



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO - UEMA

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

OCORRÊNCIA DE MORMO NO ESTADO DO MARANHÃO

NO PERÍODO DE 2007 À 2017

São Luís - MA

2018

ESTER CLÉVIA DOS SANTOS VIEIRA

**OCORRÊNCIA DE MORMO NO ESTADO DO MARANHÃO
NO PERÍODO DE 2007 À 2017**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em
Ciência Animal da Universidade Estadual do
Maranhão (UEMA) para obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Medicina Veterinária
Preventiva

Orientador: Prof. Dr. Francisco Borges Costa

Coorientadora: Profa. Dra. Nancyleni Pinto Chaves
Bezerra

São Luís - MA

2018

ESTER CLÉVIA DOS SANTOS VIEIRA

**OCORRÊNCIA DE MORMO NO ESTADO DO MARANHÃO
NO PERÍODO DE 2007 À 2017**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em
Ciência Animal da Universidade Estadual do
Maranhão (UEMA) para obtenção do título de mestre.

Área de Concentração: Medicina Veterinária
Preventiva

Aprovada em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Francisco Borges Costa (**Orientador**)
Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo (1º Membro)
Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

Prof. Dr. Danilo Cutrim Bezerra (2º Membro)
Universidade Estadual do Maranhão - UEMA

Vieira, Ester Clévia dos Santos.

Ocorrência de mormo no estado do Maranhão no período de 2007 à 2017.
/ Ester Clévia dos Santos Vieira. – São Luís, 2018.

62 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência
Animal, Universidade Estadual do Maranhão, 2018.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Borges Costa.

1. Mormo. 2. Equídeos. 3. Maranhão. I. Título.

Com amor dedico a minha filha Sarah Letícia e meu esposo Marcio Vieira

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por iluminar meus caminhos e permitir que eu tenha saúde e força para alcançar meus objetivos.

A minha mãe (*in memorian*) pelos ensinamentos e valores para uma vida inteira.

Ao meu querido esposo, pelo incentivo, apoio em todos os momentos.

Aos familiares pelo incentivo

A amiga Margarida Paula, que me apresentou e me fez apaixonar pelo mundo da Epidemiologia e Estatística.

Aos amigos(a) Nancy, Viviane, Maria Cristina e Danner meus agradecimentos, sem vocês não estaria vivendo este momento de crescimento profissional e acima de tudo pessoal. Vocês são responsáveis pela conquista do que antes era apenas um sonho distante e que aos poucos foi se transformando em objetivo e hoje se torna uma realidade.

À Universidade Estadual do Maranhão - UEMA e ao programa de Pós Graduação, por proporcionar este momento de extrema importância na minha vida profissional. À Coordenadora do Programa Profa. Dra Alana Lislea pelo apoio, incentivo e compreensão. Aos Professores do Programa que contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional se mostrando sempre atenciosos e em especial à Professoras Dr. Francisca Neide, grupo de estudos GEMVESP, Laboratório de Microbiologia, Análise e Água / UEMA pelos ensinamentos quando ainda era aluna do mestrado em condição especial. A Professora Alcina Carvalho minha primeira orientadora que também se tornou uma amiga. À Secretária do Mestrado Fran por sua dedicação e atenção a mim dispensada. Ao Professor Orientador, Dr. Francisco Borges Costa, em me receber como sua orientada, meu especial agradecimento. À Professora co-orientadora Dra. Nancyleni Pinto Chaves Bezerra que foi a grande idealizadora desta pesquisa e a quem agradeço do fundo do coração todas as orientações que me foram repassadas para a conclusão da mesma.

Ao Presidente da Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Maranhão - AGED/MA, na pessoa de Sebastião Cardoso Anchieta. À Diretora de Defesa e Inspeção Animal Dra. Viviane Correa. Ao Coordenador de Defesa Animal Aymoré Fernandes que não só me liberaram para o mestrado como

me forneceram todo apoio para a execução da pesquisa. Aos responsáveis pelo programa PNSE/AGED que muito contribuíram para a obtenção e esclarecimento dos dados.

Ao Auditor Fiscal Agropecuário e Coordenador do Programa Nacional de Sanidade Equídea no Maranhão – PNSE/MAPA na pessoa de José Cláudio, pela confiança e apoio para obtenção dos dados.

