



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

JÉSSICA DE CRASTO SOUZA CARVALHO

**Identificação dos fatores de manejo associados à ocorrência
do Mormo em equídeos no Nordeste do Brasil.**

Recife, 2022



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

JÉSSICA DE CRASTO SOUZA CARVALHO

**Identificação dos fatores de manejo associados à ocorrência
do Mormo em equídeos no Nordeste do Brasil.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota

Recife, 2022.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- C331i Carvalho, Jéssica de Crasto Souza Carvalho
Identificação dos fatores de manejo associados à ocorrência do Mormo em equídeos no Nordeste do Brasil. / Jéssica de Crasto Souza Carvalho Carvalho. - 2022.
56 f. : il.
- Orientador: Rinaldo Aparecido Mota.
Inclui referências.
- Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, 2022.
1. epidemiologia. 2. fator de risco. 3. equídeos. I. Mota, Rinaldo Aparecido, orient. II. Título

CDD 636.089

FOLHA DE APROVAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal, outorgado pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, à disposição na Biblioteca Central desta universidade. A transcrição ou utilização de trechos deste trabalho é permitida, desde que respeitadas as normas de ética científica.

Jéssica de Crasto Souza Carvalho

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota Professor
Titular de Doenças Infecciosas – UFRPE
Orientador

Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Junior
Professor de Doenças Infecciosas – DMV/UFRPE

Profa. Dra. Karla Patricia Chaves da Silva
Professora de Doenças infecciosas – DMV/UFAL

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS pela vida, por ter me guiado durante todo esse período, por ter me dado saúde para executar mais esta etapa da minha vida, por toda orientação e direcionamento, “a ti Senhor, minha gratidão e minha vida”.

Agradeço aos meus pais, Fernanda Elizabeth e Clevio Márcio, por serem minha base, meus maiores apoiadores e incentivadores, sem vocês, nada disso seria possível. Agradeço a minha avó Aleir Pessoa, ao meu avô Fernando Pereira, minha avó Marília Souza (in memoriam), minha tia Taciana Carvalho, meu tio Caio Lapa, minha tia Socorro e minha tia Catarina Souza.

Agradeço ao meu orientador, Professor Rinaldo Aparecido Mota, pela oportunidade ao longo de toda minha jornada acadêmica, que esta parceria possa perdurar muitos anos. Agradeço a paciência, dedicação, incentivo, conselhos, conhecimento e “puxões de orelha”.

Ao grupo LDIC, Professor Wilton Junior, Professora Erika Samico, Professora Karla Patrícia, Renata Pimentel, Marcus Falcão, Denny, Renato Amorim, Jonatas, Muller, Kim Pomy (in memoriam), Nazaré, Gabi Silva, Amanda Noronha, Júnior Mário (in memoriam), Polly, Amanda Silva, Givanilton, Raylson, Breno, Bruno, Cinthia, Leonardo, Tay, obrigada por contribuírem direta ou indiretamente com o desenvolver da pesquisa e por deixarem a rotina mais leve, apesar de todas as dificuldades que enfrentamos durante este período. Em especial, a Marcus falcão, pela paciência, amizade e suporte para o desenvolvimento da pesquisa. A todos do Hospital Veterinário da UFRPE, em especial a Sandrinha e Cleide.

Agradeço a Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Departamento de Medicina Veterinária, bem como a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento para execução da pesquisa. Agradeço ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, em especial a Dra. Vânia Lúcia Santana. Agradeço a Agência de Defesa e Inspeção Agropecuária de Alagoas (ADEAL) e Agência de Defesa e Fiscalização Agropecuária do Estado de Pernambuco (ADAGRO).

"Pois em verdade vos digo que, se tiverdes fé como um grão de mostarda, direis a este monte: Passa daqui para acolá, e ele passará. Nada vos será impossível"

(Mt 17.20)

RESUMO

Objetivou-se com esta pesquisa realizar um estudo epidemiológico da infecção por *Burkholderia mallei* em equídeos procedentes de propriedades nos estados de Pernambuco e Alagoas. Para o estudo epidemiológico foram aplicados questionários investigativos em 6 propriedades focos (2017-2021) e 11 não focos e realizada análise estatística dos fatores associados à ocorrência do Mormo. No estudo epidemiológico, observou-se associação significativa para as seguintes variáveis: objetivo da criação (comércio, esporte e trabalho nas fazendas) ($p=0,023$); ausência de informação a respeito das formas de transmissão da bactéria ($p=0,034$); não realização de exames periódicos para o diagnóstico do Mormo ($p=0,029$); exigência de exame negativo na compra de equinos ($p=0,06$); utilização do sistema de criação extensivo ($p=0,027$) e, por fim, a menor frequência de higienização das baias ($p=0,001$). Os resultados obtidos auxiliam na implementação de medidas de manejo que minimizam o risco de transmissão da bactéria, reduzindo os casos da doença na região.

Palavras-chave: epidemiologia, fator de risco, equídeos.

ABSTRACT

The aim of this research was to carry out an epidemiological study of *Burkholderia mallei* infection in equines from properties in Pernambuco and Alagoas States. For the epidemiological study, investigative questionnaires were applied to 6 outbreak properties (2017-2021) and 11 non-focus properties, and statistical analysis of the factors associated with Glanders's occurrence was performed. In the study, a significant association was observed for the following variables: purpose of breeding (trade, sport and work on farms) ($p=0.023$); lack of information about the forms of transmission of the bacteria ($p=0.034$); failure to perform periodic examinations for the diagnosis of Glanders ($p=0.029$); requirement of a negative test in the purchase of horses ($p=0.06$); use of the extensive rearing system ($p=0.027$) and, finally, the lower frequency of cleaning the stalls ($p=0.001$). The results obtained can help in the implementation of management measures that minimize the risk of transmission of the bacteria, reducing the cases of the disease in the region.

SUMÁRIO

1. Introdução	09
2. Revisão de Literatura	10
2.1 Histórico	10
2.2 Etiologia	11
2.3 Epidemiologia	13
2.4 Patogenia e sinais clínicos	17
2.5 Diagnóstico	19
2.5.1 Métodos diretos	19
2.5.2 Métodos indiretos.....	24
2.6 Controle e Prevenção	25
3. Objetivos	27
3.1 Geral	27
3.2 Específicos	27
4. Referências	28
5. Artigo	37
6. Considerações finais.....	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Incidência de Mormo nas propriedades por estados no período de 2005 e 2017.....	13
Figura 2 -	Cultivo microbiológico de <i>Burkholderia mallei</i> em ágar base acrescido de 5% de sangue ovino. Colônias pequenas, mucóides, acinzentadas e não hemolíticas.....	21
Gráfico 1 -	Distribuição dos casos suspeitos, confirmados, sacrificados e mortos naturalmente de Mormo no Brasil de 2005 a 2019	14
Gráfico 2 -	Distribuição anual dos casos de Mormo nas Zonas da Mata, Agreste e Sertão do estado de Pernambuco no período de 2005 a 2011.....	15
Gráfico 3 -	Distribuição dos casos de Mormo em Alagoas, Nordeste do Brasil, no período de 2005 a 2019.....	25

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** Propriedades controle positivo (foco) e controle negativo (não foco) para Mormo, no período de 2017 a 2021, do Nordeste do Brasil..... 40
- Tabela 2** Análise de associação entre as variáveis epidemiológicas e a ocorrência de Mormo em equídeos na região Nordeste do Brasil, no período de 2017 a 2021..... 42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

B -	<i>Burkholderia</i>
Bim A -	Proteína de Motilidade Celular A de <i>Burkholderia</i>
CAP -	Proteína recombinante do capsídeo
CDC -	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
dATP -	Desoxiadenosina trifosfato
dCTP -	Desoxicitidina trifosfato
dGTP -	Desoxiguanosina trifosfato
DSA -	Departamento de Saúde Animal
dTTP -	Desoxicitidina trifosfato
ELISA -	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
EPI -	Equipamento de proteção individual
EUA -	Estados Unidos da América
FC -	Fixação do Complemento
fliC -	Gene flagelina C
fliP -	Gene flagelina P
GTA -	Guia de Trânsito Animal
IgG -	Imunoglobulina G
IN -	Instrução Normativa
LDIC -	Laboratório de Doenças Infectocontagiosas
LFDA -	Laboratório Federal de Defesa Agropecuária

LPS -	Lipossacarídeo
MAPA -	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NCBI -	National Center for Biological Information
OIE -	Organização Mundial de Saúde Animal
orf11 -	Open Reading Frame 11
orf13 -	Open Reading Frame 13
PANAFTOSA -	Centro Pan-Americano de Febre Aftosa
PCR-HRM -	Reação em Cadeia da Polimerase - High Resolution Melt
PCR -	Reação em Cadeia da Polimerase
PPD -	Derivado Proteico Purificado
RAPD -	DNA polimórfico amplificado ao acaso
rpsU -	Proteína da subunidade ribossômica
rRNA -	Ácido Ribonucleico Ribossomal
RT PCR -	Reação de transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase
SDA -	Secretaria de Defesa Agropecuária
T6S -	Proteína de secreção tipo 6
Taq -	Enzima Taquipolimerase
TSSB -	Proteínas de revestimento
TTSS -	Região de Secreção Tipo III
UFRPE -	Universidade Federal Rural de Pernambuco
WB -	Western Blotting

1. INTRODUÇÃO

O mormo é uma doença infectocontagiosa, zoonótica, que acomete principalmente os equídeos, entretanto também pode acometer o homem, carnívoros e, eventualmente, os pequenos ruminantes (MOTA, 2006).

É causado por uma bactéria denominada *Burkholderia* (B.) *mallei*. Clinicamente, a doença caracteriza-se principalmente por febre, linfangite, nódulos cutâneos, tosse e corrimento nasal purulento. Primariamente, as lesões nodulares evoluem para úlceras, que após a cicatrização formam lesões em forma de estrela, ocorrendo com maior frequência na forma crônica da doença, caracterizada pela forma cutânea, linfática e respiratória (MOTA, 2006).

No Brasil, esta zoonose foi descrita pela primeira vez em 1811, sendo introduzida, possivelmente, por animais infectados importados da Europa (PIMENTEL, 1938). Após erradicação no país em 1968, relatou-se, após 30 anos, a ocorrência em equídeos nos estados de Pernambuco e Alagoas, Nordeste do Brasil. De janeiro de 2005 até dezembro de 2016, 697 focos de mormo foram registrados no país, sendo que a região Nordeste detém 61,4% (428/697) do total de focos, suspeitando-se que esta zoonose nunca tenha sido erradicada no território nacional (FONSECA-RODRÍGUEZ; PINHEIRO JÚNIOR; MOTA, 2019).

Na Alemanha, em 2006, ocorreu um caso de mormo com equino assintomático importado do Brasil e com teste sorológico negativo, demonstrando os riscos de disseminação da bactéria no trânsito de animais com a necessidade de conhecimento da epidemiologia e diagnóstico da doença (Elschner et al., 2009; OIE, 2018). Exceto este caso, esta zoonose é considerada erradicada no continente europeu e mundialmente persiste em alguns países da Ásia, África, Oriente Médio e América do Sul (OIE, 2020).

O Brasil possui o maior rebanho de equinos (*Equus caballus*) da América Latina e o terceiro do mundo, com aproximadamente 6 milhões de animais e quando somados aos asininos (*Equus asininus*) e muares (*Equus asinus* × *Equus caballus*), totalizam cerca de 8 milhões de cabeças, movimentando em média 7,3 bilhões de reais por ano (IBGE, 2017). O mormo

ocasiona grandes prejuízos aos proprietários de animais, pois segundo a Instrução Normativa nº6 de 16 de janeiro de 2018, a medida obrigatória para os casos positivos é a eutanásia dos animais positivos (BRASIL, 2018a).

No cenário que esta doença se encontra, a análise dos fatores associados ao mormo no país é importante para compreensão epidemiológica da enfermidade no território nacional e para orientação na implementação de medidas de controle e erradicação desta zoonose, visto que, até o presente momento, nenhum estudo foi realizado no Brasil no intuito de pontuar e associar os fatores de risco com focos da enfermidade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico

No século III e IV a.C., mais especificamente no ano de 425 a.C, Hipócrates descreveu sintomas em equinos que sugeriam estar relacionados ao mormo e em 350 a.C, Aristóteles o denominou de “malleu” (HOWE et al., 1971). O mormo é considerado uma das mais antigas enfermidades de equídeos, sendo a bactéria (*Burkholderia mallei*) isolada pela primeira vez por Friedrich Loeffler e Wilhelm Schutz em 1882 do fígado e baço de um equino (SCHADEWALDT, 1975). No Brasil, esta zoonose foi descrita pela primeira vez em 1811, sendo introduzida, possivelmente, por animais infectados importados da Europa (PIMENTEL, 1938).

