

## **Nota Técnica: Diagnóstico e Ocorrência da doença Mormo no Brasil e no Estado de São Paulo**

### **I - Introdução**

Esta Nota Técnica, redigida e firmada por um grupo de trabalho composto por integrantes do Conselho Regional de Medicina do Estado de São Paulo - CRMV-SP, Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - Organização Pan-Americana da Saúde / Organização Mundial da Saúde - PANAFTOSA – OPS/OMS e Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo - CDA, Instituto Biológico/APTA – ambos vinculados à Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo – SAA/SP.

Este documento tem por objetivo esclarecer médicos veterinários, criadores, técnicos e demais interessados a respeito da ocorrência e diagnóstico da doença mormo, zoonose de continuada importância tanto no Brasil quanto no exterior, assim como desmistificar as repetidas informações, sem respaldo técnico, que circulam nas redes sociais, sobre a não ocorrência da enfermidade no Brasil e também questionando a motivação de órgãos públicos, laboratórios e Médicos Veterinários, tanto privados quanto do Serviço Público Oficial.

### **II - A Doença**

O mormo é uma enfermidade infecto – contagiosa, de caráter agudo ou crônico que acomete principalmente os equídeos, podendo também acometer o homem, os carnívoros e eventualmente os pequenos ruminantes (d'AUTHEVILLE, 1982). É considerada uma das mais antigas doenças dos equídeos, descrita por Aristóteles e Hipócrates nos séculos III e IV a. C (BLANCOU, 1994).

O agente epidemiológico é a *Burkholderia mallei*, que ao longo dos anos recebeu diferentes denominações. Em 1980, foi incluída na “Approved Lists of Bacterial Names” como *Pseudomonas mallei*, mas foi reclassificada no gênero *Burkholderia* spp. (BRETT et al., 1997; YABUUCHI et al., 1992).

Os equinos, muares e asininos são as espécies normalmente afetadas. No homem, a doença é fatal (ALIBASOGLU et al., 1986). Animais infectados e portadores assintomáticos são importantes fontes de infecção. A principal via de infecção é a digestiva, podendo ocorrer também pelas vias respiratórias, genital e cutânea (HIPOLITO & FREITAS, 1963; RADOSTITS et al., 2002).

Os sinais clínicos mais frequentes são: febre, tosse e corrimento nasal. Inicialmente, as lesões nodulares evoluem para úlceras que após a cicatrização formam lesões em forma de estrelas. Estas lesões ocorrem com maior frequência na fase crônica da doença, que é caracterizada por três formas de manifestação clínica: a cutânea, linfática e respiratória, porém estas não são distintas, podendo o mesmo animal apresentar todas simultaneamente (JUBB et al., 1993).

Atualmente, não há nenhuma vacina animal ou humana eficaz contra a infecção da *B. mallei*. Alguns estudos estão sendo realizados com o objetivo de produzir uma vacina eficaz para o mormo, uma vez que, o tratamento dos infectados não é recomendada (ACHA & SZYFRES, 1986).

### III - Detecção da bactéria *Burkholderia mallei*:

A presença da bactéria *Burkholderia mallei* já foi confirmada, de maneira inequívoca e definitiva, em diversos estados brasileiros.

Os equídeos nos quais o mormo foi diagnosticado vieram de focos confirmados por sorodiagnóstico, e também de grupos experimentais de equinos naturalmente infectados mantidos por quatro anos na Estação Quarentenária de Cananéia – EQC/DSA/SDA/MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, Cananéia / SP).

a) Metodologia: detecção da *B. mallei*, através de isolamento (cultura) e/ou PCR (Reação em cadeia da polimerase ou Polymerase Chain Reaction – PCR) de tecidos e secreções obtidos em necropsia, biopsia ou colheita de amostras clínicas. A técnica de PCR para *B. mallei* é altamente específica, baseando-se em análise de sequências do DNA bacteriano. Desta maneira, é impossível a reação cruzada com *Burkholderia pseudomallei* e outros agentes infecciosos.

