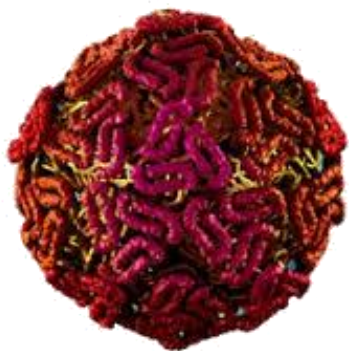




Sistema Integrado de
Vigilância de Zoonoses



Workshop Febre do Nilo Ocidental

3 novembro 2025

Sílvia Barros, Investigadora Sénior do INIAV (BSc, PhD)

Margarida Duarte, Investigadora Sénior do INIAV (DVM, MSc, PhD)

Objetivo

West Nile Fever (WNF) (endemic) – to monitor occurrence in vectors and animals (passive surveillance), detect occurrence, further reinforce local surveillance and implement preventive action in human and animals;

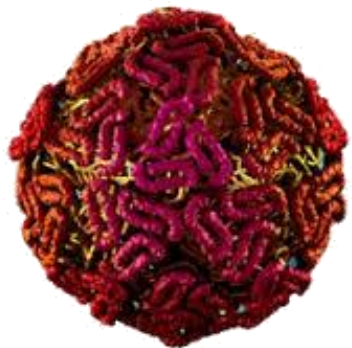


Co-funded by
the European Union

Projeto: 101132818 — SIVIZ — EU4H-2022-DGA-MS-IBA3 *Development of an Integrated Surveillance and Alert System of Zoonosis in Portugal* (AWP Ref: CP-g-22-04.01)



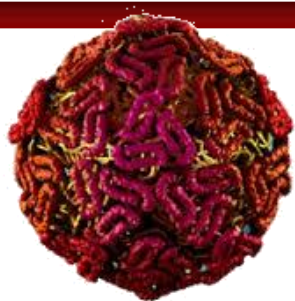
Sistema Integrado de
Vigilância de Zoonoses



Tópicos abordados

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão;
2. Fatores de risco;
3. Diagnóstico do vírus da FNO em vertebrados.
4. Resultados (alguns)

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão

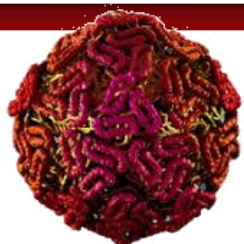


Tipo de doença: inaparente a grave

Agente causal: vírus do Nilo Ocidental, **arbovirus**
família *Flaviviridae*, género *Orthoflavivirus*
ssRNA, 1 único segmento, 11kb
Serocomplexo do vírus da encefalite Japonesa.

Vetores: >48 species de mosquitos ornitofílicos infetados pelo WNV,
predominantemente pertencentes ao género *Culex*.
Culex pipens (Continente Europeu)
Aedes albopictus (Western US)

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão



Vias de transmissão



Picada de insecto infetado
pelo WNV (transmissão
vetorial ativa)

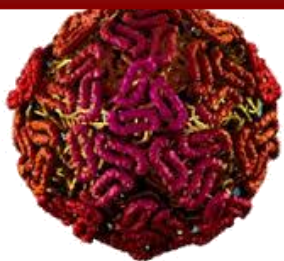


Ingestão de aves doentes ou mortas infetadas por WNV por
aves **predadoras** (como
falcões e corujas) ou
necrófagas (como corvos).



Ingestão de mosquitos infetados
por WNV por **aves insetívoras**

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão



Hospedeiros suscetíveis:

- > 320 espécies de aves;
- ≥ 2 espécies de reptéis (jacaré);
- >25 espécies de mamíferos (maioria não desenvolve sinais clínicos)

javalis, ruminantes selvagens, morcegos, roedores e musaranhos, cavalos, homem.

