a lesão possuía uma úlcera. Foi instituída, então, os princípios ativos de suxibuzona PO (Danilon®) a longo prazo, para além da administração de flunixin meglumina IV aquando da primeira consulta. Para além disso, controlar a dor proveniente dos espasmos do músculo ciliar é outro ponto importante no maneio da doença (Thomasy, 2019). Uma maneira de contrariar essa dor é dando atropina (Atropocil®, duas gotas), com atividade anti-colinérgica, duas vezes ao dia, de modo a dilatar a pupila. Por fim, foi prescrito cloranfenicol (Clorocil® em pomada), moxifloxacina (Vigamox®) e oxitetraciclina (Terricil®) com ação anti-microbiana para um largo espetro de ação. Para além disso, a oxitetraciclina tem função de anti metaloproteinase, evitando



o “derretimento” da córnea. Ao fim de dois dias, não se viu uma melhoria procedendo a uma raspagem na zona da úlcera com posterior coloração. Ao microscópio foram observadas hifas indicando uma úlcera fúngica, como mostra a figura 23.



**Figura 23** – Lâmina corada de conteúdo proveniente da raspagem de córnea

Foi adicionada à terapêutica uma pomada de miconazol 1% a cada quatro horas com ação anti-fúngica. O tratamento foi prolongado e implicou um maneio intenso com várias medicações por dia, mas com o cumprimento rígido de todas as indicações foi possível recuperar as lesões oculares.

Durante o estágio em ambulatório surgiu um caso de uma catarata adquirida devido a uveíte anterior. Este fenómeno ocorre com alguma frequência pois a uveíte anterior, ou seja, a inflamação das estruturas anteriores é a causa mais comum da existência de cataratas adquiridas nos equinos (Brooks, 2002).

O cristalino é uma estrutura biconvexa assimétrica com localização caudal à íris e está fixa por fibras associadas a um corpo ciliar. Esta estrutura possui uma cápsula de células epiteliais, que se diferenciam, de forma contínua, em fibras do cristalino. O cristalino é transparente, devido à estrutura regular das fibras, à ausência de uma membrana à volta dos organelos e ao pequeno espaço entre as fibras. Uma alteração no metabolismo, lesão genética ou proteica leva à perda de transparência ou até mesmo ruptura. A opacidade observada, sinal característico da catarata, durante o exame físico deve-se à luz que é refletida e refratada (Townsend, 2016). Podem ser classificadas segundo a idade, a causa ou a localização, no entanto, o efeito que tem na visão depende da localização, densidade e tamanho da catarata (Brooks, 2002). O tratamento implica a cirurgia para remover o cristalino sendo que este tratamento não deve ser realizado a não ser que o equino já possua uma perda visual elevada (Townsend, 2016).

Em relação ao estágio em regime hospitalar, foram observados três casos de úlceras. Dois dos mesmos tinham etiologia traumática. O diagnóstico não difere do modo de como é realizado em ambulatório, sendo o teste de fluoresceína o mais utilizado para confirmação da existência de úlcera. O protocolo terapêutico inclui administração de cloranfenicol e soro autólogo



seis vezes por dia, aplicação tópica, e atropina uma vez única. O soro autólogo tem propriedades semelhantes à lágrima, permitindo a lubrificação do olho e nutrição com fatores essenciais à regeneração da córnea. Com este tratamento intenso, as úlceras diminuam de tamanho a cada dia que passava permitindo a recuperação no espaço de uma semana.

O terceiro caso era um pouco mais grave apresentando já neovascularização perilímbica consistente com o prazo de 10 a 15 dias de lesão. O manejo não era fácil e por motivos financeiros o proprietário queria fazer o tratamento em casa. Foram discutidas as várias hipóteses, sendo a mais adequada à situação a realização de uma tarsorrafia e colocação de cateter subpalpebral, de modo a conferir maior proteção à córnea e facilitar a administração de medicamentos, respectivamente. Os fármacos foram idênticos aos prescritos nos outros casos.

## 2.1.7 Ortopedia

A área clínica da ortopedia possui uma frequência relativa elevada, tanto no estágio em ambulatório como no estágio em ambiente hospitalar, uma vez que a maioria das consultas médico veterinárias de equinos se devem a problemas do sistema locomotor. Devido ao elevado número de casos em cada um dos estágios, a descrição dos casos será dividida em dois subcapítulos. Algumas afeções são mais fáceis de diagnosticar do que outras, no entanto, todos os casos passam por um exame sistemático de claudicação. A claudicação é um sinal clínico, podendo ser um sinal de dor ou um defeito mecânico que leva a uma alteração do andamento.

A dificuldade reside no reconhecimento, localização, caracterização e manejo dessa claudicação (Ross, Mike e Dyson, 2011). Uma das formas de quantificar essa claudicação é utilizar a escala proposta pela AAEP, representada na tabela 10 (AAEP, sem data).

Tabela 10 – Escala de claudicação proposta pela AAEP (AAEP, sem data)

Grau	Descrição dos sinais observados no exame de claudicação
0	Não se observa claudicação sob qualquer circunstância
1	Claudicação difícil de observar ou não é consistente
2	Claudicação difícil de observar a passo ou trote em linha reta, mas consistente a trote em algumas circunstâncias
3	Claudicação consistente a trote em todas as circunstâncias
4	Claudicação óbvia a passo com assimetria da cabeça marcada ou diminuição da passada
5	Incapacidade de suportar peso em movimento/estação ou de avançar

Um exame de claudicação possui várias etapas essenciais, sendo importante compreender que cada uma delas possui uma finalidade e que as várias fases do exame devem ser avaliadas de modo integrado:

1. **Anamnese:** recolher informações do equino como raça, idade, regime de trabalho e ferração, assim como, informações sobre a queixa em si, como o tempo de duração da claudicação e caracterização da mesma aquando do repouso *versus* em trabalho. Caso já tenha sido implementada alguma terapêutica médica é importante perceber qual a resposta do equino a essa medicação e qual a mesma (Adams, 2015b).
2. **Observação à distância:** é importante observar o movimento do equino no seu ambiente normal e avaliar desaprumos, perdas de músculo, assimetrias ou atitudes.
3. **Exame estático:** antes de iniciar o exame em movimento deve ser feita uma palpação no esqueleto axial de modo a avaliar alguma reação exagerada ao toque. Com esta etapa permite descartar algumas lesões dorsais como lombalgia ou, pelo menos, dar a informação de possíveis lesões ósseas e as suas localizações para posterior exame detalhado. Os membros também devem ser palpados, sendo a dor, edema ou calor de alguma estrutura da zona, os sinais de possível lesão. Por fim, os cascos devem ser examinados utilizando uma pinça de casco. Com esta etapa é possível descartar possíveis alterações, como abcesso de casco (Adams, 2015b).
4. **Exame dinâmico:** o exame em andamento vai depender do grau de claudicação, uma vez que, se existir suspeita de fratura ou a claudicação for evidente e aguda não deve ser realizado pois o exercício pode agravar uma lesão existente.
  - a. Linha reta, em piso duro, a passo;
  - b. Linha reta, em piso duro, a trote;
  - c. Círculos à esquerda e à direita, em piso duro, a passo e trote.

Depois do exame em andamento em piso duro, deve ser repetido pela mesma ordem em piso mole. Assim, é possível evidenciar lesões nas estruturas ósseas, pois são destacadas em piso duro, enquanto que as lesões nas estruturas moles são realçadas em piso mole. Pode ser necessário observar o equino em galope ou a ser treinado montado.

O reconhecimento da claudicação nos membros anteriores faz-se a partir do movimento característico chamado de golpe de cabeça. Quando o membro anterior lesionado pousa no chão, surge o golpe de cabeça. Em relação ao reconhecimento da claudicação no membro posterior, devemos olhar para o movimento sacral e movimento coxal, uma vez que o membro que está a claudicar tem maior amplitude na tuberosidade coxal assim como uma subida sacral menor.

5. **Testes de flexão:** os testes de flexão são uma ferramenta útil no diagnóstico, sendo que a resposta à flexão contínua de um membro, durante um minuto, pode ser positiva caso haja um exacerbamento da claudicação ou negativa caso a claudicação continue no mesmo grau na escala apresentada anteriormente. As flexões (figura 24) podem incidir em algumas estruturas específicas dependendo da zona do membro que é flexionada.



**Figura 24** – Testes de flexão realizado num exame de claudicação

6. **Bloqueios anestésicos perineurais e/ou intra-articulares:** os bloqueios são a última etapa antes da utilização de meios de diagnóstico imagiológicos. Não são obrigatórios, uma vez que é essencial que haja uma claudicação evidente e consistente para que o bloqueio seja eficiente e dê informações adicionais (Ramey e Baus, 2012). Os bloqueios anestésicos foram feitos com cloridrato de mepivacaína a 2%, iniciando com bloqueios distais e continuando no sentido proximal até obter uma resposta positiva aquando da repetição do exame dinâmico, ou seja, quando a claudicação deixa de ser evidente. Com esta sequência evita-se uma má interpretação da zona que está bloqueada, permitindo limitar a zona lesionada. Por vezes os bloqueios podem levar a observar claudicações em membros contralaterais ou ipsilaterais, que estariam disfarçados anteriormente. Nesta altura é importante perceber se a claudicação é bilateral ou se estamos perante uma resposta compensatória.
7. **Exames complementares:** os exames complementares são essenciais para observar as estruturas que possam estar envolvidas na claudicação. Estes podem ser a radiologia, ecografia, cintigrafia, ressonância magnética, tomografia computadorizada ou análise do líquido sinovial. A ecografia permite observar estruturas moles, como o caso de tendões e ligamentos como será descrito mais à frente. No entanto, também permite a avaliação das superfícies ósseas, tendo sido utilizada em campo, por exemplo, no diagnóstico de uma fratura no corpo do ílio. Este meio de diagnóstico permite observar zonas ósseas com uma linha radiopaca, sendo que essa linha pode ser interrompida em casos de fratura ou ser irregular em casos de osteoartrite, por exemplo.

As claudicações podem ser causadas por alterações neuromusculares sendo, por esse motivo, essencial que seja efetuado um exame neurológico completo quando não é encontrado nenhum motivo para a claudicação (Adams, 2015b).

### 3 Casuística no estágio em ambulatório

Para facilitar a distribuição dos vários casos acompanhados foram criadas subáreas, dentro da ortopedia, uma vez que esta compreende lesões músculo-esqueléticas incluindo músculos, ossos, tendões, ligamentos e articulações. Essa distribuição está representada na tabela 11.

**Tabela 11** - Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área cínica da ortopedia, no estágio em ambulatório (n=63, 20,6%)

		Número de casos
<b>Estruturas moles</b>	Tendinite	9
	Desmite	10
<b>Lombalgia</b>		10
<b>Estruturas ósseas – membros</b>	Osteoartrite	19
	Osteocondrite dissecante	2
	Quisto navicular	1
	Síndrome podotrocLEAR	3
<b>Estruturas ósseas - corpo</b>	Traumatismo	5
	Fratura no corpo do ílio	1
<b>Casco</b>	Abcesso de casco	3

Algumas lesões podem ser rapidamente diagnosticadas, quando da realização do exame de claudicação, enquanto que outras necessitam de alguns exames complementares de diagnóstico. Destaca-se a situação do abcesso de casco, durante o exame com pinça de casco. Este foi identificado em três equinos em situações agudas em que a claudicação surgiu rapidamente e sem nenhuma causa aparente. Pode ocorrer quando há uma solução de continuidade, possibilitando a entrada de agentes bacterianos. A contaminação bacteriana provoca a acumulação de leucócitos, por resposta à infecção, e leva à formação de um abcesso com acumulação de conteúdo sub-solear aumentando a pressão dentro do casco. Essa pressão é a responsável pela claudicação de grau 4/5 ou supressão de apoio (grau 5/5), observada durante o exame de claudicação (Fitzgerald, 2016). O tratamento baseou-se na drenagem do abcesso utilizando pensos de casco hiperosmótico. O produto utilizado foi o Animalintex®, um penso impregnado em produto hiperosmótico, com vista a promover a maturação e abertura do

abcesso. Este deve ser substituído até sair limpo. Ao fim de uns dias, ocorreu uma melhoria na claudicação devido à diminuição da pressão exercida pelo exsudado.

$1 \frac{9}{6} \times 10 \div 3 \approx 30,2\%$  As lesões nas estruturas moles, ou seja, tendinites e desmites correspondem a 30,2% das lesões observadas na área da ortopedia. Na tabela 12 é possível averiguar as estruturas atingidas.

**Tabela 12 – Estruturas lesionadas nos tecidos moles (n=19)**

<b>Tendinite</b>	<b>Número de casos</b>
Tendão flexor digital superficial	8
Tendão flexor digital profundo	1
<b>Desmite</b>	<b>Número de casos</b>
Ligamento suspensor do boleto	5
Ligamento colateral lateral da articulação interfalângica distal	2
Ligamento sesamoideu obliquo	2
Ligamento acessório do tendão flexor digital profundo	1

A maior parte das tendinites e desmites ocorrem na zona palmar ou plantar distal do membro, o que se verifica na casuística do estágio ambulatorio onde foram observadas principalmente tendinites do tendão flexor digital superficial (TFDS). As lesões dos tendões e ligamentos foram diagnosticadas com o meio imagiológico de ecografia após ter sido realizado o exame de claudicação para localizar a lesão. A ecografia permite avaliar a severidade da lesão que, por sua vez, é importante para o prognóstico. A lesão encontrada por ecografia pode ser interpretada por vários pontos como (W Smith e Ecv, 2008):

- 1) **Ecogenicidade:** lesões agudas surgem como zonas hipocogénicas enquanto que lesões crónicas surgem com um padrão heterogéneo entre zonas hipocogénicas e hiperecogénicas;
- 2) **Tamanho, padrão, forma e posição da lesão**
- 3) **Margens:** a ausência de definição das margens pode indicar a presença de aderências;
- 4) **Vascularização**

Existem inúmeros tratamentos médicos possíveis de adotar na presença de uma lesão no tendão ou ligamento. Durante o estágio curricular, os mais utilizados correspondiam a técnicas de reabilitação equina como o LASER e o plasma rico em plaquetas (PRP). A reabilitação equina

inclui técnicas tradicionais e alternativas que permitem o auxílio na recuperação de uma lesão, mobilidade, atenuação de sinais de dor ou no conjunto das mesmas (Williams, Morales e Stewart, 2019).

O uso de PRP foi observado num equino com desmopatia do ligamento suspensor do boleto. O plasma rico em plaquetas é uma terapia utilizada intra-lesionalmente, com capacidade de acelerar a infiltração de neutrófilos e macrófagos, angiogénese, deposição de matriz, fibroplasia e a re-epitelização, graças ao elevado nível de fatores de crescimento que constituem os grânulos das plaquetas (Romagnoli *et al.*, 2015). Esses grânulos desintegram-se, expondo os fatores de crescimento assim que ocorre contato com a trombina (Waselau *et al.*, 2008). Desta forma, a elevada concentração de plaquetas e fatores de crescimento, acaba por mimetizar as fases iniciais da inflamação, cruciais para uma regeneração mais rápida e eficaz (Romagnoli *et al.*, 2015). Segundo vários estudos realizados, a utilização de PRP possui um excelente prognóstico a nível de retorno no mundo desportivo, assim como uma diminuição da claudicação evidente após um tratamento (Waselau *et al.*, 2008; Romagnoli *et al.*, 2015).

Em relação à terapia de reabilitação LASER, esta foi efetuada em doze casos clínicos com lesões e localizações diferentes tais como osteoartrite na soldra, desmopatia do ligamento suspensor do boleto (figura 25B), desmopatia do ligamento acessório do tendão flexor digital profundo, desmopatia do ligamento colateral da articulação interfalângica distal e desmopatia do ligamento sesamoideu oblíquo. O acrónimo LASER significa *light amplification by stimulated emission of radiation*, sendo que é uma terapia de laser, a baixo nível, que utiliza, maioritariamente, o gás dióxido de carbono como fonte de luz. Ou seja, a energia é aplicada no gás e estimula a emissão de luz infravermelha num feixe, capaz de focar toda a energia numa área pequena específica (Jane Coatesworth, 2016). Esta técnica permite a libertação de vários fatores pela parte de macrófagos estimulando a proliferação de fibroblastos, o que permite a regeneração. Para além disso, reduz a inflamação dos tecidos e promove o alívio da dor (Michael W. Ross e Sue J. Dyson, 2009).

Para os tratamentos foi utilizado um LASER LT10-2 que possui duas cabeças diferentes consoante a localização da lesão (figura 25). O seu sistema inclui vários protocolos, dependendo da localização, cronicidade e tipo de lesão permitindo elaborar um programa específico que inclui uma potência, comprimento de onda, frequência e dose total a aplicar no local.

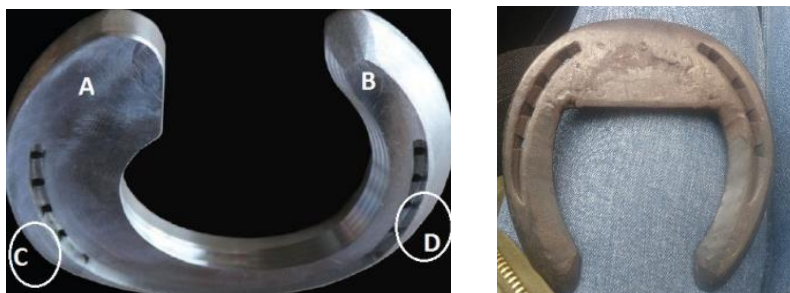


**Figura 25** – A: Aplicação de LASER no dorso devido a lombalgia; B: Aplicação de LASER no ligamento suspensor do boleto devido a desmopatia

A maior parte dos tratamentos incluíram um protocolo de 10 sessões de laser, iniciando de forma intensa com sessões alternadas dia sim, dia não, passando depois para sessões mais espaçadas. Associada a essa terapêutica era aconselhada a ferração ortopédica específica para cada lesão.

A ferração pode manipular seis variáveis diferentes como a concussão durante a fase do impacto, alteração dos centros de pressão, alteração da distribuição da força, alteração da facilidade de movimento em torno da articulação interfalângica distal, alteração da tração entre as ferraduras e o solo e, por fim, moderação da fase de suspensão do passo (Parks, 2012).

Para lesões unilaterais como desmíte do colateral lateral da articulação interfalângica distal (IFD) é importante uma ferração ortopédica que altere o centro de pressão. O ramo da ferradura do lado afetado deve ser maior enquanto que o contra-lateral deve ser mais fino e biselado (figura 26A). Para lesões do ligamento suspensor do boleto (LSB) e do tendão flexor digital superficial, foram utilizadas ferraduras com ramos mais finos e biselados e pinça mais larga de modo a sobrecarregar mais o tendão flexor digital profundo e aliviar as outras estruturas (figura 26B).



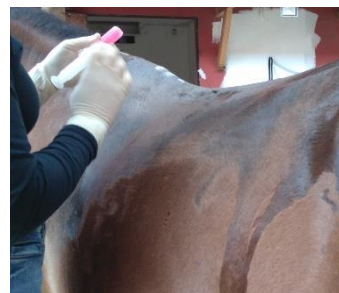
**Figura 26** – A: Ferração ortopédica para desmíte do colateral lateral da art. IFD (Borges, 2012); B: Ferração ortopédica para desmíte LSB e tendinite do TFDS

$1 \frac{0}{6} 3 \times 1 0 \oplus 1 \text{ } \text{ } \%$  As lombalgias são bastante comuns atualmente podendo causar diminuição no desempenho e alteração no andamento. As alterações envolvidas na dor dorso-lombar podem ter origem óssea, muscular ou de tecidos moles (Fantini e Palhares, 2011). O diagnóstico surge fundamentalmente pela história clínica, mas para a sua confirmação podem ser utilizadas técnicas de diagnóstico imagiológico ou infiltração de uma solução anestésica local (Roethlisberger Holm *et al.*, 2006). Durante o estágio foram observados alguns casos em que os sinais clínicos eram exacerbados no exame de claudicação com o cavalo montado, onde se reparou, posteriormente, que os pontos de maior sensibilidade correspondiam a pontos de pressão no arreio, onde a proteção estava mais gasta. Nesses casos foi aconselhado o uso de outro arreio para evitar a pressão excessiva.

O tratamento de suporte das lombalgias tem a função de eliminar a dor o mais rápido possível. Nalguns casos foi prescrito a administração de suxibutazona PO (Danilon®, na dose 3,1 mg/kg) durante uma semana, associação de metocarbamol e paracetamol e uma pomada de



dimetil sulfóxido com cloridrato de lidocaína (Traufin®). O retorno ao trabalho deve ser gradual e adequado ao desconforto evitando movimentos com saltos, manobras abruptas ou com alto impacto (Fantini e Palhares, 2011). Na maior parte dos casos este tratamento foi o essencial para a melhoria do desconforto. Num dos casos, foi decidido realizar tratamento com infiltração da musculatura do dorso e facetas articulares lombares (figura 27) com acetonido de triamcinolona, um corticoesteroide com ação anti-inflamatória, nunca excedendo os 18 mg por cavalo. O desconforto foi diminuindo ao longo dos dias permitindo o retorno ao trabalho.



**Figura 27** – Infiltração de articulação intervertebral

2 5 3 x 1 0 3 97 %

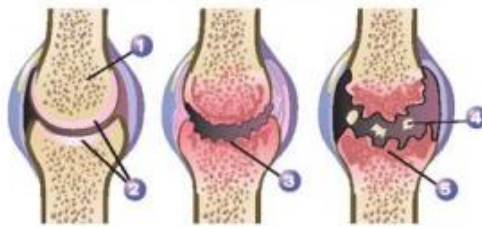
Dentro da área das estruturas ósseas nos membros podemos encontrar várias lesões, mas a mais comum corresponde à osteoartrite. As articulações onde foram detetadas essa lesão estão indicadas na tabela 13.

**Tabela 13** – Distribuição do número de casos de osteoartrite em função da articulação envolvida (n=19)

Osteoartrite	Número de casos
Articulação coxofemural	1
Articulação intervertebral (vértebras lombares)	1
Articulação interfalângica distal	8
Articulação interfalângica proximal	3
Articulação fémuro-tibio-patelar	2
Articulação metatarso-falângica	3
Articulação sacroilíaca	1

A osteoartrite é uma doença óssea degenerativa que compromete o sistema locomotor, implicando custos elevados no tratamento, mas principalmente consequências elevadas no percurso atlético do equino. Esta doença leva à restrição de movimento da articulação causando vários níveis de claudicação e dor. É progressiva no tempo passando por várias fases, mas no geral, a articulação passa por uma perda de cartilagem e modificações no osso e tecidos moles envolventes (Souza, 2016a), como mostra a figura 28.





**Figura 28** – Evolução de osteoartrite

Fonte: <https://www.doctorrimey.com/osteoarthritis/>, acessado a 23/03/2020

A osteoartrite é caracterizada por um desequilíbrio entre as atividades anabólicas e catabólicas dos condrocitos, levando a um aumento do catabolismo. O catabolismo promove a destruição da cartilagem, diminuindo o espaço articular. Essa diminuição leva a uma sobrecarga repetitiva nas superfícies articulares, durante o exercício praticado, causando um stress mecânico excessivo. Com o decorrer da situação clínica, surge esclerose do osso subcondral acompanhada por osteófitos nos bordos da articulação, sendo que, estas alterações na superfície articular podem ser identificadas por radiografia. As articulações são constituídas por várias estruturas e, aquando da progressão da doença, podem surgir lesões na cartilagem articular, membrana sinovial, osso subcondral, ligamentos ou a cápsula fibrosa da articulação. O fluido sinovial é um dos componente da articulação que sofre alterações, logo a sua análise pode ser um passo essencial para o diagnóstico precoce (Souza, 2016a).

O tratamento deve ser efetuado precocemente, uma vez que, o aumento das lesões ósseas leva ao agravamento da claudicação e, com o tempo, as lesões podem tornar-se irreversíveis, piorando o prognóstico. Usualmente são utilizados anti-inflamatórios intrasinoviais, como os corticosteroides, no entanto são referidos vários efeitos negativos como a deterioração do estado articular. Apesar das contraindicações descritas, os resultados provenientes da inibição da degradação, estimulação da produção de glicosaminoglicanos e supressão da libertação de mediadores da inflamação, são mais benéficos, acabando por ser os tratamentos de eleição (Souza, 2016b).

Durante o estágio foram realizadas seis infiltrações intra-articulares com corticosteroides. As infiltrações foram realizadas com acetonido de triancinolona e metilprednisolona dependendo da articulação. O acetonido de triancinolona foi utilizado em articulações mais móveis, numa dose entre 3-10 mg/articulação, como no caso do boleto ou interfalângica distal (figura 29), enquanto que a metilprednisolona foi utilizada em articulações menos móveis, numa dose entre 20-80 mg/articulação, como a articulação interfalângica proximal. A infiltração também incluía a administração local de amicacina, para proteger de forma preventiva posteriores infeções uma vez que a articulação é uma estrutura assética e, por fim, era adicionado ácido hialurónico nas articulações móveis, pois tem atividade condroprotetor.



**Figura 29** – Algumas etapas executadas na infiltração

### 3 Casuística no estágio em hospital

A área da ortopedia é a área com maior representatividade também nesta segunda componente do estágio, sendo que, alguns equinos foram referenciados para exame de claudicação de modo a chegar a um diagnóstico definitivo, outros para tratamentos médicos e os restantes para tratamentos cirúrgicos. A distribuição dos casos médicos e cirúrgicos estão representados na tabela 14 e 15

**Tabela 14** – Distribuição dos casos clínicos médicos em função das afeções da área da ortopedia (n=19, 14,7%)

		Número de casos
<b>Casos clínicos médicos</b>	Osteoartrite	8
	Desmite	5
	Tendinite	2
	Abcesso de casco	3
	Artrite séptica	1

**Tabela 15** – Distribuição dos casos clínicos cirúrgicos em função das afeções da área da ortopedia (n=11, 25,3%)

		Número de casos
<b>Casos clínicos cirúrgicos</b>	Osteoartrite	1
	Osteocondrose	5
	Desmite	1
	Deformidade flexural	1
	Fratura	1
	Braquignatismo	1
	Sesamoidite assética	1

Em relação aos casos clínicos médicos, todos, à exceção de um equino, deram entrada no hospital para diagnosticar a lesão, com o exame de claudicação, e planejar o protocolo terapêutico. A exceção corresponde a um exame de re-avaliação com história de artrite séptica da articulação tarso-metatarsica devido a remoção de um fragmento de osteocondrose.

As desmites e tendinites foram diagnosticadas ecograficamente após o exame de claudicação, predominando as lesões no TFDS e LSB. O planeamento terapêutico incluía tratamentos a curto e a longo prazo, alguns já referidos como anti-inflamatórios não esteroides, terapia de laser, ferração ortopédica e infiltrações.

A osteoartrite foi a lesão mais diagnosticada por meio de radiologia, com localização num dos sesamoides proximais, articulação tarso-metatarsica, intertársica e interfalângica distal sendo que alguns dos casos foram tratados com infiltração de acetato de triancinolona. No estágio em ambulatório eram adicionados outros princípios ativos como ampicilina e ácido hialurónico, o que difere no estágio em hospital cujos fármacos não foram utilizados. Essa opção não se deve ao facto de ser um ambiente em campo ou ambiente hospitalar, mas sim uma preferência pessoal. Num dos casos de osteoartrite, com localização no sesamoide, realizou-se um protocolo de administração de plasma rico em plaquetas na zona de inserção do ligamento suspensor do boleto.

Os casos de abscesso de casco foram diagnosticados com base no exame físico sendo que nem todos os casos possuem os mesmos sinais clínicos. Quando surge uma claudicação aguda de grau 4/5 ou 5/5, é importante colocar o abscesso de casco como diagnóstico diferencial juntamente com fraturas ou trauma. O sinal clínico comum entre todos foi de dor à pinça de casco assim como uma claudicação severa em que um dos casos incluía supressão de apoio (5/5 AEEP). O tratamento médico não difere do realizado em ambulatório realizando pensos de casco hiperosmótico, para facilitar a drenagem do abscesso.

Nos casos cirúrgicos existem algumas afeções cujos tratamentos utilizaram técnicas cirúrgicas, como último recurso, como no caso da osteoartrite ou da desmite. Enquanto que outras lesões como a osteocondrose usaram o tratamento cirúrgico como opção de eleição.

Quando um equino não responde ao tratamento médico de uma osteoartrite é necessário ponderar outras alternativas como a artrodese (Jones *et al.*, 2009). Esta é uma técnica cirúrgica que, promovendo a anquilose óssea, é utilizada para diminuir a dor e possibilitar alguma recuperação, em articulações pouco móveis, como a articulação interfalângica proximal (Zubrod e Schneider, 2005). Esta cirurgia pode ter várias complicações tais como infeção dos parafusos de fixação e a não fusão óssea, causando desconforto, osteoartrite da articulação IFD, entre outras. Este caso incluiu várias dessas complicações levando a uma artrodese incompleta e claudicação crónica (Zubrod e Schneider, 2005).