b) Onde: focos em diversos pontos do território nacional. No Estado de São Paulo, foram realizadas necrópsias, seguidas de técnicas de diagnóstico por PCR e isolamento, em um foco no ano de 2016. Desde 2018, este procedimento entrou na rotina de saneamento de todos os focos do Estado. (Fonte: CDA/SAA).

c) Quando: Muitas amostras foram analisadas nos últimos 10 anos. O Instituto Biológico realizou 35 necrópsias de animais em focos, com isolamento bacteriano positivo para *B. mallei* em 3 (8,5%) animais e PCR positiva em 27 (77,1%) animais. Esses resultados evidenciam sem a menor sombra de dúvida a existência e ocorrência da bactéria de forma endêmica/epidêmica no rebanho equídeo nacional.

d) Quem realiza os diagnósticos por Biologia Molecular (PCR) e por isolamento da bactéria: Os diagnósticos oficiais foram realizados pela Rede dos Laboratórios Federais de Defesa Agropecuária (LFDAs) e pelo Instituto Biológico do Estado de São Paulo – SP (estadual).

### IV - Diagnóstico laboratorial (sorológico) do mormo (Agosto 2019):

A legislação brasileira, através da Portaria SDA nº 35, de 17 de abril de 2018, publicada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, optou, acertadamente, por um sistema de sorodiagnóstico composto por uma prova de triagem (*screening*) mais sensível, e por uma prova confirmatória de maior especificidade, quando da ocorrência de um resultado diferente de negativo no exame/prova de triagem. A prova confirmatória é realizada exclusivamente nos Laboratórios Federais de Defesa Agropecuária (LFDAs). Assim é assegurado o preceito de:

- Prova de triagem: alta sensibilidade e menor especificidade;
- Prova confirmatória: sensibilidade igual ou maior que a triagem e alta especificidade.

#### 1. Mudanças previstas para o diagnóstico laboratorial do mormo

a) *Exame de triagem, realizado em laboratório credenciado e acreditado, com finalidade de trânsito de animais:* a Portaria SDA nº 35 prevê que todos os laboratórios, privados e oficiais, passem a adotar a prova de ELISA (indireto ou competição) como prova de triagem até abril de 2020. A partir daí a prova de Fixação de Complemento (FC) será utilizada apenas para trânsito internacional, conforme regulamentação da OIE. Atualmente (agosto 2019), os laboratórios estão em fase de transição entre a execução das provas de FC para ELISA, sendo que a acreditação para ELISA implicará na suspensão da acreditação para a FC.

b) Vantagens e evolução obtidos através da adoção da plataforma ELISA:

- Possibilidade de automação da prova, diminuindo extremamente o risco de erro de interpretação;
- Maior padronização dos insumos;
- Ausência de resultados inconclusivos (tais como os que podem ocorrer na FC);
- Sensibilidade mais alta que FC, reduzindo a ocorrência de falsos negativos;

c) *Exame confirmatório:* todos os resultados diferentes do negativo na prova de triagem serão retestados pela prova Western Blotting (WB) nos Laboratórios Federais de Defesa Agropecuária (LFDA's). Este protocolo, combinando ELISA e WB, reduz a praticamente zero os falsos positivos, bem como os inconclusivos.

Ressaltamos que os exames de triagem (tanto ELISA quanto FC) jamais serão determinantes de eutanásia dos equídeos com resultados diferentes de negativo, a qual será determinada, por legislação, apenas com exame confirmatório WB positivo.

#### **V - Mormo como zoonose:**

O gênero *Equus* (cavalos, asininos, zebras e muare) inclui as espécies mais suscetíveis à *B. mallei*. Infecções ocasionais são reportadas em outras espécies de animais domésticos e também no ser humano, assim caracterizando o mormo como zoonose.

