

Relatório do Grupo de Trabalho Mormo – CSE – MAPA

Iniciamos as atividades deste Grupo de Trabalho (GT) sobre MORMO, com o objetivo de reunir dados científicos para embasar as ações da Câmara Setorial de Equideocultura, a partir das reuniões extraordinárias que ocorreram no ano de 2021, da consulta ao material científico disponível na literatura, e através de reuniões com especialistas no assunto. O GT foi composto por Carlos Eduardo Wayne Nogueira Coordenador – ABCCC), Hélio Cordeiro Manso Filho (ABRAVEQ), Allan Guerra (ABCR), Cesar Vilela (IBEQUI), Raquel Juliano (EMBRAPA) e Marcelo Servos (CBH).

O tema é polêmico e envolve muitas situações emocionais que devem ser respeitadas, porém os dados técnico-científicos precisam balizar as ações no avanço do conhecimento sobre o assunto e as políticas públicas a serem definidas pelo poder público em diálogo e com o apoio do setor da Equideocultura.

1- O Agronegócio do Cavalo no Brasil

- A criação de equinos no Brasil se mantém em crescimento, e segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) conta com de 6 milhões de cabeças, estando entre os cinco países com maior rebanho no mundo. Mesmo com a incorporação de máquinas de última geração e de ferramentas tecnológicas, o cavalo continua sendo decisivo para o desenvolvimento de atividades pecuárias e agrícolas na grande maioria das propriedades produtivas nacionais.

- O envolvimento do cavalo nas cidades é uma realidade, através do lazer e atividades culturais em todo o mundo, além de ser um animal de companhia com vínculo importante no cotidiano de muitas pessoas. Essa atividade movimenta anualmente no Brasil dezenas de bilhões de reais, **sendo responsável por mais de 3 milhões de postos de trabalho (MAPA).**

2-Importância da Sanidade

- O mormo, causado por *Burkholderia (B.) mallei* é uma zoonose de notificação compulsória em equídeos, que a partir dos anos 2000 “ressurgiu” como doença de ocorrência mundial. Para o comércio internacional e para movimentação de equídeos, são necessários certificados de teste sorológico com resultado negativo para anticorpos contra *B. mallei*.

- Mormo é uma doença contagiosa e fatal de cavalos, burros e mulas, causada pela infecção pela bactéria *Burkholderia mallei*, apresentando casos esporádicos em humanos. O patógeno causa nódulos e ulcerações no trato respiratório superior e nos pulmões. Também ocorre na forma cutânea, conhecida como “farcy”. Com evolução aguda, crônica e presença de animais portadores assintomáticos atuando como possível fonte de disseminação do agente.

- A Melioidose é uma doença infecciosa causada por *Burkholderia pseudomallei* em humanos e animais, às vezes se assemelha ao Mormo em cavalos. Porém a fonte principal de contaminação esta no ambiente, com infecção através de lesões na pele, por contato com água parada ou regiões pantanosas.

- A *Burkholderia mallei* é uma linhagem adaptada ao hospedeiro de *B. pseudomallei* e desenvolvida por redução de genoma, rearranjos e eliminação de profagos (Georgi et al 2016). Pode se considerar que ela evoluiu da *B. pseudomallei* por redução da informação genética e

é filogeneticamente considerada como um clone, ou seja, um patovar de *B. Pseudomallei* (Elschner et al 2016). Este fato torna difícil o diagnóstico diferencial, por métodos que detectem anticorpos. **Importante, recordar que ambas são zoonoses de interesse para OIE/OMS.**

- O teste molecular tem potencial na detecção da *B. mallei* em animais com sintomas de Mormo diferenciando da infecção por *B. Pseudomallei* que causa sinais clínicos similares. Entretanto as espécies de *Burkholderia* tem mais de 90% de similaridade em seu genoma (Lee et al 2005; Neubauer et al 2005; Nierman et al 2004; Schmoock et al 2009; Scholz et al 2006; Thibault et al 2004 U'ren et al 2005).

- A *B. mallei* e *B. pseudomallei* podem ser transmitidos para humanos, todo o material infectado ou contaminado (ou potencialmente infectado ou contaminado) deve ser manuseado com extremo cuidado em laboratório com estrutura e equipamentos de biossegurança. O controle de biossegurança deve ser apropriado e, estar em constante análise do risco biológico (OIE 2018).

3– Impacto Comercial Interno e Internacional

- A falha ou falta de uma política robusta no controle e erradicação de uma zoonose acarreta prejuízos incalculáveis ao comércio interno e externo de equídeos (Manual OIE 2018).