A desmite do ligamento suspensor do boleto é uma lesão comum, cujos tratamentos médicos tendem a ser eficazes para a sua resolução. No entanto, os equinos podem deixar de responder a estes e a solução cirúrgica para remover a dor pode ser ponderada. A técnica envolve a neurectomia do ramo profundo do nervo plantar lateral, associada à fasciotomia

plantar. Esta foi realizada num equino com desmiste do suspensor do boleto em ambos os membros posteriores. O ramo profundo é responsável por inervar a origem do ligamento suspensor, por meio dos nervos plantar metatársicos lateral e medial (Lindner, 2006). Esta técnica está associada a percentagens elevadas de sucesso na interrupção definitiva da transmissão nervosa, permitindo o retorno ao trabalho (Faleiros *et al.*, 2008). No entanto, é uma cirurgia irreversível que não permite o acesso dos equinos à competição em provas tituladas pela FEI (FEI, 2019).

A osteocondrose é uma doença ortopédica que se pode manifestar como osteocondrite dissecante. É caracterizada por uma falha no processo de remodelação e substituição da cartilagem por osso, levando a alterações na ossificação endocondral. Pode resultar numa zona de fragilidade elevada, que leva à separação da cartilagem ou fragmentos quando são aplicadas forças biomecânicas (Pereira *et al.*, 2019). O exame de claudicação permite localizar a zona afetada, mas apenas o exame radiográfico permite o diagnóstico definitivo. Por vezes também pode surgir como um achado durante o exame em ato de compra. A artroscopia é a cirurgia de eleição quando há fragmentos superiores a dois centímetros, claudicação ou efusões graves (Pereira *et al.*, 2019). É um procedimento cirúrgico bastante requisitado e simples, sem muitas complicações pós-cirúrgicas, sendo que, os casos que surgiram durante o estágio decorreram como previsto e com recuperações rápidas.

A artroscopia é utilizada em várias técnicas cirúrgicas para além da remoção de fragmentos ósseos ou de cartilagem. Também pode ser usada para desbridar quistos subcondrais, lavar cavidades sinoviais sépticas ou como meio de diagnóstico. Tem como vantagens, em comparação com a artrotomia, a realização de incisões de pequenas dimensões, menor trauma dos tecidos moles periarticulares, menos dor e menos complicações pós-cirúrgicas (Adams, 2015a).

## 2.1.9 Sistema digestivo

O sistema digestivo possui um largo número de casos clínicos e procedimentos, tanto no primeiro como no segundo estágio, correspondendo a 19,28 e 24% da casuística, respetivamente. Tal como na área clínica da ortopedia, este capítulo também será dividido em dois subcapítulos com a descrição da casuística de cada um dos estágios.

Os equinos têm um trato digestivo que combina a digestão simples com a digestão microbiana, ao nível do ceco e cólon, permitindo um máximo aproveitamento da dieta. A digestão, absorção dos nutrientes, motilidade e eliminação de fezes são as quatro categorias etiológicas que justificam um quadro clínico de cólica, quando ocorre uma disfunção do sistema digestivo (Easley, 2019). No entanto, de acordo com a complexidade que envolve o sistema, são inúmeros os diagnósticos diferenciais tornando-se importante conhecer a anatomia gastrointestinal e os

processos fisiológicos envolvidos no mesmo. Existem algumas características importantes de descrever para a compreensão das afeções observadas durante o estágio (Moore, 2013):

- **Anatomia do estômago e esófago:** o estômago é de pequenas dimensões com capacidade de 8-10L, no lado esquerdo do abdómen que possui uma válvula, correspondente à junção do esófago com o cárdia, que funciona apenas num sentido. Isto quer dizer que o gás e fluido podem entrar para o estômago, mas não consegue sair pelo mesmo sítio. Caso haja alterações a jusante, que impeçam a progressão, vai levar a acumulação a montante podendo dilatar ou até roturar em casos mais severos (Moore, 2013).
- **Anatomia do intestino delgado:** o intestino delgado inclui o duodeno, jejuno e ílio. O jejuno possui 19,5 metros de comprimento, associado ao mesentério, aumentando as probabilidades de vólvulo ou encarceramento (Moore, 2013).
- **Anatomia do intestino grosso:** o ceco é a primeira estrutura do intestino grosso, que surge no lado direito. Tem capacidade de 27-30L de comida e fluido. Uma vez que possui uma ligação com a parede, não há tantas hipóteses de ocorrer deslocamento ou torções. O colon ventral direito é dividido em saculações, sendo que anatomicamente passa para o lado esquerdo pela flexura esternal junto ao esterno. O colon ventral esquerdo também é saculado e estende-se até à região pélvica onde passa a cólon dorsal esquerdo a partir da flexura pélvica. O cólon dorsal esquerdo possui um diâmetro menor e não é saculado, o que propícia o surgimento de impactações intraluminais, sendo o local mais comum onde estas ocorrem. Por fim, o cólon dorsal esquerdo passa a colon dorsal direito pela flexura diafragmática junto ao diafragma. Nenhum destes é saculado, nem está diretamente ligado à parede do abdómen permitindo o seu deslocamento ou torção (Moore, 2013).

As cólicas ou alterações relacionadas com o trato digestivo envolvem uma consulta específica nesta área. Deve realizar-se a anamnese, exame físico e exames complementares, de modo a recolher os dados e informação necessária para chegar a um diagnóstico o mais rápido possível. Os principais sinais clínicos são sinais de dor como o raspar repetido do membro, olhar para os flancos, tocar no abdómen com os membros, deitar, distensão abdominal, perda de apetite, depressão, suor ou rebolar sendo que normalmente a primeira alteração notada pelos proprietários é a perda de apetite ou falta de defecação (Moore, 2013).

A anamnese deve incluir perguntas pertinentes, como idade, dieta, desparasitações anteriores, última correção da mesa dentária ou histórico de cirurgias. Ao mesmo tempo, deve-se começar o exame físico tendo especial atenção na frequência cardíaca, avaliação das mucosas e motilidade gastrointestinal nos cinco quadrantes. A frequência cardíaca tem

tendência a aumentar devido à dor e hipotensão e as mucosas ficam desidratadas e pálidas devido ao comprometimento cardiovascular (Moore, 2013). A auscultação da motilidade nos quadrantes abdominais permite diagnosticar diferentes alterações sendo o achado mais comum, a ausência de motilidade. A auscultação de sons timpânicos podem indicar distensão gasosa, sons líquidos podem indicar fezes líquidas devido a colite e sons no quinto quadrante, ou seja, o quadrante ventral, pode indicar cólica de areia. Por fim, existem alguns procedimentos mais simples que se devem sempre incluir no exame como palpação transretal, entubação nasogástrica, ecografia abdominal, abdominocentese, microhematócrito e proteínas totais.

Nem todos os casos clínicos, que estão dentro da área do sistema digestivo implicam o síndrome de cólica, mas como estão relacionados com alguma estrutura que esteja incluída neste trato estão neste capítulo.

### 3 Estágio em ambulatório

Durante este estágio foi possível observar 59 casos, sendo que estão divididos em várias subáreas como mostra a tabela 16. Esta representa a distribuição dos casos e procedimentos observados em ambulatório. Este estágio engloba casos relacionados com afeções do trato gastrointestinal, assim como procedimentos de manejo realizados de forma rotineira.

**Tabela 16** – Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área do sistema digestivo (n=59, 19,28%)

		Número de casos
<b>Outras afeções</b>	Intoxicação por moxidectina	1
<b>Cólica</b>	Obstrução esofágica	1
	Espasmódicas	5
	Úlceras	2
	Impactação de flexura pélvica	2
	Impactação por areia	2
	Disbiose	3
	<b>Hepático</b>	Hepatopatia
<b>Odontologia</b>	Correção da mesa dentária	30
	Extração do dente de lobo	9
	Ulceração oral	2

Um dos casos durante o estágio deveu-se a impactação de areia, cujo diagnóstico começou com o exame físico, onde o som característico de areia estava presente no quadrante ventral sendo confirmada, posteriormente, com a presença de areia nas fezes, quando se colocaram as mesmas em água numa luva e se observou a deposição de areia por gravidade (teste da luva). Esta situação é bastante comum em equinos que estejam em campos de areia, uma vez que acabam por ingeri-la, quando se alimentam no chão. Foi efetuada uma extensa lavagem gástrica e, no final, foi administrada uma mistura de água, parafina e psyllium (*SandXpel®*) PO. O psyllium é responsável por aglomerar a areia no trato digestivo, permitindo expulsar a mesma durante a defecação. O equino recuperou após o tratamento e foram recomendadas algumas alterações de manejo para evitar novas ocorrências.

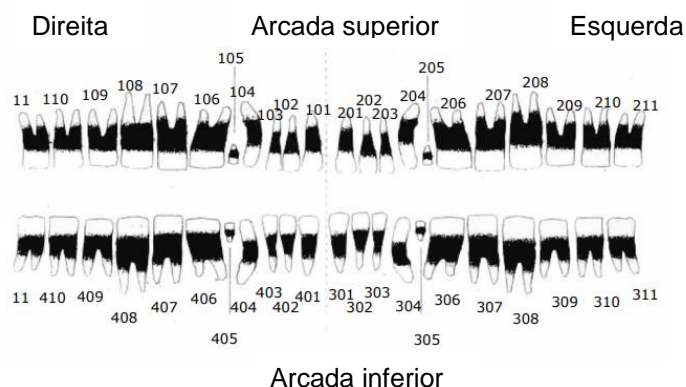
Algumas das alterações, associadas à cólica, são possíveis de diagnosticar pelo exame clínico, nomeadamente com a palpação transretal e a ecografia abdominal. A palpação transretal permite, por exemplo, diagnosticar uma impactação da flexura pélvica. Esta é facilmente sentida do lado esquerdo como se fosse um tubo largo e compacto. É essencial estabilizar o cavalo uma vez que os níveis de dor são elevados e existem desequilíbrios eletrolíticos e hemodinâmicos que necessitam de serem corrigidos. O tratamento da impactação implica o uso de bastantes fluidos orais para hidratar a massa e permitir a sua passagem pelo trato digestivo. Também pode ser associado sulfato de magnésio, um laxante osmótico, com o mesmo intuito. Pode ser um processo demorado e dispendioso, mas com um tratamento intensivo é possível evitar a cirurgia.

Por outro lado, existem alguns casos clínicos onde se chegou ao diagnóstico de cólica espasmódica. São situações onde uma abordagem inicial com controlo da dor utilizando analgésicos fracos/anti-espasmódicos, como o metamizol (*Vetalgim®*, numa dose 20 mg/kg IV) e a movimentação do equino a passo ou trote foram suficientes para resolver a cólica. É importante agir de forma rápida, sendo que atualmente os proprietários já estão sensibilizados para o que fazer quando observam os sinais iniciais de cólica, evitando que o estado do equino piore.

Um dos casos observados que não implica o síndrome de cólica corresponde ao caso da intoxicação com moxidectina. Como foi referido anteriormente, a moxidectina pode tornar-se tóxica quando utilizada em equinos mais magros. Este equino foi desparasitado duas vezes por engano com a pasta *Equest pramox*, que inclui moxidectina na sua composição. A médica-veterinária foi chamada de urgência, onde realizou uma lavagem à boca, uma lavagem gástrica intensa e administração de carvão ativado pela sonda nasogástrica, para que não haja absorção do princípio ativo. O equino ficou sob observação, mas não demonstrou nenhum sinal de cólica ou de neurotoxicidade como depressão, ataxia ou coma.

Os procedimentos e casos clínicos observados na área da odontologia apresentam prevalência elevada, devido ao facto de incluírem procedimentos imprescindíveis de rotina. Atualmente, utiliza-se o Sistema *Triadan* Modificado para a nomenclatura uma vez que permite identificar os dentes de forma específica e universal (Dixon e Dacre, 2005). Este sistema separa

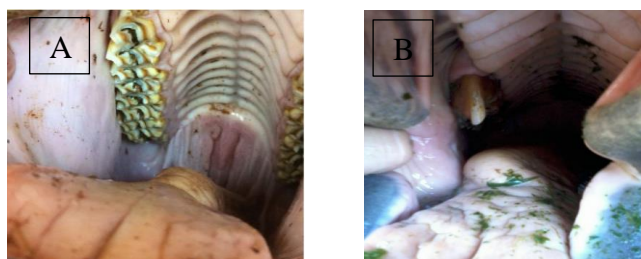
as mesas dentárias em quatro quadrantes e utiliza três dígitos para identificar cada dente, como mostra a figura 30.



**Figura 30** – Sistema *Triadan* Modificado (Dixon e Dacre, 2005)

Os dentes dos equídeos têm algumas particularidades anatómicas nomeadamente um dente vestigial, que pode nem sempre estar presente, o primeiro pré-molar superior, denominado de dente de lobo. Deve ser removido assim que é identificado pois podem causar desconforto e resistência à embocadura dificultando o trabalho. Para além disso, possuem dentes hipsodontes, ou seja, grande desenvolvimento da coroa, com crescimento contínuo. Desta forma, contraria-se o elevado atrito e desgaste motivado pela alimentação fibrosa que constitui a base alimentar de um equino. (Dixon e Dacre, 2005)

Qualquer alteração no maneiio ou alimentação, pode levar a afeções na biomecânica da mastigação levando a uma assimetria no desgaste. Esta modificação dentária proporciona o aparecimento de pontas de esmalte, a alteração mais comum da mesa dentária representada na figura 31A. Pode acarretar inúmeras consequências, tais como, defeito na trituração dos alimentos, com a diminuição da digestibilidade dos nutrientes, assim como o aparecimento de várias úlceras ou problemas comportamentais. (Pagliosa *et al.*, 2006) Para além disso, também podem surgir ganchos, pela mesma razão de assimetria no desgaste, ocorrendo principalmente na face rostral do segundo pré-molar na arcada superior (106 e 206) e na face caudal do terceiro molar mandibular (311 e 411), representado na figura 31B (Straieto, Sitó Da Silva e Ribeiro, 2018).



**Figura 31** – A: Presença de pontas de esmalte; B: Presença de gancho na face rostral do segundo pré-molar. (Straieto, Sitó Da Silva e Ribeiro, 2018)



A correção da mesa dentária é um procedimento de rotina, que deve ser efetuado uma a duas vezes por ano para evitar má mastigação, desconforto ou até úlceras, devido aos defeitos referidos anteriormente. Esse procedimento segue os seguintes passos:

- I. **Sedação** – associação de detomidina (dose 0,01 mg/kg) com butorfanol (dose 0,02mg/kg) IV;
- II. **Colocação de abre-bocas** – facilita a palpação e observação das arcadas dentárias;
- III. **Lavagem da boca** – remoção dos restos de comida na cavidade oral;
- IV. **Correção da mesa dentária** – este passo era realizado com o auxílio do aparelho *Terafloat* elétrico com a utilização de duas cabeças diferentes, uma geral e uma para os acabamentos finais (figura 32). No caso de estar presente o dente de lobo, este pode ser removido com o uso de instrumentos adequados com um elevador periodontal e um fórceps.
- V. **Lavagem final** – para finalizar é feita uma lavagem final para remover os restos de dente pulverizado que ficaram na boca.



**Figura 32** – Execução da dentisteria

Neste grupo ainda foram observados dois casos de úlceras na cavidade oral. Um dos casos estava relacionado com a embocadura, uma vez que a localização das úlceras coincidia com pontos de pressão nas comissuras labiais. Estas úlceras podem levar a uma diminuição do desempenho devido ao desconforto provocado pelas mesmas. Foi recomendado um tratamento à base de *Bexident®* gengivas, um gel com clorexidina, com elevada eficácia antisséptica e cicatrizante, e salicilato de colina (*BucageI®*), um gel com efeito analgésico e anti-inflamatório. Desta forma, foi possível reduzir os sinais de inflamação e dor. Após uma semana, as úlceras estavam a melhorar significativamente de aspeto e o desconforto visível tinha diminuído.

### <sup>3</sup> **Casuística no estágio em hospital**

Na tabela 17 estão representados os casos clínicos que foram observados durante este estágio. Esta área foi a que mais diferenças teve em comparação com o estágio em ambulatório uma vez que foi possível observar a resolução cirúrgica das cólicas, que não eram resolvidas medicamente, permitindo associar visualmente algumas das lesões, apenas palpadas ou observadas com recurso a exames imagiológicos. No entanto, sempre que possível o caso clínico era direcionado para resolução médica e, apenas em dor incontrolável, distensão

abdominal exuberantes e/ou indicadores laboratoriais evidentes é que se optava pela resolução cirúrgica.

**Tabela 17** – Distribuição dos casos clínicos em função das afeções da área do sistema digestivo (n=18, 24%)

		Número de casos
Cólicas médicas	Etiologia desconhecida	4
	Areia	1
Cólicas cirúrgicas	Impactação da flexura pélvica	4
	Hérnia inguinal	1
Outras afeções	Enterite linfoplasmocitária	1
	Úlceras	5
Procedimentos de manejo	Correção da mesa dentária	2

As cólicas médicas de etiologia desconhecida correspondem aos casos clínicos em que não se chegou a nenhum diagnóstico definitivo, uma vez que, o exame clínico não demonstrou nenhuma alteração significativa e o tratamento de suporte permitiu a estabilização e resolução das cólicas. Esse tratamento de suporte consistia em controlo médico da dor, com a administração de anti-inflamatórios como o flunixin meglumina, fluidoterapia com Lactato de Ringer, jejum de 24h e passeios regulares para estimular a motilidade gastrointestinal. O outro caso clínico, incluído na casuística médica, corresponde a uma cólica por areia. O tratamento médico foi semelhante ao da cólica de etiologia desconhecida, adicionando a administração de *psyllium* (SandXpell®, numa dose 70g, duas vezes por dia) para a acumulação de areia no trato gastrointestinal.

As cólicas cirúrgicas correspondem a cólicas com indicação cirúrgica. A impactação da flexura pélvica foi a afeção mais comum que necessitou de intervenção cirúrgica para a sua resolução. A técnica cirúrgica consistia na enterotomia para remover o conteúdo impactado seguido de lavagem do cólon e da cavidade peritoneal. Em dois casos surgiram complicações pós cirúrgicas tais como infeção da incisão e pneumonia por aspiração após remoção do tubo endotraqueal. Com o tratamento específico para cada complicação, os equinos recuperaram tanto do motivo inicial de internamento como das complicações.

As hérnias inguinais ocorrem quando o anel inguinal é mais largo ou fraco e permite a protrusão de tecidos pelo anel inguinal. A sua caracterização em direta ou indireta depende da

integridade da túnica vaginal parietal, ou seja, caso esta permaneça intacta caracteriza-se por hérnia inguinal indireta, mas se roturar, devido à passagem dos intestinos, chama-se hérnia inguinal direta (Sanchez, 2018). O equino que deu entrada no hospital com sinais de cólica possuía o testículo unilateral direito aumentado de volume, frio e consistente à palpação, sendo este sinal o mais comum de hérnias inguinais. Após a consulta médica e diagnóstico realizado, foi para cirurgia de modo a diminuir a probabilidade de estrangulamento do intestino herniado. A técnica cirúrgica foi rápida e a redução manual foi executada com sucesso. Foi decidida a realização de orquiectomia e encerramento do anel inguinal bilateral, umas semanas mais tarde depois do episódio de cólica.

Surgiram alguns casos clínicos relacionados com o sistema digestivo, mas que não deram entrada de urgência no hospital veterinário por síndrome de cólica. Esses casos incluíram enterite linfoplasmocitária e ulceração gástrica. As lesões de úlceras foram detetadas realizando uma gastroscopia visualizando o esófago, o estômago por inteiro e o início do duodeno. Alguns destes casos deveram-se à presença de *Gastrophilus* na mucosa gástrica, sendo prescrita a desparasitação e o tratamento à base de omeprazol (Ulcergold®, em bisnaga), um inibidor da bomba de prótons, diminuindo a produção de ácido clorídrico no estômago.

A enterite linfoplasmocitária é uma forma de doença intestinal inflamatória que causa perda de peso crónica (Kemper *et al.*, 2010) sendo esse sinal clínico o que levou uns proprietários a levarem a sua égua para o hospital. Esta enterite é caracterizada pela infiltração de linfócitos e células plasmáticas na lamina própria do trato gastrointestinal. Os testes mais comuns para o diagnóstico são a biópsia da mucosa retal e teste de absorção de glucose (Kemper *et al.*, 2010). Neste caso foi realizada uma biópsia à mucosa do intestino delgado, por endoscopia, após o resultado de absorção de glucose dar cerca de 45% indicando uma má absorção parcial. O resultado da biópsia confirmou o diagnóstico de enterite linfoplasmocitária. O tratamento baseado em corticosteroides deve ser realizado precocemente no desenvolver da doença podendo reduzir os sinais clínicos e induzir a remissão da mesma (Kemper *et al.*, 2010).

## 2.2.10 Neonatologia

A neonatologia é uma área clínica que não foi observada no estágio em ambulatório, uma vez que, este não decorreu durante a época de partos. No entanto, durante os três meses de estágio no hospital, surgiram dois casos de neonatologia pela mesma razão, mas com desfechos diferentes. Um dos principais motivos de ocorrerem complicações associadas aos neonatos deve-se à falha de transferência da imunidade passiva, sendo esse o motivo dos dois casos clínicos. O colostro produzido pela égua é um componente vital para o sistema imunitário do poldro uma vez que possui um concentrado de imunoglobulinas, lisozimas, fatores de crescimento, lactoferrina e linfócitos B. Não existindo transferência das imunoglobulinas maternas por via transplacentária, é essencial que o neonato ingira o colostro nas primeiras

horas, de modo a garantir proteção e evitar infecções por agentes patogénicos ambientais (Paradis, 2006). Em ambos os casos foram realizados testes semiquantitativos para avaliação da concentração de imunoglobulina G (IgG) (snap *foal test*®) onde foi detetada uma concentração inferior a 400 mg/dl cujo valor corresponde a uma falha de transferência da imunidade passiva. Os poldros que são privados da ingestão de colostro possuem um sistema imunitário fraco e são suscetíveis a casos de septicemia. É essencial proporcionar um maneio e cuidados médico-veterinários o mais rápido possível. No hospital são seguidos vários passos idênticos nos vários casos como:

- 1. Limpeza e aquecimento do poldro**
- 2. Recolha de sangue e análises sanguíneas**
- 3. Colocação de cateter**
- 4. Fluidoterapia**
- 5. Administração de plasma**
- 6. Antisépsia da cicatriz umbilical**
- 7. Ecografia pulmonar e umbilical**
- 8. Exame radiológico de tarso e carpo**
- 9. Alimentação**

Quando o neonato entra no hospital é essencial trabalhar com rapidez e eficácia. Um dos primeiros passos realizados foi a administração do plasma para aumentar a concentração de IgG no sangue para valores superiores a 800 mg/dl. Para além de restaurar os níveis de imunoglobulinas é importante observar se o poldro tem reflexo de sucção uma vez que sem este não é possível se alimentar seja com leite da mãe seja com biberão com leite de substituição. Caso não tenha o reflexo é necessário colocar uma sonda nasogástrica. No exame clínico é importante avaliar outros parâmetros associados ao neonato tais como:

- A cicatriz umbilical, que é uma potencial porta de entrada para agentes bacterianos. É essencial a assepsia com clorexidina a 4% ou iodopovidona diluída (Paradis, 2006). Associado à cicatriz umbilical deve ser investigada a presença de uraco persistente pois é uma das afeções comuns que pode surgir e deve ser corrigida. Esta situação ocorre quando não há encerramento da comunicação fetal entre a bexiga e a cicatriz umbilical aquando do parto levando à saída de urina pelo mesmo (Bohanon, 2005). Ambos os poldros necessitaram de cirurgia para remoção do uraco persistente, no entanto, apenas um dos casos recebeu a intervenção cirúrgica devido a questões monetárias.
- O mecónio corresponde a uma mistura de fluido alantoico, células e secreções do trato gastrointestinal que se podem acumular no cólon descendente e reto. A expulsão do mecónio é estimulada durante a ingestão do colostro pois este estimula a motilidade gastrointestinal. No entanto, quando as etapas básicas do

poldro foram alteradas pode ocorrer impactação do mesmo necessitando de enemas para facilitar a expulsão. Este procedimento foi realizado num dos poldros com sucesso.

- As articulações devem ser observadas e palpadas com frequência pois o edema periarticular ou articular, claudicação ou relutância em levantar pode indicar uma situação de septicemia. Também devem ser realizados exames radiográficos para avaliar as placas de crescimento e se existe colapso das articulações do carpo ou imaturidade do carpo e tarso.

Ambos os poldros tiveram complicações no decorrer do internamento, implicando um cuidado intensivo durante o mesmo. Um dos casos teve um desenvolvimento favorável ao longo dos dias de internamento, foi ficando com melhor atitude e conformação. Passou por várias fases com algumas complicações clínicas desde o úraco persistente já referido, escaras de decúbito e onfaloarterite. No entanto, com o cuidado médico intensivo e o serviço de cirurgia, foi possível contornar todas as complicações e promover a recuperação do poldro. O outro caso de neonatologia implicou mais complicações e o poldro não estava a recuperar como deveria. A decisão final foi de eutanásia, após definido um mau prognóstico.

## 3 – Estudo Epidemiológico do Vírus do Nilo Ocidental

---

### 3.1 Revisão Bibliográfica

A febre do Nilo Ocidental é uma doença do foro infeccioso, causada por um agente viral. É uma doença de declaração obrigatória, em que, qualquer suspeita deve ser reportada à Direção Geral da Alimentação e Veterinária (DGAV). Durante o estágio curricular foram notificados três surtos na região algarvia, entre outubro e dezembro, o que despertou interesse para estudar tanto a doença em si, como as possíveis razões para os novos casos surgirem nos mesmos locais e em datas mais tardias do normal.

#### 3.1.1 – Etiologia

O vírus do Nilo Ocidental (VNO) é um arbovírus que pertence ao género *Flavivirus*, da família *Flaviviridae* (Hayes, Sejvar, *et al.*, 2005). Este género compreende mais de 70 vírus divididos em vários complexos antigénicos, mas apenas uma pequena fração tem relevância clínica (Oliveira *et al.*, 2017). Os critérios associados à divisão compreendem testes serológicos tais como neutralização viral, inibição de hemaglutinação e fixação do complemento (Bicout e Balenghien, 2013). O VNO foi incluído no complexo da Encefalite Japonesa devido à sua semelhança com o vírus responsável pela encefalite japonesa na Ásia, encefalite Murray Valley na Austrália e encefalite de Saint-Louis, na América (Zeller e Schuffenecker, 2004). É importante distinguir e identificar os vários componentes virais incluídos no mesmo complexo antigénico, para evitar reações cruzadas aquando do diagnóstico (Bicout e Balenghien, 2013).

O vírus responsável pela febre do Nilo Ocidental (FNO) possui várias variações genéticas que foram identificadas por base de análises filogenéticas, no entanto apenas duas é que estão associadas a casos clínicos nos equinos. O genoma difere entre elas em mais de 20-25% (Chancey *et al.*, 2015). A variação 1 foi dividida em três classes (Angenvoort *et al.*, 2013):

- Classe 1a – os vírus que pertencem a esta classe foram isolados num largo alcance geográfico (África, Médio Oriente, Índia, Europa e Hemisfério Ocidental);
- Classe 1b – os vírus isolados representam as viroses de Kunjin da Austrália e Ásia;
- Classe 1c – corresponde aos vírus mais recentemente isolados na Índia.

A variação 2 foi isolada principalmente em África subsariana e Madagáscar (Angenvoort *et al.*, 2013). No entanto, recentemente, tem sido reportada em vários países como Hungria, Áustria, Rússia, Roménia, Grécia e Itália (Joó *et al.*, 2017). Este evento demonstra uma semelhança com o que se sucedeu com a variação 1 em que o vírus teve uma dispersão a partir

de África para estas localizações, onde surgiram vários surtos clínicos em equinos (Angenvoort *et al.*, 2013).

O vírus do Nilo Ocidental é uma partícula viral com um tamanho médio de 50 nm de diâmetro e, no centro, é composto pelo material genético viral com uma única molécula de RNA de cadeia simples, com cerca de 10 000 nucleótidos. O genoma é envolvido por uma cápside icosaédrica simétrica que, no seu conjunto, forma o nucleocapsídeo. Este é coberto por um envelope membranar em que à superfície, encontram-se proteínas do envelope (E) e proteínas pré-membranares ou membranares (prM/M), ancoradas ao mesmo por domínios transmembranares (figura 33A) (Bicout e Balenghien, 2013; Castro-Jorge *et al.*, 2019). O material genético do vírus é traduzido numa larga poliproteína, a qual pode ser processada e clivada por protéases de origem viral e celular, libertando dez proteínas (figura 33B) (Castro-Jorge *et al.*, 2019). Sete delas correspondem a proteínas não estruturais e, as restantes três, são proteínas estruturais: cápsula C, envelope E, pré-membrana/membrana prM/M (Zeller e Schuffenecker, 2004).