Utilizada como material para bioterrorismo, essa bactéria é listada na categoria B pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), nos Estados Unidos (ROTZ et al., 2002). O agente atualmente é identificado pelo código NCBI: txid 13373 pelo National Center for Biological Information (NCBI) (NCBI, 2019). Foi utilizada pela Alemanha e Japão na Primeira e Segunda Guerra Mundial, respectivamente (WHEELIS, 1998; DARLING e WOODS, 2004). Além disso, na Guerra Afegã, os soviéticos foram acusados de terem utilizado *B. mallei* para infectar Mujaheddin e matar seus cavalos (ALIBEK, 1999).

No século XX, países como Estados Unidos da América, Canadá e Reino Unido implementaram programas de controle do mormo com base nas

novas descobertas científicas em patologia e bacteriologia, resultando na erradicação do mormo nestes países (SRINIVASAN et al., 2001).

Oficialmente, o último foco de mormo tinha ocorrido no Brasil no município de São Lourenço da Mata, Pernambuco em 1968. Após esse período, o mormo foi considerado erradicado no país pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Entretanto, após aproximadamente 30 anos, relatou-se sua ocorrência em equídeos nos estados de Pernambuco (município de Cortês e Serinhaém) e Alagoas (município de São José da Laje), Nordeste do Brasil, suspeitando-se que a doença nunca tenha sido erradicada do país (MOTA et al., 2000).

2.2 Etiologia

O agente etiológico do mormo é *Burkholderia mallei*, bactéria que morfológicamente se apresenta como cocobacilo Gram-negativo pleomórfico, isolado ou em pequenas cadeias, sem cápsula, medindo de 2 a 5µm de comprimento por 0,5µm de espessura, imóvel e não formadora de esporos (MOTA, 2006). Esta bactéria possui um núcleo, partículas citoplasmáticas e três camadas do componente de membrana da unidade exterior da parede celular e uma cápsula de lipopolissacarídeo (AL-ANI et al., 1992). A cápsula é constituída por hidratos de carbono neutros e auxilia na proteção a fatores ambientais desfavoráveis (POPOV et al., 1995; FRITZ et al., 2000). É considerada uma proteobactéria do grupo betaproteobactéria, ordem Burkholderiales, família Burkholderiaceae, gênero Burkholderia, espécie *Burkholderia mallei* (NCBI, 2019).

Ao longo dos anos esta bactéria foi reclassificada conforme novas descobertas eram feitas. Sendo assim, em 1980, foi incluída na “Approved Lists of Bacterial Names” com a nomenclatura de *Pseudomonas mallei*. Entretanto, em 1992 foi reclassificada no gênero *Burkholderia* sp. devido a sua composição celular, lipídica e ácidos graxos, sua homologia ao RNA 16S que está relacionada às características fenotípicas, bem como a semelhança com as espécies *B. pseudomallei* e *B. thailandensis* (BRETT et al., 1997; YABUUCHI et al., 1992). Por fim, foi denominada *Burkholderia mallei* (ZOPF, 1885; YABUUCHI et al., 1993). Anteriormente a esta classificação, cronologicamente a bactéria recebeu diversas outras nomenclaturas como "*Bacillus mallei*"

(ZOPF, 1885), "*Pfeifferella mallei*" (ZOPF, 1885) (BUCHANAN, 1918), "*Actinobacillus mallei*" (ZOPF, 1885) (THOMPSON, 1933), "*Malleomyces mallei*" (ZOPF, 1885) (PRIBRAM, 1933), "*Loefferella mallei*" (ZOPF, 1885) (HOLDEN, 1935), "*Acinetobacter mallei*" (ZOPF, 1885) (STEEL e COWAN, 1964), "*Pseudomonas mallei*" (ZOPF, 1885) (REDFEARN et al., 1966). Popularmente, esta doença é conhecida como catarro de burro, catarro de mormo, lamparão, garrotinho atípico e cancro nasal (MOTA, 2006).

A bactéria é sensível à ação da luz solar, calor, desinfetantes comuns e dificilmente sobrevive em ambientes contaminados por mais de seis semanas (PUMPUANG et al., 2011), diferentemente da *B. pseudomallei* que pode sobreviver no ambiente por até 16 anos (RADOSTITS et al., 2002). Devido ao risco de ser utilizada como arma biológica, estas espécies são de grande interesse mundial (MOTA, 2006).

Estudos genéticos demonstraram que existem cerca de 650 genes relacionados à virulência do agente se destacando os genes: CAP, sistema de secreção tipo III (TTSS) e sistema T6S (SCHELL; LIPSCOMB; DESHAZER, 2008). Além disto, outro fator importante na virulência da bactéria é a cápsula polissacarídea (LPS), bem como o gene *wcbF* importante na produção do polissacarídeo capsular (WHITLOCK; MARK ESTES; TORRES, 2007).

Diversas bactérias Gram negativos codificam secreção especializada Tipo III, sistema TTSS, que atuam na disponibilização de proteínas bacterianas (moléculas efetoras) na membrana plasmática e no citoplasma das células eucariontes (HUECK, 1998). Pesquisas realizadas identificaram a presença desse gene em cepas de *B. pseudomallei* (RAINBOW et al., 2002; WINSTANLEY et al., 2000). A análise do genoma da cepa ATCC 23344 de *B. mallei*, revelou a presença de um gene TTSS geneticamente semelhante ao identificado em cepas de *B. Pseudomallei* (STEVENS et al., 2002), demonstrando mais uma fator de virulência da bactéria e similaridade com *B. pseudomallei* (ULRICH; DESHAZER, 2003).

Os genes que codificam o sistema TTSS estão associados às ilhas de patogenicidade (PIs) e, portanto, estão associados a maior virulência de determinadas bactérias (HUECK, 1998). Por meio de estudo foi possível estabelecer uma correlação entre a presença de genes do sistema TTSS e o

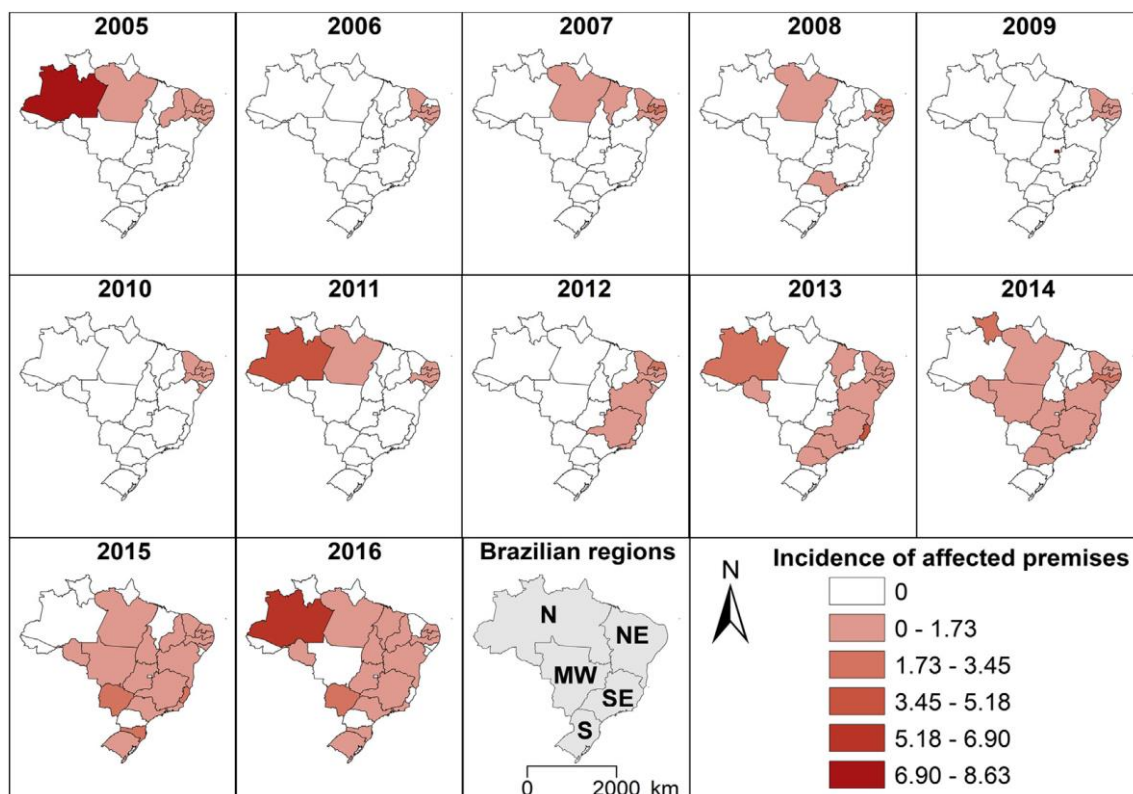
fenótipo de maior virulência de *B. pseudomallei*. Este trabalho demonstra evidências da ligação do gene TTS1 e o biotipo de maior virulência de *B. pseudomallei*, bem como a presença de um segundo gene TTS2 presente em *B. pseudomallei* e *B. mallei* (WINSTANLEY et al., 2000).

2.3 Epidemiologia

Apesar da erradicação do Mormo em muitos países, diversos surtos ainda foram diagnosticados na Ásia, Oriente Médio, África e América do Sul (ELSCHNER; NEUBAUER; SPRAGUE, 2017).

A doença apresenta uma maior prevalência quando grandes concentrações de equinos eram utilizadas pelo exército (ACHA; SZYFRES, 1986). De janeiro de 2005 até dezembro de 2016, 697 focos de mormo foram registrados no país, sendo que a região Nordeste detém de 61,4% (428/697) do total de focos registrados, com destaque para o estado de Pernambuco com a maior ocorrência neste período (Figura 1) (FONSECA-RODRÍGUEZ; PINHEIRO JÚNIOR; MOTA, 2019). O mormo ocorre em diversas partes do mundo e é responsável por alta morbidade e letalidade (DUNGWORTH 1993).

Figura 1: Incidência de Mormo nas propriedades por estados no período de 2005 e 2017.

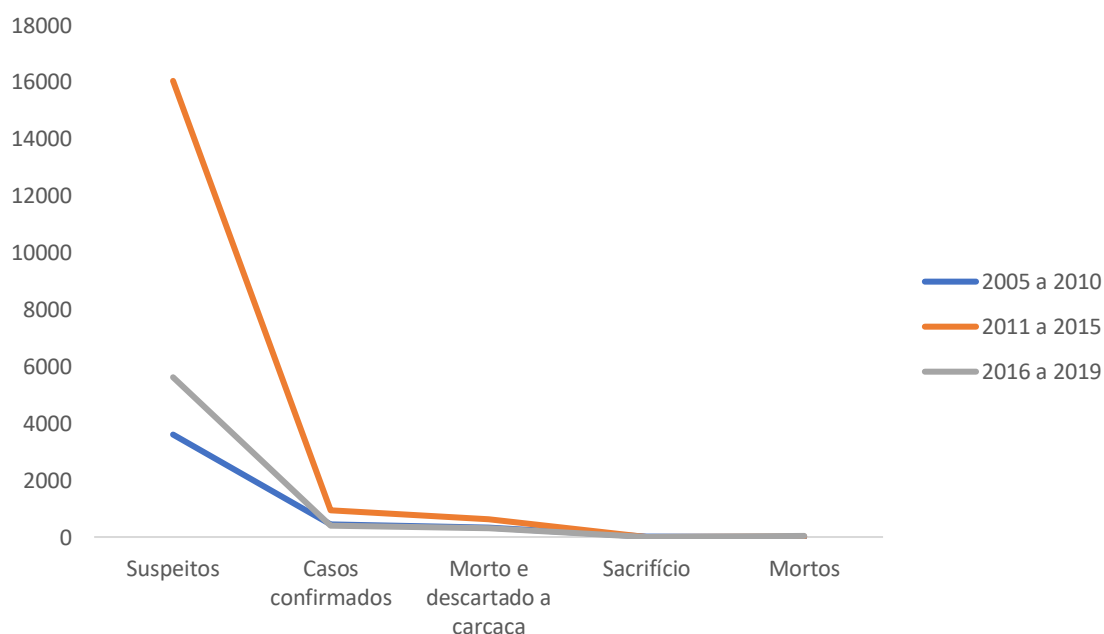


Fonte: Fonseca-Rodriguez et al. (2019).