- Um exemplo foi a exportação de um equino brasileiro para a Alemanha que tinha testes negativos no Brasil e logo na quarentena no exterior, desenvolveu sinais clínicos e foi confirmado infectado por *B. mallei* (Elschner et al 2009).

- Por outro lado, os falsos positivos levam a restrições de comércio internacional e perdas financeiras (Khan et al 2011; Laroucau et al 2016) e também pessoais de cunho afetivo.

- É necessário ter um olhar para a questão do Bem-estar e o vínculo do setor com a sociedade. A eutanásia de animais “aparentemente saudáveis” tem um impacto negativo na forma em que a sociedade avalia o setor da equideocultura, frente a resolução de uma doença secular e que já foi erradicada em vários países.

4- A infecção por *Burkholderia mallei* e *B. pseudomallei* em humanos no Brasil

- Na busca de relato de casos de infecções pela bactéria *Burkholderia mallei*, causadora do MORMO (Glanders) em humanos no Brasil e no mundo observa-se um índice muito baixo, com raríssimas descrições nos últimos 20 anos (Georgi et al 2016; Diwakar & Kumar 2020; Ministério Saúde 2022). Os relatos na literatura internacional, quando encontrados demonstram surtos pontuais, de MORMO ou Melioidose em regiões endêmicas. **Destacando a importância do controle destas infecções extremamente graves nos humanos** (Manual OIE 2018).

- No Brasil quando se revisa os locais que tiveram focos de MORMO em Equídeos, a descrição e notificação de casos em humanos é rara e na maioria das vezes nula.

- A notificação no Brasil, depende de uma cadeia que foi recentemente reorganizada, através da IN nº6 de 2018, implantada plenamente em 2020, definindo que o serviço oficial do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), notifica as Secretarias Estaduais de Saúde que devem acompanhar os humanos que tiveram contato com os animais enfermos ou suspeitos.

- A forma de notificação de doenças pouco conhecidas podem ser um problema, e isso gerar a subnotificação ou negligência que acarreta falta de dados confiáveis.

- Entretanto até o momento não se tem notificação oficial de nenhum caso de infecção por *Burkholderia mallei*, confirmada em humanos no Brasil. Os dois casos que estão descritos na literatura não confirmaram qual a espécie de *Burkholderia* acometeu a pessoa infectada. Entretanto é importante manter a vigilância porque os casos de pessoas infectadas, descritos na literatura, relacionam profissionais que trabalham com equídeos, veterinários e laboratoristas que tiveram contato com a bactéria.

- Na busca por relatos das pessoas e profissionais, que tiveram convívio com equídeos com Mormo e seus fômites, não foi encontrada nenhuma apresentação de lesão, sintoma e diagnóstico da doença. Estes relatos foram feitos por médicos, do Instituto de Infectologia Emilio Ribas-SP, que acompanharam os policiais que atendiam os cavalos com Mormo, da Polícia Militar de São Paulo durante o surto da doença. O mesmo relato foi feito pelos profissionais da saúde que acompanharam em focos nos estados de Pernambuco, Ceará, Sergipe, Tocantins e Rio Grande do Sul (Ministério da Saúde 2022).

- É fundamental fortalecer o **conceito de saúde única**, na abordagem do Mormo, com importância no conhecimento do agente infeccioso, da doença, dos hospedeiros humanos e animais e do ambiente.

5 - Diagnóstico do Mormo

- **Maleina:** no Brasil a maleina foi rapidamente implementada após os primeiros casos da enfermidade, para o diagnóstico no início dos anos 2000. Devido à baixa sensibilidade em casos crônicos foi abandonado pelo serviço oficial. Outra situação que também limita o uso, está relacionada ao método de aplicação, que causa desconforto pela aplicação palpebral sendo incompatível com bem-estar animal.

- **Fixação de Complemento - FC (a quente e a frio):** também implementado rapidamente no Brasil, pois já existia suporte laboratorial privado para isso. Até a metade da 2ª década do Século XXI, foi o exame de rotina para diagnóstico para o trânsito no Brasil. No início foi utilizado o teste a quente e após várias pesquisas foi adotado a FC a frio. Com o aparecimento de testes para diagnóstico mais específicos foi substituída por outros testes.