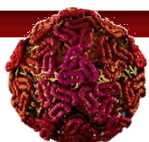
Reservatórios naturais do vírus (Hospedeiro de amplificação): aves selvagens, nomeadamente corvídeos (ex. corvos, gralhas, pegas, gaios), são as mais frequentemente encontradas infetadas



virémias altas que asseguram a transmissão eficaz por mosquitos

Hospedeiros terminais ou em fundo-de-saco: equídeos, homem e outros são hospedeiros finais da doença mas não têm relevância na transmissão, por terem virémias curtas com baixa concentração de vírus.

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão



Sinais clínicos nas aves

Inaparentes:



infec. subclínicas



Dr. Nicole Nemeth.

Sinais inespecíficos



Emaciação,
Desidratação,
Fraqueza,
Recumbência,
Letargia,
Cabeça caída,
Anorexia,
Muda anormal ou perda de penas,
Penas eriçadas.

Sinais clínicos neurológicos



Ataxia,
Torcicolo,
Nistagmo,
Tremores,
Paresia dos membros posteriores,
Convulsões,
Cegueira.



Morte

O diagnóstico clínico carece de confirmação laboratorial

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão

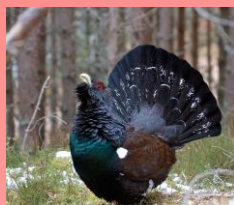
Suscetibilidade das aves selvagens e exóticas



Passer domesticus (pardal-do-telhado)

Virémias elevadas

Baixa mortalidade



Accipiter gentilis (açor comum)



Infeção pode ser letal

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão

Suscetibilidade das aves domésticas



- Desconhece-se se pintos mais velhos, galinhas adultas e perus desenvolvem doenças associadas ao WNV, mas parecem ser altamente resistentes à doença;
- Galinhas domésticas frequentemente apresentam seroconversão sem nunca terem mostrado sinais clínicos da doença;
- Infecções experimentais em galinhas não conseguiram induzir a doença.

Baixa mortalidade



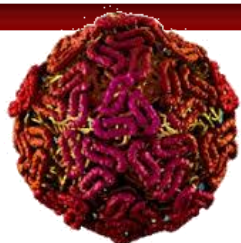
Pintos com 1 dia
infetados
experimentalmente
com o WNV
apresentaram penas
erichadas, fraqueza e
letargia antes da
morte.



Patos e Gansos são afetados pelo vírus

Infeção pode ser letal

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão



Sinais clínicos nos Equinos

Sinais clínicos variáveis: Ligeiros até manifestações neurológicas graves ou morte
Representam 97% dos casos não-humanos reportados

Inaparentes:



infec. subclínicas

Inespecíficos:



Febre
Anorexia
Depressão

Neurológicos:



Ataxia
Tremores
Contração muscular
Fraqueza membros posteriores
Paralisia parcial
Dificuldades de visão
Dificuldades de deglutição
Bruxismo
Movimentos circulares
Convulsões