Ao Diretor do Laboratório Cernitas Prof. Dr. Daniel Chaves pelo auxílio e disponibilidade

Aos colegas do Mestrado MLK, em especial, Fabiana Borralho, Nayara Louzeiro, pelo carinho, amizade e atenção.

E a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

EPÍGRAFE

"Há uma força motriz mais poderosa que o vapor,
a eletricidade e a energia atômica: a VONTADE"
(Albert Einstein)

RESUMO

O mormo é uma doença milenar que acomete os equídeos e pode ser transmitida ao homem. Até o momento não existe vacina e o seu tratamento não é recomendado. Foi identificada a primeira vez por Aristóteles e Hipócrates, no passado o agente etiológico da doença a *Burkholderia mallei* foi amplamente utilizado como arma biológica. Erradicada de países como Estados Unidos da América (EUA), Inglaterra, Austrália, Canadá e endêmica na África, Ásia, Mongólia, Oriente Médio, América Central e do Sul. O Maranhão é um estado da região nordeste que possui atualmente um rebanho de 200.105 equinos, 101.728 muares, 34.977 asininos totalizando 336.810 equídeos. O mormo é uma doença reemergente com impacto em saúde animal e humana e por inexistir um estudo sistematizado em período de tempo mais abrangente no Estado foi proposto determinar a ocorrência de mormo no período de 2007 à 2017. Em todo o período de levantamento foram analisadas 62.555 amostras sendo que destas um total de 35 animais foram considerados positivos para a doença. Na análise foram constatados que o maior número de casos positivos foram identificados no norte maranhense. Com base nos dados analisados, referente ao período estudado, foi possível concluir que o mormo é endêmico no Estado do Maranhão e que medidas educativas como realização de palestras, distribuição de folders nos locais dos eventos agropecuários e nos diferentes municípios em que ocorreu maior quantidade de animais positivos com intuito de esclarecer o criador sobre a doença; intensificação da vigilância nos eventos e no trânsito dos equídeos devem ser mantidas como meio de impedir que o Mormo se propague às outras regiões do Estado.

Palavras chaves: Mormo, Equídeos, Maranhão

ABSTRACT

Glanders are an ancient disease that affects the equines and can be transmitted to humans. To date there is no vaccine and its treatment is not recommended. It was first identified by Aristotle and Hippocrates, in the past the etiological agent of the disease *Burkholderia mallei* was widely used as a biological weapon. Eradicated from countries like the United States of America, England, Australia, Canada and endemic in Africa, Asia, Mongolia, the Middle East, Central and South America. Maranhão is a state of the northeast region that currently has a herd of 200.105 horses, 101.728 mules, 34.977 asses, totaling 336.810 equidae. Mormo is a reemerging disease that has an impact on animal and human health and because there is no systematic study in a more extensive period of time in the State it was proposed to determine the occurrence of glanders in the period from 2007 to 2017. Throughout the survey period, 62.555 samples from which a total of 35 animals were considered positive for the disease. In the analysis, it was verified that the greatest number of positive cases were identified in northern Maranhão. Based on the data analyzed, it was possible to conclude that glanders are endemic in the State of Maranhão, and that educational measures such as lectures, folders distribution at agricultural events sites and in the different municipalities in which the quantity of positive animals in order to clarify the creator about the disease; intensification of vigilance in events and in the transit of equidae must be maintained as a means of preventing the Mormo from spreading to other regions of the State.

Keywords: Glanders, Equids, Maranhão

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
AGED	Agência Estadual de Defesa Agropecuária do Maranhão
ADAPEC-TO	Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Tocantins
FC	Fixação de Complemento
IHAT	Teste da Hemaglutinação Indireta
CIET	Imunoelectroforese
IFAT	Teste Indireto do Anticorpo Fluorescente
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
PNSE	Programa Nacional de Sanidade de Equídeos
PNEFA	Programa Nacional de Erradicação da Febre Aftosa
IN	Instrução Normativa
EUA	Estados Unidos da América
LPS	Lipopolissacarídeos
OIE	World Organisation for Animal Health
DNC's	Doenças de Notificação Compulsórias
FORM-IN's	Formulário de Investigação
FORM-COM's	Formulário de Comunicação
ADAGRI	Agência de Defesa Agropecuária do Estado do Ceará
UFBA	Universidade Federal da Bahia
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
PCR	Reação em Cadeia Polimerase
WB	Western blot
SDA	Secretaria de Defesa Agropecuária
SFA	Superintendência Federal de Agricultura
PPD	Derivado Protéico Purificado
IB	ImunoBlotting
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