Apesar de erradicado na Europa, em 2006 um cavalo exportado do Brasil para Alemanha foi confirmado com Mormo após apresentar sinais clínicos e ser testado em território europeu, alertando sobre os riscos do trânsito de animais na disseminação do patógeno (ELSCHNER et al., 2009). No norte do continente americano, mueres foram testados positivos na fronteira mexicana, demonstrando locais endêmicos nesta região (ANONYMUS, 2015).

De 2005 a 2014, diversos casos da doença foram diagnosticados no Brasil, Iran, Índia, Mongolia, Paquistão, Iraque, dentre outros países (ELSCHNER et al., 2017). De acordo com a OIE (2021), de 2005 a 2019, no Brasil, 1.774 mil casos de mormo foram diagnosticados (Gráfico 1), sendo que 52,37% (929/1.774) foram no intervalo de 2011 a 2015, ocorrendo nos próximos anos uma redução (397/1774). Neste intervalo de tempo não ocorreram casos nos estados de Roraima, Amapá, Ceará, Tocantins, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Paraná, Santa Catarina, Acre e Rondônia (OIE, 2021).

Gráfico 1: Distribuição dos casos suspeitos, confirmados, sacrificados e mortos de Mormo no Brasil de 2005 a 2019.

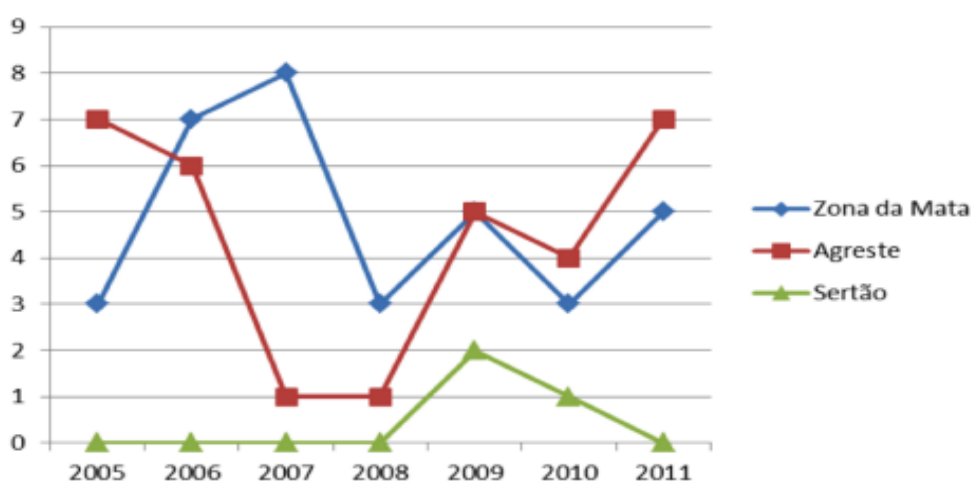


Fonte: OIE (2021).

Um estudo realizado no estado de Pernambuco entre os anos de 2005 e 2011 demonstrou uma variação dos casos de mormo nas diferentes regiões do

Estado (Gráfico 1). A superioridade de focos na Zona da Mata e Agreste se deu respectivamente ao fato dos proprietários de engenhos possuírem cavalos que transitam para participar de eventos hípicas e são criados em coabitação com os animais de trabalho (SILVEIRA et al., 2013). No Agreste, onde ocorre o maior número de eventos agropecuários relacionados à indústria do cavalo e eventos hípicas, resulta em aglomeração dos animais o que proporciona um aumento do risco de transmissão da bactéria (HOWE e MILLER, 1947; GANGULEE et al.,1966; SILVEIRA et al., 2013).

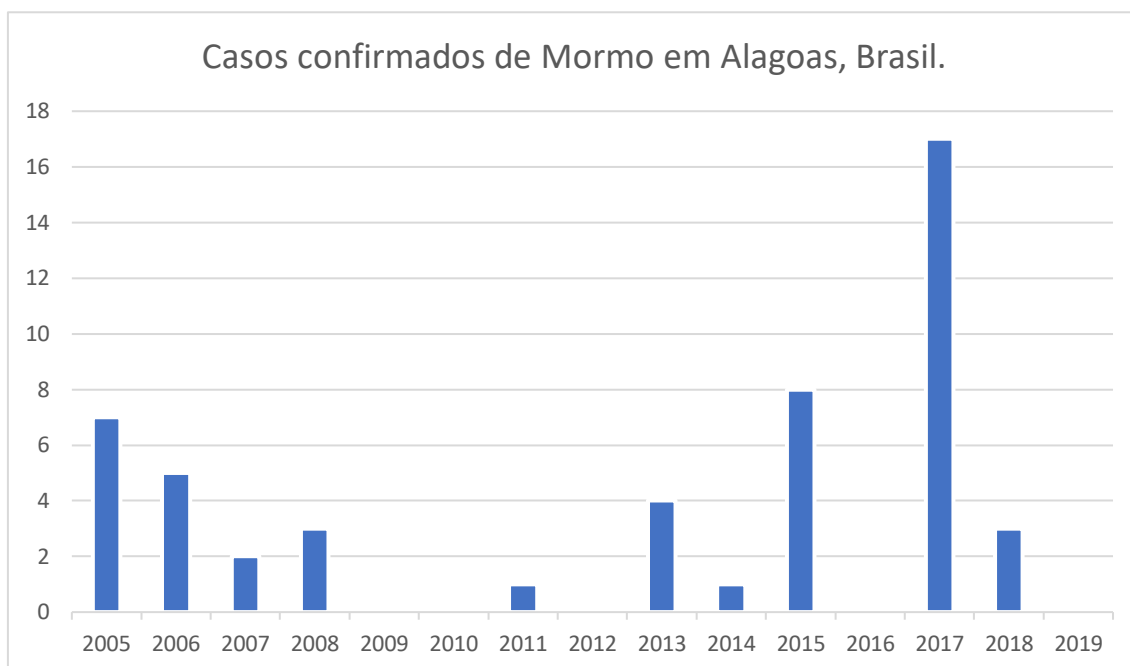
Gráfico 2: Distribuição anual dos casos de Mormo nas Zonas da Mata, Agreste e Sertão do estado de Pernambuco no período de 2005 a 2011.



Fonte: Silveira et al. (2013).

Considerando a superioridade de casos de Mormo na região Nordeste do Brasil (FONSECA-RODRÍGUEZ; PINHEIRO JÚNIOR; MOTA, 2019), no estado de Alagoas, no período de 2005 a 2019 foram notificados 535 casos suspeitos e 53 confirmados (OIE, 2021).

Gráfico 3: Distribuição dos casos de Mormo em Alagoas, Nordeste do Brasil, no período de 2005 a 2019.



Fonte: OIE, 2021.

O mormo pode acometer equídeos (equinos, muares e asininos), ovinos, caprinos, cães e gatos, sendo o primeiro grupo o mais suscetível. Bovinos, suínos e aves são considerados resistentes. Além destes, também pode acometer camelídeos, leões e animais de laboratório (hamsters, cobaios, ratos e camundongos) (FRITZ et al., 2000; MOTA; RIBEIRO, 2016).

Dentre os equídeos, os equinos apresentam maior positividade para o mormo, pois estes animais cronificam a doença mais facilmente, demonstrando alguma resistência; os muares e asininos são considerados os mais sensíveis (FRITZ et al., 2000). Por desenvolverem a forma crônica da doença, esses animais permanecem um maior tempo eliminando o microrganismo, resultando em maior contaminação ambiental (KHAN et al., 2013). Desta forma, animais infectados e portadores assintomáticos são importantes fontes de infecção no plantel (MOTA, 2006).

De forma geral, a principal via de infecção é a digestiva, porém também pode ocorrer pelas vias respiratória, cutânea e genital (RADOSTITS et al., 2002; MOTA, 2006). As principais vias de excreção da bactéria são orais e

nasais, subsequente à ruptura das lesões pulmonares crônicas nos brônquios e lesões da pele, sendo assim, a disseminação da bactéria ocorre principalmente pela contaminação de forragens, cochos e bebedouros por secreção oral e nasal (RADOSTITS et al., 2010). Moscas domésticas (*Musca domestica*) podem ser importantes vetores na transmissão da bactéria, uma vez que podem carrear o agente das lesões da pele para os demais animais da propriedade (HENNING, 1956).

Os principais fatores de riscos associados ao mormo são a movimentação de equídeos que participam de eventos esportivos, manejo higiênico-sanitário, introdução de animais infectados em propriedades livres da doença (AL-ANI e ROBERSON, 2007), proximidade entre domicílios e grande quantidade de animais (GHORIA et al., 2017), compartilhamento de fonte de comida, água, pastagens e materiais de uso comum entre os animais (LANGENEGGER et al., 1960).

A ocorrência da doença em humanos está diretamente relacionada à ocupação profissional, sendo mais comum em profissionais que apresentam contato frequente com animais infectados, como médicos veterinários, tratadores e fazendeiros, ou aqueles que apresentam exposição laboratorial ao agente, como microbiologistas; tais infecções tendem a ocorrer através de feridas ou inalação da bactéria (VAN ZANDT et al., 2013).

2.4 Patogenia e sinais clínicos

Após ingestão de alimento ou água contaminada, a bactéria atravessa a mucosa intestinal e atinge os linfonodos, onde se multiplica e dissemina-se para órgãos de eleição por meio da corrente sanguínea; inicialmente ocorre uma septicemia seguida de bacteremia (MOTA et al., 2000). Após a infecção, o organismo busca debelar a bactéria no sítio da lesão, caracterizada pela presença de infiltrado neutrofílico e formação de fibrina, mas mesmo com essa reação inflamatória, o organismo não consegue eliminar a bactéria, e assim ocorre a degeneração dos neutrófilos e formação de uma área central de necrose, circundada por células epitelióides, gigantes e linfócitos, originando lesões piogranulomatosas características do mormo (SHARRER, 1995; HIRSH e ZEE, 2003). A bactéria penetra nos macrófagos alveolares, intermediado pelo receptor Fc do complemento onde permanece livre da ação dos mecanismos

imunes inatos, o que contribui para a sua disseminação por meio da penetração no leito capilar do interstício pulmonar (WHITLOCK et al., 2009).

B. mallei coloniza os pulmões, pele e mucosas, sendo que a localização pulmonar pode ocorrer pela via hematogena ou da penetração pelas vias aéreas superiores. Na faringe, formam-se lesões primárias, estendendo-se para o sistema linfático onde produz lesões nodulares; no septo nasal podem ocorrer erosões e úlceras (MOTA et al., 2000). Lesões semelhantes piogranulomatosas também são encontradas nos pulmões, baço, fígado e na pele (MOTA, 2006).

Dentre os sinais clínicos, destacam-se a hipertermia, corrimento nasal purulento, tosse, podendo ocorrer rápida evolução das lesões, resultando em úlceras disseminadas na cavidade nasal, bem como nodulações no abdômen e extremidade dos membros (MOTA et al., 1999).

A fase crônica da doença se desenvolve após semanas ou meses, e é caracterizada por três manifestações clínicas: nasal, pulmonar e cutânea que não são distintas e o mesmo animal pode apresentar simultaneamente todas as formas, sendo a pulmonar e cutânea as mais comuns em surtos da doença. De forma ampla, nesta fase é possível observar pneumonia com tosse, epistaxe e dispneia, bem como lesões no septo nasal que evoluem para úlceras, que após o processo de cicatrização formam cicatrizes em forma de estrela, além disso, também observam-se nódulos de firme a flácidos na pele, que drenam secreção purulenta amarelada (MOTA et al., 1999; MOTA; RIBEIRO, 2016).

Na forma aguda, observa-se febre alta, diminuição do apetite, tosse, dispneia progressiva, emaciação, ulceração do septo nasal, acompanhada de descarga nasal, inicialmente serosa, tornando-se mucopurulenta a hemorrágica, nódulos nas cavidades nasais e descargas oculares purulentas, cuja morte por septicemia ocorre em poucos dias (MOTA et al., 2000), ocorrendo principalmente em asininos, que são mais susceptíveis (DVORAK et al., 2008). Em outros animais, na fase inicial da doença pode ocorrer apenas semiflexão e abdução do membro posterior (LARSEN; JOHNSON, 2009). Além disso, também pode ocorrer raramente a forma hiperaguda, observada principalmente em animais desnutridos, imunossuprimidos e estressados

(ACHA; SZYFRES, 2003). Os equídeos também podem sofrer infecção latente na maior parte do tempo e ocasionalmente apresentar descarga nasal, respiração laboriosa e lesões pulmonares (ITO et al., 2008; LARSEN; JOHNSON, 2009).