- **Western Blot- WB:** teste de grande impacto no diagnóstico do mormo foi implementado no Brasil a partir de convenio com o laboratório de referência da OIE, da Alemanha, servindo como contraprova à FC. Pesquisadores brasileiros e alemães desenvolveram o teste no Brasil com base nas *B. Mallei* nacionais. Atualmente há dois testes comerciais para WB no Brasil e uns outros utilizados em pesquisas, entre eles o alemão. O immunoblot é classificado como positivo se o padrão de bandas para LPS de *B. mallei* na região de 20-60 kDa for claramente visível, suspeito se for detectada uma reação de cor fraca e negativo se nenhuma reação for observada.

- **ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) – Teste imunoenzimático:** baseados em placa e membrana têm sido usados para o soro diagnóstico de Mormo, mas nenhum desses procedimentos foi capaz de diferenciar entre *B. mallei* e *B. pseudomallei* (Manual OIE 2018). Para validação, foram testados 171 soros de cavalos e mulas do Paquistão e do Brasil e 305 soros de cavalos da Alemanha negativos e todos os animais positivos e negativos para o

mormo foram diagnosticados corretamente, porém o teste não foi totalmente validado até o momento (OIE 2018). Este teste não é capaz de diferenciar o Mormo da infecção por Melioidose e ainda não foi avaliado para uso em jumentos devido à falta de um número significativo de soros de controle positivo.

- **PCR e Sequenciamento genético:** ambos os testes são ferramentas importantes para uso na pesquisa científica, porém a aplicação comercial e com grande fluxo de amostras depende de inúmeros fatores o que ainda inviabilizam o uso em larga escala.

- **Diagnóstico Clínico e Necrópsia:** Tanto o diagnóstico clínico, nos animais vivos, como as necrópsias possuem o seu valor para diagnóstico quando associados aos exames laboratoriais. Os animais enfermos assintomáticos, que são frequentes, podem escapar ao olhar de um hipiatra, assim como uma necrópsia realizada por um experiente patologista animal pode não ser conclusiva. Todavia ambas as avaliações são importantes para a epidemiologia da enfermidade e, quando associadas aos diagnósticos laboratoriais, contribuem para o controle e futura erradicação da enfermidade. Sendo fundamental para melhor compreensão da doença no Brasil quando associado a pesquisa.

6- Evolução o Programa Nacional de Sanidade de Equideos (PNSE) Mormo

- O PNSE relacionado ao Mormo tem avanços históricos, nos últimos anos, na qualidade dos testes para o controle, principalmente na evolução do ELISA como teste de triagem e do Western Blot como o teste complementar.

- Utilização do tempo de validade do teste para trânsito fixada em 60 dias.

- Também a utilização de mais de um LFDA (antigos LANAGRO) para executar os testes complementares deram agilidade ao processo e aumentaram a possibilidade de repetibilidade no diagnóstico.

- Para a Melioidose, nenhuma técnica sorológica foi ainda validada para uso em medicina veterinária (Manual OIE 2018).

A partir dos Consensos da IN nº 6 de 16 de janeiro de 2018.

7- Pontos a avançar PNSE Mormo

7.1-REVISÃO da Definição de Caso Positivo

Art. 13. Será considerado caso confirmado de mormo o equídeo que apresentar pelo menos uma das seguintes condições:

I - apresentar resultado positivo nos testes de triagem, no complementar de diagnóstico e no reteste;

II - 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

III - detecção da bactéria *Burkholderia mallei* por meio de método microbiológico ou molecular.

Parágrafo único. A ausência de detecção de *Burkholderia mallei* não anula o disposto nos incisos I e II.

7.2- Inclusão do Reteste para confirmação de caso positivo:

Justifica-se através de dados apresentados na literatura científica; Na infecção experimental realizada pela equipe do Dr Wernery e apresentada por Georgi e colaboradores em 2016, foram infectados burros e cabras por via intranasal com *B. mallei* cepa Dubai7 e monitorados os sintomas clínicos de doença. Este estudo fornece informações sobre a microevolução do patógeno zoonótico com um nicho ecológico estreito dentro de seu hospedeiro natural, mostrando uma enorme flexibilidade estrutural do genoma, desafiando o significado de estudos in vitro.

Os artigos de Lousada et al em 2010; Georgi et al 2016; Elschner et al 2016 ; e Wernery et al 2019, demonstram que *B. Pesudomallei* é o ancestral da *B mallei* com semelhanças genéticas e antigênicas, estes achados foram confirmados também no desafio com Painel de soros positivos.