UC	Unidade Central
UR's	Unidades Regionais
ULSAV	Unidades Locais de Sanidade Animal e Vegetal
EAC	Escritório de Atendimento a Comunidade
CDC	Centro para Controle e Prevenção de Doença

LISTA DE FIGURAS

Figure 1. Processed samples x positive animal per year	42
Figure 2. processed samples x positive animal per month	43
Figure 3. Spatial distribution of glanders in Maranhão, 2007 à 2017*	45
Figure 4. processed samples x positive animal per mesoregion.....	46
Figure 5. processed samples x positive animal per biome	47
Figure 6. Cases in the municipality	48

LISTA DE TABELAS

Table 1. Quantitative of glanders CFT performed in the State of Maranhão from January 2007 to December 2017	41
---	----

LISTA DE QUADROS

Chart 1 .Characteristics of the reactive animals from January to December 2017	44
--	----

SUMÁRIO

<i>CAPÍTULO 1: CONSIDERAÇÕES INICIAIS</i>	18
1. INTRODUÇÃO	19
1.2 OBJETIVOS	21
1.2.1 Geral	21
1.2.2 Específicos	21
<i>CAPÍTULO 2: REVISÃO DE LITERATURA</i>	22
2. REVISÃO DE LITERATURA	23
2.1 Histórico	23
2.2 Etiologia	24
2.3 Epidemiologia	24
2.4. Patogenia e transmissão	25
2.5 Sinais clínicos	26
2.6 Perdas econômicas relacionadas ao Mormo	27
2.8 Importância em Defesa Sanitária Animal	27
2.9 Importância para a Saúde Pública	29
2.10 Diagnóstico	30
2.10.1 Fixação de Complemento	31
2.10.2 Teste da maleína	32
2.10.3 Teste de Western Blotting-WB	33
2.11 Prevenção e controle	34
.....	36
<i>CAPÍTULO 3: Historical highlights on Glanders from 2007 to 2017 in the State of the Maranhão, Brazil</i>	36
Summary	37
Introduction	39
Materials and methods	40
Results	41
Discussion	48
Conclusions	50

<i>CAPÍTULO 4: CONSIDERAÇÕES FINAIS</i>	52
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	53
REFERÊNCIAS	54

CAPÍTULO 1: CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

No Brasil a Equideocultura possui grande importância econômica e social, visto que os equídeos são utilizados em diferentes atividades, como tração, transporte, segurança pública e tratamento de doenças humanas por meio da Equoterapia (ALMEIDA, 2006). Também constitui o complexo do agronegócio do cavalo que se faz responsável pela geração de 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos, sendo que a maior concentração de equídeos encontra-se na região Sudeste, seguida das regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sul e Norte. Destaque para o Nordeste, que além de equinos (1.022.915 animais), concentra maior registro de asininos (525.092 animais) e muares (286.812 animais) (IBGE, 2006; MAPA, 2016).

O Estado do Maranhão possui atualmente um rebanho de 200.105 equinos, 101.728 muares, 34.977 asininos totalizando 336.810 equídeos cadastrados no Estado (AGED-MA, 2017).

Apesar da importância da Equideocultura no Brasil, (MAPA, 2015), algumas doenças causam prejuízos consideráveis à exploração, entre elas o mormo, que está incluída entre as doenças passíveis de medidas previstas no Regulamento de Defesa Sanitária Animal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (ALMEIDA et al., 2006; BRASIL, 2004).

Mormo é uma zoonose infectocontagiosa de grande importância econômica e social, caracterizada por lesões respiratórias, linfáticas e cutâneas em equídeos, causada pela bactéria *Burkholderia mallei*, sendo conhecida como catarro de burro, catarro de mormo, lamparão, garrotilho atípico e cancro nasal (ZANDT; GREER; GELHAUS, 2013). A primeira descrição da doença no Brasil foi feita no ano de 1811 com a introdução da doença a partir da importação de animais infectados da Europa (BALTAZAR et. al., 2012; PADDOCK, 2013). Na ocasião os animais apresentavam como sinais clínicos, a presença de secreção (catarro) e úlceras nasais (PADDOCK, 2013).