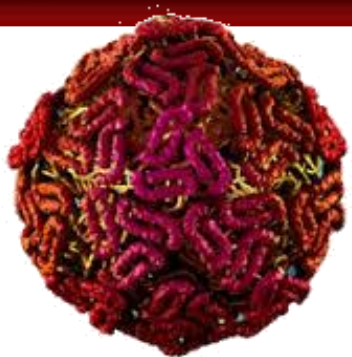


Morte



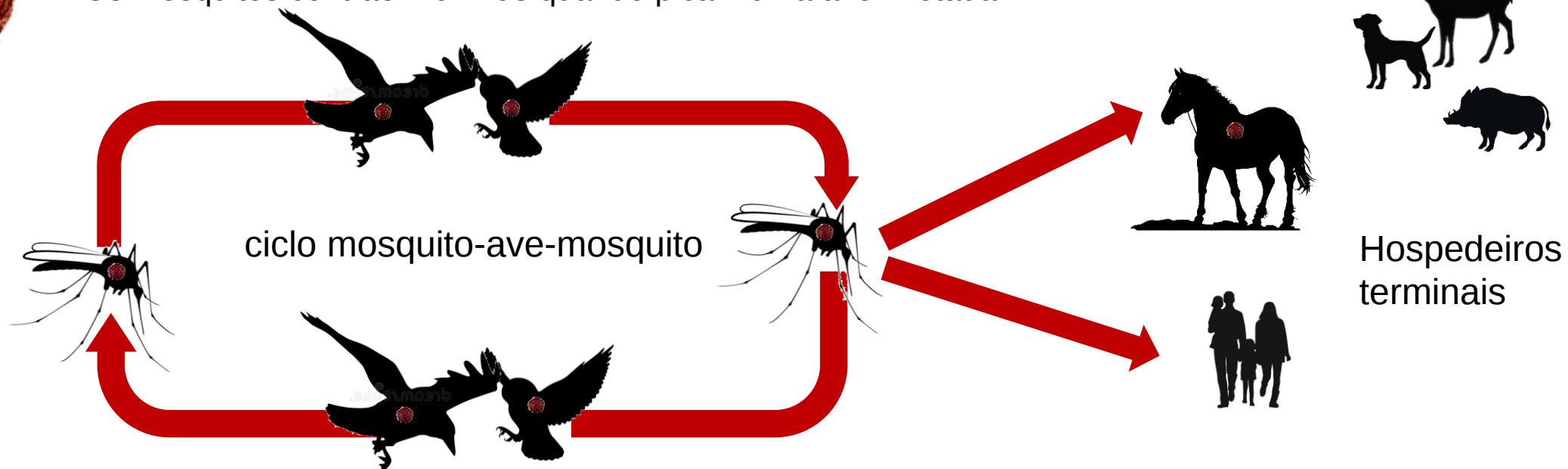
O diagnóstico clínico carece de confirmação laboratorial

1. A doença nos animais e suas vias de transmissão



Ciclo de transmissão

Os mosquitos contraem o vírus quando picam uma ave infectada.



2. Fatores de Risco para os Equinos



- Proximidade com charcas (favorecem os mosquitos);

- Proximidade com aves selvagens infetadas;

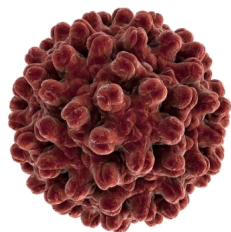
- Áreas geográficas de risco.

Maior risco nas zonas onde a doença é mais prevalente.

Desde 2015: Vários concelhos
do Algarve, Alentejo e Ribatejo

Em 2025: Até à data foram confirmados surtos no Alentejo
(3 concelhos: Serpa, Beja e Santiago do Cacém)

2. Fatores de Risco para os Equinos.



**Recomendações
aos proprietários
de equídeos para
minimizar o risco
de infeção**

Vacinação preventiva:

Vacinação dos cavalos autorizada nas zonas de risco, mediante solicitação do médico veterinário assistente à DGAV e conforme os procedimentos estabelecidos.
Não existe vacina aprovada para aves.



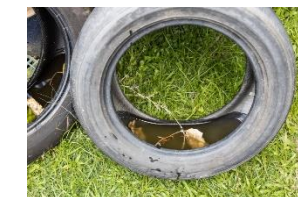
Proteção contra mosquitos:

Proteger os equinos da exposição aos mosquitos durante os períodos de maior atividade (amanhecer e entardecer), recolhendo-os.
Utilizar repelentes de insetos.
Aplicar inseticidas nos locais adjacentes às instalações dos animais.



Eliminação de criadouros:

Eliminar os locais de reprodução de mosquitos como poças e charcos.
Remoção de águas estagnadas, como poças e charcos, que servem de locais de reprodução para os mosquitos.

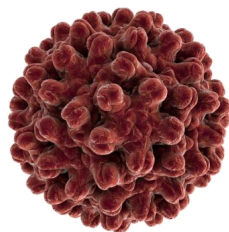


Vigilância passiva:

Monitorizar os sinais clínicos nos **equinos** e notificar a DGAV da existência de casos suspeitos.
Informar a DGAV da existência de **aves selvagens** mortas na proximidade das instalações dos equinos para que sejam recolhidas e testadas.