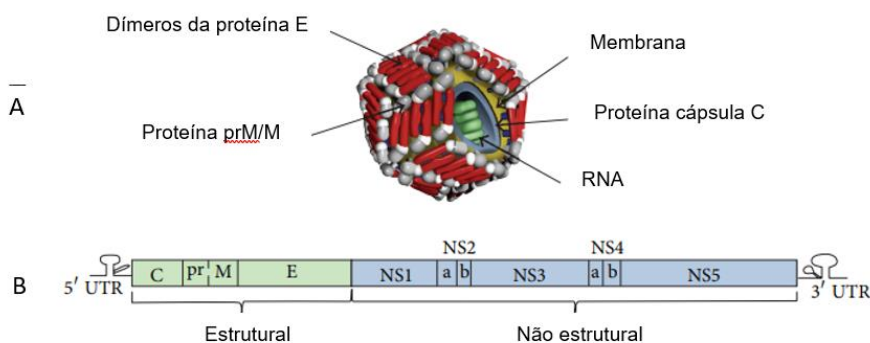


Figura 33: A - Estrutura morfológica do vírus; B - Genoma viral. Adaptado de (Chancey *et al.*, 2015)

As sete proteínas não estruturais estão envolvidas em diferentes funções essenciais na síntese do material genético. A NE1 participa na regulação da replicação viral assim como a NE5. Esta última pode atuar como metiltransferase ou polimerase dependente de RNA (Angenvoort *et al.*, 2013). A NE3 tem múltiplas funções enzimáticas atuando como protéase sérica viral em associação com a NE2B. A NE2A, NE4A e NE4B são proteínas de pequenas dimensões, hidrofóbicas e não tem funções enzimáticas. No entanto atuam como cofatores para a replicação viral (Chancey *et al.*, 2015).

As proteínas estruturais são responsáveis pela estrutura, como o nome indica, mas também possuem outras funções importantes na imunidade. A proteína E está associada a várias propriedades biológicas como o tropismo, virulência, antigenicidade e potencia a ligação aos recetores celulares do hospedeiro (Castillo-Olivares e Wood, 2004; Zeller e Schuffenecker, 2004). A proteína M está implicada na resposta imunitária humoral juntamente com a proteína E. Estas proteínas possuem os epítomos imunodominantes, favorecendo e facilitando a resposta imunitária neutralizante (Bicout e Balenghien, 2013).

### 3.1.2 – Enquadramento histórico e epidemiologia da doença

A história do Vírus do Nilo Ocidental foi bastante estudada. Esta começa em 1937, na província de Uganda, onde foi inicialmente isolado em pesquisas epidemiológicas paralelas sobre a distribuição da Febre Amarela, em África (Bicout e Balenghien, 2013). O vírus foi detetado no sangue de uma mulher que apresentava doença febril, numa localização conhecida por *West Nile district*, daí a denominação da doença e do agente (Flores e Weiblen, 2009). Após esse evento, foi isolado em vários humanos, aves e mosquitos no Egito, em 1950 (Hubálek e Halouzka, 1999).

Richard Taylor foi um investigador crucial para o conhecimento desta doença. A sua equipa foi responsável por dirigir a maior parte dos estudos ecológicos deste vírus, identificando os pontos chave epidemiológicos do mesmo. Um desses corresponde à procura de um reservatório animal onde o vírus tivesse a capacidade de se replicar e permitir a continuidade do ciclo de transmissão. Portanto, foram iniciados vários estudos serológicos em mamíferos domésticos e aves (Bicout e Balenghien, 2013). Os equinos foram uma das espécies onde surgiram evidências serológicas de infeção, no ano de 1956 no Egito e 1960 em Israel, no entanto correspondiam a animais assintomáticos. Apenas em 1963, no Egito, é que foram relatados os primeiros episódios com sinais clínicos da doença, nesta espécie (Flores e Weiblen, 2009). A partir daí, surgiram vários surtos esporádicos, principalmente em humanos, mas também em equinos desde 1960 em África, Médio Oriente e Europa (Castillo-Olivares e Wood, 2004).

Em Portugal, o vírus foi isolado pela primeira vez em 1971, num mosquito da espécie *Anopheles maculipennis* (Filipe, 1972). Já no Hemisfério Ocidental, foi isolado a primeira vez em 1999 durante um surto em Nova Iorque (Hayes, Komar, *et al.*, 2005).

Até aos anos 90, os casos reportados pelos vários continentes eram esporádicos e não estavam associados a sinais clínicos de doença neurológica grave. No entanto, ao longo das décadas, a frequência e a severidade clínica da FNO aumentou assim como a taxa de mortalidade, tanto em humanos como animais (Esteves *et al.*, 2005). Esse facto levou a um aumento de estudos sobre esta arbovirose, para compreender a sua etiologia, transmissão, possíveis tratamentos e controlo.

O gráfico 5 representa o número de artigos publicados relacionados com o vírus do Nilo Ocidental entre janeiro de 1946 e abril de 2020. Para facilitar a leitura do gráfico foram realizadas classes onde se agrupou o número de publicações em cada quatro anos. Para além disso, pesquisou-se o mesmo número para o mundo inteiro e para Portugal em específico. Os dados foram recolhidos no *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), na base de dados do PubMed. Ao avaliar o gráfico é possível observar que os vários picos associados aos números de publicações relacionadas com o Vírus do Nilo Ocidental ocorrem de acordo com os surtos da doença reportados. Depois da descoberta do vírus em 1937 em Uganda, as primeiras publicações datam 1946. Após isso, os vários estudos epidemiológicos e levantamentos



serológicos permitiram descobrir vários casos surgindo os picos entre 1958 e 1961, 1966 a 1969 e 1986 a 1989 no Mundo. Em Portugal surgiram os primeiros casos a partir de 1971, o que corresponde às publicações nessas datas. A partir de 1999 ocorreu a introdução de Vírus do Nilo Ocidental nos Estados Unidos e, para além disso, começaram a decorrer mais episódios de forma corrente e com maior gravidade como foi referido, daí surgir o grande pico no número de publicações no mundo como mostra o gráfico 5. Esse aumento de publicações também acompanha o aumento de publicações em Portugal.

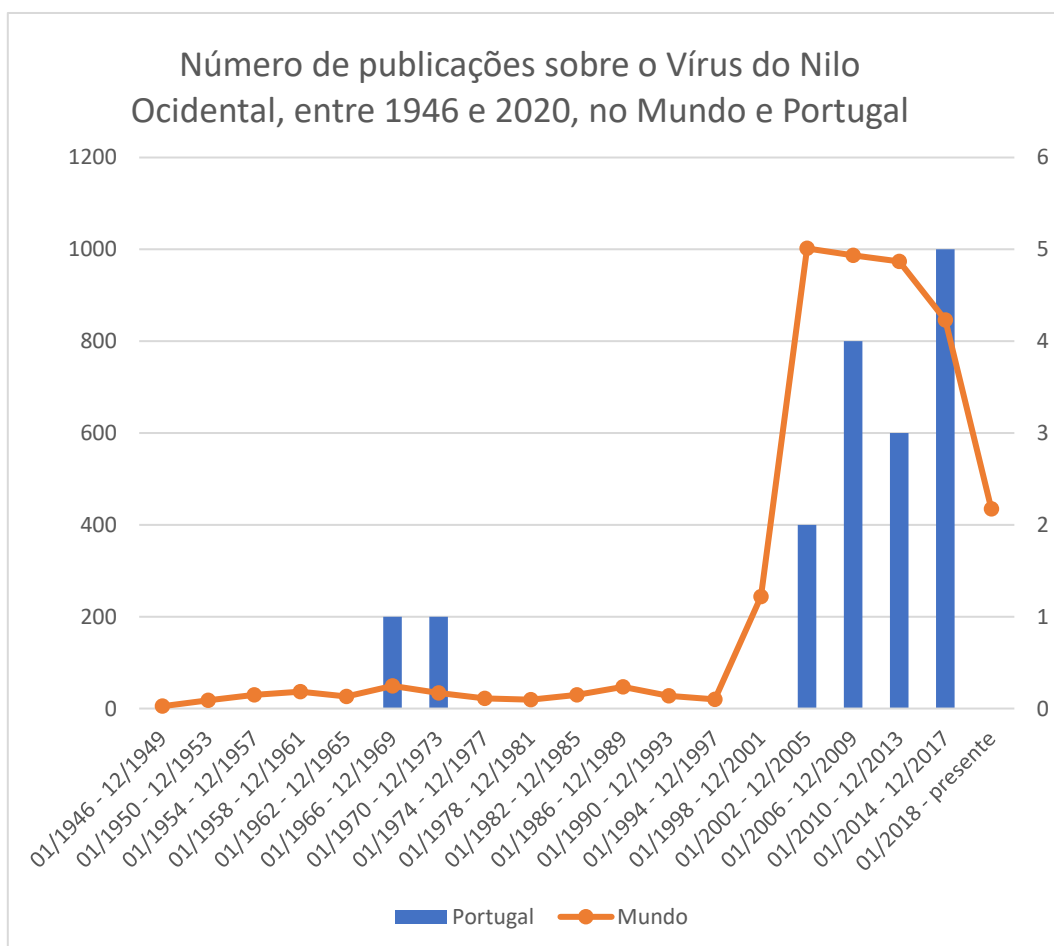


Gráfico 5: Número de publicações relacionados com o vírus do Nilo Ocidental ao longo dos anos, no Mundo e em Portugal

Em Portugal, após os casos do século vinte, surgiram novamente dois episódios em 2004 onde o vírus foi isolado em dois turistas, no Algarve. Este surto levou a Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) a implementar um programa de vigilância regional, em áreas de risco. Através desse, foram detetados anticorpos neutralizantes em nove equinos e duas aves. A partir desse ano, os casos surgiram por várias vagas tais como (Barros *et al.*, 2017):

- Intervalo entre 2005 – 2010: não surgiram casos reportados em equinos, em Portugal;
- Ano de 2010: voltaram a surgir casos equinos;

- Intervalo entre 2010 e 2015: não surgiram casos reportados em equinos, no Algarve;
- Verão de 2015: voltaram a surgir casos equinos.

A DGAV foi responsável por promover campanhas de sensibilização a nível regional para evitar o subdiagnóstico e aumentar o cuidado com infeções do VNO pela parte dos proprietários de equinos e veterinários. Essas campanhas levaram a um aumento de amostras enviadas para o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) de equinos suspeitos. Dessas, surgiram dez casos tanto no Verão de 2015 como no Verão de 2016, entre o Algarve e o Alentejo. No entanto, a mortalidade em 2016 possuía uma taxa no valor dos 50% enquanto que em 2015 estava nos 20% (Barros *et al.*, 2017).

O vírus do Nilo Ocidental é responsável por causar uma arbovirose com elevado potencial risco em saúde pública, uma vez que pode atingir o ser humano (Zeller e Schuffenecker, 2004). Tornou-se indispensável estudar quais os componentes que compreendem o ciclo de transmissão do vírus e como estes estão relacionados entre eles e com o ambiente. Para procurar um eventual vetor, realizaram-se tentativas de isolamento do vírus em mais de 80 000 artrópodes tais como moscas, ácaros, piolhos, mosquitos e carraças. Com esse estudo averiguou-se que os mosquitos eram os artrópodes, entre os vários, que apresentavam maior aptidão para multiplicar o vírus (Bicout e Balenghien, 2013). Porém, o vetor é apenas uma parte do ciclo de transmissão complexo deste agente infeccioso, onde as espécies de aves vão atuar como hospedeiros primários, os mosquitos de várias espécies como vetores primários e os mamíferos como o humano e os equinos como hospedeiros acidentais (Esteves *et al.*, 2005). As aves têm um papel de elevada importância no ciclo, pois são responsáveis pela dispersão viral uma vez apresentam níveis elevados de virémia, ao contrário das outras espécies animais (Bicout e Balenghien, 2013). Para sustentar esse facto realizou-se um estudo onde se demonstrou que a virémia nos equinos adultos inoculados foi inferior a  $10^{2,7}$  UFP/ml (unidades formadoras de placa), a qual é insuficiente para infetar os mosquitos de espécie *Aedes abopictus* (Bunning *et al.*, 2002). Apesar dos equinos de serem considerados hospedeiros finais, pois não conseguem dar continuidade ao ciclo de transmissão, são considerados os mamíferos mais suscetíveis à infeção pelo vírus (Bicout e Balenghien, 2013).

Enquanto a transmissão é mantida numa circulação contínua, entre aves e mosquitos, nas áreas tropicais e subtropicais, esta é diferente nas regiões temperadas, como Portugal. Nestas regiões as arboviroses causadas pelo vírus do Nilo Ocidental surgem em surtos esporádicos principalmente entre julho e setembro. No entanto, cada ano que passa, surgem novos episódios na mesma região, o que implica a existência de mecanismos que permitam a persistência viral. Existem várias teorias associadas a essa persistência numa região única (Castillo-Olivares e Wood, 2004):

- 1- Hibernação do vírus;
- 2- Mosquitos que mantêm o vírus ativo durante o Inverno;

### 3- Transmissão contínua, mas em baixos níveis, em hospedeiros vertebrados.

No entanto, continuam a ser desconhecidos os mecanismos inerentes a esse fenómeno. Alguns autores referem que a transmissão transovárica, ou seja, a transmissão vertical, é possível e foi identificada numa espécie, o que pode explicar este fenómeno (Castillo-Olivares e Wood, 2004). Por outro lado, a persistência viral não explica o aparecimento de surtos em regiões temperadas de forma isolada no espaço, ou seja, numa região onde não foram registados casos clínicos. Rappole e Hubálek, especulam que as aves migratórias possam estar associadas a este fenómeno (Rappole e Hubálek, 2003).

Existem vários fatores ecológicos que levaram a propor, pela parte de vários investigadores, que as aves migratórias infetadas com o VNO transportam o mesmo para norte de África na migração da Primavera, tais como (Rappole e Hubálek, 2003):

- As aves serem os hospedeiros vertebrados principais que apresentam níveis de virémia suficientemente altos para transmitir o vírus a outros vetores e, por consequente, a outros hospedeiros.
- Os surtos surgirem entre julho e setembro e perto de áreas húmidas e urbanas.
- As aves migratórias servirem de hospedeiros introdutórios, ao se acomodarem em certos locais com numerosos vetores potenciais e hospedeiros amplificadores.

Todos estes factos associados permitem produzir uma linha cronológica, que explique a mobilidade do vírus e também as alturas do ano em que ocorrem os surtos. A introdução do agente infeccioso em zonas temperadas compreende dois períodos importantes, que correspondem à migração bianual das aves silvestres. As migrações têm o propósito de explorar oportunidades na reprodução, habitat e na procura de suplemento alimentar onde as condições climáticas são mais propícias (Reed *et al.*, 2003). A primeira migração corresponde à Primavera, nomeadamente em Abril/Maio, onde as aves voam a partir do Norte de África e vão repousar em regiões adequadas para a reprodução e descanso do hemisfério Norte, podendo introduzir o agente (Freitas *et al.*, 2012). Aqui é promovida a infeção de largas populações vetoriais, pelas aves migratórias, num espaço de dois a três meses. Já em Julho/Agosto, esses vetores passam o vírus para os outros hospedeiros (Rappole e Hubálek, 2003). Estudos realizados em 1967 e 1977, suportam esta hipótese uma vez que foram detetados níveis elevados de virémia em aves migratórias capturadas durante a migração (Nir *et al.*, 1967; Ernek *et al.*, 1977). O segundo período corresponde à estação do outono, onde cerca de cinco biliões de aves, representando 300 espécies, retornam a África. Durante este trajeto permitem o transporte dos agentes do Norte para Sul da Europa (Reed *et al.*, 2003).

Uma ave em migração não pode introduzir o vírus, numa região diferente, se o tempo de duração da virémia for inferior ao tempo da migração entre a região de origem e a região de chegada (Bicout e Balenghien, 2013). No entanto, as rotas de longa distância potenciam o *stress*

fisiológico o que causa imunodepressão, tornando a virémia mais longa e mais intensa ou causam a reativação do vírus mantendo uma infecção crônica. Este fator imunitário aumenta a probabilidade de transmissão do vírus, porém existem vários fatores adjuvantes associados à migração das aves. O homem pode ter um papel importante uma vez que a urbanização contribui para a perda de vários habitats naturais ao longo das principais rotas de migração. Essas modificações levaram à criação de novos habitats permitindo a aglomeração e mistura de diferentes espécies de aves, tanto migratórias como locais, e como consequência provocaram mudanças nas características e padrões das migrações a longa distância (Reed *et al.*, 2003). Para além da introdução do vírus por meio de aves migratórias, existem outros autores que sugeriram a hipótese de carraças infetadas, fixas a várias aves migratórias servirem de vetores transportando o vírus e formarem novos pontos de partida para um ciclo ave-carraça em ecossistemas quando não existem mosquitos (Wilkins e Del Piero, 2004).

A dispersão do vírus do Nilo Ocidental ocorre quando estão associados os vários pilares do ciclo de transmissão. Para a continuidade do ciclo enzoótico, é necessária a existência de aves e mosquitos, no entanto, também tem de estar associada ao componente ambiental. Existem algumas características ambientais que favorecem, ou não, a continuidade do ciclo sendo o padrão sazonal dos surtos uma das características que fundamenta essa teoria. O ecossistema não é fixo, ou seja, existem fatores abióticos como as variações e alterações climáticas que podem conduzir a alterações nos sistemas ecológicos que, por sua vez, poderão levar a mudanças significativas na dinâmica da transmissão de doenças infecciosas como a febre do Nilo Ocidental (Miranda *et al.*, 2002). Em 2002, foi publicado um estudo onde as alterações climáticas foram estudadas, de modo a verificar se provocam alterações na densidade populacional dos vetores. O estudo teve lugar em várias regiões de Portugal (Faro, distrito metropolitano de Lisboa e distrito do Porto) onde se demonstrou que as alterações climáticas aumentaram a população vetorial (Miranda *et al.*, 2002). Os mecanismos que estão por trás destes acontecimentos serão explicados no capítulo mais à frente.

### 3.1.3 – Transmissão

#### 3.1.3.1 – Ciclo de vida

O ciclo de vida do arbovírus está representado na figura 34.

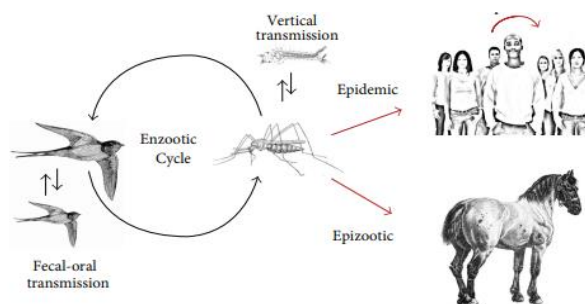


Figura 34: Ciclo de transmissão do VNO (Chancey *et al.*, 2015)

O vírus do Nilo Ocidental é um agente patogénico que inclui hospedeiros amplificadores, vetores e hospedeiros acidentais no seu ciclo de transmissão. Em regiões endêmicas, o vírus é mantido na natureza graças a um ciclo enzoótico que alterna a infecção viral entre o hospedeiro reservatório predominante e preferido, como as aves domésticas ou silvestres, com vetores, como os mosquitos hematófagos (figura 34) (Flores e Weiblen, 2009). Ocasionalmente, podem surgir hospedeiros acidentais como os equinos ou humanos que se podem infetar ao serem inoculados pelo vetor ponte, ou seja, mosquitos que se infetam tanto em aves como em mamíferos (Flores e Weiblen, 2009).

A transmissão bem-sucedida de um agente patogénico é o resultado da associação dos diferentes componentes do ciclo no mesmo espaço temporal e espacial. A reunião entre os diferentes componentes deve ser feita numa área de distribuição do vetor, ou seja, tem de ser realizada num ecossistema que depende de componentes bióticos e abióticos. Para além disso, o mosquito tem de ser capaz de transmitir o vírus para outros hospedeiros, isto é, têm de ser compatíveis (Bicout e Balenghien, 2013). Foram descritas duas hipóteses relacionadas com a competência vetorial sobre a transmissão do VNO: a primeira sugere que o ciclo enzoótico é sustentado por uma ou mais espécies de mosquitos que garantem a transferência do vírus para as aves, permitindo a disseminação e amplificação do vírus. De seguida, outras espécies de mosquitos com uma maior gama de hospedeiros, atuarão como vetor ponte entre as aves infetadas e cavalos/humanos. A outra teoria é que uma espécie de mosquito vetor é capaz de inocular o vírus em aves assim como nos mamíferos atuando como vetor enzoótico e epizoótico (Monini, 2010).

O mosquito é o vetor responsável pela transmissão do vírus do Nilo Ocidental entre hospedeiros (Bicout e Balenghien, 2013). Este pode adquirir o VNO após um episódio de alimentação num hospedeiro infetado e competente. O vírus infeta a superfície das células do tubo digestivo podendo invadir as mesmas, onde é replicado e, posteriormente, transportado pela hemolinfa até aos vários órgãos, em particular as glândulas salivares. Logo, a barreira intestinal é um dos componentes que determina a competência vetorial do mosquito, uma vez que é composta por quitinas e permite respostas imunitárias fortes que servem de barreira à infecção viral (Colpitts *et al.*, 2012). A acumulação do vírus nas glândulas salivares resulta numa elevada carga viral na saliva, sendo que, o tempo necessário para um mosquito se tornar competente, ou seja, o tempo que demora a ter o vírus presente na saliva e ser capaz de o inocular, chama-se incubação extrínseca (Bicout e Balenghien, 2013). Esta fase é fortemente dependente da temperatura ambiental e da dose viral inicial, sendo que, em períodos mais quentes, pode ter uma duração de duas semanas (Castillo-Olivares e Wood, 2004; Bicout e Balenghien, 2013). Após este período, os vetores competentes podem inocular o vírus noutros hospedeiros vertebrados suscetíveis, através da secreção da glândula salivar durante outro evento alimentar, para manterem o ciclo (Chancey *et al.*, 2015). Assim a transmissão do VNO está dependente, principalmente, da necessidade nutricional dos mosquitos para a sua resistência na natureza (Miranda *et al.*, 2002).

Apesar da forma mais convencional de transmissão do vírus do vetor para os hospedeiros vertebrados ser por picada, existem outras formas de transmissão, tais como consumo dos mosquitos por hospedeiros suscetíveis ou pelo contato da cloaca ou fluidos orais de outras aves com infecção e alta virémia de VNO (Chancey *et al.*, 2015).

A disseminação e patogênese do vírus nos hospedeiros vertebrados, representada na figura 35, são resultado de estudos em modelos animais, nomeadamente ratinhos. Este modelo aplica-se aos equinos e aves, no entanto, existem algumas diferenças descritas mais à frente.

Os mosquitos utilizam o probóscibe, uma estrutura adequada aos seus hábitos alimentares, para injetar proteínas ativas da saliva e conseguir introduzi-las na corrente sanguínea. São libertados alguns componentes como vasodilatadores, inibidores da coagulação, inibidores plaquetários e proteínas imunomoduladoras, digestivas e antimicrobianas. A maior parte dos componentes da saliva são injetados nas camadas da pele, no espaço extravascular, facilitando a penetração do probóscibe nos tecidos (Colpitts *et al.*, 2012). O vírus vai atingir várias células da pele, como os queratinócitos e células dendríticas, entrando por endocitose mediada por recetores. (Petersen, Brault e Nasci, 2013). São formados endossomas, com o vírus no seu interior, cujo pH ácido gera uma alteração na conformação da proteína E. Esta modificação leva à fusão do envelope viral com a membrana do endossoma, permitindo a libertação do genoma viral no citoplasma (Castro-Jorge *et al.*, 2019).

Assim que o genoma viral é disperso pelo citosol, começa a replicar-se na região perinuclear do retículo endoplasmático rugoso (ER), e inicia-se a síntese do genoma viral (Castillo-Olivares e Wood, 2004; Castro-Jorge *et al.*, 2019). O RNA viral original origina inúmeras cópias que são introduzidas nos novos viriões, enquanto que as proteínas estruturais se reúnem com várias membranas do retículo endoplasmático (Colpitts *et al.*, 2012). As formas imaturas do vírus são transportadas para a membrana celular, onde são libertadas por exocitose (Castillo-Olivares e Wood, 2004). Durante este processo, a proteína prM é clivada por enzimas proteolíticas celulares tornando as partículas imaturas em maduras (Castro-Jorge *et al.*, 2019). No entanto, o processo de maturação é ineficiente e incompleto, levando à libertação de formas imaturas e formas maduras para o espaço extracelular. Sabe-se que cerca de 40% da população viral, durante uma infecção, corresponde a formas imaturas do vírus, sendo que, certos estudos recentes têm

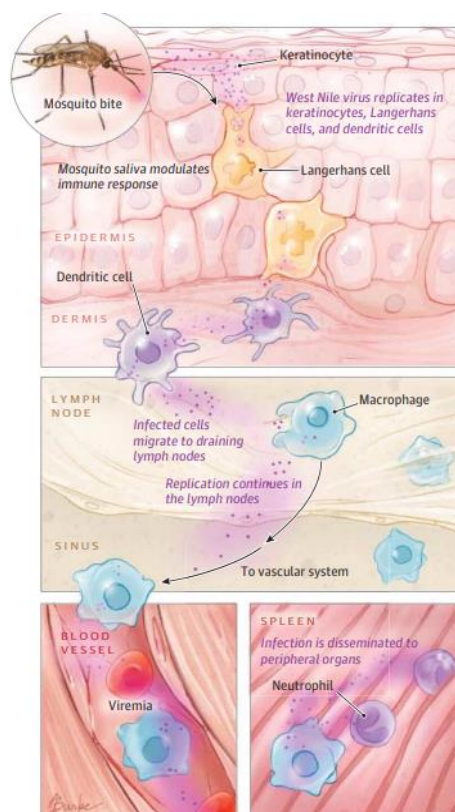


Figura 35: Mecanismo de disseminação viral após a entrada na pele (Petersen, Brault e Nasci, 2013)

demonstrado que as partículas virais imaturas podem ser altamente imunogênicas e infecciosas, tanto *in vitro* como *in vivo*, quando se ligam a anticorpos específicos para as proteínas E e prM (Colpitts *et al.*, 2012). A replicação viral nas células pode resultar na lise celular, na formação de sincícios ou numa célula viral persistente (Castillo-Olivares e Wood, 2004). A replicação viral nos tecidos da pele tem uma duração de um a três dias após a inoculação, no entanto, o vírus pode persistir na pele no local de inoculação, até 14 dias após a mesma (Colpitts *et al.*, 2012). As células dendríticas e os queratinócitos infetados, são drenados para os linfonodos regionais, onde ocorre replicação viral (virémia primária) (Valiakos *et al.*, 2013). Os vírus podem ser transportados, a partir dos linfonodos, para os vasos sanguíneos, disseminando-se para os órgãos periféricos, como o rim e o baço, onde ocorre uma nova replicação (Petersen, Brault e Nasci, 2013; Valiakos *et al.*, 2013).

O mecanismo de entrada no sistema nervoso ainda não é totalmente conhecido, no entanto, existem evidências de várias possíveis entradas tais como: transporte axonal retrogrado pelo sistema nervoso periférico, nomeadamente neurónios infetados através do epitélio olfativo; difusão através da barreira hematoencefálica por aumento da permeabilidade vascular mediada por citoquinas; passagem direta através do endotélio vascular da barreira hematoencefálica; ou por meio de um mecanismo descrito como “Cavalo de Tróia”, onde macrófagos provenientes de tecidos infetados, atravessam a barreira hematoencefálica (Petersen, Brault e Nasci, 2013). Quando as células do sistema nervoso são invadidas, nomeadamente os neurónios ou células da glia, ocorre inflamação, que pode ser suave ou severa, multifocal e não supurativa (Wamsley *et al.*, 2002). A replicação viral no sistema nervoso central leva à formação de “focos de aglomerações virais” podendo causar, nos piores cenários, degeneração dos neurónios (Castillo-Olivares e Wood, 2004).

As lesões nervosas estão associadas à ocorrência de apoptose neuronal e uma componente imunopatológica, dependentes dos linfócitos T CD8+, uma vez que são observadas alterações inflamatórias, mesmo quando o antigénio viral não se encontra presente em grandes quantidades. Os sinais neurológicos são causados por uma necrose aguda dos neurónios, sendo que a inflamação é muito mais grave nos núcleos mais profundos (núcleo do tálamo) e no tronco cerebral, atingindo os núcleos dos nervos cranianos (Bicout e Balenghien, 2013).

Os fatores intrínsecos do hospedeiro estão intimamente associados à amplitude e duração da virémia (Bicout e Balenghien, 2013). Quando o hospedeiro não é imunocompetente, pode levar a um aumento da replicação viral em tecidos extraneurais. Com este fenómeno aumenta a virémia, tendo como consequência, uma entrada mais rápida no sistema nervoso central (Castillo-Olivares e Wood, 2004).

As proteínas virais NE1, NE3, NE5, E e prM correspondem aos antigénios mais importantes do vírus do Nilo Ocidental (Castillo-Olivares e Wood, 2004). Estas proteínas potenciam a resposta imunitária ao serem reconhecidas por células do sistema imunitário. A resposta imunitária adaptativa inclui respostas humorais e celulares, onde cada uma é responsável por atuar a níveis diferente, mas com o mesmo objetivo de controlo da virose. A

resposta imunitária humoral é efetuada pelos linfócitos B, os quais vão produzir anticorpos neutralizantes que reconhecem as proteínas virais (Monini, 2010). A resposta imunitária celular é realizada pelos linfócitos T, os quais se podem diferenciar em linfócitos T citotóxicos (CD8+) contribuindo para a erradicação do vírus das células invadidas, nomeadamente células do sistema nervoso central (Bicout e Balenghien, 2013). No entanto, as respostas celulares podem resultar em lesões severas nos neurónios e células da glia causando danos irreversíveis (Monini, 2010). O interferão do tipo I também pode estar associado a um controlo da virémia e da disseminação no SNC. Este atua na fase inicial da infeção pelo vírus do Nilo Ocidental onde vai restringir o desenvolvimento da infeção a localizações não neurais. O interferão alfa faz parte deste grupo, e pode inibir a replicação viral intracelular, participar na apresentação antigénica e ativar respostas por células T citotóxicas (Pellegrini-Masini e Livesey, 2006).