A maioria dos integrantes da família Burkholderiaceae reside no solo, pertencem a ordem Burkholderiales dentro da classe betaproteobacteria, e a *B. mallei* é um agente etiológico que necessita de um organismo vivo para sobreviver. Os equinos são considerados os reservatórios naturais deste agente, assim como os muares e asininos podem ser acometidos (WHITLOCK et al., 2007). Entretanto, o homem é considerado um hospedeiro acidental e relatos de hospedeiro susceptíveis a infecção já foram descritos os felinos, camelos e caprinos (SCHELL et al., 2007).

A doença pode se manifestar de forma aguda ou crônica e tem geralmente um evolução fatal, sendo os equinos apresentando mais a forma crônica e os muares e asininos a forma aguda da doença. (GALYOV et al., 2010).

No ano 2000, os aspectos microbiológicos, epidemiológicos, clínicos, patológicos e diagnóstico do mormo em equídeos nos Estados de Pernambuco e Alagoas confirmaram a reemergência da doença no país (MOTA et al. 2000) e mais recentemente no Tocantins (ADAPEC, 2017).

O mormo tem sido erradicado em muitas partes do mundo, mas *B. mallei* ainda se torna uma ameaça real como arma biológica, e ainda nos dias atuais não há nenhuma vacina animal ou humana contra este patógeno e o tratamento dos equídeos não é recomendado (ZANDT; GREER; GELHAUS, 2013).

De acordo com o Programa Nacional de Sanidade dos Equinos (PNSE) do MAPA, o mormo é uma das enfermidades importante sob o ponto de vista tanto sanitário quanto econômico para a equideocultura, e diante deste aspecto, a legislação vigente relata que as propriedades que tiverem focos comprovados serão interditadas com sacrifício imediato dos animais soropositivos, além da impossibilidade de compra e venda de animais durante o período de saneamento de foco da propriedade interditada, assim como interferência nos eventos esportivos devido aos embargos ao trânsito de equídeos (BRASIL, 2004).

Pelos aspectos que ressaltam a importância do mormo como doença reemergente com impacto em saúde animal e humana e por inexistir um estudo sistematizado em período de tempo mais abrangente no Estado do Maranhão, foi proposto determinar a ocorrência de mormo no período de 2007 à 2017.

Perscrutando tais questões, essa dissertação se estrutura em quatro capítulos, onde o primeiro capítulo refere-se às considerações iniciais. No segundo capítulo encontra-se a revisão de literatura desse trabalho que trata da importância da Equideocultura para o mundo, Brasil e para o Estado do Maranhão bem como toda a caracterização da doença. No terceiro capítulo é apresentado um artigo, resultado desta pesquisa, intitulado “A historical highlight on Glander by the time of 2007 to 2017 in the State of the Maranhão, Brazil”. Já no quarto capítulo são apresentadas as considerações finais deste trabalho.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Geral

Determinar a ocorrência de mormo em equídeos no Estado do Maranhão no período de dez anos.

1.2.2 Específicos

- Caracterizar a visualização da distribuição espacial do número de casos por município;
- Identificar áreas que representem risco para disseminação da doença.

CAPÍTULO 2: REVISÃO DE LITERATURA

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico

Considerado uma doença milenar, o mormo acomete os equídeos e foi descrita pela primeira vez por Aristóteles e Hipócrates sob a designação de doença maligna (WILKINSON, 1981; BLANCOU, 1994). Durante a primeira guerra, *B. mallei*, o agente etiológico do mormo foi muito utilizada como arma biológica contra o exército inimigo (ANDERSON E BOKOR, 2012; KETTLE; WERNERY, 2016).

A doença foi erradicada nos Estados Unidos da América (EUA), na Inglaterra, Austrália e no Canadá (DERBYSHIRE, 2002) no entanto é endêmica na África, Ásia, Mongólia, Oriente Médio, América Central e do Sul (AAZV, 2013; OIE, 2013).

Doença reemergente e altamente contagiosa, de caráter agudo ou crônico que acomete principalmente os equídeos, porém felinos, camelos e caprinos também são susceptíveis. É uma doença de caráter zoonótica, mas quando acomete torna-se fatal, e sendo ocupacional entre os tratadores, médicos veterinários e trabalhadores de laboratórios (AAZV, 2013).