2. Fatores de Risco para os Equinos



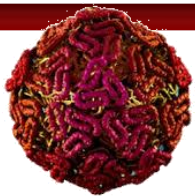
Medidas de vigilância

Monitorização de aves selvagens (por exemplo, aves migratórias do Norte de África, corvos, entre outras) através de testes a aves mortas e recolha de amostras de aves vivas;

Captura de mosquitos e testes de vírus em quintas de cavalos onde há suspeita de febre do Nilo Ocidental;

Monitorização de equídeos, incluindo campanhas de sensibilização para a doença dirigidas a produtores e veterinários, exames a animais com sintomas suspeitos e recolha de amostras de animais em zonas de risco, entre outras medidas.

3. Diagnóstico do vírus da Febre do Nilo Ocidental em vertebrados



Diagnóstico serológico

ELISAs comerciais de captura e de competição.

em Equinos:

IgM (caso clínico)

West Nile Virus (WNV) & Flaviviruses

ID Screen® West Nile IgM Capture

ELISA 

IgM Antibody Capture ELISA (MAC) kit for the detection of anti-prE IgM antibodies in horse serum and plasma.

The detection of IgM antibodies indicates recent infection and WNV circulation.



em Aves/ Equinos:

Ig (IgG e outras)

INNOVATIVE-DIAGNOSTIC

ID SCREEN® WEST NILE COMPETITION MULTI-SPECIES

ELISA Ab

West Nile fever

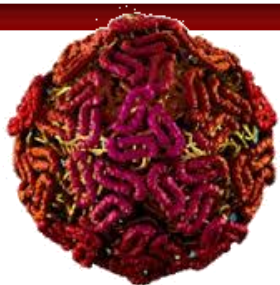
Product reference : WNC-1P

Competitive ELISA kit for the detection of anti-pr-E antibodies in multiple species

The kit is proven to detect a wide range of Flavivirus antibodies (WNV, JEV, TBEV, JEV, USUV, ZIKAV, and DENV) in multiple species, including humans (see References).



3. Diagnóstico do vírus da Febre do Nilo Ocidental em vertebrados



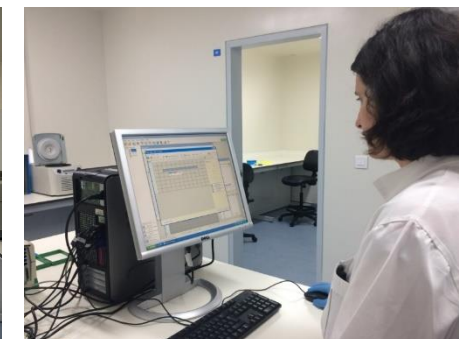
Diagnóstico molecular

Extração automática de ácidos nucleicos (KingFisher, Thermo Scientific)

Técnica de RT-qPCR: (Barros et al., 2013)

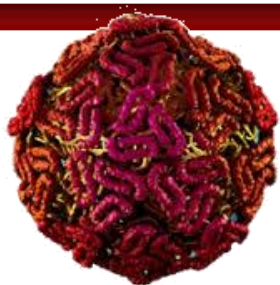
Gene alvo: NS2A

Tempo de resposta: 4 horas



1 único caso com RT-qPCR e isolamento positivo: Set. 2024

3. Diagnóstico do vírus da Febre do Nilo Ocidental em vertebrados



Isolamento viral

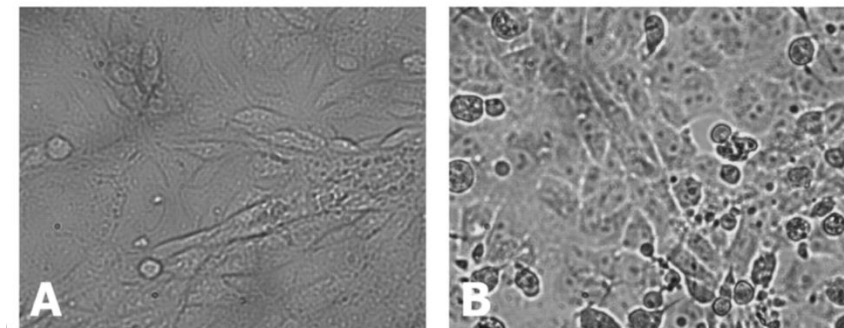
BSL-3

Células: Vero (ATCC CCL-81)