O mecanismo de inoculação e patogénese é igual para as várias espécies animais. No entanto, a disseminação é diferente no caso das aves, uma vez que o vírus tem tropismo para um maior leque de tecidos como cérebro, fígado, pulmão, coração, baço e rins, aumentando a virémia. O pico de virémia, no caso do modelo em laboratório, pode ocorrer aos três dias após a inoculação, dependendo do nível de virémia. No caso das aves, o pico ocorre aos seis dias após inoculação (Valiakos *et al.*, 2013). Por estes motivos, as aves possuem maior amplitude e duração da virémia, permitindo a transmissão viral para o vetor.

### 3.1.3.2 – Vetores

Existem diversas espécies de mosquitos que são responsáveis pela transmissão do VNO, no entanto não estão distribuídas de forma equilibrada no mundo. É importante identificar quais as populações mais abundantes para avaliar o risco de ocorrência da FNO sendo que vários estudos realizados com captura de mosquitos permitiram identificar as mesmas na Europa, e mais específico, em Portugal como mostra a tabela 18 (Hubálek e Halouzka, 1999; Almeida *et al.*, 2008):

Tabela 18: Espécies de mosquitos mais abundantes na Europa e em Portugal

<b>Espécies na Europa</b>	<b>Espécies em Portugal</b>
<b><i>Culex pipiens</i></b>	<b><i>Culex pipien</i></b>
<b><i>Culex modestus</i></b>	<b><i>Anopheles maculipennis</i></b>
<b><i>Coquilettidia richiardii</i></b>	<b><i>Culex theileri</i></b>
	<b><i>Ochlerotatus caspius</i></b>

A principal espécie responsável por participar no ciclo de transmissão do VNO corresponde ao género *Culex* spp. (Bicout e Balenghien, 2013). De acordo com a tabela anterior



verifica-se que a maior parte das espécies populacionais na Europa, e em Portugal, também correspondem a esse mesmo género (Almeida *et al.*, 2008). Este género está incluído na família *Culicidae* que inclui cerca de 3500 espécies divididas em duas subfamílias: *Anophelinae* e *Culicinae*. (Bicout e Balenghien, 2013). As diferenças entre as espécies, tanto a nível morfológico como biológico, permitem que cada uma possa ter um papel diferente no ciclo de transmissão do vírus, pois, cada espécie pode ter um diferente período de atividade assim como uma gama de hospedeiros ideais para a alimentação (mamíferos, aves, répteis ou anfíbios) (Bicout e Balenghien, 2013). No entanto, apenas as fêmeas é que se alimentam do sangue dos hospedeiros tornando-as as responsáveis pela continuidade do ciclo (Miranda *et al.*, 2002).

Os mosquitos têm um ciclo de vida com várias metamorfoses e etapas: (Miranda *et al.*, 2002):

- 1- As fêmeas põem os ovos em charcos e outras massas de água;
- 2- A larvas desenvolvem-se nestes locais, onde mudam para o estágio de pupa;
- 3- A pupa eclode e os adultos passam para o meio aéreo, onde completam o seu ciclo.

O seu desenvolvimento e duração respetiva, estão fortemente condicionados pelas condições climáticas no meio ambiente tais como a pluviosidade e a temperatura, como já foi referido. A criação de novos criadouros é favorecida quando há um aumento da precipitação, permitindo um aumento de locais propícios à reprodução e continuidade do ciclo de vida dos mosquitos (Freitas *et al.*, 2012). Em Portugal, existem algumas regiões como o município de Alcácer do Sal, com áreas de cultivo de arroz em solo húmido, e no Algarve, com lagoas que são locais propícios à criação de largas populações de vetores (Barros *et al.*, 2017). Ao mesmo tempo, temperaturas altas permitem um desenvolvimento mais rápido, uma vez que são essas as características descritas como mais favoráveis para tal (Freitas *et al.*, 2012). Por outro lado, as temperaturas mais baixas, típicas das regiões temperadas, podem levar a um desenvolvimento mais lento, de vários meses (Miranda *et al.*, 2002). Quando as condições climáticas mais adequadas estão reunidas, permitem um desenvolvimento rápido e propicio a criar regiões com alta densidade populacional de vetores. No entanto, como já foi descrito, nem todos os vetores que se desenvolvem têm a capacidade de transmitir o agente patogénico sendo essencial o conhecimento do termo de competência vetorial. Este descreve a aptidão de um vetor de multiplicar, disseminar e transmitir um agente de forma eficaz. É uma característica que resulta da coevolução de um sistema vetor/agente patogénico. Para um vetor ser considerado competente necessita de vários fatores, tais como, ser geneticamente suscetível de ser infetado com VNO, suportar a sua replicação e conseguir transmitir para o hospedeiro natural (Bicout e Balenghien, 2013).

Nas regiões temperadas, a transmissão do vírus está limitada a uma estação favorável para potenciar o crescimento massivo das populações vectoriais. O final do verão é a estação onde a temperatura e a pluviosidade se encontram nas condições mais adequadas. Em alguns casos, é possível que o mosquito fique infetado na Primavera, após se alimentar de uma ave

migratória. No entanto, são necessários alguns meses, para o vírus se multiplicar e que seja amplificado, permitindo a dispersão numa área limitada (Monini, 2010). Em Portugal, as regiões que permitem o crescimento de largas populações de vetores também correspondem a locais onde aves residentes e aves migratórias se acomodam (Barros *et al.*, 2017). Esses factos levam a que muitos investigadores continuem a acreditar que estas regiões acomodam as características mais adequadas para a transmissão do vírus do Nilo Ocidental.

### 3.1.3.3 – Hospedeiros

- **Aves**

Os primeiros trabalhos realizados demonstraram o papel que as aves têm na ecologia do vírus. Esses foram baseados no isolamento do vírus nos mamíferos e aves mais abundantes, assim como na inoculação experimental de diferentes espécies. Os estudos experimentais realizados mostraram que as aves produzem níveis de virémia, virémia a longo prazo e o um número de UFP (unidades formadoras de placa) suficientes para infetar, eficazmente, os vetores quando estes se alimentam de uma ave infetada (Wilkins e Del Piero, 2004; Bicout e Balenghien, 2013). Algumas espécies de aves ficam doentes, mostrando alguns sinais clínicos da doença, e podem morrer, enquanto outras infetam-se, tornando-se portadoras sem demonstrarem sinais de doença (Colpitts *et al.*, 2012).

Existem algumas características ecológicas consideradas como fatores de risco para a seropositividade para o vírus tais como (Durand *et al.*, 2017):

- 1- **Peso corporal:** aves maiores libertam mais CO<sub>2</sub> o que atrai mais os mosquitos. Para além disso, o peso corporal está associado à vida útil e duração dos anticorpos do VNO, ou seja, as aves de espécies maiores terão anticorpos mais tempo do que aves de espécies menores;
- 2- **Época de reprodução:** maior exposição às picadas dos mosquitos principalmente durante o repouso, sendo que, as aves adultas têm menor mobilidade durante esta época;
- 3- **Altura do ninho:** os mosquitos são especialistas em procura de hospedeiros em altura, sendo que as aves que constroem ninhos no chão estão menos expostas que as aves com construção de ninhos a altura média;
- 4- **Comportamento gregário:** largos grupos de aves são mais atrativos para os vetores do que os individuais. No entanto, as aves individuais podem ser mais picadas do que indivíduos em grupos largos devido à maior proporção mosquito-ave.

As principais espécies de aves responsáveis por amplificar o vírus do Nilo ocidental estão incluídas na ordem dos Passeriformes (comumente chamados de passarinhos que incluem corvos, pardais ou pega), Turnicidormes (aves costeiras como gaivotas), Estrigiformes (aves de rapina como as corujas) e Falconiformes (aves de rapina diurnas como águias ou abutre) (Hayes, Komar, *et al.*, 2005). Os Passeriformes possuem uma família importante nos estudos da ecologia

do VNO, nomeadamente a família *Corvidae*. Estes são suscetíveis de se infetarem e desenvolverem uma doença severa com alta taxa de mortalidade, permitindo que sejam utilizados como sentinelas para a introdução viral em novas áreas ou na reintrodução em áreas endêmicas (Reed *et al.*, 2003).

Algumas espécies de aves conseguem excretar o vírus em secreções orais e da cloaca e potenciam a transmissão viral de forma direta. Aves da ordem dos Passeriformes como os corvos, gaio-azul, pega, da ordem dos Turniciformes, como as gaivotas, e da ordem dos Strigiformes, como as aves de rapina, assim como, algumas aves domésticas, como galinhas e perus, são conhecidas por esse mesmo fenómeno. Existem várias evidências da sua capacidade para excretar o vírus por períodos variáveis e de transmitir o vírus por transmissão horizontal. Porém, o vírus não tem uma elevada resistência no ambiente acabando por decorrer uma diminuição drástica da infecciosidade viral após 24h (Rovid-Spicker, 2013).

As aves têm de ter a capacidade de multiplicar o vírus e este tem de ser encontrado presente no sangue periférico em quantidade suficiente para contaminar novos mosquitos. Esta condição indica que o hospedeiro é competente. Esta competência é avaliada para cada espécie possível de ser hospedeiro do vírus, ou seja, é necessário expor os indivíduos suscetíveis à infeção e monitorizar, ao longo do tempo, as variações do nível de concentração viral presente no sangue desses recém-infetados. O gráfico 6A e 6B representam como a variabilidade das espécies se reflete no tipo de virémia encontrada no sangue de cada uma, isto porque cada espécie animal tem uma suscetibilidade diferente (Bicout e Balenghien, 2013):

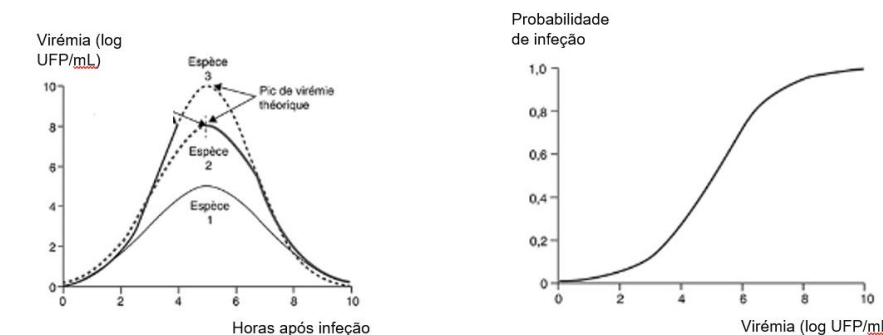


Gráfico 6: A – Variação do nível de virémia em função do tempo, em três espécies animais; B – Variação da probabilidade de transmissão viral consoante a virémia. Adaptado de (Bicout e Balenghien, 2013)

No gráfico 6A é possível observar os níveis de virémia em função do tempo, em três espécies animais. Para um mesmo intervalo de tempo, as diferentes espécies demonstram que o desenvolvimento de virémia, demonstrada pela curva de títulos de UFP, não é igual entre elas. Este gráfico confirma a existência de diferentes níveis de competência dos hospedeiros para desenvolver virémia. Seria possível associar as espécies 1, 2 e 3 às espécies de aves da Ordem Galiformes (por exemplo, a galinha doméstica), Anseriformes (por exemplo, o pato) e Passeriformes (por exemplo, o corvo), respetivamente (Komar *et al.*, 2003). No gráfico 6B mostra que a probabilidade de transmissão viral aos vetores é maior consoante o aumento dos títulos

de unidades formadoras de placa, isto é, quanto maior a virémia. Associando os dois gráficos é possível concluir que quanto maior for o nível de competência do hospedeiro, maior será a probabilidade de transmissão da infecção (Bicout e Balenghien, 2013).

Por outro lado, é necessário que haja uma compatibilidade espacial e temporal entre os vetores infetados e as aves competentes para que estes compartilhem, ao mesmo tempo, o mesmo nicho ecológico. O principal período de exposição aos vetores nas aves diurnas é ao anoitecer, uma vez que, estão inativas e imóveis coincidindo com o período de maior atividade dos mosquitos. Para além disso, as interações entre as aves e os vetores são diferentes dependendo se a altura em que há maior abundância vetorial ocorre na mesma altura que a migração da Primavera, migração do Outono ou durante a reprodução das aves (Bicout e Balenghien, 2013).

- **Equinos**

Os equinos são animais particularmente suscetíveis à infecção pelo vírus do Nilo Ocidental (Bicout e Balenghien, 2013). Podem tornar-se infetados após a picada de um mosquito que carregue o vírus, mas não contribuem para a continuidade do ciclo de transmissão, uma vez que não desenvolvem virémia suficiente, seja em amplitude ou duração para infetar outros mosquitos (Barros *et al.*, 2017). O valor de virémia necessário para a infecção de mosquitos é de  $10^4 - 10^5$  UFP por ml (Pérez-Ramírez, Llorente e Jiménez-Clavero, 2014). Vários autores estudaram o valor de virémia nos equinos, sendo que o valor determinado foi sempre inferior ao necessário para transmitir a doença, o que indica não terem capacidade para transmitir o vírus (Suen *et al.*, 2014). Na maior parte dos casos, a infecção causada pelo Arbovírus é assintomática, mas em cerca de 10% dos casos, causa sintomatologia neurológica (Bicout e Balenghien, 2013). A doença foi observada em várias raças de equinos, numa larga distribuição de idades, o que indica que estes fatores não influenciam a suscetibilidade à infecção. No entanto, num estudo realizado com equinos infetados por VNO, as fêmeas demonstraram uma probabilidade de letalidade 2,9 vezes maior que os machos. Para além disso, a taxa de letalidade é maior nos equinos mais velhos, a qual pode ser justificada por diferenças a nível imunológico (Angenvoort *et al.*, 2013).

Pelo facto de esta espécie não apresentar virémia elevada, a manipulação da amostra de sangue ou a realização de necropsias não acarreta um elevado risco, desde que sejam tomadas as precauções devidas (Wilkins e Del Piero, 2004).

### 3.1.4 – Sinais clínicos

#### 3.1.4.1 – Aves

Algumas espécies de aves transportam o vírus de forma assintomática enquanto outras podem desenvolver sinais clínicos (Rovid-Spicker, 2013). As aves que desenvolvem a doença podem apresentar vários sinais clínicos inespecíficos, como depressão, letargia e penas arrepiadas (Flores e Weiblen, 2009). Para além dos sinais inespecíficos, podem ter alguns sinais neurológicos, sendo que, cerca de 60% das aves infetadas podem apresentar convulsões, cerca de 30% pode exibir ataxia, movimentos da cabeça e torcicolo e, por fim, cerca de 20% pode ter tremores, incoordenação e parésia (Gamino e Höfle, 2013). Em alguns casos, podem surgir sinais clínicos relacionados com o sistema oftalmológico, nomeadamente nistágmus e cegueira (Rovid-Spicker, 2013). A taxa de mortalidade é geralmente alta, sendo que o óbito ocorre em menos de 24h (Flores e Weiblen, 2009).

Em relação às aves silvestres, os sinais clínicos não estão bem descritos, uma vez que normalmente são encontradas mortas. Porém, podem ser observadas várias lesões na necropsia associadas à infeção (Rovid-Spicker, 2013). Foram descritas várias lesões tanto macroscópicas como microscópicas, sendo importante analisar cada uma de forma individual e, posteriormente, no seu conjunto (Rovid-Spicker, 2013):

- **Macroscópico:** a conformação corporal é um dos aspetos que deve ser avaliado, sendo que algumas aves podem apresentar uma aparência magra ou caquética, enquanto outras, podem exibir boa condição corporal. Para além da conformação, podem observar-se outras lesões como hemorragia, petéquias, congestão em vários órgãos, esplenomegalia, hepatomegalia, palidez do miocárdio e consistência diminuída no fígado, baço ou rim. No entanto, nenhuma lesão macroscópica é patognomónica da infeção por VNO. Do mesmo modo, as lesões descritas não são consistentes entre as espécies, mesmo quando as aves pertencem à mesma família. Para além disso, o número de aves cujas lesões foram reportadas são limitadas, o que pode contribuir para uma alta variabilidade.
- **Microscópica:** podem ser detetadas várias lesões histopatológicas na maioria dos órgãos (baço, coração, fígado e rim), porém, as lesões são geralmente observadas no sistema nervoso central derivadas da polioencefalomielite. Os achados podem incluir infiltrados linfoplasmocitário e histiocitário, hemorragia, degeneração e necrose celular. No entanto, o padrão e a gravidade das lesões descritas tendem a variar de acordo com a espécie de ave e o tempo de duração da doença. Ou seja, podem ser encontradas lesões agudas com reações inflamatórias mínimas, em aves que tenham tido uma letalidade rápida, enquanto que em aves com maior duração de infeção clínica, podem ser observadas lesões crónicas, incluindo lesões no sistema nervoso central. As lesões

graves do SNC nem sempre são encontradas em aves com sinais neurológicos (Rovid-Spicker, 2013).

### 3.1.4.2 – Equinos

Os equinos são a espécie animal, de entre os vários mamíferos domésticos, que desenvolve de forma mais rápida os sinais clínicos de infeção (Salazar *et al.*, 2004). Os sinais clínicos podem ser inespecíficos, mas são, principalmente, sinais neurológicos. No entanto, apenas 10% dos equinos infetados apresenta sinais clínicos (Ward *et al.*, 2006; Barros *et al.*, 2017).

No início do processo infeccioso, os sinais clínicos não sugerem nenhuma afeção do foro neurológico, pois são sinais descritos como hipertermia, depressão, perda de apetite ou cólica (Barros *et al.*, 2017). A primeira fase febril pode ter uma duração de três a seis dias (Bicout e Balenghien, 2013). Com o desenvolver da doença viral, surgem então os sinais neurológicos, os quais podem persistir durante cinco a 30 dias (Barros *et al.*, 2017). Estes ocorrem devido a lesões que surgem no sistema nervoso, com uma extensão desde o rombencéfalo e mesencéfalo até à espinal medula sacral (Wamsley *et al.*, 2002; Castillo-Olivares e Wood, 2004). Os sinais neurológicos estão descritos na tabela 19 divididos por sinais mais comuns, menos comuns e secundários devido a lesão aguda de polioencefalomielite, déficit motor do nervo facial (VII), glossofaríngeo (IX) e hipoglosso (XII) e lesões adquiridas por decúbito prolongado, respetivamente (Castillo-Olivares e Wood, 2004; Rovid-Spicker, 2013):

Tabela 19: Sinais clínicos neurológicos mais e menos comuns e sinais clínicos secundários associados a infeção pelo vírus da febre do Nilo Ocidental

Sinais mais comuns	Sinais menos comuns	Sinais secundários
Ataxia	Fraqueza ou paralisia da face	Infeções pulmonares
Incoordenação	Fraqueza ou paralisia da língua	
Convulsões	Disfagia	
Paralisia de um ou mais membros posteriores		
Fasciculações da pele		
Tremores musculares		
Rigidez muscular		
Bruxismo		

A infeção viral causada pelo VNO pode levar a hipersensibilização, e em certos casos “servir como estimulador”, levando a que os animais apresentem reações exageradas ao contacto. A sedação ou tranquilização, com doses recomendadas de sedativos ou

tranquilizantes, respectivamente, pode ser difícil de obter sendo essencial administrar doses superiores e com maior frequência para estabilizar e controlar os sinais clínicos nos equinos (Wilkins e Del Piero, 2004).

Para além dos sinais clínicos antemortem, foram descritas algumas lesões postmortem aquando da realização da necropsia. Tal como nas aves, foram reportadas lesões macroscópicas e histológicas. As lesões macroscópicas extraneurais são incomuns, portanto as regiões afetadas são limitadas a pequenas áreas na espinal medula e tronco encefálico. Surgem lesões multifocais de descoloração e hemorragia na medula (figura 36) e, para além disso, é possível observar lesões de congestão nas meninges, em casos agudos (Rovid-Spicker, 2013).

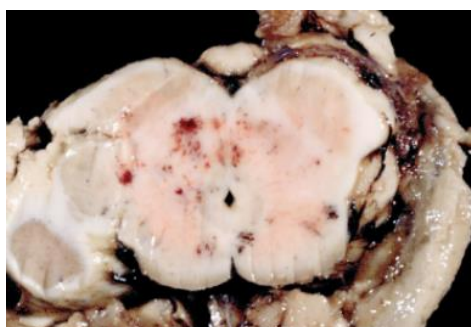


Figura 36: Mesencéfalo de equino infetado com VNO apresentando petéquias multifocais (Wilkins e Del Piero, 2004)

As lesões histológicas são caracterizadas por um infiltrado mononuclear perivascular, geralmente linfoplasmocitário, encontrado no parênquima do SNC e à volta das leptomeninges (Bicout e Balenghien, 2013). Apesar das lesões incluírem acumulações perivasculares celulares de linfócitos e macrófagos, geralmente, não é possível identificar acumulações virais nas paredes dos vasos. Nos casos mais graves podem ser identificados vários focos virais dispersos na microglia, degeneração dos neurónios associado a edema citoplasmático dos mesmos e cromatólise (figuras 37A, 37B e 37C) (Castillo-Olivares e Wood, 2004). Estas lesões são encontradas principalmente no tronco cerebral e na espinal medula, e são menos comuns no córtex cerebral e cerebelo (Rovid-Spicker, 2013). Estas imagens representadas na figura 37 podem ser observadas por teste imunohistoquímico utilizando a técnica da peroxidase indireta e coloração hematoxilina-eosina, com amostras de tecidos (Wilkins e Del Piero, 2004). Em relação às lesões histopatológicas fora do sistema nervoso central foram descritas várias lesões, que incluem miocardite de baixa severidade e não supurativa e hemorragias dispersas na medula renal (Rovid-Spicker, 2013).

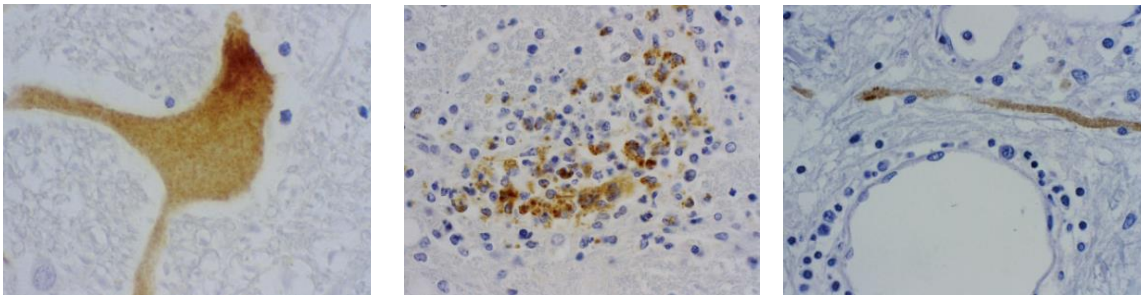


Figura 37: A - Núcleo de neurónio no tronco cerebral de equino com cromatólise e acumulação de VNO intracitoplasmática; B - Espinhal medula de equino com infiltração focal severa de neutrófilos na glia e VNO intracitoplasmática em células da glia e neutrófilos; C - Espinhal medula de equino com infiltração linfocítica perivascular e fibras infectadas. Imagens histológicas observadas por teste imunohistoquímico utilizando a técnica da peroxidase indireta e coloração hematoxilina-eosina (Wilkins e Del Piero, 2004)

Os equinos que sobrevivem à fase aguda tendem a recuperar totalmente. O processo de recuperação, geralmente, começa alguns dias após o início dos sinais clínicos (Rovid-Spicker, 2013) e pode demorar vários meses até que a função total seja recuperada (Wilkins e Del Piero, 2004). Cerca de 10 a 20% dos equinos podem ficar com sequelas tais como fraqueza nos membros, baixa tolerância ao exercício, atrofia muscular devido ao excesso de decúbito e alterações comportamentais. Alguns equinos podem morrer de forma espontânea, mas a maior parte das mortes ocorrem na sequência de eutanásia por apresentarem sinais clínicos muito graves, representando perigo para o animal e para quem o rodeia (Rovid-Spicker, 2013). É sugerido que os equinos sejam mantidos num ambiente calmo e com poucos estímulos externos, para que seja possível uma estabilização dos mesmos e uma recuperação mais eficiente (Wilkins e Del Piero, 2004).

### 3.1.5 – Diagnóstico

O diagnóstico antemortem é baseado na união de vários pontos principais, tais como, considerações epidemiológicas, sinais clínicos e técnicas laboratoriais de diagnóstico. Existem vários critérios epidemiológicos que podem ser indicadores de suspeita de infecção por vírus do Nilo Ocidental, tais como, a localização geográfica, a presença de potenciais vetores na área, a existência de casos clínicos reportados na área e a existência de aves no mesmo nicho ecológico (Pellegrini-Masini e Livesey, 2006). Para além disso, os sinais clínicos permitem um diagnóstico clínico presuntivo, uma vez que existem sinais clínicos semelhantes entre animais, nomeadamente a hipersensibilidade a estímulos e espasmos musculares (Wilkins e Del Piero, 2004). Apesar de serem frequentes, estes sinais clínicos não são patognomónicos (MacLachlan *et al.*, 2016). Logo deve ser realizada uma lista de outros diagnósticos diferenciais como encefalomielite equina oriental (EEE), raiva, meningite bacteriana, mieloencefalite por herpes,



encefalomielite protozoária equina (EPM) para além das infestações por *Halicephalobus gingivalis* (Wilkins e Del Piero, 2004). Para auxiliar o diagnóstico deve-se associar os pontos referidos anteriormente com as várias técnicas laboratoriais de diagnóstico de uma infeção viral, tais como (Rovid-Spicker, 2013):

- 1- Isolamento do vírus;
- 2- Detecção de antígeno viral ou material genético (RNA);
- 3- Testes serológicos.

A utilidade de cada uma das técnicas varia com o grau de replicação do vírus no hospedeiro, ou seja, com os níveis de virémia (Rovid-Spicker, 2013). Em hospedeiros com virémia alta, o diagnóstico pode ser realizado, com grande especificidade e sensibilidade, durante a fase virémica da infeção através da deteção de RNA viral no sangue, urina ou líquido cefalorraquidiano (Castro-Jorge *et al.*, 2019). No entanto, no caso dos equinos, como já foi referido, estes níveis são baixos e de curta duração, com uma duração de apenas seis dias, logo, o diagnóstico é, geralmente, confirmado por serologia ou pela deteção histológica do vírus no cérebro e na espinal medula, em amostras obtidas por necropsia (Rovid-Spicker, 2013; Barros *et al.*, 2017). No entanto, é importante realizar uma interpretação dos resultados serológicos de uma forma cuidada, pois o uso recorrente de vacinas, juntamente com os vários anos de exposição natural, podem levar a falsos positivos (Kleiboeker *et al.*, 2004).

O isolamento do vírus é o teste de diagnóstico de eleição, quando este é possível. O vírus pode ser recuperado *in vitro* em vários tipos de materiais tais como líquido cefalorraquidiano, sangue ou tecidos. Os tecidos podem ser constituídos por culturas celulares com células epiteliais renais obtidas a partir do macaco-verde Africano (VERO), células renais recolhidas do coelho (RK-13) ou células de mosquitos. No entanto, o efeito citopático do vírus não é sempre evidente, principalmente nas células de mosquito, o que implica testes que complementem o diagnóstico, nomeadamente a imunofluorescência indireta. Esta utiliza anticorpos monoclonais com elevada especificidade para o VNO (Castillo-Olivares e Wood, 2004). Em aves, o VNO pode ser encontrado em amostras sanguíneas, mas, é maioritariamente isolado aquando da necropsia onde são recolhidas amostras a partir do SNC e órgãos principais, como o coração e o fígado. Nos equinos, o isolamento do vírus a partir de amostras de sangue não é fácil, sendo as amostras recolhidas do cérebro e da espinal medula durante a necropsia, a fonte que proporciona mais facilmente o isolamento. As desvantagens para o isolamento viral são o consumo de tempo, a exigência de um laboratório de contenção que contenha o nível 3 de biossegurança e o facto de não estar amplamente disponível em laboratórios de diagnóstico (Rovid-Spicker, 2013).

Alternativamente, a presença do vírus pode ser confirmada pela deteção dos ácidos nucleicos onde são realizados testes de amplificação dos mesmos (Castillo-Olivares e Wood, 2004). A utilização da transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (PCR-RT) e as técnicas de amplificação de ácidos nucleicos baseadas numa sequência, são os

amplificadores mais comuns que permitem detetar o VNO, se a amostra da espécie for obtida precocemente na infeção (Hayes, Sejvar, *et al.*, 2005). Em algumas aves vivas, estas técnicas permitem detetar o RNA viral em secreções orais, da cloaca e/ou em amostras sanguíneas. Nos cavalos, a PCR-RT é mais útil com amostras de cérebro e espinal medula recolhidas em necropsia. Embora o RNA viral possa ser encontrado no sangue de equinos infetados assintomáticos, geralmente deixa de ser detetável quando os sinais neurológicos aparecem, pois o nível de unidades formadoras da placa diminui rapidamente (Rovid-Spicker, 2013).