Em 1811 o mormo foi descrito pela primeira vez no Brasil, provavelmente através de animais contaminados vindos da Europa com sintomas clínicos de catarro e cancro nasal (SANTOS et al., 2007). 149 anos após a doença que aparentemente havia sido erradicada no Brasil novos focos foram identificados no município de Campos no Estado do Rio de Janeiro em 1960, e oito anos depois, no município de São Lourenço no Estado do Pernambuco (SANTOS et al., 2007). Em 1999, Mota et al. (2000) relataram focos de mormo em Pernambuco e Alagoas e caracterizaram a “reemergência” da doença no Brasil. Posteriormente, vários foram os focos notificados abrangendo a região Nordeste, Estados do Amazonas, Pará, Roraima, Distrito Federal, São Paulo, Tocantins, Paraná e Santa Catarina, o que vem demonstrando que o mormo está presente em praticamente todo o território nacional.

2.2 Etiologia

B. mallei é uma bactéria gram-negativa, aeróbia, imóvel, encapsulado, não esporulada, intracelular facultativo com a superfície celular constituída por carboidratos que a protege contra adversidades ambientais (HIRSH; BIBERSTEIN, 2004).

A parede celular típica de uma bactéria Gram-negativa, *B. mallei*, apresenta uma cápsula de polissacarídeos e lipopolissacarídeos (LPS) na membrana celular que são identificados como fatores de virulência, pois auxiliam o agente a evadir-se dos mecanismos de defesa do sistema imune do hospedeiro (NEUBAUER et al., 2005; CARVALHO FILHO, 2012).

Segundo a OIE, *B. mallei* é inativada em 24 horas pelo calor e raios solares diretos e pode ter sua sobrevivência prolongada em ambientes contaminados ou úmidos, mas sendo destruído pelo calor a 55°C e irradiação ultravioleta, assim como, o hipoclorito de sódio (500 ppm), cloreto de benzalcônio (1/2000), permanganato de potássio e iodo glutaraldeído a 2% são desinfetantes que facilmente inativam o agente. Porém, são resistente aos desinfetantes à base de compostos fenólicos (OIE, 2013).

2.3 Epidemiologia

A doença é comum na Ásia, África, América do Sul, Europa Oriental e Oriente Médio. (ARUN et al, 1999) e erradicada nos Estados Unidos, Inglaterra, Austrália e Canadá (DERBYSHIRE, 2002). Anteriormente, foi uma doença importante, tornando-se esporádica, mas devido a focos recentes recuperou o status de doença reemergente. (KHAN et al, 2013)

Animais sintomáticos e assintomáticos se tornam fontes de infecção, sendo as vias digestiva, respiratórias, genital e cutânea como as principais. A disseminação da bactéria no ambiente ocorre através de fômites, alimentos e água contaminados através das secreções orais e nasais que são oriundas de lesões pulmonares crônicas que se rompem nos brônquios e infectam as vias aéreas superiores, desta forma se tornando a mais importante via de eliminação da *B. mallei* (RADOSTITS et al., 2002).

Em 2000, estudos feitos por Mota e colaboradores identificaram que a epidemiologia do mormo, pode estar relacionada ao manejo, estábulos coletivos como importantes focos de

propagação da doença. A idade também foi outro fator predisponente ao aparecimento da forma clínica da infecção de forma natural, encontrando-se maior prevalência em animais senis e debilitados pelas condições de manejo afetando o bem estar animal.

De acordo com dados do MAPA, o Brasil registrou até o mês de agosto de 2015, mais de 266 casos de mormo em 16 estados da federação. No ano de 2014, foram registrados 202 casos.

Estudos vem sendo realizados no Brasil com o intuito de identificar casos, surtos e prevalência da doença como reportados nos Estados de Pernambuco no período de 2006 a 2011; Maranhão, na Baixada Maranhense e um estudo realizado no período de 2011 a 2014 como levantamento de doenças de notificação compulsória; Ceará, reportando novas ocorrências do mormo e Bahia. (MACHADO et al., 2013; CHAVES et al., 2014; CHAVES et al., 2016; PEIXOTO et al., 2015).