O Ministério da Saúde do Brasil tem publicado em seu site os protocolos com os procedimentos quando da possível ocorrência em seres humanos. Os mesmos podem ser acessados em <http://www.saude.gov.br/noticias/svs/19842-condutas-para-vigilancia-epidemiologica-de-casos-suspeitos-de-mormo-no-brasil>

#### **VII - Histórico da doença no Estado de São Paulo**

Desde meados da década de 1960, não ocorria registro da doença Mormo no Estado de São Paulo, com sua ocorrência novamente verificada no ano de 2008, através do acometimento de um equino na zona urbana do município de Santo André - SP. A partir da confirmação do caso, a Coordenadoria de Defesa Agropecuária, procedeu a eutanásia do animal, conforme preconiza a legislação vigente, com abertura de investigação epidemiológica envolvendo a delimitação da área foco e perifoco, com interdição de propriedades e colheita de sangue de mais 135 equídeos que foram submetidos ao teste de Fixação de Complemento (FC), que resultaram negativas.

Diante da ocorrência, a legislação sanitária estadual passou a exigir o exame negativo de mormo, para o trânsito de equídeos em todo o Estado, o que perdurou por aproximadamente, seis meses. Devido a esta exigência foram submetidos mais de 50.000 animais ao teste diagnóstico, e não foram mais diagnosticados animais positivos.

No entanto, no ano de 2013 a doença voltou a ser detectada em um equino, no município de Araçariguama-SP. Após esta nova ocorrência procedeu-se à alteração da legislação estadual por meio da Resolução SAA 19, de 15/04/2013, alterada pela Resolução SAA 31, de 19/04/2013, quando se passou a exigir o exame negativo para o mormo para trânsito de equídeos no Estado, independente da finalidade e destino, entre outras providências. A partir de então, até junho de 2019, foram realizados 850.000 exames de triagem para Mormo, na rede de laboratórios credenciados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), detectando-se 228 casos suspeitos, dois quais confirmou-se a ocorrência de 30 focos, distribuídos em 24 municípios do Estado de São Paulo, somando 123 animais portadores da doença (Fonte: CDA/SAA).

## **VII. Conclusões**

O mormo, zoonose causada pela *B. mallei*, ocorre no território brasileiro, sendo endêmico na população equídea de algumas regiões do país e de ocorrência esporádica em outras regiões. A ocorrência da bactéria *B. mallei*, por isolamento ou por PCR, foi identificada de maneira inequívoca em dezenas de amostras oficiais provenientes de equídeos, ao longo dos últimos 10 anos.

A complexidade patogênica da enfermidade mormo já exigiu e continua demandando muito trabalho de pesquisadores e cientistas para que as mais exatas técnicas de diagnóstico pudessem ser desenvolvidas e validadas para a realidade nacional. Atualmente, com a validação do método diagnóstico ELISA para o mormo, o controle da zoonose no Brasil entra em uma nova fase.

Apesar dos esforços dos Serviços Veterinários Oficiais, do Ministério da Agricultura e dos Estados da Federação, através das ações preconizadas pela INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 6, na tentativa de se promover o controle e erradicação da enfermidade, as ocorrências de mormo continuam em nosso País. Concorrem para isto diversos fatores relacionados às especificidades da população equídea, tais como o fato de que a realização de exames é quase sempre condicionada à emissão de GTA para transporte, implicando num reduzido controle sanitário das populações de animais de trabalho.

Assim, entendemos que seja responsabilidade de médicos veterinários, criadores e proprietários ligados ao setor da equideocultura trabalharem com o máximo de competência e responsabilidade ética para que juntos, e com o apoio e parceria com os Serviços de Defesa Sanitária dos Estados, conseguirmos atingir o controle sanitário do mormo no Brasil, aproximando-nos da erradicação do mesmo.

Os signatários deste Nota Técnica, enquanto representantes de suas respectivas entidades, seguem à disposição para elucidação de quaisquer dúvidas técnicas advindas, predispondo-se à continuidade de apoio às atividades de combate ao mormo, visando a evolução contínua das medidas sanitárias em apoio a esse importante setor do Agronegócio Brasileiro.