Existem vários testes que podem ser utilizados para detetar antigénios do VNO. A imunohistoquímica é frequentemente usada em amostras de tecido do SNC como cerebelo, espinal medula e córtex cerebral, recolhidas durante a necropsia (Castillo-Olivares e Wood, 2004). Um estudo realizado em 2004, demonstrou que independentemente do tecido analisado, não há diferenças significativas nos resultados finais, o que significa que as técnicas de necropsia mais difíceis, como a recolha da espinal medula, não proporcionam vantagens significativas em relação à recolha dos restantes tecidos (Kleiboeker *et al.*, 2004). A técnica de imunohistoquímica utiliza anticorpos monoclonais específicos para o VNO associados a uma enzima que permite corar os antigénios virais, tais como as proteínas virais que constituem o genoma (Castillo-Olivares e Wood, 2004). Os testes ELISA de captura do antígeno também podem ser utilizados com o mesmo propósito. No entanto não são muito úteis em tecidos de equinos, devido à baixa concentração viral (Rovid-Spicker, 2013).

Uma vez que os equinos são hospedeiros cuja virémia não é elevada, o isolamento viral é mais difícil. Logo, dentro das várias técnicas descritas anteriormente, os testes sorológicos são os mais comumente utilizados, medindo a presença de anticorpos no sangue (Rovid-Spicker, 2013). O diagnóstico pela deteção dos anticorpos, ou imunoglobulinas, específicas para o VNO, possui algumas desvantagens tais como extenso trabalho laboratorial, elevado consumo de tempo e a existência de cavalos vacinados ou que já tenham contactado com o agente anteriormente, levando a falsos positivos. Para além disso, a maior limitação é a possível existência de reações cruzadas com outros flavivírus, não permitindo um diagnóstico eficiente. Os testes mais utilizados para o diagnóstico incluem testes de ELISA, teste de inibição da hemaglutinação (IH), teste de fixação do complemento e teste de neutralização viral. A deteção das imunoglobulinas M (IgM) em amostras simples de sangue ou do líquido cefalorraquidiano possui elevada relevância diagnóstica, uma vez que as IgM específicas aparecem na circulação na primeira semana após a infeção e desaparecem aos três meses. Este resultado positivo indica que estamos perante uma infeção recente, o que permite um diagnóstico específico da doença. Já um resultado positivo na deteção das imunoglobulinas G (IgG), tem maior probabilidade de originar falsos positivos, na medida em que os anticorpos podem durar até 15 meses após a infeção. Para que a deteção deste tipo de anticorpos seja específica, é necessário realizar amostras emparelhadas com 14 dias de intervalo, onde se considera indicativo de infeção recente a existência de um aumento de quatro vezes no título de IgG. Por essa razão a deteção

de imunoglobulinas G têm sido utilizadas principalmente para estudos científicos (Castillo-Olivares e Wood, 2004).

Os testes de inibição da hemaglutinação, fixação do complemento e de neutralização viral possuem métodos baseados no mesmo princípio. São utilizados anticorpos específicos para o vírus. Caso a amostra recolhida tenha a presença de anticorpos, uma segunda fase dos testes permite diferenciar o teste positivo de negativo devido à ausência de hemaglutinação, ausência de hemólise e ausência de efeito citopático, respetivamente (Rosa *et al.*, 1994). O teste ELISA permite a deteção dos anticorpos IgM por ELISA no soro ou no líquido cefalorraquidiano, recolhido aos cinco ou oito dias após o início dos sinais clínicos, respetivamente (Castro-Jorge *et al.*, 2019). Este teste permite detetar as IgM específicas a partir de um anti anticorpo IgM ligado a uma placa de microtitulação (Castillo-Olivares e Wood, 2004). É um teste mais sensível que o teste de inibição da hemaglutinação, é rápido e menos dispendioso (Joó *et al.*, 2017). O teste de neutralização é o mais específico entre os vários, uma vez que impede essas reações cruzadas e permite confirmar testes anteriores realizados por ELISA. Porém, este teste deve ser realizado num laboratório de biossegurança nível 3 (Rovid-Spicker, 2013).

Para além destes testes, existe um adicional que pode ser utilizado para diagnosticar o VNO. Este é um teste ELISA baseado na procura de uma proteína recombinante do envelope. O envelope com proteína E possui 3 domínios antigénicos e é responsável por características biológicas virais como o tropismo, ligação celular, virulência e antigenicidade como já foi referido. O teste de ELISA reconhece as imunoglobulinas M e G, específicas contra a proteína E do envelope (Pellegrini-Masini e Livesey, 2006).

Em Portugal, os testes realizados passam por isolamento do vírus, deteção de ácidos nucleicos com amplificação por PCR-RT e ELISA para deteção de IgM.

Os testes sorológicos são bastante úteis em equinos vivos com sinais clínicos, onde são frequentemente usados para diagnosticar casos clínicos. Para um diagnóstico positivo e que seja conclusivo é necessário que ocorra pelo menos um dos pontos seguintes (Rovid-Spicker, 2013):

- Um aumento de quatro vezes no título de imunoglobulinas G específicas para o vírus do Nilo Ocidental no sangue;
- Deteção de imunoglobulinas M específica no líquido cefalorraquidiano;
- Deteção de imunoglobulinas M específica no sangue confirmada por imunoglobulinas G específica na mesma amostra.

As IgM são as primeiras imunoglobulinas a surgir, sendo que podem ser detetadas a partir do terceiro dia após inoculação. As IgG podem ser detetadas a partir do dia 10 após inoculação, sendo que a seroconversão ocorre ao quinto/sétimo dia (Bicout e Balenghien, 2013).

Antes de chegar a um diagnóstico definitivo, existem algumas alterações que podem ser detetadas aquando da realização de uma consulta geral. No entanto, não são alterações patognomónicas e é sempre necessário que sejam realizados os testes laboratoriais descritos anteriormente para que haja um diagnóstico definitivo.

A abordagem inicial deve incluir hemograma, análises bioquímicas e análise do fluido cefalorraquidiano. A maior parte dos resultados, como o do hemograma e do perfil bioquímico vão estar dentro dos valores fisiológicos sendo que se podem identificar pequenas alterações como uma ligeira linfopenia e aumento da concentração das enzimas musculares, secundariamente ao trauma ou tempos prolongados de decúbito (Long *et al.*, 2002). A análise do líquido cefalorraquidiano pode adicionar informações ao diagnóstico, pois este é suscetível de sofrer alterações durante o desenvolver da doença, como pleocitose mononuclear, ou seja, o aumento do número de leucócitos, com predominância em linfócitos. No entanto, as alterações não são patognomónicas da mesma (Pellegrini-Masini e Livesey, 2006). Para além disso, a recolha de uma amostra de LCR num equino com sintomatologia neurológica não é fácil de executar. Logo, as amostras de LCR são utilizadas, principalmente, para testes serológicos posmortem, como pesquisa de IgM.

### **3.1.6 – Tratamento**

Atualmente não há nenhum tratamento específico para a infeção causada pelo vírus do Nilo Ocidental, mas pode ser efetuado um tratamento de suporte empírico e semelhante ao tratamento de outras afeções que cursam com polioencefalomielite viral (Pellegrini-Masini e Livesey, 2006; Rovid-Spicker, 2013). A maior parte dos equinos mostram sinais de recuperação após três a cinco dias do começo dos sinais clínicos, sendo que, em certos casos com sinais mais leves, podem até recuperar sem tratamento. O tratamento de suporte tem como objetivo reduzir a inflamação do SNC, prevenir lesões autoinfligidas e os efeitos secundários resultado de um decúbito prolongado (Rovid-Spicker, 2013). Esse tratamento inclui fluidoterapia endovenosa, quando o equino não se está a hidratar de forma adequada, prejudicando a homeostasia do organismo (Pellegrini-Masini e Livesey, 2006). Inicialmente podem ser administrados fluídos isotónicos, de modo a restabelecer os desequilíbrios hidrolíticos, no entanto, deve-se ter cuidado com o excesso de fluidos, pois a hiperhidratação pode levar a edema cerebral ou pulmonar quando os equinos estão em decúbito (Bicout e Balenghien, 2013). Outro ponto crucial no tratamento é reduzir a inflamação do sistema nervoso central. O uso de anti-inflamatórios não-esteroides resulta numa diminuição da severidade dos tremores musculares e fasciculações da pele, após umas horas da administração. O fármaco mais utilizado para este feito é a flunixin meglumina na dose de 1,1 mg/kg a cada 12h IV. A terapia para equinos em decúbito deve ser mais agressiva e pode incluir corticosteroides, como a dexametasona sódica numa dose compreendida entre 0,05-0,1 cada 24h IV, e diuréticos. como o manitol numa dose de 0,25-2,0 mg/kg cada 24h IV. Apesar da utilização de corticosteroides poder ser controversa como terapia médica, vários estudos realizados não verificaram um agravar da doença ou alteração do desfecho da mesma com a utilização dessa medicação

(Salazar *et al.*, 2004). Para prevenir lesões autoinfligidas, pode ser necessário recorrer à sedação ou tranquilização. Para a sedação pode ser administrada detomidina numa dose de 0,02-0,04 mg/kg cada 24h IV e acepromazina numa dose de 0,02 mg/kg IV ou 0,05 mg/kg IM (Long *et al.*, 2002).

Foi referido que a manifestação dos sinais clínicos está ligada a fatores do hospedeiro, particularmente a resposta imune inata. Esse facto levou à realização de vários estudos para averiguar se a implementação de componentes da resposta imunitária na terapia médica, pode interferir no desenvolvimento da infeção. O interferão alfa é uma proteína natural, com ação reguladora no sistema imunitário, promovendo a defesa na primeira linha contra infeções virais. Pode ser incluída nos fármacos imunoterapêuticos para o tratamento, uma vez que, gera um ambiente intracelular inadequado à replicação viral. Para além disso, o interferão pode interagir com várias células do sistema imunitário inato e participar na transição para uma resposta imune adaptativa efetiva, ao potenciar as respostas imunitárias por células T citotóxicas, aquando da apresentação aos antígenos e atuando em sinergismo com os anticorpos produzidos pelas células B (Jackson, 2004). Foram realizados alguns testes *in vitro* onde é provado que o interferão alfa pode inibir a citotoxicidade induzida pelo agente etiológico (Pellegrini-Masini e Livesey, 2006). *In vivo* também já foi testada a sua eficácia, em alguns casos clínicos com equinos, numa dose de  $3 \times 10^6$  U, cujos resultados foram positivos (Wilkins e Del Piero, 2004). Para além do interferão, foram sugeridas várias hipóteses de tratamentos médicos como a introdução de imunoglobulinas antivírus do Nilo Ocidental. Apesar de se saber que o vírus é suscetível às respostas imunitárias mediadas por anticorpos específicos, ainda não é conhecido o efeito que a introdução externa dos mesmos anticorpos possa ter no desenvolvimento da infeção (Jackson, 2004).

Por fim, existe um fármaco antiviral, a ribavirina, que possui propriedades imunomoduladoras e que pode ser utilizado contra a infeção do VNO. É um fármaco antiviral composto por um análogo sintético de um nucleósido e mutagénico de RNA com atividade contra viroses severas. Este medicamento tem várias propriedades antivirais, onde foi demonstrado, *in vitro*, que possui atividade contra a infeção do VNO. No entanto, a sua eficácia ainda não foi testada em ensaios clínicos, com modelos animais infetados pelo vírus. Existem várias descrições de falhas de eficácia, noutras infeções virais, que podem dever-se à elevada dificuldade da passagem do princípio ativo pela barreira hematoencefálica (Jackson, 2004).

### **3.1.7 – Controlo e prevenção**

Os primeiros casos de infeção por vírus do Nilo Ocidental não eram considerados uma afeção com repercussões na saúde pública. Compreendia uma infeção predominante nas aves, após a picada de um mosquito infetado e que, raramente, podia atingir humanos ou equinos. A partir dos anos 90, o número de episódios clínicos, assim como a sua severidade, aumentaram levando a uma maior preocupação pelas entidades superiores da saúde (Castillo-Olivares e

Wood, 2004). O facto de aumentar o número de casos clínicos em animais levou à necessidade de implementação de uma vigilância mais cuidada e ativa, uma vez que são um aviso de que os seres humanos podem estar em risco de infeção pelo mosquito (Rovid-Spicker, 2013). Como ainda não existem tratamentos específicos para a doença, é importante apostar na prevenção e controlo da mesma. As estratégias incluem vacinas, redução da circulação do vírus através do controlo das populações de mosquitos e reduzir o contato entre mosquitos infetados e os equinos utilizando desparasitantes externos, sendo referido nas páginas mais à frente (Castillo-Olivares e Wood, 2004).

### 3.1.7.1 – Vacinas

Existem várias vacinas que protegem os equinos contra a infeção do VNO, tais como vacinas inativadas, vacinas vivas atenuadas e vacinas recombinantes (Castillo-Olivares e Wood, 2004). Para equinos que nunca foram vacinados para o vírus, a primovacinação inclui uma série de duas inoculações, administradas com três semanas de intervalo, onde a proteção máxima é conferida três a quatro semanas após a segunda inoculação. Após a primovacinação, deve ser realizado um reforço anual, dentro do intervalo dos seis meses, durante a estação em que há maior atividade do vetor. Nas regiões cujo clima é mais quente, é sugerido um reforço a cada quatro a seis meses nos meses da atividade do mosquito (Anderson, 2008). Em relação aos neonatos nascidos de mães vacinadas, deve realizar-se a primovacinação aos seis meses de idade (duas inoculações com três semanas de intervalo), enquanto que nos neonatos cujas mães não foram vacinadas, a primovacinação deve ser realizada com uma série de três inoculações iniciada aos três meses de idade (Anderson, 2008). Estas diferenças nas datas de início da vacinação devem-se à presença, ou não, de anticorpos maternos contra o vírus do Nilo Ocidental, adquiridos por transferência de imunidade passiva.

Um estudo, realizado em 2017, testou a resposta imunitária após aplicação do protocolo vacinal, tendo obtido resultados que indicaram uma duração de proteção imunitária inferior a um ano após a primovacinação. Logo, o autor do mesmo estudo, sugeriu que o primeiro reforço deveria ser efetuada mais cedo (Joó *et al.*, 2017).

As vacinas inativadas são preparadas a partir de cérebro de rato ou cultura de tecidos *in vitro*, seguida de inativação por processos químicos utilizando formalina, ou seja, solução aquosa de formaldeído diluído a 45%, ou betapropiolactona. Estas vacinas permitem a indução da resposta imunológica, mas não têm a capacidade de se multiplicar e causar doença. No entanto possuem várias desvantagens, tais como não conseguirem promover a imunidade celular, sendo a resposta vacina assegurada apenas pela imunidade humoral: por consequência, necessitam de altos níveis de anticorpos para conseguirem a proteção contra a infeção (Castillo-Olivares e Wood, 2004). Para além disso, há o risco do processo de inativação ser incompleto, ser necessário a produção a larga escala do agente infeccioso e a ativação da resposta imunitária ser lenta (Minke *et al.*, 2004).

As vacinas vivas atenuadas e as vacinas de DNA têm a capacidade de estimular a resposta imunitária celular, sendo uma vantagem em relação às anteriores. Porém, as vacinas vivas têm uma desvantagem grande pois, pelo facto de serem vivas, não há controlo de possíveis mutações que possam levar à ativação de uma variante virulenta, quando o vírus é inoculado no hospedeiro (Castillo-Olivares e Wood, 2004).

As vacinas recombinantes mais antigas eram construídas a partir do DNA complementar (cDNA) do vírus da febre amarela uma vez que proporcionavam uma proteção contra o VNO. Esta tem a vantagem de estimular a imunidade humoral e celular ao administrar uma única dose e tem a capacidade de produzir respostas imunitárias a longo prazo devido à produção de células de memória. A vacina mais recentemente aprovada, é uma vacina recombinante do vírus Canarypox (vírus da Varíola dos Canários) (Castillo-Olivares e Wood, 2004). Este *poxvirus* é utilizado em vacinas, uma vez que reúne várias características favoráveis para esta estratégia, tais como, a facilidade de manipulação do mesmo, o elevado tropismo celular, a capacidade de suportar a inclusão de grandes quantidades de material genético exógeno e o facto de a síntese proteica ocorrer em níveis elevados (Ciesielski, 2008). Para além disso, foi demonstrado que a vacina de Canarypoxvirus recombinante consegue expressar os genes exógenos inseridos sem que ocorra replicação viral. Este fenómeno possui grandes vantagens uma vez que fornece uma segurança acrescida na vacinação, pois não permite a transmissão viral (Minke *et al.*, 2004). Um estudo realizado em 2004 indicou que a vacina recombinante consegue induzir uma resposta imunitária rápida contra o VNO com a administração de uma única dose dentro dos 26 dias após a administração IM, em equinos, o que pode ser crucial quando a vacinação é realizada num período próximo à temporada de maior exposição ao vírus (Siger *et al.*, 2004).

Existem três tipos de vacinas comercializadas em Portugal, nomeadamente Equilis West Nile® (Flavivírus quimérico inativado), Proteq West Nile® (vírus recombinante canarypox) e Equip WNV® (VNO inativado). As três vacinas são responsáveis por reduzir os sinais clínicos da doença e reduzir o número de equinos virémicos, garantindo a imunidade durante 12 meses após a primovacinação (DGAV, 2015). Em relação ao esquema vacinal, a Equilis West Nile® indica uma primovacinação com a primeira inoculação a partir dos seis meses de idade, seguida da segunda três a cinco semanas após a primeira. É previsto um início da imunidade após duas semanas da primovacinação ter sido completada. As restantes vacinações devem ocorrer anualmente (EMA, 2018). A vacina Proteq West Nile® possui um esquema vacinal semelhante ao anterior, em que a primeira inoculação deve ser realizada a partir dos cinco meses de idade, seguida de uma segunda quatro a seis semanas mais tarde. Tal como a anterior, a revacinação deve ser anual. Esta vacina indica um início da imunidade quatro semanas após a primeira inoculação da primovacinação (EMA, 2016). A vacina Equip WNV® possui um protocolo vacinal idêntico à vacina Equilis West Nile®, no entanto, é previsto um início da imunidade após três semanas da primovacinação ser concluída (EMA, 2013).

Minke, em 2004, realizou um estudo para avaliar a eficácia de uma vacina recombinante do vírus Canarypox onde foram introduzidos genes que expressam as proteínas pré-

membranares (prM) e do envelope (E) do vírus do Nilo Ocidental. O estudo permitiu averiguar que esta técnica potencia a expressão das proteínas virais características do VNO, induzindo a produção de anticorpos neutralizantes do vírus específico. Desta forma, a vacina tem a capacidade de induzir a imunidade nos equinos e proporcionar proteção contra o VNO. Para além disso, foram testadas várias condições importantes tais como (Minke *et al.*, 2004):

- Não foram isolados Canarypoxvirus a partir do sangue, fezes ou descargas nasais após a vacinação;
- A infeção após a vacinação foi monitorizada, onde os equinos apresentaram níveis baixos de virémia e ausência de sinais clínicos;
- A proteção imunitária persistiu durante um ano após a vacinação.

A avaliação da eficácia vacinal em campo nem sempre é fácil, uma vez que os testes serológicos sequenciais ou a observação de sinais clínicos podem ser limitados. Um método diferente de avaliar a resposta imunitária pela vacina é comparar as concentrações de anticorpos induzidos pela vacinação e induzidos por exposição natural. Davidson, em 2005, foi responsável por estudar a hipótese de que não haveria diferença entre o título de anticorpos neutralizantes após a vacina contra o VNO e o título de anticorpos neutralizantes após a infeção natural seja a curto ou longo período. Para além disso, também se dedicou a investigar se haveria alguma associação entre o título de anticorpos e a idade, sexo ou raça do equino (Davidson *et al.*, 2005).

A primeira etapa do estudo averiguou que tanto nos equinos vacinados como nos equinos recuperados de infeção natural, o título de anticorpos atingiu o seu pico mais elevado entre as quatro e seis semanas após o reforço vacinal e após o início da doença, respetivamente. Para além disso, foi avaliada a resposta imunitária após uma única dose de uma vacina morta cujos resultados demonstraram que cerca de 66% dos equinos desenvolveram anticorpos neutralizantes detetáveis. A vacina também foi avaliada a longo prazo, ao monitorizar o título de anticorpos neutralizantes entre as quatro e seis semanas, e cinco a sete meses após a segunda vacina da primovacinação. No primeiro controlo, não foram detetados anticorpos neutralizantes em cerca de 14% dos equinos enquanto que no segundo controlo esse valor corresponde a 29% (Davidson *et al.*, 2005).

A segunda etapa permitiu compreender que existe uma relação complexa entre o hospedeiro e a sua resposta imunitária à vacina, onde são envolvidos múltiplos fatores do hospedeiro e da vacina. Neste estudo observou-se que existe uma diferença da eficiência do sistema imunitário em resposta à vacina em relação à idade dos equinos. Uma larga percentagem de equinos vacinados, com idade inferior a dez anos, desenvolveu uma resposta de anticorpos neutralizantes elevado, enquanto os equinos com mais de 10 anos demonstraram respostas de anticorpos mais baixa. Este achado pode dever-se a mecanismos que estão envolvidos em alterações no desenvolvimento das células B, levando a diminuição na produção dos anticorpos em equinos com idades mais avançadas. As modificações no sistema imunitário induzem que os equinos mais velhos possuem maior taxa de mortalidade por infeção do VNO, o



que reforça a necessidade de procurar estratégias de prevenção para o controlo do vetor (Davidson *et al.*, 2005).

### 3.1.7.2 – Controlo dos vetores

O controlo dos vetores responsáveis por transmitir o vírus do Nilo Ocidental é um pilar essencial na prevenção da doença. Existem várias estratégias que se podem adotar atuando a nível das populações de mosquitos ou a nível da proteção dos equinos. É possível destacar alguns pontos onde se pode incidir para que o ciclo de vida do mesmo seja interrompido tais como:

- Limpeza de áreas à volta dos estábulos ou *paddock* para evitar aglomerações de ervas, fezes e outros materiais orgânicos para eliminar os locais de abrigo aos mosquitos adultos (Rovid-Spicker, 2013);
- Eliminar ou limpar materiais possíveis de acumular águas paradas tais como tanques, vasos, baldes ou pneus usados (Rovid-Spicker, 2013);
- Introduzir em lagoas populações de peixes como a espécie *Gambusia affinis* que se alimentam de mosquitos (Rovid-Spicker, 2013);
- Desmanchar as piscinas de plástico quando não estiverem a ser utilizadas ou realizar limpezas com cloro (Anderson, 2008);

Com as medidas descritas anteriormente, é possível remover os locais onde a reprodução dos mosquitos decorre assim como impedir que haja aglomerações populacionais dos mosquitos adultos. No entanto, também é possível atuar na prevenção da infeção ao impedir que os equinos estejam em contato com os mosquitos. As medidas descritas a seguir devem ser combinadas para que, em conjunto, proporcionem a melhor segurança:

- Utilizar repelentes tópicos durante a estação de risco, porém devem ser aprovados para a espécie para serem o mais seguros possíveis (Rovid-Spicker, 2013).
- Estabular os equinos à noite pois corresponde ao período de maior atividade vetorial (Castillo-Olivares e Wood, 2004)
- Evitar ligar as luzes dentro dos estábulos durante o final da tarde e à noite (Anderson, 2008);
- Colocar luzes incandescentes à volta do perímetro dos estábulos de modo a atrair os vetores para longe dos equinos (Anderson, 2008).
- Utilização de redes mosquiteiras nos estábulos, pois estes não são bons voadores (Rovid-Spicker, 2013);
- Realizar nebulizações das instalações ao anoitecer para reduzir o número de mosquitos (Anderson, 2008)

## 3.2 Estudo Epidemiológico

### 3.2.1 – Introdução

O vírus do Nilo Ocidental é um agente patogénico, responsável pelo surgimento de vários episódios clínicos na Europa, estando também registado em Portugal. Apesar de os equinos não serem um hospedeiro amplificador, são suscetíveis de se infetarem e desenvolverem doença clínica (Barros *et al.*, 2017). Os casos clínicos reportados são de grande importância, uma vez que indicam que o vírus está a circular na região em questão e, embora possa não estar diretamente associado à infeção dos seres humanos, pode incrementar o risco na saúde pública.

Conhecer o estado sanitário de cada país referente ao VNO é um pilar importante, de modo a implementar as medidas de prevenção e controlo mais adequadas a cada situação. A organização mundial da saúde animal (OIE) permite esse conhecimento, ao divulgar os casos de cada um dos 182 países membros. Cada surto é documentado com a data de início e a localização do mesmo, o que permite estudar a distribuição e perceber a sua evolução nos últimos anos. Para além da OIE existe outra organização, o Centro Europeu de Prevenção e Controlo das Doenças (ECDC), que também dispõe de boletins sanitários onde divulga os surtos equinos e humanos e a localização dos mesmos semanalmente.

### 3.2.2 – Objetivos

Os objetivos deste estudo foram:

- Descrever a evolução da distribuição da infeção pelo VNO na Europa e, em particular, Portugal, entre 2017 e 2019;
- Avaliar a evolução dos fatores abióticos (temperatura e precipitação) na Europa entre 2017 e 2019;
- Avaliar se existe alguma associação entre as condições meteorológicas (temperatura e precipitação) e os países onde se confirmaram casos clínicos em equinos;
- Caracterizar a metodologia seguida pelos Médicos Veterinários de equinos, em Portugal, aquando de um caso suspeito.

### 3.2.3 – Material e métodos

Para a realização do presente trabalho foram recolhidos os dados referentes ao número de casos de Vírus do Nilo Ocidental na Europa em duas plataformas. A primeira corresponde ao Centro Europeu de Prevenção e Controlo das Doenças, onde os dados estão inseridos no Sistema de Notificação das Doenças Animais (ADNS). A segunda corresponde à Organização Mundial da Saúde Animal, cujos dados, a partir de 2004, estão inseridos no Sistema de Informação da Saúde Animal Mundial (WAHIS). Cada ficha de notificação possui várias

informações adicionais, como a data inicial da notificação e o desfecho de cada caso confirmado bem como outras informações relevantes, como sinais clínicos ou história pregressa de cada um. Foram recolhidos os dados compreendidos entre 2017 e 2019. Para além disso, foram reunidos os mapas anuais associados aos surtos para avaliar a localização destes. Os dados foram colocados em tabelas para cada ano divididas por mês.

Foram recolhidos os dados referentes à temperatura média mensal ( $^{\circ}\text{C}$ ) e precipitação média mensal ( $\text{mm}^3$ ), dos países onde foram reportados surtos nos anos entre 2017-2019. Essas informações foram obtidas das páginas digitais dos centros meteorológicos de cada país, sendo registado a média mensal da temperatura e da precipitação. Nos casos onde havia um arquivo com um amplo leque de cidades, foi escolhida a cidade cuja localização era a mais próxima de cada caso registado no país e, nas restantes, foram recolhidos os únicos dados divulgados pela plataforma. Após a organização de todas as informações, calculou-se a média da temperatura e da precipitação utilizando a fórmula  $((V_1+V_2+V_3+V_n)/n)$ , onde “V” é o valor de temperatura ou precipitação e “n” é o número de valores recolhidos.

Para a análise estatística foi utilizado o programa Knime. Os dados foram agrupados em várias variáveis e foram executadas várias correlações utilizando o coeficiente de *Spearman*, de modo a avaliar o grau de correlação. As correlações escolhidas correspondem às seguintes:

- Temperatura entre 2017-2019 – Casos entre 2017-2019
- Temperatura 2017 – Casos 2017
- Temperatura 2018 – Casos 2018
- Temperatura 2019 – Casos 2019
- Precipitação entre 2017-2019 – Casos entre 2017-2019
- Precipitação 2017 – Casos 2017
- Precipitação 2018 – Casos 2018
- Precipitação 2019 – Casos 2019

O coeficiente de correlação de *Spearman* permite avaliar se duas variáveis estão relacionadas entre si. Este vai calcular o grau de correlação através de valores compreendidos entre -1 e 1, onde um valor próximo de 0 indica que não há relação. Para interpretar os valores obtidos é importante definir um nível de confiança ( $\alpha$ ) para ser possível avaliar o p-value. O nível de significância escolhido neste estudo foi de 5%. Ou seja, para valores de  $p\text{-value} < 0,05$  foi considerada a existência de significância estatística. Inicialmente foi calculado o coeficiente de correlação entre a classe da temperatura média mensal com o número de casos, sem distinguir o ano em que foi retirada a informação, de modo a obter uma correlação com maior número de dados. Depois foi realizado o coeficiente de correlação com as mesmas variáveis, mas separado entre os vários anos. Por fim, realizaram-se as mesmas correlações, mas com as variáveis da precipitação média mensal.

Numa terceira fase do estudo foram reunidas as informações fornecidas pela DGAV, onde é demonstrado o número de análises pedidas para despiste de VNO nos mesmos anos ao longo dos meses, e as informações específicas de cada caso clínico em equinos, em Portugal. Esses dados correspondem aos dados retirados do ECDC.