2.4. Patogenia e transmissão

Através de alimentos contaminados e água, a bactéria alcança o trato digestório do hospedeiro e penetra nas mucosas da faringe e intestino, alcançando a corrente linfática que atinge os gânglios linfáticos onde se multiplica apresentando duas formas clínica: a aguda quando atinge a corrente sanguínea fazendo septicemia, e posteriormente, a bacteremia caracterizando a forma crônica (BEER, 1999; HIRSH et al., 2004; QUINN et al., 2005). O agente etiológico é encontrado nos pulmões, pele e mucosa nasal. Em animais infectados, formam-se lesões primárias na faringe e se expandindo para o sistema linfático onde surgem lesões nodulares. Em estado mais avançado da doença as lesões são formadas nos pulmões, baço, fígado e pele, porém lesões primárias podem ocorrer no septo nasal ou secundária a um foco pulmonar (BEER, 1999; HIRSH et al., 2004; QUINN et al., 2005).

Hospedeiros primários da doença, os equinos, tornam-se responsáveis pela transmissão da infecção para animais sadios e humanos. A incubação pode variar de dias a semanas e alguns animais podem vir a óbito antes da sintomatologia clínica. A *B. mallei* apresenta preferência pelas vias do trato respiratório superior e a descarga nasal é um importante meio de contaminação. A ulceração dos nódulos se torna fonte de infecção (MOTA et al., 2000; GALYOV et al., 2010).

O tipo de manejo realizado nas propriedades juntamente com o confinamento dos animais para alimentação pode estar intimamente relacionado com a disseminação da bactéria no ambiente bem como alimentação, transito de animais, trabalho em excesso. (MOTA et al. 2010).

2.5 Sinais clínicos

A sintomatologia do mormo dependem da via de infecção, caracterizadas por pneumonia, septicemia e infecções cutâneas supurativas crônicas e ocorre de duas formas: aguda e crônica (OIE, 2013).

A forma aguda caracteriza-se por febre alta, secreção nasal, tosse, úlceras na mucosa nasal e nódulos na pele dos membros inferiores ou do abdômen, e a morte ocorre devido a septicemia e anoxia, manifestando-se comumente em muares e asininos (BEER, 1999; HIRSH et al., 2004; MORAES, 2011).

A forma crônica, caracteriza-se sob três manifestações principais: pulmonar, nasal e cutânea ou apresentando-se de forma simultânea, pois essas manifestações não são bem definidas (CARTER; WISE, 2004).

A formação de nódulos no epitélio das vias aéreas que evoluem para úlceras caracterizam as formas pulmonar e nasal, neste caso, pneumonia, tosse, descarga nasal purulenta, epistaxe, dispneia, lesões no septo nasal e emaciação dos gânglios linfáticos são sintomas comumente identificados e diarreia e poliúria também podem ocorrer, levando a debilidade do animal. A forma cutânea é identificada pela formação de nódulos endurecidos nos vasos linfáticos, região abdominal, na face medial dos membros posteriores e costado. Com a evolução da doença, os nódulos tornam-se flácidos e ao fistularem, podem evoluir para úlceras que quase sempre resultam em arranjos no formato de colar de pérolas ou rosário (BLAHA, 1989; MOTA, 2006; SANTOS et al., 2007; MORAES, 2011).

Em infecções intratraqueal (experimentais), são observados sintomas como febre de 40°C em um a dois dias, complicações respiratórias são notadas em três ou quatro dias e descarga purulenta nasal em cinco dias após inoculação do patógeno (USAHA, 2008).

2.6 Perdas econômicas relacionadas ao Mormo

Na América Latina, o Brasil é detentor do maior rebanho de equinos e o terceiro mundial. Acrescido aos asininos e muares totalizam 8 milhões de cabeças, que movimentam R\$ 7,3 bilhões, com a criação de cavalos. A exploração envolve insumos, criação e destino final compondo a base do Complexo do Agronegócio do Cavalo, que gera 3,2 milhões de empregos diretos e indiretos. (MAPA, 2016).

Devido ao aumento da demanda e à intensificação da criação de equinos no país, algumas complicações em relação à proliferação de doenças contagiosas são observadas, haja avista que esses animais são retirados de seu habitat natural, e passam a viver confinados gerando complicações (FONSECA et al., 2010)

O mormo é uma doença de notificação obrigatória, pela Organização Mundial de Saúde Animal, os órgãos sanitários oficiais dos países vizinhos adotam medidas de controle desta doença em seus territórios e fecham as fronteiras com o Brasil, o que acarreta transtornos e prejuízos para a equideocultura nacional. Medidas para conter o avanço do mormo no Brasil são onerosas e também sentidas no mercado interno. Obrigatoriedade do diagnóstico negativo para mormo em caso de trânsito animal, notificação de positividade aos órgãos públicos de vigilância, eutanásia dos animais positivos e interdição da propriedade, são os principais fatores que inviabilizam a equideocultura. (FONSECA et al., 2010).