- Os artigos de Neubauer et al 2005; Manual OIE 2018; e Elschner et al 2019 apontam que o diagnóstico definitivo da espécie de *Burkholderia* que esta infectando o paciente, realizada através de uma técnica sorológica, ou seja que faz detecção de anticorpos, como FC, ELISA e WB, só é possível a partir de uma comparação com um Painel de Soros Positivos. Através do Painel de Soros positivos de *Burkholderia* de animais que tiveram diagnóstico confirmado por sequenciamento genético, é possível fazer a comparação com a espécie e cepa identificação.

- No trabalho da Dra Laroucau e colaboradores em 2020, é apresentada e discutida a limitação das técnicas sorológicas que utilizam LPS como antígeno. E a possibilidade de reação cruzada entre animais expostos as *Burkholderias*, referindo-se a outras espécies desse genero.

- No Brasil mesmo com o avanço de estudos realizados na ultima década ainda é necessário um maior número de isolamentos de *Burkholderias*, com definição das espécies, e submeter estes resultados a um Painel de Soros Positivos que devem ser avaliados inter laboratórios da rede nacional, para validação.

- É fundamental continuar o trabalho realizado nas ultimas décadas de intercambios internacionais, para validação dos métodos, conforme protocolos propostos pela OIE, como os que descrevem Elschner et al 2016, Manual da OIE, e CDC/US 2020.

7.2.a- Metodologia para o Reteste

- O Reteste será realizado somente em animais que não tenham sinais clinicos compatíveis com Mormo:

- O reteste será realizado a partir da mesma amostra colhida que foi alicotada e avaliada inicialmente por ELISA e depois WB.

- Amostra sendo positiva será retestada em laboratorio oficial no Brasil, utilizando Kits utilizado por Laboratorio oficial da Alemanha, ou outro laboratório credenciado pela OIE.

- Caso o resultado seja diferente de positivo. Serão realizadas novas colheitas para testes a cada 30 dias até que tenha dois resultados positivos ou negativos. O que definirá o status sanitário do animal.

- O animal deverá ser isolado em área que não tenha contato com outros equídeos, ficará sob a guarda do proprietário (fiel depositário) e sob a tutela do estado (Definir se será da UF ou União-MAPA).

Art. 14. Diante de foco confirmado de mormo, o SVO deverá:

- I - manter a interdição da(s) unidade(s) epidemiológica(s);
- II - determinar e acompanhar a eliminação do foco, a eutanásia e, a realização de necropsia com colheita de amostras, e posterior destruição da carcaça

8 -Interdição e isolamento do Foco:

- Definir e avançar este tópico em discussão com as SDAs (Estados) e o MAPA.

9- Condição Sanitária:

- É necessário avançar na definição de foco e área contaminada, nesse sentido vários países tem aceito conceitos de compartimentalização, corredores sanitários e áreas livres.

- Os dados que existem o Brasil ainda não permite uma avaliação “correta” da prevalência, porque as colheitas para exame são de animais em trânsito e com isto a população avaliada é limitada a um grupo e com repetição de amostras dos mesmos animais. Ainda não é conhecido o exato tamanho da amostra a ser avaliada no Brasil, porque o quantitativo de equídeos ainda é incerto.

- A prevalência de infecção por *Burkholderia mallei*, segundo os trabalhos de Fonseca Rodriguez et al 2019 oscila entre 0,5 e 0,12 % (MAPA 2019; 2021 e 2022). Estes valores são similares aos descritos em outros países endêmicos (Getachew et al 2016);

- **O setor da Equideocultura tem que assumir responsabilidade sobre os avanços e riscos que podem existir a partir da alteração de medidas restritivas**, e para isto é necessário um “pacto” entre o setor privado, profissionais e o serviço oficial, para execução e acompanhamento da política pública. A Câmara Setorial de Equideocultura tem papel fundamental nesta relação.

9.a -Compartimentalização; Quarentenários; Corredores Sanitários e Áreas Livres: Propriedade, Município, Estado e País

- Avançar estas definições a partir das referências da IN n° 6 de 2018, a partir da construção e estabelecimento de outros regramentos pelo MAPA.

9.b- Amostragem de animais testados:

- É necessário um estudo epidemiológico com dados definidos: do plantel nacional e sua localização, categorias, atividades, e a partir da definição do tamanho da amostra a ser coletada por estado, região e no Brasil.
- É necessário estabelecer amostragem em regiões que tenham animais positivos e um estudo de metagenômica de ambiente para identificar possíveis fontes de infecção de *Burkholderia* nas condições brasileiras.