Por fim, foi realizado um questionário aos Médicos Veterinários, disponível no anexo I, de modo a recolher informação sobre o modo de ação perante uma situação de suspeita de infeção por Vírus do Nilo Ocidental e aspetos relacionados com o plano de vigilância e controlo. O inquérito foi divulgado na internet pelo Google Forms circulando pelo vários Médicos Veterinários com prática clínica em Equinos tendo obtido 26 respostas durante os meses em que esteve ativo. As respostas do mesmo foram avaliadas em conjunto.

### 3.2.4 – Resultados e discussão

#### 3.2.4.1 – Registo de casos clínicos e condições climáticas

- Casos clínicos entre 2017-2019, na Europa;
- Casos clínicos entre 2017-2019, em Portugal;
- Temperatura e precipitação média mensal entre 2017-2019.

#### Número de casos clínicos entre 2017-2019, na Europa

Os dados obtidos entre as duas plataformas (OIE e ECDC) apresentam algumas discrepâncias sendo que, o segundo sistema de divulgação apresenta um número de casos superior ao primeiro. Os casos divulgados foram diagnosticados por testes serológicos, nomeadamente, a deteção de anticorpos por ELISA, em ambas as plataformas. No entanto, a OIE reportou que, nalguns casos, foi realizado o isolamento do vírus, dando todos os resultados negativo.

A tabela 20 corresponde aos dados obtidos pelo sistema de notificação da OIE, nos três anos, relativamente à Europa. Estes dados foram distribuídos pelo mês em que foram notificados.

Tabela 20: Número de casos em 2017-2019, na Europa, retirados da OIE

	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.	T.
2017	0	0	0	0	0	0	8	2	2	2	0	1	<b>15</b>
2018	0	0	0	0	0	0	1	18	9	9	0	0	<b>37</b>
2019	0	0	0	0	0	0	8	26	27	29	1	0	<b>85</b>

A tabela 21 apresenta os dados obtidos pelo sistema de notificação do ECDC, nos três anos, relativamente à Europa. Tal como na tabela anterior, os dados foram distribuídos por mês.

Tabela 21: Número de casos entre 2017-2019, na Europa, retirados do ADNS

	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Out.	Nov.	Dez.	T.
2017	0	0	0	2	0	0	75	29	16	3	9	2	<b>127</b>
2018	0	0	0	0	0	0	5	72	124	66	18	0	<b>285</b>
2019	0	0	0	0	0	0	3	7	26	49	7	1	<b>93</b>

No ano de 2017, o ADNS reportou surtos em Portugal, França, Grécia, Itália, Áustria, Espanha e Hungria, enquanto a OIE apenas reportou os surtos de Portugal, França e Grécia. Um dos casos confirmados na OIE, nomeadamente o de França, em dezembro, refere-se a um estudo serológico realizado em 151 equinos.

Em relação ao ano de 2018, o ADNS reportou surtos em Portugal, França, Grécia, Itália, Áustria, Espanha, Hungria, Eslovénia, Roménia e Alemanha, enquanto a OIE reportou os de Portugal, França, Grécia, Alemanha, Eslovénia e Turquia. Tal como no ano anterior, alguns casos confirmados na OIE estão associados a estudos serológicos, nomeadamente 13 casos confirmados na Grécia, em agosto, e 3 casos na Grécia, em outubro. A OIE é responsável por emitir uma ficha de notificação com algumas informações complementares. Foi possível retirar alguns dados importantes tais como:

- Dos 37 casos confirmados, seis acabaram por morrer, sendo que três morreram devido à doença e os outros três foram sujeitos à eutanásia humanitária;
- Os 13 casos confirmados, em França, correspondem a equinos que não tiveram movimentações nas semanas anteriores ao surgimento dos sinais clínicos;
- Os 13 casos confirmados, em França, evidenciaram vários sinais clínicos, sendo que apenas um dos casos possuía a especificação de quais os sinais sendo esses: ataxia, paresia e tremores.

Por fim, no ano de 2019, o ADNS reportou surtos em Portugal, França, Grécia, Itália, Áustria, Espanha, Hungria e Alemanha, enquanto a OIE reportou apenas os de Portugal, França, Grécia, Áustria e Alemanha. Neste ano também foram realizados estudos serológicos na Grécia, registando 2 casos em julho e 8 em agosto, reportados na OIE. Para além disso, as fichas de notificação divulgadas na OIE permitiram retirar algumas informações adicionais tais como: oito dos 13 casos confirmados em França apresentavam ataxia, seis dos 13 apresentavam hipertermia e dois dos 13 mostraram sinais clínicos inespecíficos como anorexia e depressão. Para além disso, dos 85 casos reportados em equinos, cerca de 8 acabaram por morrer.

Ao comparar as duas tabelas verificaram-se algumas diferenças, principalmente no número de casos reportados. No ano de 2017, a OIE divulgou 15 surtos em equinos infetados

com VNO e a ECDC cerca de 127. No ano de 2018 a diferença foi superior, onde a OIE divulgou 37 casos de VNO e a ECDC cerca de 285. No ano de 2019, a OIE divulgou 85 surtos enquanto a ECDC apresentou cerca de 93. A principal razão desta diferença deve-se aos países, onde os surtos ocorreram, não serem os mesmos nas duas plataformas, como foi descrito anteriormente. Essa diferença deve-se, principalmente, a Itália e Hungria, que possuem elevado número de surtos divulgados no ADNS, mas que não foram divulgados pela OIE. Para além do número de casos ser diferente, a data de divulgação dos casos também não coincide. Essa diferença pode dever-se à dificuldade de comunicação com os estados membros do organismo, levando a um atraso na notificação, principalmente quando os casos ocorrem no final do mês.

É notável uma variação do número de casos entre 2017-2019 nas duas tabelas, no entanto, optou-se por estudar a evolução dos casos reportados pelo ECDC do que pela OIE, uma vez que o número é superior e os casos de Portugal coincidem com os do ECDC. Ao observar os dados das tabelas é possível verificar que o maior número de animais infetados na Europa corresponde ao ano de 2018, seguindo de 2017 e, por fim, 2019. Para além da variação do número total, também foi possível verificar uma alteração no período em que decorrem os surtos. O período que possui casos equinos com VNO está compreendido entre maio e dezembro, mas o período predominante decorre entre julho e outubro. Este intervalo corresponde aos meses com as características climáticas mais adequadas ao desenvolvimento dos mosquitos e da multiplicação viral (ECDC, 2019). Dentro de cada período é possível verificar que o número de casos é variável, havendo uma notável mudança entre 2017 e 2019, onde se observa um atraso no surgimento de casos, pois em 2017 eram mais incidentes entre julho e agosto e em 2019 eram mais incidentes entre outubro e novembro. Esta variação pode dever-se às alterações climáticas nos mesmos anos.

Os mapas representados na figura 38, 39 e 40 mostram a localização dos diferentes surtos equinos com vírus do Nilo Ocidental na Europa, referentes aos dados recolhidos pelo ADNS nos anos de 2017, 2018 e 2019, respetivamente.



Figura 38: Mapas com localizações dos surtos reportados no ADNS, em 2017  
Fonte: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data> acedido a 24/05/2020

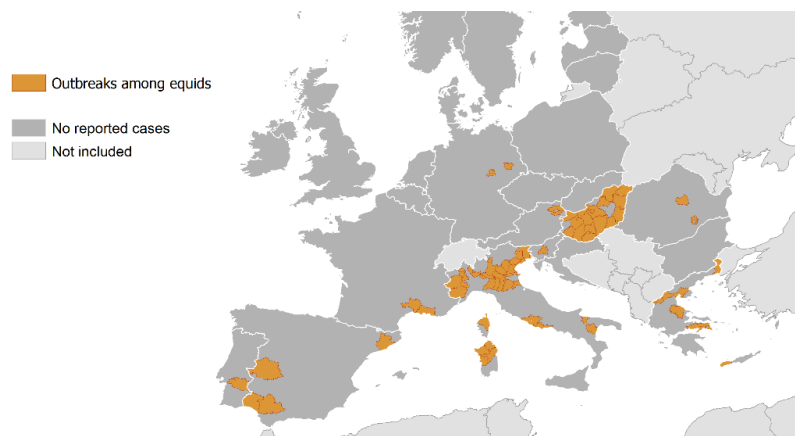


Figura 39: Mapas com localizações dos surtos reportados no ADNS, em 2018  
 Fonte: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data>, acessado a 24/05/2020

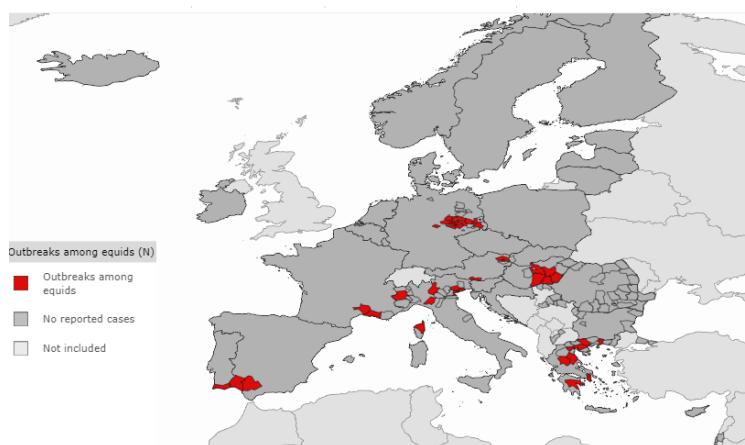


Figura 40: Mapa com localizações dos surtos reportados na ADNS, em 2019  
 Fonte: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data>, acessado a 23/05/2020

Apesar de existirem surtos em países diferentes, entre cada ano, é possível observar nos mapas uma semelhança entre eles, onde a localização coincide com regiões do Sul da Europa, principalmente na Bacia do Mediterrâneo. A proximidade da água facilita a exposição a áreas húmidas e reúne as condições propícias para o desenvolvimento do vetor, uma vez que necessitam de água para dar continuidade ao ciclo de vida. Para além disso, junta características essenciais para criar um santuário para as aves em períodos de nidificação e reprodução. Estas localizações, juntamente com as condições climáticas mais adequadas, são fontes onde o risco de infeção de equinos, de forma acidental, é maior (Barros *et al.*, 2017).

#### Número de casos clínicos, em Portugal

Os dados referidos em Portugal não são iguais entre a OIE e o ADNS. A DGAV forneceu uma tabela que reúne os dados declarados com a infeção de Vírus do Nilo Ocidental em equinos

onde estão incluídos os casos confirmados, as suas localizações e os equinos suscetíveis em cada surto. As informações divulgadas correspondem aos dados emitidos pelo ECDC logo, a partir deste capítulo o estudo envolveu as tabelas com os casos divulgados por essa organização. A tabela 22 identifica os vários casos desde 2017 assim como várias informações associadas ao mesmo.

Tabela 22: Número de casos em Portugal, entre 2017-2019. (Fonte: DGAV)

	Localidade	Equinos suscetíveis	Casos confirmados
Outubro/2017	Alcácer do Sal	42	1
Dezembro/2017	Península de Setúbal	8	2
Outubro/2018	Évora	7	1
Outubro/2019	Faro	24	2
Dezembro/2019	Faro	1	1
<b>Total</b>		<b>82</b>	<b>7</b>

Desde 2017 foram confirmados cerca de 7 casos em equinos nas regiões do Algarve, Península de Setúbal, Alcácer do Sal e Évora. Estas regiões correspondem a zonas de risco definidas pela DGAV aquando da realização do Plano de Vigilância da Febre do Nilo Ocidental. Em Portugal, os locais onde foram reportados os casos, em cada ano, coincidem com regiões em Faro (Loulé, Sines), Península de Setúbal, Alcácer do Sal e Évora. Estes locais são caracterizados por serem locais com elevada abundância populacional de mosquitos, assim como locais com santuários de aves, tanto indígenas como migratórias. Estas características aumentam a hipótese da introdução de Vírus do Nilo (Barros *et al.*, 2017).

A tabela fornecida pela DGAV permitiu reunir algumas informações relacionadas com cada caso em específico tais como:

- Todos os casos confirmados apresentavam sinais clínicos, no entanto, estes não foram discriminados.
- A análise laboratorial que permitiu a confirmação da infeção por VNO corresponde ao título de anticorpos IgM por ELISA.
- Dos sete equinos, dois deles acabaram por morrer, nomeadamente um dos casos de dezembro de 2017 e um dos casos de outubro de 2019.

Para além desta informação, também foi fornecido um quadro que reúne o número de equinos testados assim como o número de análises (PCR e ELISA) realizadas por cada um, apresentado na tabela 23. Esses dados correspondem aos anos entre 2017 e 2019 e estão distribuídos ao longo dos vários meses do ano.



Tabela 23: Número de análises realizadas e animais testados, em Portugal, entre 2017-2019. Fonte: DGAV

	2017		2018		2019	
	Nº análises	Nº equinos	Nº análises	Nº equinos	Nº análises	Nº equinos
<b>Janeiro</b>	3	1	2	1		
<b>Fevereiro</b>			2	1	1	1
<b>Março</b>			3	2	3	1
<b>Abril</b>	3	1				
<b>Mai</b>			4	3		
<b>Junho</b>			4	2		
<b>Julho</b>	4	2			1	1
<b>Agosto</b>			2	1	3	2
<b>Setembro</b>					1	1
<b>Outubro</b>	15	9	8	4	5	4
<b>Novembro</b>			3	1		
<b>Dezembro</b>	7	4	10	8	3	2
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>17</b>	<b>38</b>	<b>23</b>	<b>17</b>	<b>12</b>

O ano de 2018 corresponde ao ano com maior número de equinos suspeitos com infeção pelo VNO com um total de 23 equinos seguindo o ano de 2017 com 17 e o ano de 2019 com 12. Para além disso, é possível observar que a maior parte das análises aos equinos suspeitos foram pedidas nos meses entre agosto e dezembro, o que parece indicar que os Médicos Veterinários estão cientes que esta época tem tendência a ter maior número de casos de FNO, levando a um maior pedido de análises.

#### **Precipitação e temperatura média anual, entre 2017-2019**

A temperatura e a precipitação são dois fatores abióticos que podem condicionar a transmissão do Vírus do Nilo Ocidental, por aumento da atividade do vetor, aumentando o risco de infeção, como foi referido na revisão bibliográfica (Miranda *et al.*, 2002). É, portanto, importante avaliar as médias mensais, tanto da temperatura como precipitação entre 2017 e 2019, de modo a estudar se existe alguma associação com o número de casos. Os valores médios de temperatura e precipitação foram reunidos e colocados em várias tabelas para depois realizar os gráficos que permitem estudar a variação entre os meses e entre cada ano. O gráfico 7 demonstra a evolução da temperatura entre 2017 e 2019, ao longo dos meses e entre cada ano.

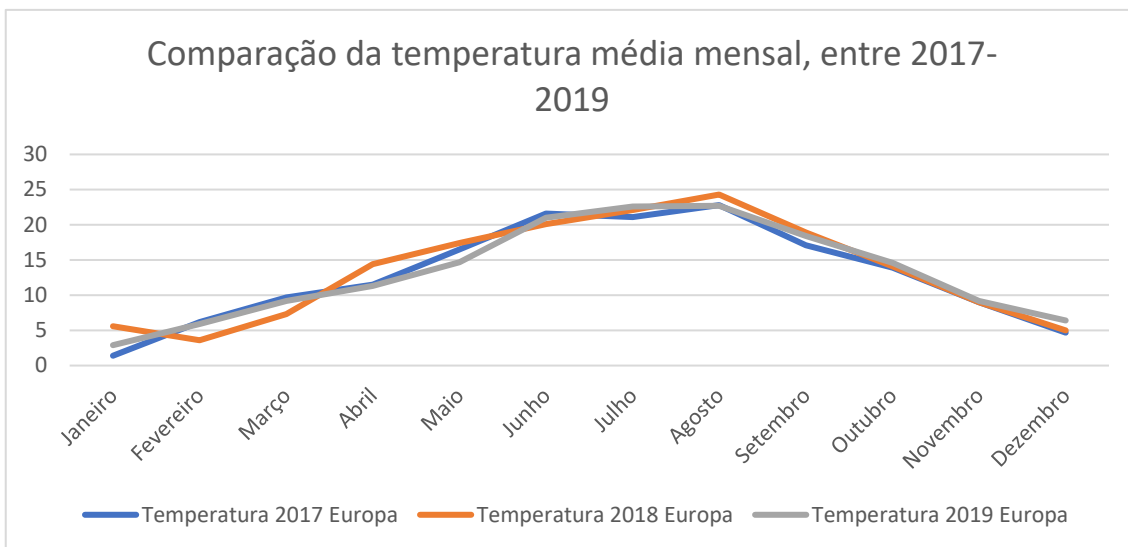


Gráfico 7 – Temperatura média mensal ao longo do ano, na Europa, nos anos de 2017, 2018 e 2019

O gráfico 7 permite observar as variações da temperatura média mensal na Europa nos últimos três anos. O gráfico não apresenta uma variação exuberante entre maio e outubro, os meses com maior risco de infecção, com exceção de agosto de 2018 onde se verificou um pico de temperatura média de 24,3 graus Celcius.

Em relação à precipitação, foram retirados os valores da precipitação média mensal na Europa, nos mesmos anos. Esses dados foram agrupados em tabelas para realizar o gráfico 8.

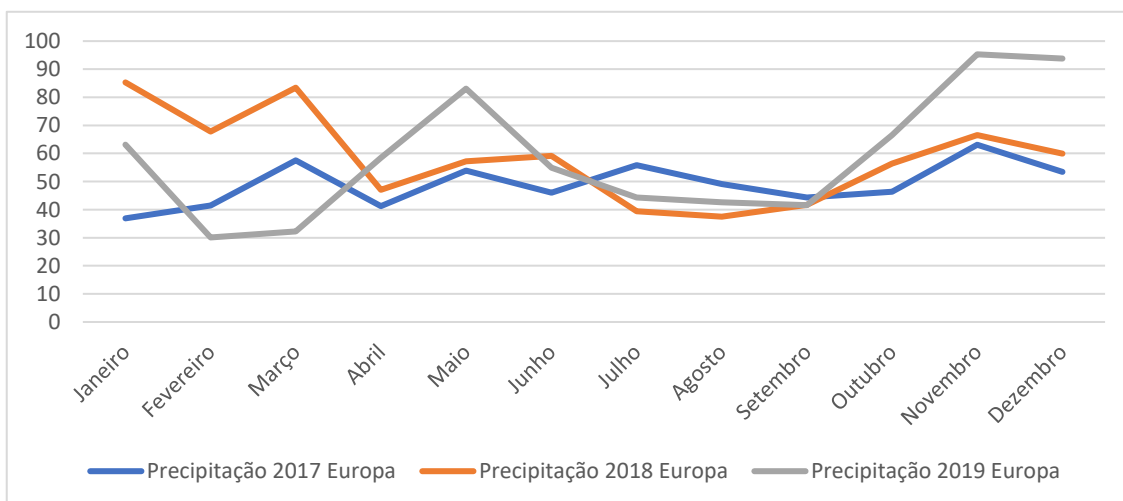


Gráfico 8 – Precipitação média mensal ao longo do ano, na Europa, nos anos de 2017, 2018 e 2019

Em relação à precipitação, não existe uma curva semelhante entre cada ano sendo um fator muito mais variável entre cada mês e cada ano, assim como dentro de cada país. Enquanto a temperatura evolui de uma forma gradual e não apresenta uma diferença muito grande entre

cada ano, a precipitação tem gráficos caracterizados por altos e baixos. No entanto, entre junho e setembro, inclusive, a curva da precipitação média não apresentou uma variação tão notável.

Uma das formas de estudar a evolução do número de casos ao longo dos últimos anos é avaliar, em primeiro lugar, se houve alguma alteração no número de surtos. Este ponto foi confirmado pois o número de surtos, assim como os meses em que os mesmos incidiram, foi diferente. É necessário perceber o que pode ter levado a esta variação, sendo que, sabe-se que as alterações climáticas são a principal motivo do aumento do risco de infecção, sobretudo por interferir no ciclo de vida dos mosquitos, na rota migratória das aves ou no ciclo biológico das aves indígenas. Foi, portanto, de suma importância, estudar a variação da temperatura e precipitação nos mesmos anos e nos mesmos locais dos casos clínicos divulgados. Os gráficos que representaram essas variações mostraram que a temperatura média de cada mês não teve uma variação muito elevada entre 2017 e 2019. No entanto, em 2018 houve um pico de temperatura em agosto diferente dos outros anos, atingindo uma temperatura média de 24,3 graus Celsius. Avaliando os gráficos referentes às variações de precipitação média mensal observa-se que, nesse mesmo mês e ano (agosto de 2018), a média de precipitação, em milímetros, foi inferior aos outros anos apesar de não ser uma diferença significativa. Como já foi referido, a precipitação não interfere com o ciclo de vida do mosquito apenas de uma forma, logo, ao associar as duas variáveis (temperatura e precipitação) em agosto de 2018, podemos afirmar que foram reunidas as condições mais adequadas ao desenvolvimento do vetor e da replicação viral, levando a um aumento da probabilidade de infecção nos equinos. Este facto corrobora com os dados obtidos na tabela de casos em 2018 emitida pelo ECDC, onde mostra que o maior número de surtos em equinos ocorreu em setembro e outubro com 124 e 66 casos confirmados, respetivamente.

Apesar da temperatura média a cada mês não ter variado muito entre 2017 e 2019, verifica-se que a temperatura nos meses de Outono de 2019 foi ligeiramente superior ao verificado em 2017. No mês de setembro, a temperatura média variou de 17,1 °C para 18,4°C em 2017 e 2019, respetivamente. No mês de outubro de 13,9 °C para 14,6°C em 2017 e 2019, respetivamente. No mês de novembro de 9°C para 9,2°C em 2017 e 2019, respetivamente. No mês de dezembro de 4,7°C para 6,4°C em 2017 e 2019, respetivamente. A maior diferença, e talvez a mais significativa, é a de setembro, uma vez que o aumento da temperatura média mensal de 1,3°C pode estar associada melhores condições ao desenvolvimento do vetor e alterações nos períodos das rotas de aves migratórias (Miranda *et al.*, 2002). Para além da temperatura, os gráficos da precipitação demonstram algumas diferenças que podem justificar as diferenças dos períodos onde ocorrem mais surtos. Verificou-se que a precipitação média mensal em 2017 foi superior em julho, em comparação com os outros anos, enquanto que a precipitação média mensal em 2019 foi superior a partir de setembro, em comparação com os outros anos. Um aumento da precipitação pode levar ao aumento de criadouros, ou seja, locais onde é possível conter água parada propícios aos desenvolvimento do mosquito (Freitas *et al.*, 2012).

A temperatura é o fator que mais pode influenciar o número de casos uma vez que um valor de temperatura mais elevado proporciona melhores condições para o desenvolvimento do vetor, tornando o mesmo mais rápido, tal como foi referido anteriormente (Freitas *et al.*, 2012). A precipitação, por sua vez, tem uma influência mais complexa e mais variável uma vez que os estudos não chegam a um consenso em relação ao efeito no mosquito vetor. Sabe-se que, um aumento da precipitação leva a um maior crescimento na população de mosquitos pela ativação de criadouros. No entanto, alguns estudos demonstram que anos mais secos resultam numa taxa de infeção do mosquito superior (Ruiz *et al.*, 2010). Os gráficos representados anteriormente permitem presumir algumas explicações relativamente à existência, ou não, de uma correlação entre estes fatores abióticos com o número de casos divulgados, na Europa. Foi realizada a análise estatística para avaliar o grau de correlação entre as várias variáveis como demonstram as tabelas 24, 25, 26 e 27.

Tabela 24 – Coeficiente de correlação entre a temperatura média mensal entre 2017-2019 e o número de surtos, em equinos, de VNO entre 2017-2019

<b>Primeira variável</b>	<b>Segunda variável</b>	<b>Valor de correlação</b>	<b>p-value</b>
Temperatura média mensal entre 2017-2019	Número de surtos, em equinos, de VNO entre 2017-2019	0,4789427925048129	0,003125322942209241

Tabela 25 – Coeficiente de correlação entre a temperatura média mensal e o número de surtos, em equinos, de VNO nos anos de 2017, 2018 e 2019

<b>Primeira variável</b>	<b>Segunda variável</b>	<b>Valor de correlação</b>	<b>p-value</b>
Temperatura média mensal em 2017	Número de surtos, em equinos, de VNO em 2017	0,695837425926601	0,01196632975201184
Temperatura média mensal em 2018	Número de surtos, em equinos, de VNO em 2018	0,4052990387220896	0,19119026528674898
Temperatura média mensal em 2019	Número de surtos, em equinos, de VNO em 2019	0,322588643770117	0,3064645249899638

Tabela 26 – Coeficiente de correlação entre a precipitação média mensal entre 2017-2019 e o número de surtos, em equinos, de VNO entre 2017-2019

Primeira variável	Segunda variável	Valor de correlação	p-value
Precipitação média mensal entre 2017-2019	Número de surtos, em equinos, de VNO entre 2017-2019	- 0,14242719041586774	0,4073076726892886

Tabela 27 – Coeficiente de correlação entre a precipitação média mensal e o número de surtos, em equinos, de VNO nos anos de 2017, 2018 e 2019

Primeira variável	Segunda variável	Valor de correlação	p-value
Precipitação média mensal em 2017	Número de surtos, em equinos, de VNO em 2017	2,0185873175002847E- 17	1,0
Precipitação média mensal em 2018	Número de surtos, em equinos, de VNO em 2018	-0,5117544168057611	0,08898656608238364
Precipitação média mensal em 2019	Número de surtos, em equinos, de VNO em 2019	0,14793543215312194	0,646356293726216

O valor de correlação entre a temperatura média mensal entre 2017-2019 e o número de casos na Europa no mesmo intervalo de tempo é de 0,479. Este valor indica um coeficiente positivo moderado. Ou seja, a temperatura neste intervalo de tempo está relacionada com o número de casos no mesmo intervalo, aumentando o número de casos com o aumento da temperatura. Ao avaliar a correlação entre a temperatura, para cada ano, apenas no ano de 2017 esta é significativa ( $p=0,01$ ). Nos restantes anos as correlações não são significativas ( $p>0,05$ ). Não se observou nenhuma correlação estatística significativa entre a precipitação e o número de casos, quer quando os três anos foram avaliados como um todo quer para cada ano específico.

Existem vários fatores que estão associados aos surtos de Febre do Nilo Ocidental em equinos, pelo que a avaliação de um fator isolado pode não ter relevância epidemiológica. Existem outras variáveis que, sendo impossível de quantificar com os dados disponíveis neste estudo, devem ser avaliadas numa avaliação mais global. É, por exemplo, a existência de casos nas mesmas regiões em anos anteriores, a densidade populacional de mosquitos nas mesmas datas ou a existência de aves no mesmo período. A interpretação dos resultados obtidos é

apenas indicativa da possível influência da temperatura ou precipitação. Apenas podemos apontar que, segundo os dados disponíveis, a temperatura influencia significativamente o número de casos de equinos com o Vírus do Nilo Ocidental.

Ao analisar a tabela referente à distribuição mensal dos casos (tabela 21), 2017 é o ano em que ocorreu uma menor dispersão de casos, ao longo dos meses, sendo que os meses com maior número de casos coincidem com os meses de temperaturas médias mais altas.

Durante a realização do estudo epidemiológico foram encontrados vários obstáculos que não permitiram avaliar os dados apresentados de forma mais realista. No início do estudo foi necessário recolher o número de casos clínicos em equinos na Europa, por mês, nos anos entre 2017 e 2019. Durante a recolha dos dados, verificou-se que as informações fornecidas pelas duas organizações que reportam os surtos da doença, a OIE e o ECDC, não eram concordantes. Os dados encontrados diferiam no número de casos confirmados, nas datas em que surgiu a suspeita e nos países onde ocorreram os mesmos. A última situação, ou seja, os países onde foram confirmados os casos, está bastante relacionada com a diferença entre o número de casos, uma vez que, como foi verificado anteriormente, existem alguns países com casos clínicos em equinos que não são compatíveis nas duas plataformas de divulgação, nomeadamente Itália e Hungria. Essa situação verificou-se principalmente no ano de 2018, onde cerca de 240 casos, divulgados pelo ECDC, provenientes desses países, não surgem no sistema de notificação da OIE. Nos outros anos, 2017 e 2019, a diferença não é tão elevada, muito provavelmente porque não surgiram tantos surtos em Itália e Hungria, nesses anos. Apesar do principal motivo da discrepância nos números ser a ausência de divulgação de casos de alguns países, não é o único responsável. Foram observadas outras disparidades entre plataformas de divulgação, apesar de menores, em cada mês e dentro de cada país. Cada país é responsável por confirmar as suas suspeitas e, após confirmação, necessita de comunicar aos sistemas de notificação, logo, as diferenças podem ser causadas por uma falta de comunicação entre os dois pilares, podendo levar a situações de casos não reportados, ou onde, o mesmo episódio, foi divulgado mais do que uma vez. Estas desigualdades levaram a que a avaliação da evolução ao longo dos últimos três anos possa não ser totalmente representativa da realidade. No entanto, os dados enviados pela DGAV, em relação aos equinos confirmados em Portugal, correspondem aos mesmos dados divulgados pelo ECDC, logo, há uma compatibilidade entre estas duas organizações. Por esse motivo, foram escolhidos os números de casos divulgados pelo ECDC para realizar as várias análises estatísticas.