ECP característico: focos de lise celular

Nº de passagens: até 3

Entre 2015 e 2025 - 1 caso positivo ao isolamento



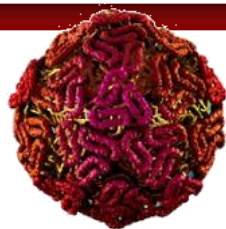
Fonte: In Vitro Evaluation of the Protective Role of Human Antibodies to West Nile Virus (WNV) Produced during Natural WNV Infection

•October 2008

•[The Journal of Infectious Diseases](#) 198(9):1300-8

DOI:[10.1086/592277](#)

3. Diagnóstico do vírus da Febre do Nilo Ocidental em vertebrados



Caracterização molecular

- Sequenciação integral do genoma (Illumina, Minion (Nanopore))
- Identificação da linhagem (9 reconhecidas):

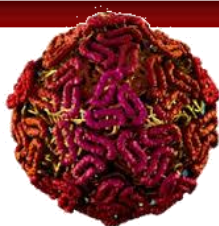
Linhagens **1 e 2**: as mais comuns (surto dos últimos anos na Europa em humanos)

Linhagem 1. Responsável pela maioria dos surtos em humanos e equinos a partir de 2004

Linhagem 2. Tinha circulado em aves/emergiu na Hungria em humanos/emergiu na Europa e Mediterrâneo)

Linhagens **3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9** representadas por poucos isolados.

Resultados do 1º ano do Projeto SIVIZ

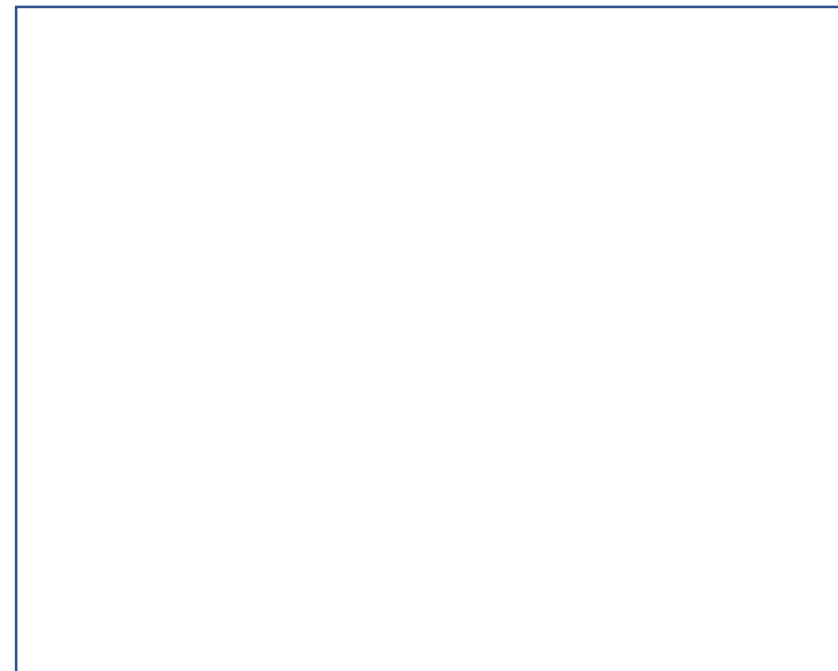
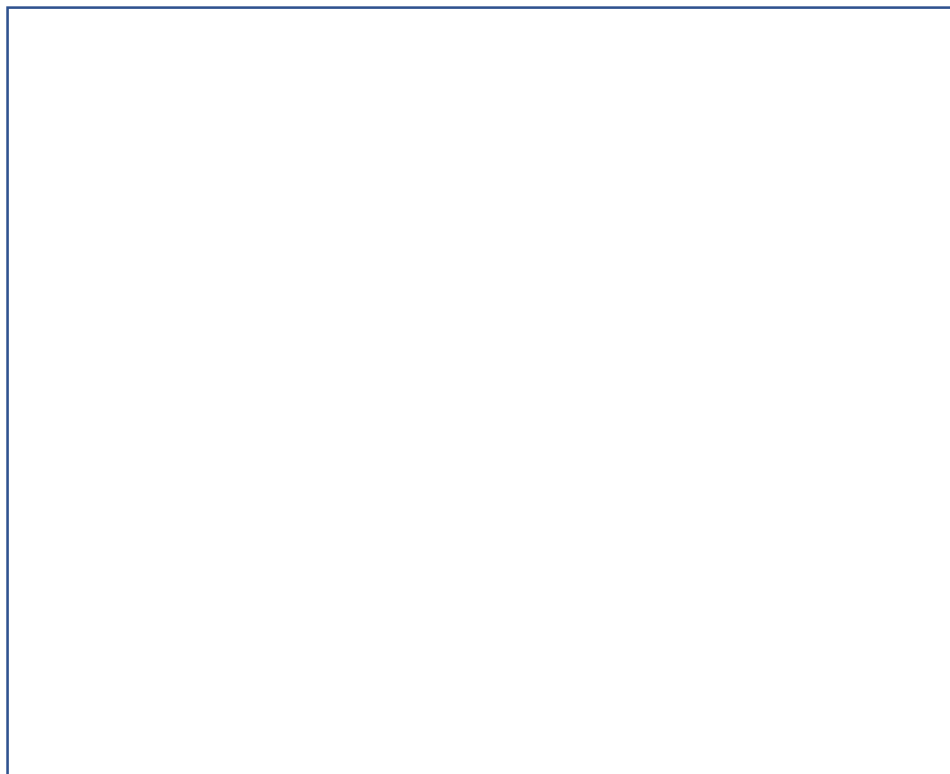