2.5 Diagnóstico

O diagnóstico do mormo é realizado por meio do exame clínico, dados epidemiológicos e identificação da bactéria por isolamento ou caracterização molecular, reação imunoalérgica, testes sorológicos e histopatológicos (MOTA, 2006). De acordo com a Portaria nº 35, de 17 de abril de 2018, os testes de triagem para o diagnóstico laboratorial do mormo são: Fixação de Complemento (FC) e Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA). A amostra com resultado diferente de negativo em qualquer teste de triagem deverá ser testada no método complementar que neste caso é o *Western blotting* – imunoblotting (BRASIL, 2018b).

Considera-se, segundo a Instrução Normativa Nº6 de 16 de janeiro de 2018, caso positivo de mormo, o equídeo que apresentar pelo menos uma das seguintes condições: resultado positivo nos testes de triagem e complementar de diagnóstico ou somente no teste complementar; resultado positivo no teste de triagem, estando o animal em uma unidade epidemiológica onde haja foco de mormo e apresentando quadro clínico compatível com mormo; ou detecção da bactéria *Burkholderia mallei* por meio de método microbiológico ou molecular, porém a ausência de detecção da bactéria por estas duas técnicas, não anula o disposto de identificar como animal positivo pelos testes sorológicos (BRASIL, 2018a).

O diagnóstico precoce da infecção deve ser realizado por meio de testes imunológicos de elevada sensibilidade e especificidade. Nos casos assintomáticos e positivos nos testes oficiais é importante a realização do exame anatomopatológico, microbiológico e molecular (ROCHA et al., 2021).

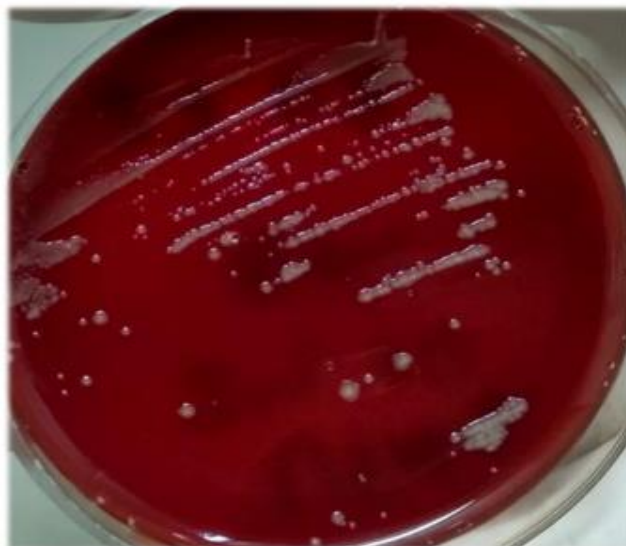
2.5.1 Métodos diretos

O isolamento bacteriano é um método padrão ouro para diagnóstico de *B. mallei*. Geralmente esta bactéria tem um crescimento lento na maioria dos

meios de cultura, quando comparado com outras bactérias, sendo sua curva de crescimento entre 48 - 72 horas. Esta característica dificulta o isolamento em amostras clínicas, pois outros microrganismos com curva de crescimento inferior se sobrepõem no meio, principalmente em amostras coletadas de locais não estéreis (WERNERY, et al., 2011).

A bactéria se desenvolve bem em meios que contêm glicerol ou sangue, portanto, pode ser isolado em ágar sangue ovino (5%) desfibrinado, após incubação a 48 a 72 horas em aerobiose a 37°C, mostrando colônias de 1mm de diâmetro, irregulares, mucóides, brilhantes, não hemolíticas e de tonalidade branco acinzentada (Figura 4). Em ágar batata glicerinada produz pigmento amarelado, adquirindo coloração achocolatada após 48 horas de incubação a 37°C; no ágar PC que contém cristal violeta, sais biliares, ticarcilina e polimixina B, permite crescimento de *B. mallei* que modifica a coloração do meio para rosa, produzindo colônias circulares, lisas, brancas ou translúcidas, menores de 1mm (MOTA et al., 2000; SILVA et al., 2009; SAID; JUNIOR; DOMINGUES, 2016).

Figura 2: Cultivo microbiológico de *Burkholderia mallei* em ágar base acrescido de 5% de sangue ovino. Colônias pequenas, mucóides, acinzentadas e não hemolíticas



Fonte: Falcão; Silva; Mota (2019).

Este microrganismo se cora fracamente pela coloração de Gram, logo se recomenda utilizar corantes contendo hidróxido de potássio ou ácido fênico, como o azul de metileno de Loeffler e a fucsina fenicada (DITTMANN et al.,

2015; MOTA et al., 2005). Na presença de nitrogênio, o microorganismo pode crescer como anaeróbio aeróbio e facultativo (PITT, 1998;OIE, 2008).

Nas provas bioquímicas utilizadas para caracterizar a bactéria, observa-se o seguinte padrão: oxidase e catalase positivas, redução do nitrato, hidrólise da ureia, descarboxilação da lisina e fermentação da glicose, sendo negativa para a produção de H₂S, indol, não utiliza citrato e não fermenta maltose, lactose, manose e manitol, além de não reagirem ao Vermelho de Metila (VM) e Voges Proskauer (VP) (AL-ANI et al., 2007; SILVA et al., 2009).

Além disso, para o diagnóstico microbiológico pode ser usado um novo ágar, denominado BM, que após experimentos, verificou-se que quase todas as cepas de *B. mallei* testadas tiveram crescimento em até 72 horas e que conjuntamente ocorreu à inibição do crescimento de fungos e outras bactérias em nível superior a outros ágares, PC e Xie, comumente utilizados no isolamento de *Burkholderia*. Desta forma, o novo meio de cultura favorece o isolamento do microrganismo alvo. Em equivalência, este novo meio teve uma taxa de crescimento para *B. mallei* similar ao ágar com sangue equino a 5% (KINOSHITA et al., 2019).

No Brasil, existe uma grande variabilidade intra e interespecies de *B. mallei* e *B. pseudomallei* e tal heterogeneidade do perfil ribotípico foi confirmada no polimorfismo de DNA observado, sendo assim estas diferenças são úteis na diferenciação molecular da bactéria frente à identificação molecular das cepas de *B. mallei* (SILVA et al., 2009).

Através da realização de PCR-HRM de seis isolados obtidos de equídeos dos estados de Pernambuco e Alagoas, no período de 2014 a 2017, obteve-se quatro cepas agrupadas em L3B2 (grupo que inclui uma cepa brasileira e um isolado indiano) e duas cepas no L3B3sB3 (grupo que inclui isolados antigos de origem Europeia e do Oriente Médio). Por fim, o sequenciamento completo de duas destas cepas de ramos distintos revelou um genótipo nunca relatado para cepas contemporâneas, demonstrando diferentes formas de introdução do mormo no Brasil, incluindo uma estreita relação com cepas de origem europeia (FALCÃO, 2021).

Diversas técnicas foram desenvolvidas ao longo dos anos para detecção

molecular e diferenciação de *B. mallei* de *B. pseudomallei*, utilizando genes 16S rRNA, 23S rRNA (KUNAKORN e MARKHAM, 1995; BAUERNFEIND et al., 1998), 16-23S (TYLER et al., 1995) e *fliC* (ALTUKHOVA et al., 2007). Contudo, os ensaios qPCR visando o gene *B. pseudomallei* 16S rRNA, *fliC* e o genes da proteína S21 da subunidade ribossômica (*rpsU*) não puderam diferenciar *B. mallei* de *B. pseudomallei* (TOMASO et al., 2005). Especificamente no penúltimo gene (*fliC*) foi observado grande heterogeneidade entre os isolados de *B. pseudomallei*, o que impede a sua diferenciação de *B. mallei* (SRAGUER et al., 2002).

Também foi testada a qPCR para identificar os genes de secreção tipo 3 (TTS1) e os genes *open reading frame* (*orf11* e *orf13*), não sendo adequado para a diferenciação mencionada no parágrafo anterior (THI-BAULT et al., 2004). O gene *BimA* (gene de motilidade intracelular A) mostrou ser muito útil para a identificação de *B. mallei* e diferenciação das espécies *B. pseudomallei* e *B. thailandensis*, porém este ensaio não foi avaliado para mormo em equinos (ULRICH et al., 2006).

O método de PCR visando a flagelina P (*fliP*) – IS407A é um método rápido, simples e sensível que teve bons resultados no diagnóstico de *B. mallei*. Para esta técnica foram desenvolvidos *primers* específicos utilizados no diagnóstico em amostras clínicas e de cultivo microbiológico (SCHOLZ et al., 2006). Apesar da alta sensibilidade com o emprego do gene *fliP*, em trabalho realizado por Laroucau et al. (2020), esta técnica apresentou resultado falso negativo em amostras de tecido de equinos infectados por *B. mallei* e tal confirmação foi realizada através da realização de uma qPCR e genotipagem com métodos baseados em MLST e SNP, que detectaram um genótipo relacionado a cepas de *B. mallei* isoladas no Oriente Médio. Logo, locais cujas cepas circulantes de *B. mallei* ainda não foram totalmente caracterizadas geneticamente, esta última técnica apresenta superioridade no diagnóstico.

No intuito de realizar a tipificação e subtipificação dos isolados de *B. mallei*, algumas técnicas genéticas apresentam elevado potencial, auxiliando em propósitos epidemiológicos. Na ribotipagem, a análise do rRNA 16S-23S pode ser utilizada para identificar novas espécies de microorganismos e verificar a relação entre estes, pois esses genes são altamente conservados

dentro de uma espécie (GRATTARD et al., 1996; MATTAR et al., 1996). Além desta, O polimorfismo de DNA por amplificação aleatória (RAPD) também tem sido empregado para estudos genéticos de isolados de *B. mallei* (LEELAYUWAT et al., 2000).

A utilização de métodos moleculares para genotipagem de cepas de *B. mallei* resulta em contribuições diretas na epidemiologia da enfermidade, uma vez que é possível identificar as cepas circulantes e auxiliar na compreensão de como o trânsito de animais em determinadas regiões contribui para disseminação da bactéria (ELSCHNER et al., 2009; FONSECA-RODRIGUEZ et al., 2019; OIE, 2018). Por meio desta técnica foi possível diagnosticar a cepa *Turkey 10* em equinos do Nordeste do Brasil, mais especificamente nos estados de Pernambuco e Alagoas, demonstrando o forte impacto do comércio de animais entre os dois estados e a participação de animais em feiras e eventos agropecuários (FALCÃO et al., 2019).

Por meio do exame histopatológico é possível identificar lesões granulomatosas ou piogranulomatosas, caracterizada por uma necrose de caseificação central circundada por grande quantidade de elementos inflamatórios, com destaque para células epitelióides, macrófagos, células gigantes, linfócitos, plasmócitos e tecido conjuntivo e áreas de calcificação. Ocorre destruição do epitélio nasal, glandular e da cartilagem septal, e também é encontrada hemorragia, vasculite e trombose de vasos subepiteliais, tudo isto devido à grave inflamação purulenta (MOTA et al., 2000). No pulmão é possível visualizar moderada a acentuada congestão e pequenos focos de hemorragia, presença de edema e fibrina interlobular e intra-alveolar e inflamação granulomatosa focal. Nos linfonodos observa-se necrose, congestão e hemorragia, com numerosos focos de inflamação piogranulomatosa. No fígado também visualiza-se necrose e infiltração granulomatosa focais com presença de células gigantes e pericolangite granulomatosa. No baço, são vistas áreas de necrose fibrinóide, associadas à inflamação piogranulomatosa e a extensas áreas de fibrose. No rim tem-se infiltração granulomatosa multifocal intersticial com alguns focos de necrose tubular (MOTA et al., 2000).

2.5.2 Métodos Indiretos

Segundo a Portaria nº 35, de 17 de abril de 2018, os testes de triagem

para o diagnóstico laboratorial do mormo são a Fixação de Complemento (para trânsito internacional de equídeos) e Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA). A amostra com resultado diferente de negativo em qualquer teste de triagem deverá ser testada no método complementar que neste caso é o *Western blotting* – imunoblotting (WB) (BRASIL, 2018b).