O segundo problema encontrado durante o estudo, deveu-se ao facto dos valores de temperatura e precipitação recolhidos não terem o mesmo critério de escolha. O objetivo inicial era reunir os valores da temperatura e precipitação média mensal de cada país onde surgiram casos divulgados pelo ECDC, sem nenhuma região em específico, apesar de se saber que estas características são variáveis nas diferentes regiões do país. Com esses valores, iria realizar-se a média e considerava-se o valor obtido, como temperatura e precipitação média mensal da

Europa. No entanto, cada plataforma digital de meteorologia do país tem o arquivo organizado de diferente forma, sendo que alguns possuem as condições climáticas do país inteiro, outros apenas da capital e os restantes têm a escolher a região pretendida. Para além disso, não foi possível retirar informação das plataformas meteorológicas de Itália e Eslovénia, uma vez que os arquivos são privados ao público. Por essa razão, os dados recolhidos não tiveram o mesmo critério de seleção. Dentro das várias opções tentou-se escolher, nos arquivos que permitiam seleccionar uma região, a opção que proporcionava uma relação mais adequada com os casos. No entanto, ocorreram situações em que, no mesmo mês, foram divulgados múltiplos casos do mesmo país, em regiões diferentes. Logo, a região escolhida poderia ser adequada para alguns casos, mas não era possível de englobar todos. No final da conta, o resultado da média incluía as informações meteorológicas exatas da região onde surgiu o caso, dados da capital do país, independentemente da região onde ocorreu o surto, dados do país em geral e dados de regiões, que não eram nem capital do país, nem a região onde ocorreu o caso. O facto de não ter sido possível recolher os valores de temperatura e precipitação média mensal com o mesmo padrão, levou a que as médias obtidas pudessem não ser os mais adequados e justificativos da variação do número de casos clínicos na Europa.

#### 3.2.4.2 – Como abordam os médicos veterinários um caso suspeito de febre do Nilo Ocidental

O questionário, realizado aos Médicos Veterinários de equinos, apresentava várias secções com questões relacionadas com a prática clínica de cada um e diferente abordagem perante um caso suspeito de infeção por vírus do Nilo Ocidental. A primeira secção incluía perguntas gerais tais como a zona do país onde exercem a prática clínica e se já tiveram algum caso confirmado de Vírus do Nilo Ocidental. A segunda secção era exclusiva para os médicos-veterinários que tivessem tido um caso clínico em equinos, tendo como principal objetivo, avaliar as características de aparecimento de um surto. Algumas das questões incluídas na segunda secção incluem:

- 1) Sinais que levaram a suspeitar de VNO;
- 2) Existência de zonas com águas paradas nos arredores;
- 3) Evolução clínica do caso;
- 4) A idade do equino
- 5) Registo da presença de aves mortas no local do surto.

Por fim, a terceira secção estava destinada aos Médicos Veterinários de equinos com ou sem casos, onde as questões realizadas tinham o intuito de entender a existência de casos subdiagnosticados e medidas de prevenção e controlo da doença, em Portugal. As questões realizadas incluíam:

- 1) Conhecimento dos planos de vigilância da DGAV;
- 2) Interferência de questões económicas na escolha de métodos de diagnóstico;

- 3) Tipo de amostra enviado e análise solicitada;
- 4) Número de vacinações realizadas anualmente e circunstância de recomendação.

O questionário foi divulgado desde Março sendo que até Junho foram respondidos cerca de 26 questionários, onde apenas dois deles (7,7%) responderam que tiveram casos confirmados de Vírus do Nilo Ocidental. A prática clínica dos 26 médicos-veterinários está distribuída por todo o país, onde cinco trabalham no Norte, nove no Centro, dez na Grande Lisboa, cinco no Alentejo e, os últimos dois no Algarve. Começando por pela componente dos casos clínicos do inquérito, os sinais clínicos mais comuns que levaram à suspeita de um caso de VNO foram ataxia, tremores da face e decúbito; os dois casos confirmados encontravam-se em regiões cujos arredores possuíam águas paradas; foi reportada a presença de aves mortas no local; as idades dos dois equinos estavam compreendidas entre os 10 e 20 anos e um dos equinos acabou por morrer e o outro recuperou sem lesões. O reduzido número de respostas não permite tirar conclusões relevantes.

Do restante inquérito foi possível perceber um pouco da situação atual. Assim 10 dos 26 (38,5%) Médicos Veterinários afirmaram que já tiveram casos em que não fizeram despiste para VNO por motivos económicos.

Houve um caso equino em que o Veterinário não enviou amostra porque o proprietário não quis;

- Dos 26 Médicos Veterinários que responderam, cerca de 20 (77%) afirma que não vacina nenhum equino anualmente, 3 (11,5%) afirma que vacina menos de 10 anualmente e 3 (11,5%) afirma que vacina entre 10-20 anualmente;
- A maioria das vacinações foram realizadas no Alentejo e Algarve;
- Cerca de 12 (46,2%) Médicos Veterinários recomenda a vacinação sempre a todos os equinos que estejam na zona de risco, cerca de 7 (26,9%) não recomenda, e os restantes 7 (26,9%) recomendam sob algumas circunstâncias como a presença de águas paradas na região, presença de aves migratórias na zona ou casos anteriores no local;
- Cerca de 6 (23,1%) Médicos Veterinários afirmam que não estão informados do Plano de Vigilância do Vírus do Nilo Ocidental;
- Cerca de 17 Veterinários (65,4%) afirmam que não sabem que a análise para despiste de VNO é gratuita em certas circunstâncias;

O questionário realizado tinha o objetivo de conhecer qual a abordagem de um médico veterinário de equinos perante uma situação de suspeita de Vírus do Nilo Ocidental. Para além disso, também era interessante recolher algumas informações adicionais sobre os casos confirmados em Portugal nos anos anteriores. Uma das conclusões mais importantes a retirar do questionário é que cerca de 65,4% dos médicos-veterinários não sabem que a realização da



análise é gratuita, em algumas circunstâncias, levando a que, por vezes, possam não pedir a mesma por questões financeiras, como se verificou em 10 de 26 respostas. Estes números podem indicar a existência de subdiagnóstico em Portugal. Das 26 respostas, apenas duas correspondem a médicos-veterinários que tiveram casos clínicos. Esses questionários apresentam respostas semelhantes, no entanto, não foram suficientes para definir um padrão ecológico. Por fim, no que concerne a vacinação, a maioria dos médicos-veterinários recomenda a vacinação anual e as vacinações realizadas ocorrem principalmente no Algarve, Alentejo e Lisboa. No entanto, o número de médicos-veterinários que recomenda a vacinação é superior ao número de médicos-veterinários que efetivamente a realiza. Apesar de terem sido colocadas questões que poderiam levar a mais conclusões pertinentes e interessantes, a pouca aderência ao questionário impossibilitou que se pudesse retirar mais informações. Este foi um dos problemas que a estagiária se deparou na realização do estudo.

### **3.2.5 – Considerações finais**

O vírus do Nilo Ocidental é um agente infeccioso que usa as aves como hospedeiro primário. Já os equinos são hospedeiros acidentais e finais que podem ficar infetados a partir de um mosquito também infetado. É uma patologia que ocorre em todo o mundo, mas nos últimos anos os casos estão mais limitados na Europa. Como tal, é de todo o interesse estudar o estado epidemiológico neste continente nos últimos anos, de modo a compreender se existe alguma modificação significativa tanto no número de casos como na localização dos mesmos.

O estudo realizado demonstrou que a transmissão do VNO tem ocorrido principalmente no sul da Europa e, nos últimos três anos, tem surgido em períodos mensais diferentes. Essa evolução foi justificada com as alterações climáticas que ocorreram nos mesmos anos. O ano de 2018 foi o ano em que o número de casos, na Europa, foi superior, sendo esse valor também justificado pelo surgimento do pico de temperatura média. Estas associações foram corroboradas com os coeficientes de correlação de Spearman realizados, onde demonstrou que a temperatura média mensal está relacionada com o número de surtos, na Europa, entre 2017-2019.

O questionário reuniu algumas percentagens que permitiram avaliar algumas questões relacionadas com a prática clínica dos médicos-veterinários, em Portugal. De uma modo geral, foi possível concluir que existe algum subdiagnóstico dos casos de VNO, por falta de conhecimento do Plano de Vigilância do mesmo.

Este estudo permitiu observar a evolução de uma doença zoonótica, na Europa, de modo a perceber se existe alguma variável que possa condicionar o número de casos. Desta forma, seria possível prever qual a evolução nos próximos anos.

## 4 – Conclusão

---

O estágio curricular corresponde à última fase do percurso académico que um aluno de Medicina Veterinária tem de cumprir. É uma etapa de suma importância, uma vez que permite a consolidação dos conhecimentos adquiridos nos cinco anos do curso e transferir, de forma intensa, para a prática clínica veterinária de equinos. O presente relatório de estágio permitiu descrever os vários procedimentos realizados e os casos observados durante o estágio curricular, o que possibilitou a revisão bibliográfica de vários temas e áreas clínicas. Os conhecimentos adquiridos durante o estágio curricular e a realização do relatório de estágio são de extrema importância para a formação profissional da estagiária, sendo momentos que vão acompanhar no futuro.

O estágio curricular foi dividido em dois locais, ambulatório e hospital, com prática clínica em equinos, durante seis meses. O facto de ter sido realizado dois estágios com regimes diferentes, permitiu que a estagiária observasse os dois mundos da medicina veterinária nesta espécie e reconhecesse as diferenças que existem, tanto a nível económico como na abordagem dos casos clínicos. Os dois estágios possibilitaram a realização de vários procedimentos clínicos, o aperfeiçoamento de técnicas imagiológicas, o trabalho em equipa e a percepção de que a comunicação entre médicos veterinários é essencial. Apesar de serem dois estágios em diferentes ambientes, é importante destacar que as áreas clínicas da ortopedia e do sistema digestivo, foram as áreas com uma elevada casuística em ambos os estágios. A estagiária também teve a possibilidade de contactar com vários profissionais da área de equinos, com diferentes especialidades, o que levou à realização de várias sessões práticas específicas fundamentais para a formação. Este estágio curricular serve como ponte entre o curso e o início da vida profissional, sendo uma etapa que deve ser usufruída ao máximo para benefício do estagiário.

O estágio em regime de ambulatório também permitiu à estagiária de confrontar-se com várias situações que ocorrem no quotidiano da clínica de equinos, tais como as dificuldades financeiras da parte dos proprietários, bem como, as dificuldades da clínica em campo no que concerne as condições de trabalho prático. Por esse motivo, os médicos veterinários têm de se adaptar a cada cenário para a realização de procedimentos clínicos, que seriam diferentes de realizar em ambiente hospitalar. Todos os momentos possibilitaram à estudante conhecer um pouco a realidade nos dias de hoje, na tríade que envolve o cavalo, o médico veterinário e o proprietário, sendo que nem sempre é fácil encontrar um equilíbrio.

O presente relatório possui uma segunda parte onde foi realizado uma revisão bibliográfica e um estudo epidemiológico sobre o vírus do Nilo Ocidental. Este tema foi escolhido durante o primeiro estágio devido ao interesse associado ao surgimento de três casos em

Portugal durante o estágio curricular. É uma zoonose com risco em saúde pública de elevado interesse pela parte dos médicos-veterinários de equinos, sendo que tem sofrido alterações ao longo dos anos. O estudo realizado permitiu observar os possíveis fatores associados à variação do número de casos, sendo útil para prever a evolução nos anos subsequentes. É essencial adquirir um método mais eficaz de divulgação dos surtos ocorridos e o número de casos confirmados, de modo a avaliar com maior realismo a variação dos casos ao longo dos meses e anos.

## 4 – Referências Bibliográficas

---

AAEP (sem data) *Lameness Exams: Evaluating the Lamé Horse*, American Association of Equine Practitioners. Disponível em: <https://aaep.org/horsehealth/lameness-exams-evaluating-lame-horse> (Acedido: 31 de Março de 2020).

Adams, S. (2015a) *Arthroscopy in Equine Lameness*, MSD, Manual Veterinary . Disponível em: <https://www.msdsvetmanual.com/musculoskeletal-system/lameness-in-horses/arthroscopy-in-equine-lameness> (Acedido: 8 de Abril de 2020).

Adams, S. (2015b) *The Lameness Examination in Horses*, Veterinary Manual. Disponível em: <https://www.msdsvetmanual.com/musculoskeletal-system/lameness-in-horses/the-lameness-examination-in-horses> (Acedido: 31 de Março de 2020).

Almeida, A. P. G. *et al.* (2008) «Potential mosquito vectors of arboviruses in Portugal: species, distribution, abundance and West Nile infection», *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(8), pp. 823–832. doi: 10.1016/j.trstmh.2008.03.011.

Anderson, K. (2008) *West Nile Virus Guidelines for Horse Owners*, NebGuide. Nebraska. Disponível em: <http://extensionpublications.unl.edu/assets/pdf/g1877.pdf> (Acedido: 21 de Abril de 2020).

Angenvoort, J. *et al.* (2013) «West Nile viral infection of equids», *Veterinary Microbiology*. NIH Public Access, 167(1–2), pp. 168–180. doi: 10.1016/j.vetmic.2013.08.013.

Ann M. Hargis e Sherry Myers (2017) «The Integument», em *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 6.<sup>a</sup> ed, pp. 1009–1146.

Baird, J. D. *et al.* (2006) «Shivers (Shivering) in the Horse: A Review», *AAEP - American Association of Equine Practitioners*, 52(359–364).

Barbosa, M. (2014) «Manual De Identificação E Registo», *Registo Nacional de Equídeos*.

Barros, S. C. *et al.* (2017) «West Nile virus in horses during the summer and autumn seasons of 2015 and 2016, Portugal», *Veterinary Microbiology*, pp. 75–79. doi: 10.1016/j.vetmic.2017.11.008.

Baxter, G. M. (2004) «Management of wounds involving synovial structures in horses», *Clinical Techniques in Equine Practice*. Academic Press Inc., 3(2 SPEC. ISS.), pp. 204–214. doi: 10.1053/j.ctep.2004.08.008.

Bergvall, K. (2013) «Culicoides Hypersensitivity: Diagnosis», em *Veterinary Allergy*. Oxford, UK: Wiley Blackwell, pp. 291–296. doi: 10.1002/9781118738818.ch46.

Bicout, D. e Balenghien, T. (2013) *Le virus du Nil occidental*. 1.<sup>a</sup> ed. Ed. Quae.

Blenntoft, R. (2012) «The importance of the lymphatic system», *Equine Health*, 2012(6), pp. 36–41. doi: 10.12968/eqhe.2012.1.6.36.

Bohanon, T. C. (2005) «Urinary problems in the equine neonate», *North American Veterinary Conference*, pp. 8–12.

Borges, J. P. G. (2012) *Desmiste dos Ligamentos Colaterais da Articulação Interfalângica Distal em Equinos*. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

Brooks, D. E. (2002) «Equine Ophthalmology», *AAEP - American Association of Equine Practitioners*.

Bunning, M. L. *et al.* (2002) «Experimental infection of horses with West Nile virus», *Emerging Infectious Diseases*. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 8(4), pp. 380–386. doi: 10.3201/eid0804.010239.

Carter, G. K. (2009) «Purchase Examination of the Western Performance Horse», *AAEP - American Association of Equine Practitioners*, 55, pp. 292–295.

Castillo-Olivares, J. e Wood, J. (2004) «West Nile virus infection of horses», *Veterinary Research*. EDP Sciences, 35(4), pp. 467–483. doi: 10.1051/vetres:2004022.

Castro-Jorge, L. A. *et al.* (2019) «West nile virus infections are here! are we prepared to face another flavivirus epidemic?», *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. doi: 10.1590/0037-8682-0089-2018.

Chancey, C. *et al.* (2015) «The global ecology and epidemiology of west nile virus», *BioMed Research International*. Hindawi Limited. doi: 10.1155/2015/376230.

Ciesielski, L. (2008) *Poxvirus e a sua utilização como ferramenta biotecnológica*. Universidade Federal de Minas Gerais.

Clair Thunes (2019) «How to Effectively Supplement Horses With Vitamin E », em *AAEP Convencion*.

Cobb, R. e Boeckh, A. (2009) «Moxidectin: A review of chemistry, pharmacokinetics and use in horses», *Parasites and Vectors*, 2(SUPPL. 2), p. S5. doi: 10.1186/1756-3305-2-S2-S5.

Colpitts, T. M. *et al.* (2012) «West Nile virus: Biology, transmission, and human infection», *Clinical Microbiology Reviews*, 25(4), pp. 635–648. doi: 10.1128/CMR.00045-12.

Comissão europeia (2008) *Regulamento (CE) N° 504/2008, Jornal Oficial da União Europeia*.

Couëttil, L. L. *et al.* (2016) «Inflammatory Airway Disease of Horses-Revised Consensus Statement», *Journal of Veterinary Internal Medicine*. Blackwell Publishing Inc., 30(2), pp. 503–515. doi: 10.1111/jvim.13824.

Creiasco, A. de C. M. e Sequeira, J. L. (2010) «Sarcoide Equino - Aspectos clínicos, etiológicos e anatomopatológicos», *Veterinária e Zootecnia*, pp. 191–199.

Curcio, B. *et al.* (2019) «Monitoramento da gestação em éguas-o que fazer na rotina de campo», *Congresso Brasileiro de Reprodução Animal*.

Dascanio, J. J. e McCue, P. M. (2014) *Equine Reproductive Procedures, Equine Reproductive Procedures*. Wiley Blackwell. doi: 10.1002/9781118904398.

Davidson, A. H. *et al.* (2005) «Immunologic responses to West Nile virus in vaccinated and clinically affected horses», *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(2), pp. 240–245. doi: 10.2460/javma.2005.226.240.

DGAV (2015) *Vacinas contra febre do nilo (equinos)*. Disponível em: [http://www.dgv.min-agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look\\_parentBoui=15744238&att\\_display=n&att\\_download=y](http://www.dgv.min-agricultura.pt/xeov21/attachfileu.jsp?look_parentBoui=15744238&att_display=n&att_download=y) (Acedido: 24 de Agosto de 2020).

- DGAV (2018) *Resumo das características do medicamento - Equest gel oral*. Lisboa. Disponível em: <https://medvet.dgav.pt/products/51258-equest-gel-oral-18-92-mg-g-gel-oral-para-cavalos-e-pones-6666> (Acedido: 20 de Junho de 2020).
- Dixon, P. M. e Dacre, I. (2005) «A review of equine dental disorders», *Veterinary Journal*. Bailliere Tindall Ltd, 169(2), pp. 165–187. doi: 10.1016/j.tvjl.2004.03.022.
- Durand, B. *et al.* (2017) «Geographic variations of the bird-borne structural risk of West Nile virus circulation in Europe», *PLOS ONE*. Editado por M. Ciccozzi. Public Library of Science, 12(10), p. e0185962. doi: 10.1371/journal.pone.0185962.
- Dwyer, A. E. (2012) «Ophthalmology in Equine Ambulatory Practice», *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, pp. 155–174. doi: 10.1016/j.cveq.2012.01.002.
- Easley, J. (2019) *Introduction to Digestive Disorders of Horses, Veterinary Manual*. Disponível em: <https://www.msdsvetmanual.com/horse-owners/digestive-disorders-of-horses/introduction-to-digestive-disorders-of-horses> (Acedido: 2 de Abril de 2020).
- ECDC (2019) *Annual Epidemiological Report for 2018, Annual Epidemiological Report for 2018*. Disponível em: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/west-nile-virus-infection-annual-epidemiological-report-2018> (Acedido: 4 de Junho de 2020).
- EMA (2013) *Equip WNV, INN-inactivated West Nile virus, strain VM-2*. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/equip-wnv-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/equip-wnv-epar-product-information_pt.pdf) (Acedido: 26 de Agosto de 2020).
- EMA (2016) *ANEXO I RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO*. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/proteq-west-nile-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/proteq-west-nile-epar-product-information_pt.pdf) (Acedido: 26 de Agosto de 2020).
- EMA (2018) *ANEXO I RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO*. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/equilis-west-nile-epar-product-information\\_pt.pdf](https://www.ema.europa.eu/documents/product-information/equilis-west-nile-epar-product-information_pt.pdf) (Acedido: 26 de Agosto de 2020).
- Ernek, E. *et al.* (1977) «Arboviruses in birds captured in Slovakia», *Journal of Hygiene Epidemiology Microbiology and Immunology*, 21(3), pp. 353–359.
- Esteves, A. *et al.* (2005) «West Nile virus in Southern Portugal, 2004», *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 5(4), pp. 410–413. doi: 10.1089/vbz.2005.5.410.
- Faleiros, R. R. *et al.* (2008) *Neurectomia digital em equinos: comparação das técnicas guilhotina e stripping*, *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.
- Fantini, P. e Palhares, M. S. (2011) «Lombalgia em equinos», *Acta Veterinaria Brasilica*, 5(4), pp. 359–363.
- FEI (2019) «2019 Veterinary Regulations», *FEI*. Switzerland: Fédération Equestre Internationale, pp. 10–11.
- Filipe, A. R. (1972) «Isolation in Portugal of West Nile virus from Anopheles maculipennis mosquitoes.», *Acta Virologica*, 16(4), p. 361.
- Fitzgerald, B. (2016) *Hoof Abscesses, American Association of Equine Practitioners*. Disponível em: <https://aaep.org/horsehealth/hoof-abscesses> (Acedido: 2 de Abril de 2020).
- Flores, E. F. e Weiblen, R. (2009) «O vírus do Nilo Ocidental», *Ciência Rural*, 38(2), pp. 604–612.

- Fonteque, J. *et al.* (2017) «Atrophy of the supra and infraspinatus muscles due to injury of the suprascapular nerve in horse (sweeny)», *Veterinária e Zootecnia*, 24(9), pp. 130–134. doi: 10.1017/CBO9781107415324.004.
- Fregin, G. F. (1992) «Medical evaluation of the cardiovascular system.», *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 8(2), pp. 329–346. doi: 10.1016/S0749-0739(17)30455-8.
- Freitas, F. B. *et al.* (2012) «Species composition and WNV screening of mosquitoes from lagoons in a wetland area of the Algarve, Portugal», *Frontiers in Physiology*, 2 JAN. doi: 10.3389/fphys.2011.00122.
- Gamino, V. e Höfle, U. (2013) «Pathology and tissue tropism of natural West Nile virus infection in birds: A review», *Veterinary Research*. BioMed Central, p. 39. doi: 10.1186/1297-9716-44-39.
- Gaughan, E. M. (2010) «Clinical Commentary Dentigerous cysts: Congenital anomaly of many names», *Equine Veterinary Education*, pp. 279–280.
- Girovet (sem data) *Picorex: la salud, el rendimiento y los cuidados del caballo, Girovet*. Disponível em: <http://www.girovet.com/picorex> (Acedido: 17 de Março de 2020).
- Hayes, E. B., Komar, N., *et al.* (2005) «Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease», *Emerging Infectious Diseases*. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), pp. 1167–1173. doi: 10.3201/eid1108.050289a.
- Hayes, E. B., Sejvar, J. J., *et al.* (2005) «Virology, pathology, and clinical manifestations of West Nile virus disease», *Emerging Infectious Diseases*. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), pp. 1174–1179. doi: 10.3201/eid1108.050289b.
- House, A. K. *et al.* (2008) *Vaccinations for foals, Vaccinations for foals*.
- Hubálek, Z. e Halouzka, J. (1999) «West Nile fever - A reemerging mosquito-borne viral disease in Europe», *Emerging Infectious Diseases*. Centers for Disease Control and Prevention, 5(5), pp. 643–650. doi: 10.3201/eid0505.990505.
- Husulak, M. L. *et al.* (2016) «Equine motor neuron disease in 2 horses from Saskatchewan.», *The Canadian veterinary journal = La revue vétérinaire canadienne*. Canadian Veterinary Medical Association, 57(7), pp. 771–6.
- Jackson, A. C. (2004) «Therapy of West Nile virus infection», *Canadian Journal of Neurological Sciences*. Canadian Journal of Neurological Sciences, pp. 131–134. doi: 10.1017/S0317167100053749.
- Jane Coatesworth (2016) *Understanding the Horse's Skin and Coat*. Marlborough: J.A.Allen.
- Johnson, A. L. e Acvim-Laim, D. (2010) «How to Perform a Complete Neurologic Examination in the Field and Identify Abnormalities», *AAEP - American Association of Equine Practitioners*, 56, pp. 331–337.
- Jones, P. *et al.* (2009) «A limited surgical approach for pastern arthrodesis in horses with severe osteoarthritis: 11 horses, 2000-2007», *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 22(4), pp. 303–308. doi: 10.3415/VCOT-08-03-0027.
- Joó, K. *et al.* (2017) «Comparison of assays for the detection of West Nile virus antibodies in equine serum after natural infection or vaccination», *Veterinary Immunology and Immunopathology*. Elsevier B.V., pp. 1–6. doi: 10.1016/j.vetimm.2016.10.015.
- Kemper, D. L. *et al.* (2010) «Equine lymphocytic-plasmacytic enterocolitis: A retrospective study

- of 14 cases», *Equine Veterinary Journal*. American Medical Association (AMA), 32(S32), pp. 108–112. doi: 10.1111/j.2042-3306.2000.tb05346.x.
- Kennon Keckler (2012) *Lymphangitis: A Frustrating Condition*, *OPHA magazine*. Disponível em: <https://aaep.org/horsehealth/lymphangitis-frustrating-condition> (Acedido: 21 de Março de 2020).
- Kilcoyne, I. (2013) «Equine castration: A review of techniques, complications and their management», *Equine Veterinary Education*. doi: 10.1111/eve.12063.
- Kleiboeker, S. B. *et al.* (2004) «Diagnosis of West Nile virus infection in horses», *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. American Assoc. of Veterinary Laboratory Diagnosticians, 16(1), pp. 2–10. doi: 10.1177/104063870401600102.
- Komar, N. *et al.* (2003) «Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus», *Emerging Infectious Diseases*. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 9(3), pp. 311–322. doi: 10.3201/eid0903.020628.
- Lavoie, J.-P. e Hinchcliff, K. (2008) *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: Equine*. Lavoie.
- Lindner, A. (2006) *Management of lameness causes in sport horses, Management of Lameness Causes in Sport Horses: Muscle, Tendon, Joint and Bone Disorders*. Editado por A. Lindner. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers. doi: 10.3920/978-90-8686-577-2.
- Long, M. T. *et al.* (2002) «Equine West Nile Encephalitis: Epidemiological and Clinical Review for Practitioners», *AAEP - American Association of Equine Practitioners*, p. 6.
- MacKay, R. (2019) *Controversies in Equine Medicine and Surgery*. 1st ed. Elsevier.
- MacLachlan, N. J. *et al.* (2016) «Flaviviridae», em MacLachlan, N. J. e Dubovi, E. J. (eds.) *Fenner's Veterinary Virology*. 5.<sup>a</sup> ed. Elsevier, pp. 525–545. doi: 10.1016/B978-0-12-800946-8.00029-5.
- Marchiori Sena, L. *et al.* (2016) «Principais causas de perdas gestacionais na espécie equina: Revisão», *Medicina Veterinária e Zootécnia*. Dez, pp. 933–945. doi: 10.22256/pubvet.v10n12.933.
- Marsella, R. (2013) «Dermatophilosis», em *Equine Infectious Diseases: Second Edition*. Elsevier Inc., pp. 283-287.e2. doi: 10.1016/B978-1-4557-0891-8.00030-0.
- Mendez-Angulo, J. L. *et al.* (2014) «Extensive Rostral Mandibulectomy for Treatment of Ameloblastoma in a Horse», *Veterinary Surgery*, 43(2), pp. 222–226. doi: 10.1111/j.1532-950X.2014.12110.x.
- Michael W. Ross e Sue J. Dyson (2009) *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. 2nd ed. Missouri: Elsevier saunders.
- Minke, J. M. *et al.* (2004) «Recombinant canarypoxvirus vaccine carrying the prM/E genes of West Nile virus protects horses against a West Nile virus-mosquito challenge.», *Archives of virology*. Vienna: Springer Vienna, (18), pp. 221–230. doi: 10.1007/978-3-7091-0572-6\_20.
- Miranda, P. M. a. *et al.* (2002) *Alterações climáticas em Portugal. Cenários, impactos e medidas de adaptação, SIAM project*. Gradiva Publicações.
- Mitten, L. A. (1996) «Cardiovascular causes of exercise intolerance.», *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 12(3), pp. 473–494. doi: 10.1016/S0749-0739(17)30268-7.
- Monahan, C. M. *et al.* (1996) «Comparison of moxidectin oral gel and ivermectin oral paste



- against a spectrum of internal parasites of ponies with special attention to encysted cyathostome larvae», *Veterinary Parasitology*. Elsevier B.V., 63(3–4), pp. 225–235. doi: 10.1016/0304-4017(95)00910-8.
- Monini, M. (2010) «West Nile Virus: Characteristics of an African Virus Adapting to the Third Millennium World», *The Open Virology Journal*. Bentham Science Publishers Ltd., 4(1), pp. 42–51. doi: 10.2174/1874357901004010042.
- Moore, J. (2013) *Overview of Colic in Horses, Merck Manual*. Disponível em: <https://www.merckvetmanual.com/digestive-system/colic-in-horses/overview-of-colic-in-horses> (Acedido: 2 de Abril de 2020).
- Moore, J. S. *et al.* (2013) «Melanoma in horses: Current perspectives», *Equine Veterinary Education*, 25(3), pp. 144–151. doi: 10.1111/j.2042-3292.2011.00368.x.
- Murase, H. *et al.* (2014) «Ultrasonographic evaluation of equine fetal growth throughout gestation in normal mares using a convex transducer», *Journal of Veterinary Medical Science*. Japanese Society of Veterinary Science, 76(7), pp. 947–953. doi: 10.1292/jvms.13-0259.
- Nielsen, M. K. (2019) *Gasterophilus spp Infection in Horses, Veterinary Manual*. Kentucky. Disponível em: <https://www.msdsvetmanual.com/digestive-system/gastrointestinal-parasites-of-horses/gasterophilus-spp-infection-in-horses#> (Acedido: 19 de Março de 2020).
- Nir, Y. *et al.* (1967) «Isolation of arboviruses from wild birds in Israel», *American Journal of Epidemiology*. Oxford University Press, 86(2), pp. 372–378. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a120747.
- Oliveira, E. R. A. *et al.* (2017) «The flavivirus capsid protein: Structure, function and perspectives towards drug design», *Virus Research*. Elsevier B.V., pp. 115–123. doi: 10.1016/j.virusres.2016.10.005.
- Onyiche, T. E. *et al.* (2019) «A review on equine piroplasmiasis: Epidemiology, vector ecology, risk factors, host immunity, diagnosis and control», *International Journal of Environmental Research and Public Health*. MDPI AG. doi: 10.3390/ijerph16101736.
- Pagliosa, G. M. *et al.* (2006) «Influência das pontas excessivas de esmalte dentário na digestibilidade e nutrientes de dietas de eqüinos», *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 58(1), pp. 94–98. doi: 10.1590/s0102-09352006000100014.
- Paradis, M. (2006) *Equine Neonatal Medicine*. 1st ed. Editado por L. Fathman. Philadelphia: Elsevier.
- Parks, A. H. (2012) «Therapeutic Farriery. One Veterinarian's Perspective», *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, pp. 333–350. doi: 10.1016/j.cveq.2012.05.003.
- Peixoto, T. *et al.* (2016) *Dentigerous cyst (Heterotopic polydontia) in a horse - A case report, Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. Rio de Janeiro. Disponível em: <http://rbmv.org/index.php/BJVM/article/view/160/101> (Acedido: 8 de Abril de 2020).
- Pellegrini-Masini, A. e Livesey, L. C. (2006) «Meningitis and Encephalomyelitis in Horses», *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, pp. 553–589. doi: 10.1016/j.cveq.2006.03.003.
- Pelzel-McCluskey, A. M. e Traub-Dargatz, J. L. (2015) «Equine Piroplasmiasis», em *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine: Seventh Edition*. Elsevier Inc., pp. 480–483. doi: 10.1016/B978-1-4557-4555-5.00114-X.