São Paulo, 14 de agosto de 2019

(Signatários)

Otávio Diniz – Presidente da Comissão de Equideocultura– CRMV-SP

Claudia Leschonski – Comissão de Equideocultura – CRMV-SP

Paulo José Sanchez – Comissão de Equideocultura – CRMV-SP

Rui Vincenzi – Comissão de Equideocultura – CRMV-SP

Afonso dos Santos Marcos – CDA/SAA

Júlio Pompei – Panaftosa/OPAS/OMS – Coordenador - Área de Zoonoses

Maristela Pituco - Panaftosa/OPAS/OMS

Alessandra Nassar – Instituto Biológico/APTA/SAA

Simone Miyashiro – Instituto Biológico/APTA/SAA

#### Referências Bibliográficas

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

ALIBASOGLU, F. K.; YESILDERE, T.; CALISLAR, T.; INAL, T.; CALSIKAN, U. Malleus outbreak in lions in the Istanbul Zoo. Berl Munch Tierarztl. H. Wochenschr. V. 99, p. 57 – 63, 1986.

BLANCAU, J.; Les anciennes methodes de surveillance et de controle de la morve. Bulletin Societé Veterinaire Prat. de France, v. 78, n. 01, p. 34 – 54, 1994.

BRETT, P. J.; Deshacer, D.; WOODS, D.E. Characterisation of *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia Pseudomallei* – like strains. Epidemiol. Infect. v.118, d' AUTHEVILLE, P.; Manual de Pronto Socorro para o Cavalo, Organiz. Andrei Editora Ltda, São Paulo, p. 98 – 99, 1982.

HIPÓLITO, O.; FREITAS, M. G.; Doenças infecto – contagiosas dos animais domésticos. 3ª Ed., Edições Melhoramento: Belo Horizonte, 1963, p. 232.

JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PLAMER, N. Pathology of Domestic Animals. 4ª Ed., Academic Press, 1993, p. 640.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCHCLIFF, K. W. Clinica Veterinária. 9ª Ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2002, p. 1737.

YABUUCHI, E.; KOSAKO, Y; OYAIZU, H. Proposal of *Burkholderia* genus and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homoly. J. Microbiol. Immun. V. 36, p. 1251 – 75, 1992.

MAPA - INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 6, DE 16 DE JANEIRO DE 2018 - Aprova as Diretrizes Gerais para Prevenção, Controle e Erradicação do Mormo no Território Nacional, no âmbito do Programa Nacional de Sanidade dos Equídeos (PNSE).

MAPA - PORTARIA SDA Nº 35, DE 17 DE ABRIL DE 2018 - Define os testes laboratoriais para o diagnóstico do mormo.

SAA - RESOLUÇÃO SAA Nº 19, DE 15 DE ABRIL DE 2013 - Considera o Mormo (*Burkholderia mallei*), doença dos equídeos, de peculiar interesse do Estado; e dá providências correlatas.

SAA - RESOLUÇÃO SAA Nº 31, DE 30 DE ABRIL DE 2013 - Altera e acrescenta dispositivos a Resolução SAA 19, de 15-04-2013

LEOPOLDINO, D.C.C. OLIVEIRA, R.G. ZAPPA, V - Mormo em Equinos - Ano VII – Número 12 – Janeiro de 2009 – Periódicos Semestral - Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça – FAMED/FAEF

OIE (WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH). Chapter 12.10 Infection with *Burkholderia mallei* (glanders). In: Terrestrial Animal Health Code. Disponível em: [http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre\\_glanders.htm](http://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre_glanders.htm) Acesso em: 31 julho 2019

OIE (WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH) 2019. Chapter 3.5.11 Glanders and melioidosis (NB: Version adopted in May 2018). In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2019 Disponível em: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.05.11\\_GLANDERS.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.05.11_GLANDERS.pdf) Acesso em: 31 julho 2019