Segundo a OIE, a Fixação de Complemento consiste em um método de diagnóstico sorológico de eleição para o mormo, por se tratar de um teste com alta sensibilidade e especificidade. Esta Instrução Normativa redige que esta técnica detecta quase que exclusivamente anticorpos IgG classe 1, que são específicos da infecção (OIE, 2018).

A sensibilidade do teste de FC é de pelo menos 97%, entretanto pode variar conforme o antígeno utilizado (ELSCHNER, 2011). Khan et al. (2011), utilizando antígenos CIDC e c.c.pro produzidos na Alemanha, obtiveram 100% e 99,39% de sensibilidade, 97,5% e 96,5% de especificidade, valor preditivo positivo de 97,04% e 100%, bem como valor preditivo negativo de 99,48% e 100%. Utilizando antígeno produzido nos Estados Unidos, a sensibilidade encontrada foi de 62,19%, especificidade de 100%, valor preditivo positivo de 95,88% e valor preditivo negativo de 76,33%.

Considerando a complexidade, reações anti-complementares e baixa padronização, diversos testes sorológicos foram desenvolvidos para superar as desvantagens da FC (RAGHAVAN et al., 2016). O ELISA quando comparado à Fixação de Complemento, possui algumas vantagens como: ausência de influência anticomplementar, identificação de animais com até quatro dias pós infecção e maior detecção de casos clínicos da enfermidade (AL-ANI et al., 1998).

Dentre os ELISA's desenvolvidos para o diagnóstico de mormo, destacam-se o ELISA competitivo que tem alta sensibilidade e especificidade e possui a vantagem de ser utilizado para vários hospedeiros (SPRAGUE et al., 2009) e o ELISA indireto baseado em fração semi-purificada de *B. mallei* (LAROUCAU et al., 2017). No Brasil, o laboratório Biovetech desenvolveu um ELISA indireto para o diagnóstico de *B. mallei* em soro equídeo (BIOVETECH, 2020). A sensibilidade e especificidade da técnica são estimadas entre 93-96% e 99,5%, respectivamente, sendo essa variação justificada pelo antígeno

utilizado (Elschner et al., 2019).

Existe a obrigatoriedade de realização de teste complementar de *Western blotting* quando a amostra tenha resultado diferente de negativo nos testes de triagem. Dentre os *Western blotting* desenvolvidos, tem-se o denominado “WB: Mormo” cujo fabricante é o Centro Pan-Americano de Febre Aftosa (PANAFTOSA). O *kit* é composto pelo conjunto de reagentes necessários para a realização de um ensaio imunoenzimático que permite a detecção *in vitro* de anticorpos contra a proteína TssB da bactéria *Burkholderia mallei*. Este teste é recomendado na vigilância ativa e passiva da doença, sendo validado para utilização com soros de equinos, muares e asininos (PANAFTOSA, 2018).

Segundo a Portaria nº35, de 17 de abril de 2018, a maleinização intrapalpebral com o uso de Maleína PPD poderá ser empregada como teste complementar exclusivamente em equídeos com menos de 6 (seis) meses de idade e que apresentem sintomatologia clínica compatível com o mormo, mediante autorização do DSA/SDA/MAPA (BRASIL, 2018a).

2.6 Controle e Prevenção

O mormo é uma doença de notificação obrigatória ao Serviço Veterinário Oficial, composto pelas unidades do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e pelos Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Animal e segue a Instrução Normativa (IN) nº6 de 16 de janeiro de 2018 e IN nº50 de 24 de setembro de 2013, no intuito de preservar a saúde animal no Brasil (BRASIL, 2018b). Devido ao seu impacto sobre o comércio internacional de animais e seus subprodutos, é uma das doenças animais de declaração obrigatória para a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE, 2018).

De acordo com a Instrução Normativa nº6, as normas para erradicação e controle do mormo se baseiam na interdição e regime de saneamento em propriedades com um ou mais animais diagnosticados com mormo, cuja suspensão da interdição só ocorrerá após o sacrifício dos animais positivos e a realização de dois exames de FC sucessivos de todo plantel, com intervalos de 21 a 30 dias, com resultados negativos no teste de diagnóstico; sacrifício de animais positivos, em seguida incineração ou enterro dos cadáveres no próprio

local (assim como de todos os materiais utilizados nas instalações); desinfecção das instalações e fômites; desinfecção de veículos e equipamentos (cabrestos, arreios e outros), abolição de cochos coletivos, aquisição de animais de áreas livres; uso de equipamentos de proteção individual (EPI) pelas pessoas que manipulam esses animais; controle de trânsito interestadual com exame negativo de mormo dentro do prazo de validade de 60 dias; e notificação da suspeita de foco (BRASIL, 2018).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

- Realizar um estudo epidemiológico da infecção por *Burkholderia mallei* em equídeos procedentes de propriedades no Nordeste do Brasil.

3.2 Específico

- Identificar os fatores de manejo associados à ocorrência do mormo em equídeos nos estados de Pernambuco e Alagoas.

4. REFERÊNCIAS

ACHA, P.; SZYFRES, B.; Zoonis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2ª Ed. **Organización Panamericana de La salud/OMS**: Washinton, p.989, 1986.

AL-ANI F.K.; ROBERSON, J. Glanders in horses: A review of the literature. **Veterinarski Arhiv**, v. 77, n. 3, p. 203-218, 2007.

AL-ANI, F.K.; AL-RAWASHDEH, O.F.; ALI, A.H.; HASSAN, F.K. Glanders in horses: clinical, biochemical and serological studies in Iraq. **Veterinarski Arhiv**, n.68, p. 155–162, 1998.

ALIBEK, K. The Soviet Union's anti-agriculture biological weapons. **Annals of the New York Academy of Sciences**, n. 894, p.18–19, 1999.

ALTUKHOVA, V.V.; ANTONOV, V.A.; TKACHENKO, O.V.; ZINCHENKO, O.V.; ZAMARAEV, V.S.; PLEKHANOVA, N.G.; ILYUKHIN, V. I.; TORFIMOV, D.Y. Use of the polymerase chain reaction to detect the glanders and melioidosis pathogens in experimental infection. *Mol. Genet. Microbiology and Virology*. v.22, p.112–119, 2007.

ANONYMUS. Stray Mexican donkey tests positive for glanders. **The Horse**. 2015; Disponível: <<http://www.thehorse.com/articles/35547/straymexican-donkey-tests-positive-for-glanders>>. Acesso em 1 de fevereiro de 2022.

BAUERNFEIND A.; ROLLER C.; MEYER D.; JUNGWIRTH R.; SCHNEIDER I. Molecular procedure for rapid detection of *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.36, p.2737–2741, 1998.

BRASIL. Portaria nº35, de 17 de janeiro de 2018. Define os testes laboratoriais a serem empregados para o diagnóstico do mormo no Território Nacional. **Diário Oficial da União, Brasília**, n. 77, p.6, 23 de abril, 2018a. Seção 1.

BRASIL. Instrução Normativa nº6, de 16 de janeiro de 2018. Estabelece as Diretrizes Gerais para Prevenção, Controle e Erradicação do mormo no Território Nacional. **Diário Oficial da União, Brasília**, p.3, 17 de janeiro, 2018b. Seção 1.

BRETT, P. J.; DESHACER, D.; WOODS, D.E. Characterisation of *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia Pseudomallei* – like strains. **Epidemiology and Infection**, v.118, p. 137 – 148, 1997.

BUCHANAN, R.E. Studies in the nomenclature and classification of the bacteria. V. subgroups and genera of the Bacteriaceae. **Journal of Bacteriology**, v.3, p.27-61, 1918.

DARLING, R. G.; AND J. B.; WOODS. USAMRIID's Medical Management of Biological Causalities Handbook. Operational Medicine Department, U.S. **Army Medical Research Institute of Infectious Diseases**, Fort Detrick, MD, USA, 2004.

DITTMANN, LR et al. Aspectos clínico-patológicos do mormo em equinos - revisão de literatura. **Almanaque de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 1, n.1, p. 1-5, 2015.

DVORAK, GD; SPICKLER, A. Glanders. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 233, n.4, p.570-577, 2008.

ELSCHNER, M.; KLAUS, C.; LIEBLER-TENORIO, E.; SCHMOOCK, G.; WOHLSEIN, P.; TINSCHMANN, O.; LANGE, E.; KADEN, V.; KLOPFLEISCH, R.; MELZER, F.; RASSBACK, A.; NEUBAUER, H. *Burkholderia mallei* Infection in a Horse Imported from Brazil. **Equine Veterinary Education**, v.21. p.147–150, 2009.

ELSCHNER, M. et al. Use of a Western blot technique for the serodiagnosis of glanders. **BMC Veterinary Research**, v.7, p.4, 2011.

ELSCHNER, M.C.; NEUBAUER, H.; SPRAGUE, L.D. The Resurrection of Glanders in a new Epidemiological Scenario: A Beneficiary of “Global Change”. **Current Clinical Microbiology Reports**, v.4, n.1, p.54-60, 2017.

ELSCHNER, M.C.; SCHOLZ, H.C.; MELZER, F.; SAQIB, M.; MARTEN, P.; RASSBACH, A.; DIETZSCH, M.; SCHMOOCK, G.; SANTANA, V.L.DE.A.; SOUSA, M.M.A.; WERNERY, R.; WERNERY, U. NEUBAUER, H. Use of Werstern Blot technique for the serodiagnosis of glanders. **BMC Veterinary Research**, v.7, n. 4, p.1-6, 2011.

FALCÃO, MV.D.; SILVEIRA, P.P.M.; SANTANA, V.L.A. et al. First record of *Burkholderia mallei* Turkey 10 strain originating from glanderous horses from Brazil. **The Brazilian Journal of Microbiology**, v. 50, p. 1125-1127, 2019.

FONSECA-RODRÍGUEZ, O.; JÚNIOR, J.W.P.; MOTA, R.A. Spatiotemporal Analysis of Glanders in Brazil. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.18, p. 14-19, 2019.

FRITZ, D.L et al. Mouse model of sublethal and lethal intraperitoneal glanders (*Burkholderia mallei*). **Veterinary Pathology**, v.37, n.6, p.626-636, 2000.

GAL, D.; MAYO, M.; SPENCER, E.; CHENG, A.C.; CURRIE, B.J. Short Report: Application of a Polymerase Chain Reaction to detect *Burkholderia pseudomallei* in clinical specimens from patients with suspected melioidosis. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 73, p. 1162–1164, 2005.

GANGULEE, P.C.; SEN, G.P.; SHARMA, G.L. Serological diagnosis of glanders by hemagglutination test. **Indian Veterinary Journal**. v.43, p.386-391, 1966.

GHORIA, MT; KHAN, MS; KHAN, JA; RABBANI, M; SHABBIR, MZ; CHAUDHRY, HR; ALI, M. A; MUHAMMAD, J; ELSCHNER, MC; JAYARAO, BM. Seroprevalence and risk factors of glanders in working equines – Findings of a cross-sectional study in Punjab province of Pakistan. **Acta Tropica**, v. 176, p. 134-139, 2017.

GRATTARD F.; BERTHELOT P.; REYROLLE M.; ROS A.; ETIENNE J. e POZZETTO B. Molecular typing of nosocomial strains of *Legionella pneumophila* by arbitrarily primed PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, V.34, n.6, p.1595- 1598, 1996.

HENNING, M. W.; GLANDERS; FARCY; DROES; MALLEUS. In: Animal diseases in South Africa, being an account of the infectious diseases of domestic animals. South Africa. **Central News Agency**, p.159-176, 1956.

HIRSH, D.C.; ZEE, Y.C. Microbiologia Veterinária. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, v.1, p. 446, 2003.

HOLDEN, M.T.G.; et al. Genomic plasticity of the causative agent of melioidosis, *Burkholderia pseudomallei*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.101, p.14240–14245, 2004.

HOWE, C.; SAMPATH, A. AND M. SPOTNITZ. The Pseudomallei group: a review. **Journal of Infectious Diseases**, v.124, p.598–606, 1971.

HOWE, C.; MILLER, W.R. Human glanders; report of six cases. **Annals of Internal Medicine**, v.26, p.93–115, 1947.

HUECK, C.J. Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.62, p.379-433, 1998.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Efetivo dos rebanhos. 2017. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>>. Acesso em: 02 de julho de 2019.

ITO, F. et al. Programa de Vigilância de Zoonoses e Manejo de Eqüídeos do Estado de São Paulo. Módulo III: Outras zoonoses de importância em eqüídeos e vigilância epidemiológica em unidades municipais – Parte 2. **Boletim Epidemiológico Paulista**. 2008. Disponível em http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa56_equideos.htm. Acesso em 9 de junho de 2019.