- Pereira, L. F. *et al.* (2019) «Osteocondrite dissecante em equinos», *Revista Científica de Medicina Veterinária*, 32.
- Pérez-Ramírez, E., Llorente, F. e Jiménez-Clavero, M. Á. (2014) «Experimental infections of wild birds with West Nile virus», *Viruses*. MDPI AG, pp. 752–781. doi: 10.3390/v6020752.
- Petersen, L. R., Brault, A. C. e Nasci, R. S. (2013) «West Nile virus: Review of the literature», *JAMA - Journal of the American Medical Association*, pp. 308–315. doi: 10.1001/jama.2013.8042.
- Portas, M. (2010) *Identificação de Equinos*. 2nd ed. Editado por F. A. Real.
- Ramey, D. e Baus, M. (2012) *Ambulatory Practice, An Issue of Veterinary Clinics: Equine Practice*. 1.<sup>a</sup> ed.
- Rappole, J. H. e Hubálek, Z. (2003) «Migratory birds and West Nile virus», em *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*. doi: 10.1046/j.1365-2672.94.s1.6.x.
- Reed, K. D. *et al.* (2003) «Birds, migration and emerging zoonoses: west nile virus, lyme disease, influenza A and enteropathogens.», *Clinical medicine & research*. Marshfield Clinic, pp. 5–12. doi: 10.3121/cmr.1.1.5.
- Reef, V. B. (1985) «Evaluation of the equine cardiovascular system.», *The Veterinary clinics of North America. Equine practice*, 1(2), pp. 275–288. doi: 10.1016/S0749-0739(17)30756-3.
- Reef, V. B. (1995) «Heart murmurs in horses: determining their significance with echocardiography.», *Equine Veterinary Journal*, pp. 71–80. doi: 10.1111/j.2042-3306.1995.tb04992.x.
- Reimer, J. (2013) «Management of equine pericarditis», *Equine Veterinary Education*, 25(7), pp. 334–338. doi: 10.1111/eve.12052.
- Riet-Correa, F., Riet-Correa, G. e Schild, A. L. (2002) «Importância do exame clínico para o diagnóstico das enfermidades do sistema nervoso em ruminantes e eqüídeos», *Pesquisa Veterinária Brasileira*. Colegio Brasileiro de Patologia Animal, 22(4), pp. 161–168. doi: 10.1590/S0100-736X2002000400006.
- Riis, R. C. *et al.* (1999) «Ocular manifestations of equine motor neuron disease», *Equine Veterinary Journal*. British Equine Veterinary Association, 31(2), pp. 99–110. doi: 10.1111/j.2042-3306.1999.tb03801.x.
- Roethlisberger Holm, K. *et al.* (2006) «Effect of local analgesia on movement of the equine back», *Equine Veterinary Journal*, 38(1), pp. 65–69. doi: 10.2746/042516406775374351.
- Romagnoli, N. *et al.* (2015) «Clinical Evaluation of Intralesional Injection of Platelet-Rich Plasma for the Treatment of Proximal Suspensory Ligament Desmitis in Horses», *Journal of Equine Veterinary Science*. W.B. Saunders, 35(2), pp. 141–146. doi: 10.1016/j.jevs.2014.12.011.
- Rosa, A. *et al.* (1994) «Os Arbovírus no Brasil: Generalidades, Métodos e Técnicas de Estudo», *Virologista FNS*, p. 57.
- Ross, Mike e Dyson, S. (2011) *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. Second. Elsevier.
- Rovid-Spicker, A. (2013) *Infecção pelo Vírus do Nilo Ocidental*, *Center for Food Security and Public Health*. Disponível em: [http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/west\\_nile\\_fever.pdf](http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/west_nile_fever.pdf) (Acedido: 16 de Abril de 2020).

- Ruiz, M. O. *et al.* (2010) «Local impact of temperature and precipitation on West Nile virus infection in *Culex* species mosquitoes in northeast Illinois, USA», *Parasites and Vectors*.
- Rush, B. (2014) *Diseases of the Paranasal Sinuses in Horses, MSD - Veterinary Manual*. Disponível em: <https://www.msdsvetmanual.com/respiratory-system/respiratory-diseases-of-horses/diseases-of-the-paranasal-sinuses-in-horses> (Acedido: 22 de Junho de 2020).
- Sage, A. (2006) *Pericarditis: Consider pericardiocentesis and lavage, DMV360*. Disponível em: <https://www.dvm360.com/view/pericarditis-consider-pericardiocentesis-and-lavage> (Acedido: 5 de Abril de 2020).
- Salazar, P. *et al.* (2004) «Outcome of equids with clinical signs of West Nile virus infection and factors associated with death», *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 225(2), pp. 267–274. doi: 10.2460/javma.2004.225.267.
- Sanchez, L. C. (2018) «Disorders of the Gastrointestinal System», em *Equine Internal Medicine: Fourth Edition*. Elsevier Inc., pp. 709–842. doi: 10.1016/B978-0-323-44329-6.00012-7.
- Siger, L. *et al.* (2004) «Assessment of the efficacy of a single dose of a recombinant vaccine against West Nile virus in response to natural challenge with West Nile virus-infected mosquitoes in horses», *American Journal of Veterinary Research*, 65(11), pp. 1459–1462. doi: 10.2460/ajvr.2004.65.1459.
- Silva-Meirelles, J. R. *et al.* (2017) «Orquiectomia em cavalos: Comparação entre três técnicas em relação ao tempo cirúrgico, complicações pós-operatórias e tempo para alta hospitalar», *Archives of Veterinary Science*. Universidade Federal do Parana, 22(4), pp. 73–80. doi: 10.5380/avs.v22i4.48240.
- Silveira Nóbrega, F. *et al.* (2013) «Motor neuron disease in horses: review», *Revista Acadêmica Ciência Animal*. Pontifícia Universidade Católica do Parana - PUCPR, 11(2), p. 205. doi: 10.7213/academica.011.002.ao12.
- Souza, M. V. de (2016a) «Osteoarthritis in horses - Part 1: relationship between clinical and radiographic examination for the diagnosis», *Brazilian Archives of Biology and Technology*. FapUNIFESP (SciELO), 59(0). doi: 10.1590/1678-4324-2016150024.
- Souza, M. V. de (2016b) «Osteoarthritis in horses - Part 2: a review of the intra-articular use of corticosteroids as a method of treatment», *Brazilian Archives of Biology and Technology*. FapUNIFESP (SciELO), 59(0). doi: 10.1590/1678-4324-2016150025.
- Stanton, M. B., Steiner, J. V. e Pugh, D. G. (2004) «Endometrial Cysts in the Mare», *Journal of Equine Veterinary Science*. W.B. Saunders, pp. 14–19. doi: 10.1016/j.jevs.2003.12.003.
- Straioto, K. A., Sitó Da Silva, L. e Ribeiro, M. G. (2018) «Odontologia equina - aspectos importantes», *Enciclopédia Biosfera*, 15. doi: 10.18677/EnciBio\_2018A62.
- Suen, W. W. *et al.* (2014) «Mechanism of west nile virus neuroinvasion: A critical appraisal», *Viruses*. MDPI AG, pp. 2796–2825. doi: 10.3390/v6072796.
- Tallon, R. e McGovern, K. (2018) «Bacterial pneumonia in adult horses», *UK-Vet Equine*. Mark Allen Group, 2(2), pp. 34–41. doi: 10.12968/ukve.2018.2.2.34.
- Theoret, C. e Schumacher, J. (2016) *Equine Wound Management*. 3.<sup>a</sup> ed, *Equine Wound Management: Third Edition*. 3.<sup>a</sup> ed. Editado por C. Theoret e J. Schumacher. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. doi: 10.1002/9781118999219.

- Thomasy, S. (2019) *Overview of Equine Recurrent Uveitis - Eye Diseases and Disorders, Veterinary Manual*. Disponível em: <https://www.msdsvetmanual.com/eye-diseases-and-disorders/equine-recurrent-uveitis/overview-of-equine-recurrent-uveitis> (Acedido: 30 de Março de 2020).
- Townsend, W. M. (2016) «Cataracts: Clinical presentations, diagnosis and management», *Equine Veterinary Education*. Equine Veterinary Journal Ltd, pp. 705–711. doi: 10.1111/eve.12388.
- Valiakos, G. *et al.* (2013) «West Nile Virus: Basic Principles, Replication Mechanism, Immune Response and Important Genetic Determinants of Virulence», em *Viral Replication*. InTech. doi: 10.5772/55198.
- W Smith, R. K. e Ecvcs, D. (2008) «Tendon and Ligament Injury», *AAEP - American Association of Equine Practitioners*.
- Wamsley, H. L. *et al.* (2002) «Findings in cerebrospinal fluids of horses infected with West Nile virus: 30 cases (2001)», *Journal of the American Veterinary Medical Association*. American Veterinary Medical Association, 221(9), pp. 1303–1305. doi: 10.2460/javma.2002.221.1303.
- Ward, M. P. *et al.* (2006) «Characteristics of an outbreak of West Nile virus encephalomyelitis in a previously uninfected population of horses», *Veterinary Microbiology*, 118(3–4), pp. 255–259. doi: 10.1016/j.vetmic.2006.07.016.
- Waselau, M. *et al.* (2008) «Intralesional injection of platelet-rich plasma followed by controlled exercise for treatment of midbody suspensory ligament desmitis in Standardbred racehorses», *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232(10), pp. 1515–1520. doi: 10.2460/javma.232.10.1515.
- White, S. D., Yu, A. A. e Acvd, D. (2006) «Equine Dermatology», *AAEP - American Association of Equine Practitioners*, 52, pp. 457–500.
- Wilkins, P. A. e Del Piero, F. (2004) «West Nile virus: Lessons from the 21st century», *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. Blackwell Publishing Ltd, pp. 2–14. doi: 10.1111/j.1534-6935.2004.04003.x.
- Williams, S., Morales, M. e Stewart, K. (2019) *An Overview of Equine Rehabilitation, VetFolio*. Disponível em: <https://www.vetfolio.com/learn/article/an-overview-of-equine-rehabilitation> (Acedido: 18 de Março de 2020).
- Wilson, M. E. e Robinson, N. E. (2015) «Recurrent Airway Obstruction and Inflammatory Airway Disease», em *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine: Seventh Edition*. Elsevier Inc., pp. 257–261. doi: 10.1016/B978-1-4557-4555-5.00059-5.
- Xiao, L., Herd, R. P. e Majewski, G. A. (1994) «Comparative efficacy of moxidectin and ivermectin against hypobiotic and encysted cyathostomes and other equine parasites», *Veterinary Parasitology*, 53(1–2), pp. 83–90. doi: 10.1016/0304-4017(94)90020-5.
- Zeller, H. G. e Schuffenecker, I. (2004) «West Nile virus: An overview of its spread in Europe and the Mediterranean basin in contrast to its spread in the Americas», *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, pp. 147–156. doi: 10.1007/s10096-003-1085-1.
- Zubrod, C. J. e Schneider, R. K. (2005) «Arthrodesis techniques in horses», *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, pp. 691–711. doi: 10.1016/j.cveq.2005.07.004.

## 5 – Anexos

---

### 5.1 – Questionário

#### Vírus do Nilo Ocidental em Equinos

O presente questionário enquadra-se num estudo epidemiológico sobre o Vírus do Nilo Ocidental em Equinos, em Portugal. As respostas a este questionário serão utilizadas para fins académicos nomeadamente na elaboração de uma tese de Mestrado em Medicina Veterinária, da Universidade de Évora.

Este questionário deverá ser respondido apenas por Médicos Veterinários com prática clínica em Equinos, uma vez que o estudo será sobre esta espécie animal.

Obrigado pela sua colaboração.

**\*Obrigatório**

1. Qual a zona do país em que exerce? \*

*Marcar tudo o que for aplicável.*

- Norte
- Centro
- Grande Lisboa
- Alentejo
- Algarve
- Açores
- Madeira

2. Já teve algum caso equino, confirmado, de Vírus do Nilo Ocidental (WNV)? \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Sim    *Avançar para a pergunta 4*
- Não    *Avançar para a pergunta 12*

3. Quantos?

\_\_\_\_\_

Caso tenha tido algum caso confirmado, responda às seguintes perguntas.

- 
4. Quais os sinais que o levaram a considerar que estaria perante um caso de WNV? \*

*Marcar tudo o que for aplicável.*

- Ataxia  
 Febre  
 Tremores da face  
 Decúbito  
 "Head Pressing"  
 Contração muscular no pescoço/ombro/peito  
 Arrastar de pinça

Outra:  \_\_\_\_\_

5. Em que localidade aconteceu/ram o/os caso/os? \*

---

---

---

---

---

6. Existem estruturas com águas paradas nos arredores da localidade? (piscinas, charcos, lagos) \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Sim  
 Não

7. Nos casos em que encontrou, e que foi confirmado Vírus do Nilo Ocidental, foram feitas análises aos cavalos que co-habitam? \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Sim, todos  
 Sim, alguns  
 Não

8. Dos vários casos que detetou, como ficou o cavalo? \*

Marcar apenas uma oval por linha.

	0	1	2	3	4
Quantos morreram	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Quantos sobreviveram sem lesões	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Quantos sobreviveram com sequelas	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

9. Que idade tinham os cavalos? \*

Marcar apenas uma oval por linha.

	0	1	2	3	4
0-5	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
5-10	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
10-20	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
>20	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

10. Foi reportado na altura, pelo proprietário, ou outra pessoa, a existência de aves mortas no local? \*

Marcar apenas uma oval.

- Sim  
 Não

11. Se respondeu sim à pergunta anterior, sabe qual o tipo de aves?

\_\_\_\_\_

12. Já teve algum caso neurológico que não fez despiste para WNV por motivos económicos? \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Sim  
 Não

13. Nos casos suspeitos que material enviou para amostra?

*Marcar tudo o que for aplicável.*

- Sangue  
 Líquido Cefalorraquidiano

Outra:  \_\_\_\_\_

14. Que testes pede para a pesquisa?

\_\_\_\_\_

15. Quantos cavalos vacina anualmente para WNV? \*

*Marcar apenas uma oval.*

- 0  
 <10  
 10-20  
 20-40  
 40-60  
 60-80  
 80-100  
 >100



16. Em que zonas é que já vacinou?

*Marcar tudo o que for aplicável.*

- Norte
- Centro
- Grande Lisboa
- Alentejo Litoral
- Alentejo Interior
- Algarve
- Açores
- Madeira

17. Recomenda a todos os proprietários a vacinação dos cavalos para este vírus, na zona de risco (Península de Setúbal, Alentejo e Algarve)? \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Sim
- Não
- Sob algumas circunstâncias, como presença de charcos
- Sob algumas circunstâncias, como casos anteriores na zona
- Sob algumas circunstâncias, como aves migratórias na zona

18. Implementa outras medidas de prevenção nas zonas de risco para o Vírus do Nilo Ocidental? \*

*Marcar apenas uma oval.*

- Sim
- Não

19. Foi informado do plano de Vigilância para o Vírus do Nilo Ocidental pela DGAV? \*

*Marcar apenas uma oval.*

Sim

Não

20. Foi informado que a análise para despiste de Vírus do Nilo Ocidental é gratuita em certas circunstâncias? \*

*Marcar apenas uma oval.*

Sim

Não

21. Caso tenha respondido que já teve algum caso de Vírus do Nilo Ocidental, seria muito importante para o meu estudo, que pudesse disponibilizar o contacto para que, caso necessário, eu contacte no futuro caso tenha mais alguma questão. Agradeço desde já a disponibilidade para a resposta deste questionário.

---

## 5.2 – Dados edafoclimáticos recolhidos das várias plataformas meteorológicas dos países onde surgiram casos clínicos

Dados da temperatura e precipitação média mensal da Áustria recolhidos do boletim meteorológico recolhidos pela ZAMG.

Áustria	T. 2017 (°C)	P. 2017 (mm3)	T 2018 (°C)	P 2018 (mm3)	T 2019 (°C)	P 2019 (mm3)
Janeiro	-5,7	49	0,7	104	-3,3	123
Fevereiro	1,3	47	-4,3	46	1,6	52
Março	5,7	70	0,8	61	4,6	67
Abril	6,2	101	11,1	39	7,6	62
Maio	12,4	74	13,9	107	8,5	157
Junho	17,3	101	16	123	18,8	53
Julho	17,3	160	17,6	83	18	108
Agosto	18,1	149	18,7	128	17,9	99
Setembro	10,6	138	14,2	79	13,1	94
Outubro	9,2	75	9,9	87	9,8	69
Novembro	9,2	89	4,2	41	3,9	148
Dezembro	-1,4	84	-0,2	116	0,7	76

Dados da temperatura e precipitação média mensal da Grécia recolhidos do boletim meteorológico recolhidos pela HNMS.

Grécia	T. 2017 (°C)	P. 2017 (mm3)	T 2018 (°C)	P 2018 (mm3)	T 2019 (°C)	P 2019 (mm3)
<b>Janeiro</b>	8,4	28	11,3	36	9,7	121
<b>Fevereiro</b>	11,4	6	12,6	66	10,3	67
<b>Março</b>	14,2	69	15,5	6	13,9	14
<b>Abril</b>	17	4	19,8	5	16,1	61
<b>Mai</b>	21,7	35	23,6	24	20,4	3
<b>Junho</b>	26,1	45	26,7	32	27	32
<b>Julho</b>	29,5	4	28,7	55	29	6
<b>Agosto</b>	29,8	0	29,2	5	30,1	0
<b>Setembro</b>	25,1	0	25	75	25,5	4
<b>Outubro</b>	16,9	4	19,8	10	21,9	22
<b>Novembro</b>	15,5	106	15,9	28	18,4	116
<b>Dezembro</b>	12,6	27	10,9	69	12,6	181

Dados da temperatura e precipitação média mensal da Hungria recolhidos do boletim meteorológico recolhidos pela OMSZ.

Hungria	T. 2017 (°C)	P. 2017 (mm3)	T 2018 (°C)	P 2018 (mm3)	T 2019 (°C)	P 2019 (mm3)
<b>Janeiro</b>	-3,4	26,9	4,3	21,4	1,1	24,1
<b>Fevereiro</b>	4,1	37,1	1,1	43,1	5,9	8,4
<b>Março</b>	10,9	45,4	5	69,7	10,5	9,8
<b>Abril</b>	11,9	53,6	17,6	14,6	14,4	18,6
<b>Mai</b>	18,2	73,3	20,9	55,9	15	136,8
<b>Junho</b>	23,4	27,2	22,3	49,7	24,9	43,8
<b>Julho</b>	23,4	41,3	23,7	13,3	23,6	50,9
<b>Agosto</b>	24,4	69	25,1	66,3	24,7	18
<b>Setembro</b>	16,8	80,5	19,3	64,9	18,7	38
<b>Outubro</b>	12,9	61,7	15	30,6	14,7	13,3
<b>Novembro</b>	7,1	37,4	8,6	36,5	10	89,8
<b>Dezembro</b>	3,1	26	2,8	26,5	4,5	60,9

Dados da temperatura e precipitação média mensal de Espanha recolhidos do boletim meteorológico recolhidos pela AEMet.

Espanha	T. 2017 (°C)	P. 2017 (mm3)	T 2018 (°C)	P 2018 (mm3)	T 2019 (°C)	P 2019 (mm3)
<b>Janeiro</b>	4,9	7,5	6,4	26,4	5,1	11,3
<b>Fevereiro</b>	8,7	20,5	8,9	114,2	8,1	0,1
<b>Março</b>	11,1	11,7	13	40	11,4	6,7
<b>Abril</b>	14,9	14,7	17,1	55,1	12,1	55,1
<b>Maio</b>	19,6	19,3	19,6	19,3	18,4	0,5
<b>Junho</b>	25,9	18,2	21,9	13,3	22,6	1,2
<b>Julho</b>	16,1	50,1	24,8	0	27,3	2
<b>Agosto</b>	26,3	6,2	29,6	0,6	25,8	12
<b>Setembro</b>	21	0	21	5,6	21,4	34,7
<b>Outubro</b>	18,5	37,4	15,4	23,8	16,4	60
<b>Novembro</b>	9,4	16,5	10,5	50,6	10	49,1
<b>Dezembro</b>	5,9	18,9	6,7	11,7	8,4	61,5

Dados da temperatura e precipitação média mensal de Alemanha recolhidos do boletim meteorológico recolhidos pela DWD.

Alemanha	T. 2017 (°C)	P. 2017 (mm3)	T 2018 (°C)	P 2018 (mm3)	T 2019 (°C)	P 2019 (mm3)
<b>Janeiro</b>	-3,62	43,5	4,33	157,8	-0,32	95,6
<b>Fevereiro</b>	3,41	46,8	-2,09	35,6	3,37	26,1
<b>Março</b>	7,39	67,7	3,19	46,2	6,39	84,8
<b>Abril</b>	7,47	57,7	12,5	27,8	9	49,5
<b>Maio</b>	13,93	83	15,23	95,4	10,44	121,3
<b>Junho</b>	18,62	81,1	17,7	61,9	19,04	77,8
<b>Julho</b>	18,58	134,1	20,11	50,7	19,41	76
<b>Agosto</b>	18,4	97,7	22,1	0,6	18,54	91,2
<b>Setembro</b>	12,26	67,1	15,19	49	14,02	58,9
<b>Outubro</b>	10,38	65,2	10,32	31,7	10,91	105
<b>Novembro</b>	4,25	119,2	4,89	21	4,64	64,3
<b>Dezembro</b>	1,66	94	3,17	136	3,01	82,3

Dados da temperatura e precipitação média mensal da Roménia recolhidos do boletim meteorológico recolhidos pelo INMH.

Roménia	T. 2017 (°C)	P. 2017 (mm3)	T 2018 (°C)	P 2018 (mm3)	T 2019 (°C)	P 2019 (mm3)
<b>Janeiro</b>	-3,5	25	-2,2	50	-4,4	50
<b>Fevereiro</b>	-1,35	42,5	-2,09	42,5	-1,9	40
<b>Março</b>	2,95	30	-0,25	70	1,9	30
<b>Abril</b>	4	57,5	9,25	40	5	62,5
<b>Maio</b>	9,35	50	11,75	50	9,3	200
<b>Junho</b>	15,3	50	14,5	100	15,95	200
<b>Julho</b>	16,4	50	15,35	80	15,2	100
<b>Agosto</b>	17,3	50	19,95	75	17,15	100
<b>Setembro</b>	12,3	60	12	50	12,25	40
<b>Outubro</b>	6,3	80	8,6	50	8,6	50
<b>Novembro</b>	2,6	60	3,7	50	3,7	60
<b>Dezembro</b>	-0,9	75	-3,3	50	0,55	55

Dados da temperatura e precipitação média mensal de França recolhidos do boletim meteorológico recolhidos pelo METEOFRACTE.

França	T. 2017 (°C)	P. 2017 (mm3)	T 2018 (°C)	P 2018 (mm3)	T 2019 (°C)	P 2019 (mm3)
<b>Janeiro</b>	5,6	52,8	11	202,5	6,65	22,6
<b>Fevereiro</b>	10,95	18,2	5,8	129,3	9,3	12,9
<b>Março</b>	13,15	85,1	11	101,9	12,1	0,2
<b>Abril</b>	14,7	29,9	14,65	76,8	13,15	42
<b>Maio</b>	18,1	30,1	18,05	67,8	17,1	32,6
<b>Junho</b>	23,7	36,2	22,1	45	21,55	7,6
<b>Julho</b>	24,75	1,6	25,7	25,4	26,05	5,8
<b>Agosto</b>	24,55	13	25,3	22,4	24,85	4,6
<b>Setembro</b>	18,95	7	21,75	2,2	21,55	43,2
<b>Outubro</b>	17,55	21,1	17,1	147,6	17,85	133,4
<b>Novembro</b>	11,05	14,4	12,6	127,1	10,85	74,3
<b>Dezembro</b>	7,1	11,2	9,5	16	10,6	20,4

Dados da temperatura e precipitação média mensal de Portugal recolhidos do boletim meteorológico recolhidos pelo IPMA.

Portugal	T. 2017 (°C)	P. 2017 (mm3)	T 2018 (°C)	P 2018 (mm3)	T 2019 (°C)	P 2019 (mm3)
<b>Janeiro</b>	8,26	62,4	9,04	84,5	8,63	57,3
<b>Fevereiro</b>	11,05	113,5	8,56	65,6	10,62	34,5
<b>Março</b>	12,36	80,9	10,29	272,1	12,79	45,3
<b>Abril</b>	16,09	11,5	13,22	118,5	12,99	117,2
<b>Mai</b>	18,47	66,1	16,07	38,5	18,11	13,3
<b>Junho</b>	22,34	9,6	19,52	48,5	18,19	23,8
<b>Julho</b>	22,73	5,3	21,15	7,8	22,19	5,9
<b>Agosto</b>	23,03	8,2	24,5	1,8	22,53	16,2
<b>Setembro</b>	19,95	2	23	8,1	20,95	19,8
<b>Outubro</b>	19,57	26,9	16,64	70,4	16,75	79,3
<b>Novembro</b>	12,64	62,2	11,87	178	12,12	160,8
<b>Dezembro</b>	9,29	91,9	10,58	54	10,99	213

Dados da temperatura e precipitação média mensal da Europa recolhidos a partir da realização da média dos dados anteriores.

Europa	T. 2017 (°C)	P. 2017 (mm3)	T 2018 (°C)	P 2018 (mm3)	T 2019 (°C)	P 2019 (mm3)
<b>Janeiro</b>	1,4	36,9	5,6	85,3	2,9	63,1
<b>Fevereiro</b>	6,2	41,5	3,6	67,8	5,9	30,1
<b>Março</b>	9,7	57,5	7,3	83,4	9,2	32,2
<b>Abril</b>	11,5	41,2	14,4	47,1	11,3	58,5
<b>Mai</b>	16,5	53,9	17,4	57,2	14,7	83,1
<b>Junho</b>	21,6	46	20,1	59,2	21	54,9
<b>Julho</b>	21,1	55,8	22,1	39,4	22,6	44,3
<b>Agosto</b>	22,8	49,1	24,3	37,5	22,7	42,6
<b>Setembro</b>	17,1	44,3	18,9	41,7	18,4	41,6
<b>Outubro</b>	13,9	46,4	14,1	56,4	14,6	66,5
<b>Novembro</b>	9	63,1	9	66,5	9,2	95,3
<b>Dezembro</b>	4,7	53,5	5	59,9	6,4	93,8