Nos países em que os equídeos são utilizados como animais de tração, os prejuízos econômicos são inevitáveis, pois incluem a perda pela morte do animal e o trato de animais debilitados considerados impróprios ao trabalho (MOTA et al., 2000).

2.8 Importância em Defesa Sanitária Animal

De acordo com a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) o Mormo é uma das doenças animais que são de declaração obrigatória impactando economicamente sobre o comércio internacional de animais e seus subprodutos (OIE, 2016).

A lista de doenças passíveis de aplicação de medidas de Defesa Sanitária Animal através da Instrução Normativa nº 50, de 24 de setembro de 2013, inclui o mormo. Requerendo notificação

obrigatória imediata de qualquer caso suspeito ao serviço veterinário oficial, formado pelas unidades do MAPA e pelos Órgãos Estaduais de Defesa Sanitária Animal, com o intuito de preservar o bem estar animal no Brasil (MAPA, 2013).

Os desafios para o desenvolvimento do setor equídeo no Brasil são relevantes pois entre tantos está a criação de uma estrutura compatível com as exigências legais do MAPA, que regulamente fiscaliza o cumprimento das normas presentes no Programa Nacional de Sanidade dos Equídeos (PNSE), que infere sobre defesa sanitária animal. O MAPA investe na formulação de políticas públicas, como de linhas de crédito e incentivo a acordos internacionais, estudos e pesquisas, bem como apoio e difusão de eventos relacionados ao setor, procurando garantir o crescimento da equideocultura nacional, o (MAPA, 2016).

O PNSE instituído pelo MAPA em 2008, visa ao fortalecimento do complexo agropecuário dos equídeos, por meio de ações de vigilância e defesa sanitária animal. Para prevenir, diagnosticar, controlar e erradicar doenças que possam causar danos ao complexo agropecuário dos equídeos, o PNSE promoverá as seguintes atividades: I - educação sanitária; II - estudos epidemiológicos; III - controle do trânsito; IV - cadastramento, fiscalização e certificação sanitária; e V - intervenção imediata quando da suspeita ou ocorrência de doença de notificação obrigatória.

A IN nº 24/2004 - SDA/MAPA descreve as medidas para controle do Mormo no Brasil e baseiam-se no controle do trânsito (intra e interestadual) e da participação de equídeos em eventos hípicas. Animais provenientes de Unidades da Federação (UF) onde se confirmou a presença do agente causador do mormo devem portar exame negativo para a doença (fixação de complemento), original e dentro do prazo de validade (60 dias) para todas as finalidades. Aqueles destinados à exposição, leilão e esporte em Estados onde se confirmou a ocorrência da enfermidade devem portar exame negativo, mesmo sendo proveniente de localidades consideradas livres de mormo. O retorno de animal, oriundo de área onde focos foram confirmados, para Estados livres, está condicionado à apresentação de exame negativo dentro do prazo de validade (BRASIL, 2004).

No Estado do Maranhão o Programa Nacional de Sanidade Equídea (PNSE), está incluído entre programas sanitários da Diretoria de Defesa e Sanidade Animal da Agência Estadual de Defesa Agropecuária - AGED que efetua o controle do mormo e da Anemia Infeciosa Equina (AIE). A Agência atua no saneamento dos focos, visando o controle a sua erradicação intensificando as ações de controle do trânsito, de fiscalização em eventos agropecuários, educação

sanitária, capacitação de seus técnicos, cadastramento e atualização do cadastro das propriedades com equídeos.

2.9 Importância para a Saúde Pública

A natureza contagiosa e fatal do mormo em seres humanos é considerada como um potencial agente de bioterrorismo, pois a bactéria *B. mallei* é listada como categoria B pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), de Atlanta, Georgia, EUA (ROTZ et al., 2002; KETTLE; WERNERY, 2016).