Espécie	Matriz	Nº de amostras positivas/testadas	Nº amostras previstas	Método de Diagnóstico
Equinos com suspeita clínica (vivos ou mortos)	LCR, cérebro, sangue	0/0	3	RT-qPCR (PE-211)
Equinos com suspeita clínica (vivos)	Soro	31/42	60	IgM ELISA (PE-062)
Aves sp ao ar livre (vivas)	Soro	0/10	200	RT-qPCR (PE-211)
Aves sp ao ar livre (mortas)	Cérebro, coração, fígado	0/22	50	IgG ELISA (PE-024)
Aves selvagens (mortas)		2/10	50	RT-qPCR (PE-211)

Resultados em Equinos



Caso clínico: IgM pos



Resultados em aves



(*Accipiter gentilis*)



microorganisms



Article

Tracking the Pathways of West Nile Virus: Phylogenetic and Phylogeographic Analysis of a 2024 Isolate from Portugal

Diogo Maroco ^{1,2}, Ricardo Parreira ^{2,3}, Fábio Abade dos Santos ^{1,4}, Ângela Lopes ¹, Fernanda Simões ¹, Leonor Orge ^{1,4}, Sofia G. Seabra ^{2,5}, Teresa Fagulha ¹, Erica Brazio ⁶, Ana M. Henriques ¹, Ana Duarte ^{1,7,8}, Margarida D. Duarte ^{1,7,8} and Sílvia C. Barros ^{1,9,*}