JUNIOR, E.L.S.; MOURA, J.C.R.; PROTÁSSIO, B.P.K.F.; PARENTE, V.A.S.; VEIGA, M.H.N.D. Clinical repercussions of Glanders (*Burkholderia mallei* infection) in a Brazilian child: a case report. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, p.53, 2020.

KHAN, I.; WIELER, L.H.; MELZER, F.; ELSCHNER, M.C.; MUHAMMAD, G.; ALI S.; SPRAGUE L.D.; NEUBAUER, H.; SAQIB, M. Glanders in animals: a review on epidemiology, clinical presentation, diagnosis and countermeasures. **Transboundary and Emerging Diseases**, p.204-21, 2003.

KINOSHITA, Y.; CLOUTIER, A.K.; ROSAZ, D.A.; KHAN, M.S.R.; NIWA, H.; UCHIDA-FUJII, E.; KATAYAMA, Y.; TUNYOK, A. A novel selective medium for the isolation of *Burkholderia mallei* from equine specimens. **BMC Veterinary**

Research, v.15, p.133, 2019.

KUNAKORN, M.; MARKHAM, R.B. Clinically practical seminested PCR for *Burkholderia pseudomallei* with and without solution hybridization. **Journal of Clinical Microbiology**, v.33, p.2131–2135, 1995.

LANGENEGGER, J; DÖBEREINE, J; LIMA, AC. Foco de mormo (Malleus) na região de Campos, estado do Rio de Janeiro. **Arquivos do Instituto Biológico Animal**, Rio de Janeiro, v.3, p.91-108, 1960.

LAROUCAU, K.; BERTIN, C.; ROCHE, M.; COLANERI, C.; MADANI, N.; POURQUIER, P.; et al. A new ELISA assay for glanders diagnosis. **Arbeits- und Fortbildungstagung der DVG-Fachgruppe AVID**, 2017.

LARSEN, JC; JOHNSON, NS. Pathogenesis of *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei*. **Military Medicine**, v.174, n.6, p.647-651, 2009.

NEUBAUER, H.; SPRAGUE, L.D.; ZACHARIA, R.; TOMASO, H.; AL DAHOUK, S.; WERNERY R.; WERNERY, U.; SCHOLZ, H.C. Serodiagnosis of *Burkholderia mallei* infections in horses: state-of-the-art and perspectives. **Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases**, v. 52, p. 201-5, 2005.

LEELAYUWAT, C.; ROMPHRUK, A.; LULITANOND, A.; TRAKULSOMBOON, s.; THAMLIKITKUL, V. Genotype analysis of *Burkholderia pseudomallei* using randomly amplified polymorphic DNA (RAPD): Indicative of genetic differences amongst environmental and clinical isolates. **Acta Tropica**, v.77, p. 229-237, 2000.

MATTAR, G.M.; KHNEISSER, I.A.; ABDELNOOR, A.M. Rapid laboratory confirmation of human brucellosis by PCR analysis of a target sequence on the 31-kilodalton Brucella antigen DNA. **Journal of Clinical Microbiology**, n.34, p.477- 478, 1996.

MOTA, R.A.; SANTOS, F.L.; CASTRO, F.J.C.; CAVALCANTE, M.I. Mortalidade de equídeos criados na Zona da Mata dos Estados de Pernambuco e Alagoas: aspectos clínicos, epidemiológicos e anátomo histopatológicos. **Anais IV Congresso Pernambucano de Medicina**

Veterinária, Recife, v.1, p.251-252. 1999.

MOTA, RA et al. Caracterización bioquímica y perfil de sensibilidad antimicrobiana in vitro de muestras de *Burkholderia mallei* aisladas de équidos de La región nordeste de Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.1, p.7-11, 2005.

MOTA, RA et al. Mormo em equídeos nos Estados de Pernambuco e Alagoas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.20, n.4, p.155-159, 2000.

MOTA, RA. Aspectos Etiopatológicos, Epidemiológicos e Clínicos no Mormo. **Veterinária e Zootecnia**, v.13, n.2, p.117-124, 2006.

MOTA, RA; RIBEIRO, MG. MORMO. IN: MEGID, J; RIBEIRO, MG; PAES, AC (Eds). Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. 1.ed. Rio de Janeiro: **Roca**, p.423-435, 2016.

NCBI. **National Center for Biotechnology Information**. 2019. Disponível em: Acesso em: 17 de junho de 2019.

OIE - **World Animal Health Organization**, 2018. Disponível em: Acesso em: 12 de junho de 2019.

OIE. **World Organisation for Animal Health**. Technical disease cards: glanders. 2018. Acesso em: 15 de junho de 2019.

OIE. **World Organisation for Animal Health**. Technical disease cards: glanders. 2021. Disponível em: < <https://wahis.oie.int/#/dashboards/qd-dashboard> > .Acesso em: 01 de fevereiro de 2022.

PANAFTOSA. Report on the performance of the Elisa-BKM16 test. Pan American Foot and Mouth Disease Center/Veterinary Public Health, Pan American, Health Organization/World Organization for Animal Health, **Panaftosa/SPV-Paho/Who**; 2018. Disponível em: Acesso em 1 de junho de 2019.

PIMENTEL, W. História e organização do serviço veterinário do exército. **Revista Militar de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v.1, n.4, p.283-322, 1938.

PITT, T.L.; AUCKEN, H.; DANCE, D.A. Homogeneity of lipopolysaccharide antigens in *Pseudomonas pseudomallei*. **Journal of Infection**, v.25, p.139-146, 1992.

POPOV, S. F.; KURILOV, V.; IAKOVLEV, A.T.; *Pseudomonas pseudomallei* and *Pseudomonas mallei* – capsule forming bacteria. Zh. **Journal Epidemiology, Microbiology, Immunology**. v.5, p.32–36, 1995.

PRITCHARD, D.G. Glanders. **Equine Veterinary Education**, v.7, p.29, 1995.

PUMPUANG, A.; CHANTRATITA, N.; WIKRAIPHAT, C.; SAIPROM, N.; DAY, N.P.; PEACOCK, S.J.; WUTHIEKANUN, V. Survival of *Burkholderia pseudomallei* in distilled water for 16 years. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine**, v.105, p.598–600, 2011.

RADOSTITS, OM et al. Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. 9ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, p.1737, 2002.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W.; MCKENZIE, R.A. Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos, **Guanabara Koogan**, Rio de Janeiro, 2010.

RAGHAVAN, R.; SYRIAC, G.; WERNERY, R.; ELSCHNER, M.; MAWHINNEY, I; WERNERY, U. Comparative test performance of different serological tests for glanders. **Journal of Equine Veterinary Science**.2016

RAINBOW, L.; HART, C.A.; WINSTANLEY, C.; Distribution of type III secretion gene clusters in *Burkholderia pseudomallei*, *B. thailandensis* and *B. mallei*. **Journal of Medical Microbiology**, v. 51, p.374-384, 2002.

REDFEARN, M.S.; PALLERONI, N.J.; STAINER, R.Y. A comparative study of *Pseudomonas pseudomallei* and *Bacillus mallei*. **Journal of General Microbiology**, v.43, p.293-313, 1966.

ROTZ, L.D.; KHAN, A.S.; LILLIBRIDGE, S.R.; ASTROFF, S.M.; HUGHES, J.M. Public health assessment of potential biological terrorism agents. *Emerg. Infect. Dis*, v.2, p.225–230, 2002.

SCHADEWALDT, H. Discovery of glanders bacillus. **Deutsche Medizinische Wochenschrift**, v.100, p.2292–2295, 1975.

SCHELL, M.A.; LIPSCOMB, L.; DESHAZER, D. Comparative genomics and an insect model rapidly identify novel virulence genes of *Burkholderia mallei*. **Journal of Bacteriology**, v.7, p. 2306-13, 2008.

SCHOLZ, H.C. et al. Detection of the reemerging agent *Burkholderia mallei* in a recent outbreak of glanders in the United Arab Emirates by a newly developed fliP-based polymerase chain reaction assay. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 54, p.241-7, 2006.

Sharrer, G.Y. The great glanders epizootic USA, In: **A Civil Warlegacy. Agric. History**. v.69, p.79-97, 1995.

SILVA, K.P.C. et al. Caracterização fenotípica e molecular de amostras de *Burkholderia mallei* isoladas na Região Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.5, p. 439- 444, 2009.

SPRAGUE, L.D.; NEUBAUER, H. A review on animal melioidosis with special respect to epizootiology, clinical presentation and diagnostics. **Journal Veteterinay Medicine B Infect Disese Vet Public Health**, v.51, p.305–320, 2004.

SPRAGUE, L.D.; ZACHARIAH, R.; NEUBAUER, H.; WERNERY, R.; JOSEPH, M; SCHOLZ, H.C.; et al. Prevalence-dependent use of serological tests for diagnosing glanders in horses. **BMC Veterinary Research**, n.5, p. 32, 2009.

SRINIVASAN, A.; KRAUS, C.D.; DESHAZER, D.; BECKER, P.M.; JDDICK; SPACEK, L.; BARTLETT, J.G.; BYRNE, W.R.; THO-MAS, D.L. Glanders in military research microbiologist. **The New England Journal of Medicine**, 345, 256–258, 2001.

STEVENS, M.; WOOD, M.W.; TAYLOR, L.A. et al. An Inv/Mxi-Spaliike type III protein secretion system in *Burkholderia pseudomallei* modulates intracellular behaviour of the pathogen. **Molecular Microbiology**. v.46, p.649–659, 2004.

THIBAUT, F.M.; VALADE, E.; VIDAL D.R. Identification and discrimination of *Burkholderia pseudomallei*, *B. mallei* and *B. thailandensis* by real time PCR

targeting type III secretion system genes. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p.5871–5874, 2004.

THOMPSON, L. The systematic relationship of Actinobacillus. **Journal of Bacteriology**, v.26, p.221-227, 1933.

TYLER, S.D.; STRATHDEE, C.A.; ROZEE, K.R. Oligonucleotide primers designed to differentiate pathogenic pseudomonads on the basis of the sequencing of genes coding for 16S–23S rRNA internal transcribed spacer. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.2, p.448–453, 1995.

URICH, RL.; DESHAZER, D. Type III secretion: a virulence factor delivery system essential for the pathogenicity of *Burkholderia mallei*, v. 72, p. 1150-1154, 2004.

VAN ZANDT, K.E.; GREER, M.T.; GELHAUS, H.C. Glanders: an overview of infection in humans. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, p.131, 2013.

WHEELIS, M., First shots fired in biological warfare. **Nature**, n.395, p.217, 1998.

WHITLOCK, G. C.; MARK ESTES, D; TORRES, A. G. Glanders: of to the races with *Burkholderia mallei*. **FEMS Microbiology Letters**, v.277, p.115–122, 2007.

WHITLOCK, G.C. et al. *Burkholderia mallei* cellular interactions in a respiratory cell model. **Journal of Medical Microbiology**, v.58, p.554-562, 2009.

WINSTANLEY, C.; HALES, B.A.; SIBANDA, L.M.; DAWSON, S.; GASKELL, R.M.; HART, C.A. Detection of type III secretion system genes in animal isolates of *Bordetella bronchiseptica*. **Veterinary Microbiology**, v.72, p. 329, 2000.

5. ARTIGO

Identificação dos fatores de manejo associados à ocorrência do Mormo em equídeos no Nordeste do Brasil

RESUMO

O mormo é uma doença infectocontagiosa, zoonótica, de caráter agudo ou crônico, que acomete principalmente os equídeos, causado por *Burkholderia (B.) mallei*. De janeiro de 2005 até dezembro de 2017, 697 focos da doença foram registrados no Brasil, sendo que a região Nordeste detém 61,4% (428/697) do total de focos. Objetivou-se realizar um estudo epidemiológico da infecção por *Burkholderia mallei* em propriedades nos estados de Pernambuco e Alagoas. Para tal foi aplicado questionário investigativo em 6 propriedades focos (2017 -2021) e 11 não focos e realizada análise estatística dos fatores de manejo associados à ocorrência do Mormo no Nordeste do Brasil. Observou-se associação significativa para as seguintes variáveis: objetivo da criação (comércio, esporte e trabalho nas fazendas) ($p=0,023$); ausência de informação sobre as formas de transmissão da bactéria ($p=0,034$); não realização de exames periódicos para o diagnóstico do mormo ($p=0,029$); exigência de exame negativo na compra de equinos ($p=0,06$); utilização do sistema de criação extensivo ($p=0,027$) e deficiência de higienização das baias ($p=001$). Os resultados obtidos devem ser utilizados na implementação de medidas de manejo que minimizem o risco de transmissão da bactéria, reduzindo os casos da doença na região e as perdas econômicas com o mormo.