10- Linhas de Pesquisa e Captação de Recursos

O Mormo no Brasil apesar de ser uma doença secular, ainda mantém muitas dúvidas, é necessário fazer:

- Sequenciamento genético da *Burkholderia mallei*
- Estudo filogenético das cepas de *Burkholderia mallei*
- Vínculo epidemiológico entre os casos e focos da doença
- Definição do curso da doença, a partir de infecção experimental
- Definição da capacidade infectante do paciente, equídeo, com Mormo.
- Diagnósticos Diferenciais de Mormo no Brasil e por região
- Possíveis coinfeções nos casos de Mormo em equídeos no Brasil
- Possíveis métodos de tratamento da doença
- Estudo do ambiente para buscar e identificar as espécies/cepas presentes no Brasil
- Relação dos casos/focos em equídeos com doenças em humanos
- Estudo dos possíveis casos em humanos e definição da *Burkholderia mallei* e *pseudomallei*. Realizar estudo de genotipagem.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No momento é fundamental **trabalhar o controle da doença**, porque ainda é necessário maior conhecimento das particularidades do Mormo no Brasil. Um controle adequado e responsável levará a erradicação.

O **setor da Equideocultura** tem que atuar de **forma responsável**, através de suas associação de raças, modalidades e institutos para a execução do PNSE e **viabilizar financeiramente o avanço do conhecimento** através de pesquisas sobre a sanidade de equídeos.

O **Reteste deve ser instituído**, com normatização, como a proposta apresentada no item 7.2.a deste documento. **Periódicamente deve ser feita avaliação** da condição epidemiológica de cada região para manter este procedimento.

Realizar **exame clínico e necropsia** em todos os casos de eutanásia para busca do **diagnóstico definitivo**, por histopatologia e microbiologia, permitindo com isso o avanço através da pesquisa, no **conhecimento da doença** e suas particularidades no Brasil.

O MAPA e Estados devem estabelecer uma **forma de contrato terceirizado para profissionais habilitados, para realização das necropsias**. Esta é uma forma de garantir a realização que esta limitada pela falta de pessoal no serviço veterinário oficial. Deve ser estudada uma forma de apoio para a **viabilização financeira pelo setor privado**.

Estabelecer anualmente a partir de **critérios epidemiológicos avaliação da incidência e prevalência da doença**. Que deve ser estabelecida a partir da definição da amostragem da população de equídeos do país, região, raça, esporte, atividade, dentre outros.

Focar no **saneamento** dos focos, por região, e controle nos eventos de aglomeração, fortalecer a rede de atuação, **incluindo o setor privado** através das Câmaras Setoriais e Associações de raça e modalidade.

O MAPA e os SDAs (estados) devem divulgar, de forma ampla, periodicamente os casos e locais de focos confirmados de Mormo(exemplo, no e-SISBRAVET).

A **Compartimentalização** deve ser viabilizada através de **normatização específica** pelo MAPA e SVO dos estados da.

Deve ser estabelecido método de avaliação do diagnóstico e trabalhar com **certificação nacional e Internacional** das técnicas e dos laboratórios que fazem diagnóstico (exemplo ISO 1725).

Ter um **Painel de soros positivos e negativos do Brasil**, de várias regiões e com isolamento, definição e sequenciamento do agente. Este Painel servirá para **cooperação, validação e alinhamento de Laboratórios no Brasil e no mundo**, na busca de cooperação internacional.

A Câmara Setorial de Equideocultura- MAPA, **deve conduzir a negociação política** para que sejam lançados editais de **fomento à pesquisa e pesquisadores, direcionados para sanidade de equídeos**. E buscar recursos financeiros do setor privado e público de forma contínua para que seja possível realizar pesquisa e se mantenha atualização do conhecimento e avanços técnicos científicos.

Fundamental consolidar os conhecimentos sobre Mormo no Brasil, **manter um grupo de trabalho vinculado a CSE**, EMBRAPA, Universidades, Institutos de Pesquisa Estaduais, ABRAVEQ dentre outros.

O PNSE **deve ser uma política nacional de estado** e com vínculo internacional para validação de procedimentos e troca de experiências na identificação de espécies de *Bulkholderia* e nos métodos de diagnóstico.

Para avançar, **o PNSE** deve definir os conceitos técnicos, normatizações e políticas públicas aplicando **marcos regulatórios** que deverão ser revistos periodicamente, para traçar o planejamento a curto, médio e longo prazo.