- ¹ Nacional Institute of Agrarian and Veterinarian Research, Quinta do Marquês, Av. da República, 2780-157 Oeiras, Portugal; diogompmaroco@gmail.com (D.M.); fabio.abade@iniav.pt (F.A.d.S.); angela.lopes@iniav.pt (Â.L.); fernanda.simoes@iniav.pt (FS.); leonor.orge@iniav.pt (L.O.); teresa.fagulha@iniav.pt (T.F.); margarida.henriques@iniav.pt (A.M.H.); ana.duarte@iniav.pt (A.D.); margarida.duarte@iniav.pt (M.D.D.)
- ² Institute of Hygiene and Tropical Medicine, NOVA University, Global Health and Tropical Medicine (GHTM), Associate Laboratory in Translation and Innovation Towards, Global Health (LA-REAL), Rua da Junqueira 100, 1349-008 Lisbon, Portugal; ricardo@ihmt.unl.pt (R.P.); sgseabra@ihmt.unl.pt (S.G.S.)
- ³ Medical Microbiology Unit, Institute of Hygiene and Tropical Medicine, NOVA University, Global Health and Tropical Medicine (GHTM), Associate Laboratory in Translation and Innovation Towards, Global Health (LA-REAL), Rua da Junqueira 100, 1349-008 Lisbon, Portugal
- ⁴ CECAV-Centro de Ciência Animal e Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa-Universidade Lusófona, Centro Universitário de Lisboa, 1749-024 Lisbon, Portugal
- ⁵ Global Public Health Unit, Institute of Hygiene and Tropical Medicine, NOVA University, Global Health and Tropical Medicine (GHTM), Associate Laboratory in Translation and Innovation Towards, Global Health (LA-REAL), Rua da Junqueira 100, 1349-008 Lisbon, Portugal
- ⁶ Wildlife Rehabilitation Centre of Lisbon (LxCRAS), Parque Florestal de Monsanto, Monte das Perdizes, 1500-068 Lisbon, Portugal; erica.brazio@cm-lisboa.pt
- ⁷ Associate Laboratory for Animal and Veterinary Sciences (AL4AnimalS), Avenida da Universidade de Lisboa, 1300-477 Lisbon, Portugal
- ⁸ Faculdade de Medicina Veterinária, Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health (CIISA), Universidade de Lisboa, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisbon, Portugal
- ⁹ Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, Campus da Caparica, 2829-516 Almada, Portugal

* Correspondence: silvia.santosbarros@iniav.pt; Tel.: +351-214403500



Academic Editor: Isabelle Chemin

- WNV linhagem 1a
- Análise Filogenética e Filogeográfica: origem no Continente Africano (Senegal)