Palavras chave: epidemiologia; *Burkholderia mallei*; equídeos

ABSTRACT

Glanders is a contagious zoonotic infectious disease characterized by an acute or chronic condition that mainly affects equines and is caused by *Burkholderia (B.) mallei*. From January 2005 to December 2017, 697 cases of this disease were registered in Brazil, with the Northeast region accounting for 61.4% (428/697) of the total number of cases. The objective of this study was to conduct an epidemiological study of *B. mallei* infections that occurred in properties in the states of Pernambuco and Alagoas. For this purpose,

investigative questionnaires were administered to 6 focus properties and 11 non-focus properties between 2017 and 2021, and statistical analysis of the factors associated with the occurrence of glanders in Northeastern Brazil was performed. Factors such as the purpose of rearing ($p=0,023$), lack of information on disease transmission modes ($p=0,034$), failure to carry out periodic tests for glanders diagnosis ($p=0,029$), not requiring a negative test for glanders in the acquisition of animals ($p=0,06$), use of extensive breeding systems ($p=0,027$), and poor stall hygiene were associated with disease occurrence ($p=001$). The results obtained should be used in the implementation of management measures that minimize the risk of transmission of the bacteria, reducing cases of the disease in the region and economic losses with glanders.

Key words: epidemiology; *Burkholderia mallei*; horses.

INTRODUÇÃO

O mormo é uma doença infectocontagiosa, zoonótica, causada pela bactéria *Burkholderia mallei*, que acomete principalmente os equídeos, entretanto também pode acometer o homem, carnívoros e, eventualmente, os pequenos ruminantes. (MOTA, 2006).

A enfermidade persiste em vários países da Ásia, África, América do Sul e Oriente médio (OIE, 2020). Devido a programa de controle, foi erradicada nos Estados Unidos, Europa Ocidental, Canadá e Austrália (VARGAS et al., 2015). De janeiro de 2005 até dezembro de 2016, 697 focos de mormo foram registrados no país, sendo que a região Nordeste detém 61,4% (428/697) do total de focos, com destaque para Pernambuco que apresenta a maior ocorrência no nordeste, suspeitando-se que esta zoonose nunca tenha sido erradicada no território nacional (FONSECA-RODRÍGUEZ; PINHEIRO JÚNIOR; MOTA, 2019).

O Brasil possui o maior rebanho de equinos (*Equus caballus*) da América Latina e o terceiro do mundo, com aproximadamente 6 milhões de animais e quando somados aos asininos (*Equus asininus*) e muares (*Equus asinus* × *Equus caballus*), totalizam cerca de 8 milhões de cabeças, movimentando em média 7,3 bilhões de reais (IBGE, 2017). A notificação

obrigatória desta enfermidade, sujeita o Brasil a restrições de exportação, tanto de animal vivo como de carne. É uma doença incluída na lista de doenças passivas das ações de defesa sanitária, de sacrifício obrigatório, sem indenização e faz parte do Plano Nacional de Sanidade de Equídeos (PNSE) do MAPA (VARGAS et al., 2015; MOTA, 2006; MOTA; RIBEIRO, 2016).

A análise dos fatores associados ao mormo é importante para compreensão epidemiológica da enfermidade no território nacional e para orientação na implementação de medidas de controle e erradicação desta zoonose, visto que, até o presente momento, nenhum estudo foi realizado no Brasil no intuito de identificar e associar os fatores de risco com focos da enfermidade. Sendo assim, objetivou-se realizar um estudo epidemiológico da infecção pela bactéria *Burkholderia mallei* em propriedades nos estados de Pernambuco e Alagoas, no intuito de identificar os fatores de manejo associados à ocorrência de casos de mormo em equídeos na região Nordeste do Brasil.

METODOLOGIA

Delineamento do estudo

Foi utilizado um delineamento caso e controle. As propriedades selecionadas foram definidas por meio de triagem das propriedades focos durante um período de tempo de no máximo 5 anos (2017 – 2021). As propriedades controle foram selecionadas por meio de uma amostra não probabilística por conveniência das propriedades sem foco, pertencentes à mesma área geográfica das propriedades denominadas como foco. Foram aplicados questionários em 17 propriedades do estado de Pernambuco (6 focos e 11 não focos). Considerou-se como propriedade positiva aquela registrada como foco pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Tabela 1).

Tabela 1: Propriedades controle positivo (foco) e controle negativo (não foco) para Mormo, no período de 2017 a 2021 no Nordeste do Brasil.

Localização	Positiva ou Negativa	Nº de Animais
1. União dos Palmares-AL	Negativa	45

2. Angelim – PE	Negativa	200
3. Rio Largo – AL	Negativa	52
4. Viçosa – AL	Negativa	41
5. Mata Norte - Itambé PE	Negativa	44
6. Gravatá – PE	Negativa	134
7. João Pessoa – PB	Negativa	4
8. São Bento do Uma – PE	Negativa	20
9. Recife – PE	Negativa	4
10. Recife – PE	Negativa	13
11. Recife – PE	Negativa	9
12. Porto Cavo – AL	Positiva	11
13. São Luiz do Quintude – AL	Positiva	12
14. Palmeira dos Índios – AL	Positiva	1
15. Camocim – CE	Positiva	7
16. Limoeiro – PE	Positiva	40
17. PE	Positiva	20

AL (Alagoas); PE (Pernambuco); PB (Paraíba); CE (Ceará).

Aplicação de questionário investigativo

Nas visitas técnicas às propriedades foco e não foco de mormo foram aplicados questionários investigativos com o objetivo de coletar informações sobre o manejo sanitário, realização periódica de exames, presença de sinais clínicos de mormo, percepção da doença, assistência técnica, grau tecnológico de criação, bem como a aplicação de um termo de consentimento de utilização e divulgação dos dados. O questionário baseou-se com variáveis ligadas à epidemiologia do mormo, considerando estudos já publicados sobre a doença em outros países, além de dados tecnológicos da propriedade fornecidos pelo Departamento de Defesa Animal de Pernambuco.

Análise de fatores associados à ocorrência de Mormo

Para a análise dos fatores associados à ocorrência de Mormo foi utilizado um modelo linear generalizado misto. A variável dependente consistiu na ocorrência (1) ou não (0) de casos de mormo. As variáveis independentes foram: objetivo da criação; conhecimento sobre a enfermidade; realização de exames periódicos para diagnóstico do mormo; disposição de assistência

técnica; manejo dos animais; compartilhamento de utensílios; aquisição de animais com ou sem GTA; realização de quarentena; sistema de criação; higienização dos ambientes; participação em eventos e tamanho da propriedade.

Para identificar os fatores associados ao mormo foi realizada uma análise univariada das variáveis de interesse através do teste Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher, adotando-se um nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram aplicados questionários em 6 (seis) propriedades focos de mormo e 11 (onze) não focos, utilizadas como controle negativo, no período de 2017 a 2021, nos estados de Pernambuco e Alagoas. As propriedades foram obtidas junto ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) que ofereceram os dados dos estabelecimentos foco da doença nos respectivos Estados e o contato dos proprietários. É importante destacar que considerando os desdobramentos nos casos positivos para mormo como o sacrifício e interdição das propriedades foco, houve uma grande resistência por parte dos proprietários que se opuseram a participar dessa pesquisa, dificultando a coleta das informações o que determinou um número mais reduzido de propriedades foco.

A análise univariada dos fatores estudados demonstrou que o objetivo das criações destinadas ao comércio, esporte e trabalho nas fazendas; a ausência de informação sobre as formas de transmissão da bactéria; a não realização de exames periódicos para o diagnóstico do Mormo, a não exigência de exames negativos para aquisição de animais; a utilização do sistema de criação extensivo e a pouca frequência de higienização das baias são fatores associados à ocorrência de Mormo nas propriedades (Tabela 2).

Tabela 2: Análise de associação entre as variáveis epidemiológicas e a ocorrência de Mormo em equídeos na região Nordeste do Brasil, no período de 2017 a 2021.

FATORES	Propriedades Positivas		Propriedades Negativas		Valor-p
	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)	
	1. Objetivo da Criação				
Reprodução	-	-	6	100,00	
Competição	-	-	1	100,00	0,023
Comércio, Esporte e Trabalho na fazenda	3	42,86	4	57,14	
2. Conhecimento sobre as formas de transmissão da bactéria					
Sim	1	10	9	90	
Não	5	71,43	2	28,57	0,034
3. Realização de exames para diagnóstico de Mormo					
Sim	3	21,43	11	78,57	
Não	3	100	-	-	0,029
4. Exigência de exame negativo na compra de equinos					
Sim	2	15,38	11	84,62	
Não	4	100	-	-	0,006
5. Utilização de sistema de criação intensivo					
Sim	2	16,67	10	83,33	
Não	4	80	1	20	0,027
6. Frequência de limpeza das instalações					
Semanalmente	2	100	-	-	
1 vez ao dia	-	-	3	100	0,001
Mais de uma vez ao dia	-	-	8	100	

F.A. (Frequência Absoluta); F.R. (Frequência Relativa).

O transporte mundial de equinos aumenta anualmente, diretamente associado ao comércio de animais vivos, eventos esportivos e exposição (BRASIL, 2028), logo, os períodos de quarentena e a realização de testes de diagnóstico são de suma importância para evitar a propagação de *Burkholderia mallei* (SAID et al., 2016). O trânsito de animais assintomáticos é um fator de risco relevante na disseminação do agente etiológico do mormo, principalmente considerando o cenário brasileiro onde é frequente o comércio de equídeos e

sua utilização em eventos esportivos e exposições (KHAN et al., 2013). Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) é obrigatória à adoção do Guia de Trânsito Animal (GTA) para o trânsito interestadual e intra-estadual de equídeos, com resultado negativo para Mormo dentro da validade (BRASIL, 2014), contudo ainda se verifica, em alguns locais, o trânsito de animais para participar, principalmente de feiras ou cavalgadas sem a guia de trânsito. Isso também é facilitado pela dificuldade do sistema em fiscalizar toda a movimentação de equídeos.

A acreditação de testes com alta sensibilidade e especificidade que conferem veracidade aos resultados positivos é de fundamental importância para evitar o deslocamento de animais falsos negativos, o que poderia resultar na disseminação do agente por todo o território e ao nível das fronteiras internacionais, que pode causar danos à cadeia produtiva equina (ELSCHNER et al., 2019), evitando entraves econômicos gerados por falsos diagnósticos de mormo.

Desta forma, a associação direta dos casos positivos observada no nosso estudo ao objetivo da criação e a exigência do exame negativo para mormo, que é uma forma de monitorar o trânsito de equídeos, se enquadram na perspectiva de que a falta de controle no trânsito destes animais interfere diretamente na disseminação da bactéria entre as propriedades.

O intenso trânsito de animais resulta em uma frequência considerada de casos de mormo na região nordeste do Brasil, que por meio de análises moleculares como a Ribotipagem- PCR e RAPD, verificou-se alta heterogeneidade entre as cepas de *B. mallei*, indicando a infecção por diferentes cepas, demonstrando a diversidade genética do microorganismo e a dispersão desse patógeno nessa região (SILVA et al., 2009). Falcão et al. (2019), por meio de técnicas moleculares de genotipagem, diagnosticaram a cepa *Turkey 10* em equinos no Nordeste do Brasil, mais especificamente nos estados de Pernambuco e Alagoas, demonstrando o forte impacto do comércio de animais entre os dois estados e a participação de animais em feiras e eventos agropecuários como fator para a disseminação de cepas de *B. mallei*, considerando que a mesma cepa foi encontrada em locais distintos.

Um estudo realizado para avaliar os fatores de risco para o Mormo na

província de Punjab no Paquistão, Ásia, região endêmica para doença, relatou que o aumento da soropositividade dos animais estava diretamente relacionado com locais onde *B. mallei* foi detectada no solo, incluindo a contaminação ambiental como um fator de risco para enfermidade. Equídeos positivos criados em sistema extensivo que circulam por longas áreas de pasto podem eliminar *B. mallei* no ambiente, resultando em soroconversão de animais saudáveis que pastam conjuntamente (MUHAMMAD et al., 2017). Logo, o sistema de criação extensivo, como observado no nosso estudo tem interferência direta na epidemiologia da doença, determinando aumento no número de focos da doença no país.

Outro fator que teve relação com a ocorrência de Mormo foi a deficiência de higienização das baias, pois esta prática diária nos estabelecimentos atua diretamente como um fator de proteção para redução dos casos (KHAN et al., 2012; MALIK et al., 2015). Ambientes úmidos e com presença de moscas domésticas, vetores da bactéria são propícios para multiplicação de *B. mallei* (LOPEZ et al., 2003). Este microrganismo é sensível a ação da luz solar, calor e desinfetantes comuns e dificilmente sobrevive em ambientes contaminados por mais de 2 semanas (NEUBAUER et al., 1997), porém em ambientes favoráveis, pode sobreviver por alguns meses (NEUBAUER et al., 1997; OIE, 2018). Sendo assim, os bebedouros são uma fonte potencial de infecção, considerando que esta bactéria pode viver por até 100 dias na água, logo os animais se infectam por meio da ingestão de água contaminada com secreções nasais de animais infectados (KINSLEY, 1911; MALIK et al., 2015). Estas secreções, além dos exsudatos cutâneos de animais positivos para mormo contêm um número considerável de bactérias ativas que podem facilmente contaminar, além dos bebedouros e comedouros, escovas, arreios, chicotes, esporas, entre outros, disseminando a bactéria (GREGORY E WAAG, 2007).

As medidas de controle e prevenção regidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estão direcionadas principalmente para o diagnóstico da enfermidade e saneamento das propriedades focos, entretanto carecem de informações de manejo baseadas em estudos científicos que contribuam para redução da ocorrência do Mormo, bem como existe um déficit na divulgação de orientações aos produtores sobre estas medidas de manejo que auxiliam diretamente na prevenção.

CONCLUSÃO

A identificação e compreensão dos fatores associados à ocorrência de Mormo na região Nordeste do Brasil facilita o estabelecimento de medidas de manejo que minimizam a transmissão da bactéria, reduzindo os casos da doença. Dessa forma, ações de maior esclarecimento dos criadores de equídeos sobre o objetivo e o tipo da criação, informações sobre a enfermidade, realização de exames periódicos, além de higienização das instalações devem ser divulgadas para reduzir os casos de mormo, além de medidas de diagnóstico e trânsito de animais já utilizadas pelo MAPA .

RECONHECIMENTO

A pesquisa foi financiada pelos Órgãos Federais Brasileiros: “Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior” (CAPES), Brasil e pelo “Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico” (CNPq), Brasil.

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

Todos os autores contribuíram igualmente para a concepção e redação do manuscrito. Todos os autores revisaram criticamente o manuscrito e aprovaram a versão final.

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE BIOÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alagoas (licença nº 92/2016), Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimentos Tradicionais Associados (número A23EF3A) e da Plataforma Brasil (Certificado de Apresentação de Apreciação Ética, número 41426720.5.0000.9547).

REFERÊNCIAS

ANONYMUS. Stray Mexican donkey tests positive for glanders. *The Horse*. 2015; Disponível em: < <http://www.thehorse.com/articles/35547/straymexican-donkey-tests-positive-for-glanders>>. Acesso em: Dez. 13, 2021.

BRASIL. Instrução Normativa nº52, de 26 de junho de 2018. Define os requisitos e critérios para a realização do diagnóstico de Anemia Infecciosa Equina no Território Nacional. Diário Oficial da União, Brasília, p.9-10, 27 de novembro, 2018. Seção 1.

ELSCHNER, M.C.; KLAUS, C.U.; LIEBLER-TENORIO, E.; et al. *Burkholderia mallei* infection in a horse imported from Brazil. **Equine Vet Educ**, v. 21, p. 147 – 50, 2009. Disponível em: < <https://aaep.org/sites/default/files/issues/March2009Burkholderia.pdf>>. Acesso em: Dez., 2021. doi: 10.2746/095777309X401071.

ELSCHNER, M.C.; NEUBAUER, H.; SPRAGUE, L.D. The Resurrection of Glanders in a new Epidemiological Scenario: A Beneficiary of “Global Change”, v.4, p. 54 – 60, 2017. Disponível em: < <https://link.springer.com/article/10.1007/s40588-017-0058-6>>. Acesso em: Dez., 13, 2021. doi: 10.1007/s40588-017-0058-.

FALCÃO, M. V. D., et al. First record of *Burkholderia mallei* Turkey 10 strain originating from glanderous equines from Brazil. **Brazilian J. Microbiol.**, v. 50, p. 1125-1127. Disponível em: < Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31321739>> . Acesso em: Nov. 27, 2021. doi: <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00113-2>.

FONSECA-RODRÍGUEZ, O; JÚNIOR, JWP; MOTA, RA. Spatiotemporal Analysis of Glanders in Brazil. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.18, p. 14-19, 2019. Disponível em: < https://www.researchgate.net/publication/332218273_Spatiotemporal_Analysis_of_Glanders_in_Brazil> . Acesso em: Nov. 25, 2021. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2019.03.216>.

GHORIA, MT; KHAN, MS; KHAN, JA; RABBANI, M; SHABBIR, MZ; CHAUDHRY, HR; ALI, M. A; MUHAMMAD, J; ELSCHNER, MC; JAYARAO,

BM. Seroprevalence and risk factors of glanders in working equines – Findings of a cross-sectional study in Punjab province of Pakistan. **Acta Tropica**, v. 176, p. 134-139, 2017. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28760480/>> . Acesso em: Dez. 2, 2021. doi: 10.1016/j.actatropica.2017.07.031.

GREGORY, B. C.; WAAG D.M.; Glanders. **Medical Aspects of Biological Warfare**, 2007, cap. 2, p. 121 – 146. Department of Defence, Office of Surgeon General, US Army, Borden Institute, Walter Reed Army Medical Center, Washington, DC, USA.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Efetivo dos rebanhos. 2017. Disponível em: < <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>>. Acesso em: 02 de julho de 2019.

KHAN, I et al. Comparative evaluation of three commercially available complement fixation test antigens for the diagnosis of glanders. **Veterinary Record**, v.169, p.495, 2011. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21896565/>> . Acesso em: Dez. 9, 2021. doi: 10.1136/vr.d5410.

KHAN, I; WIELER, LH; MELZER, F; ELSCHNER, MC; MUHAMMAD, G; ALI, S; et al. Glanders in animals: a review on epidemiology, clinical presentation, diagnosis and countermeasures. **Transboundary and Emerging Diseases**, v.60, p. 204-21, 2013. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22630609/>> . Acesso em: Nov. 27, 2021. doi: 10.1111/j.1865-1682.2012.01342.x.

KINSLEY, A. T. Probable influence of open water troughs in the spread of glanders. **J. Comp. Pathol. Ther**, v.40, p.633– 638, 1911.

LOPEZ J.; COPPS J.; WILHELMSSEN C.; MOORE R.; KUBAY J.; ST-JACQUES M.; HALAYKO S.; KRANENDONK C.; TOBACK S.; DESHAZER D.; FRITZ D.L.; TOM M.; WOODS D.E. Characterization of experimental equine glanders. **Microbes Infect**, v.12, p. 1125-31, 2003. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14554254/>> . Acesso em: Nov. 27, 2021. doi: 10.1016/j.micinf.2003.07.004. PMID: 14554254.

MALIK, P.; SINGHA, H.; GOYAL, S.K.; KHURANA, S.K.; TRIPATHI, B.N.; DUTT, A.; et al. Incidence of *Burkholderia mallei* infection among indigenous equines in India. **Vet Rec open**. v.2, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26457190/>>. Acesso em: Nov. 27, 2021. doi: 10.1136/vetreco-2015-000129 .

MOTA, RA et al. Mormo em equídeos nos Estados de Pernambuco e Alagoas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.20, p.155-159, 2000. Disponível em:<https://www.researchgate.net/publication/26354084_Mormo_em_equideos_nos_Estados_de_Pernambuco_e_Alagoas> . Acesso em: Dez. 13, 2021. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2000000400005>.

MOTA, RA. Aspectos Etiopatológicos, Epidemiológicos e Clínicos no Mormo. **Veterinária e Zootecnia**, v.13, p.117-124, 2006. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/333422790_Aspectos_etiopatologicos_e_epidemiologicos_e_clinicos_do_mormo>. Acesso em: Nov. 25, 2021. doi: <http://dx.doi.org/10.35172/rvz.2006.v13.260>.

NEUBAUER, H., et al. Human glanders. **Revue Internationale Des Services De Sante Des Forces Armees**, v.70, p.258– 265,1997.

OIE. World Organisation for Animal Health. Technical disease cards: glanders. 2018. Disponível em: <http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/GLANDERS.pdf> . Acesso em: Dez. 12, 2021.

SAID, NC; JUNIOR, GN; Domingues, PF. Mormo em Equinos e a Biossegurança no Agronegócio. **Tekhne e Logos**, v.7, p. 1-2, 2016. Disponível em: <<https://www.semanticscholar.org/paper/MORMO-EM-EQUINOS-E-A-BIOSSEGURAN%C3%87A-NO-AGRONEG%C3%93CIO-Said-J%C3%BAnior/e5aee59509de6941e80a47df3eac89de85737dc7>> . Acesso em: Dez. 11, 2021. Corpus ID: 90534156.

SILVA, KPC et al. Caracterização fenotípica e molecular de amostras de *Burkholderia mallei* isoladas na Região Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, p. 439-444, 2009. Disponível em:<<https://www.scielo.br/j/pvb/a/mrZTQjflL9brmKhpSQbdf7q/abstract/?lang=pt>>.

Acesso em: Dez. 11, 2021. .doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2009000500015>.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nesse estudo contribuem diretamente no entendimento da epidemiologia da doença, mas é importante destacar a dificuldade para a obtenção de dados dessa natureza. Houve uma grande resistência por parte dos criadores para a obtenção de informações epidemiológicas para esse estudo que pode interferir diretamente nas análises. Logo é de suma importância a orientação da população envolvida diretamente no círculo de criação e movimentação de equídeos, que podem gerar uma maior confiança para a realização desses estudos epidemiológicos.

Os resultados apresentados norteiam o desenvolvimento de medidas de manejo que contribuam para a redução da ocorrência de Mormo, uma vez que as medidas de controle e prevenção regidas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) estão especificamente direcionadas para o diagnóstico da enfermidade e saneamento das propriedades focos e carecem de divulgação de medidas de manejo para reduzir os riscos da infecção por *Burkholderia mallei*. Sendo assim, tais resultados tem um impacto direto na cadeia produtiva de equídeos, no controle e prevenção do Mormo no Brasil.

Table 1: Positive control (focus) and negative control (non-focus) properties for glanders from 2017 to 2021 in Northeastern Brazil

Localization	Result	No. of animals
1. União dos Palmares-AL	Negative	45
2. Angelim – PE	Negative	200
3. Rio Largo – AL	Negative	52
4. Viçosa – AL	Negative	41
5. Mata Norte - Itambé PE	Negative	44
6. Gravatá – PE	Negative	134
7. João Pessoa – PB	Negative	4
8. São Bento do Uma – PE	Negative	20
9. Recife – PE	Negative	4
10. Recife – PE	Negative	13
11. Recife – PE	Negative	9
12. Porto Cavo – AL	Positive	11
13. São Luiz do Quintude – AL	Positive	12
14. Palmeira dos Índios – AL	Positive	1
15. Camocim – AL	Positive	7
16. Limoeiro – PE	Positive	40
17. PE	Positive	20

Table 2: Analysis of the association between epidemiological variables and the occurrence of glanders in equines in the Northeast Region of Brazil from 2017 to 2021

FACTORS	Positive properties		Negative properties		P-value
	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)	
1. Purpose of Creation					
Reproduction	-	-	6	100	
Competition	-	-	1	100	0.023
Commerce, sport, and farm work	3	42,86	4	57,14	
	3	100,00	-	-	
2. Knowledge about methods of bacterium transmission					
Yes	1	10	9	90	
No	5	71,43	2	28,57	0.034
3. Tests conducted for glanders diagnosis					
Yes	3	21,43	11	78,57	
No	3	100	-	-	0.029
4. Requirement of negative examination in the purchase of horses					
Yes	2	15,38	11	84,62	
No	4	100	-	-	0.06
5. Use of intensive breeding system					
Yes	2	16,67	10	83,33	
No	4	80	1	20	0.027
6. Frequency of facility cleaning					
Weekly	2	100	-	-	
Once a day	-	-	3	100	0.001
More than once a day	-	-	8	100	