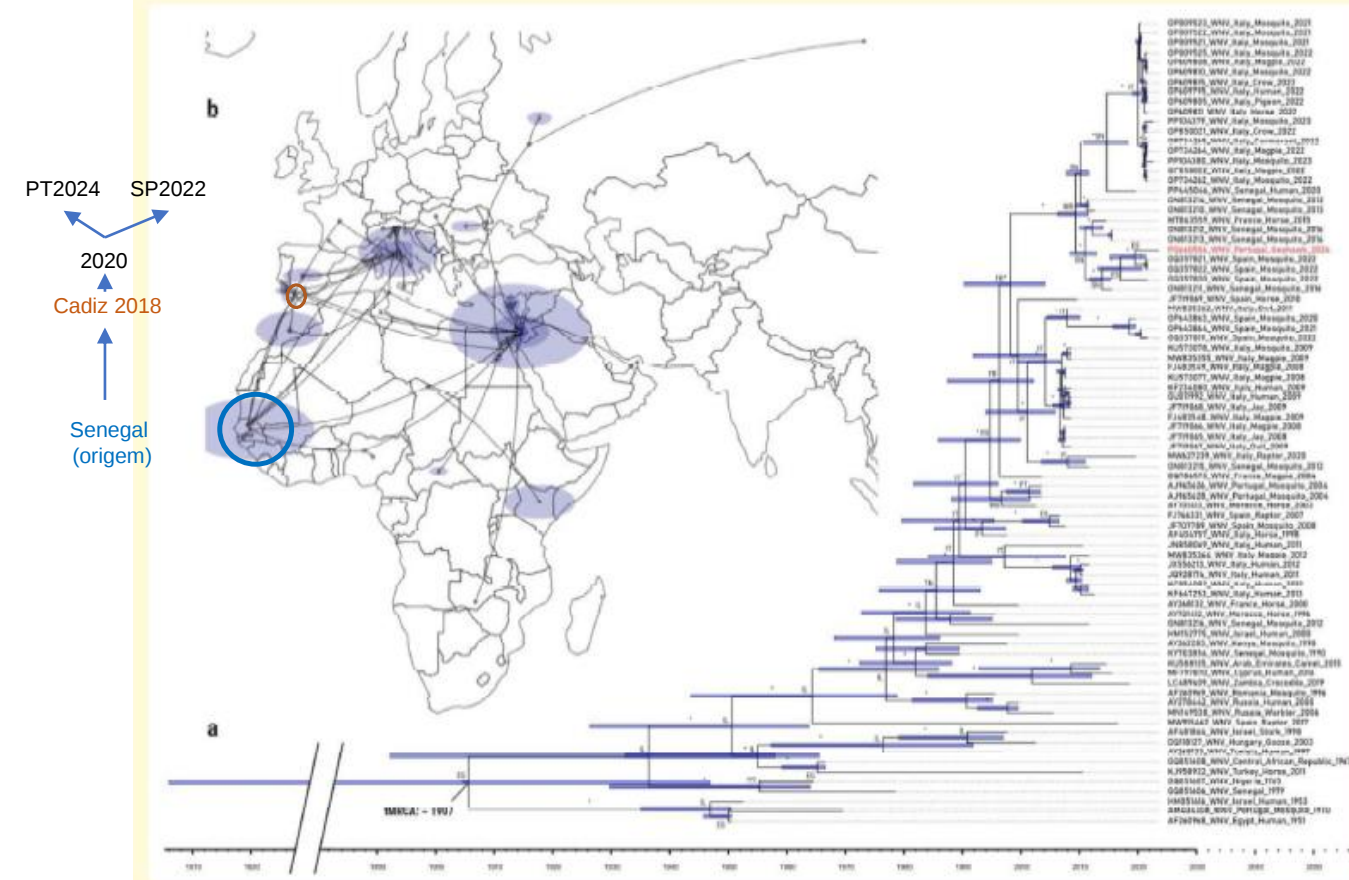


Figure 2. (a) Time-scaled Bayesian phylogenetic tree of West Nile virus lineage 1a strains. Posterior probabilities at specific branch nodes that are equal or greater than 0.85 are indicated by an asterisk (*). The 95% highest posterior density (HPDs) of the median node ages are represented by blue bars. The time of the most recent common ancestor (tMRCA) was estimated to be around 1907. Viral sequences are identified by their accession number, country of origin, host, and year of collection. The WNV/18665/PT2024 genomic sequence is indicated in red. The estimated locations of specific branch nodes are shown using their respective ISO 3166-1 alpha-2 country codes. (b) Phylogeographic reconstruction and diffusion pattern of the 82 L1a genomes and their ancestors. The blue polygon areas correspond to the probability density associated with those locations.

A inferência filogenética sugere que o isolado 2024 de Portugal teve origem no continente africano, sendo o **Senegal** identificado como o país de origem mais provável.

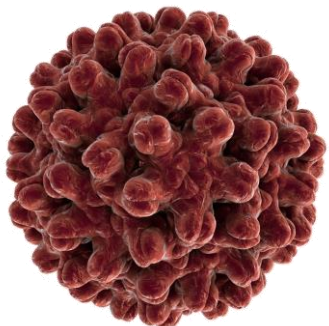
Os resultados também sugerem que um ancestral comum chegou pela primeira vez à **Península Ibérica** por volta de **2018**, entrando por **Cádiz**, Espanha.

Este ancestral comum parece ter-se **divergido por volta de 2020**, espalhando-se em duas direções distintas: uma em direção ao continente português, resultando no isolado português de 2024, e a outra em direção ao centro de Espanha, onde as estirpes espanholas de 2022 se estabeleceram posteriormente.

Este padrão de disseminação fornece uma explicação plausível para a relação genética observada entre o isolado português e as estirpes espanholas de 2022.



Sistema Integrado de
Vigilância de Zoonoses



West Nile Virus

Obrigada pela atenção



Co-funded by
the European Union

Projeto: 101132818 — SIVIZ — EU4H-2022-DGA-MS-IBA3 *Development of an Integrated Surveillance and Alert System of Zoonosis in Portugal* (AWP Ref: CP-g-22-04.01)