O Mormo é uma zoonose que está diretamente relacionada com a atividade ocupacional, em que técnicos de laboratório, pesquisadores, médicos veterinários, cavaleiros, tratadores de cavalos e funcionários de abatedouros de equídeos são os grupos potencialmente expostos ao risco de infecção. A doença entre os humanos ocorre a partir do contato com a bactéria em atividades laboratoriais ou com animais infectados e apresenta sintomatologia pouco específica com morbidade baixa mesmo nas regiões onde a doença é endêmica nos equídeos (KÖHLER, 2006).

A infecção quase sempre ocorre por meio de aerossóis contaminados ou através de lesões de pele, e o risco de contrair a doença é proporcional à concentração do agente presente na fonte de infecção, porém são reportados infecções manifestadas somente após muitos anos (BALDER et al., 2010; SILVA, 2010). A transmissão entre os seres humanos através de objetos, água ou alimentos contaminados é rara (ARUN et al., 1999; WOODS, 2002).

Os serviços de saúde pública, especialmente nas áreas afetadas, são necessários que estejam atentos à possibilidade de estarem subestimando o diagnóstico do mormo ao confundir-lo com outras pneumonias ou mesmo tuberculose devido aos sinais clínicos. Há descrições, mais raras em humanos de manifestação cutânea, com pústulas e abscessos em diversas partes do corpo e se o processo não for tratado rapidamente com uso de antimicrobiano correto pode evoluir para a morte (PADDOCK, 2015).

Em saúde pública o bioterrorismo tem claras implicações que são responsáveis pelo impacto resultante da libertação intencional de agentes biológicos com capacidade de replicação e facilmente propagáveis ou transmissíveis. (Pires e Silva, 2009).

2.10 Diagnóstico

O mormo é uma doença que pode ultrapassar fronteiras internacionais, sinais clínicos avaliados de forma isolada não proporcionam um diagnóstico definitivo. É de extrema importância que em casos identificados devam ser diferenciados de outras doenças que apresentam sinais clínicos semelhante, principalmente o garrotilho (*Streptococcus equi*); linfangite ulcerativa (*Corynebacterium pseudotuberculosis*); pseudotuberculose (*Yersinia pseudotuberculosis*); esporotricose (*Sporotrix schenckii*); linfangite epizoótica (*Histoplasma farciminosum*); tuberculose (*Mycobacterium bovis*); processos alérgicos e traumatismos. No caso de suspeita da infecção nos seres humanos, o mormo deve ser diferenciado de melioidose doença causada pela bactéria *Burkholderia pseudomallei* que possui similaridade à *B. mallei* (CARVALHO FILHO, 2012; OIE, 2013).

São indicativos para a suspeita de mormo, sintomas respiratórios e linfáticos em equídeos adultos provenientes de regiões endêmicas para a doença, associados à alta letalidade em animais tratados com antibióticos sem sucesso terapêutico. Nos casos de sintomatologia evidenciada no exame clínico, o material biológico preferencial para o diagnóstico é o conteúdo purulento de nódulos cutâneos fechados retirados através de punção aspirativa e *swabs* da mucosa nasal sendo enviados ao laboratório sob refrigeração adequada, para realização de identificação bacteriana baseada nas características de crescimento, coloração de Gram e provas bioquímicas (MOTA et al., 2000). O material infectante (secreção nasal ou conteúdo dos abscessos subcutâneos) inoculado na cavidade peritoneal de cobaias (prova de Strauss) pode evidenciar em até duas semanas, o aparecimento de orquite, septicemia ou abscessos no ponto de inoculação, e na necropsia, lesões abscedativas em diferentes órgãos são visualizadas e utilizadas como material para isolamento e identificação bacteriana (SILVA, 2003).

Em se tratando de necropsia de animais que vieram a óbito, as características do mormo permitem, quase sempre, uma conclusão correta. Em muitos casos, o diagnóstico correto só pode ser estabelecido mediante estudo histológico dos nódulos suspeitos (BEER, 1999).

Portanto o diagnóstico do mormo, consiste principalmente em testes sorológicos como a fixação de complemento considerado um teste de triagem que associados a aspectos clínico-epidemiológicos, anátomo-histopatológico, isolamento bacteriano, inoculação em animais de

laboratório, reação imunoalérgica (maleinização) propiciam um resultado confiável. (AL-ANI; ROBERSON, 2007).

Para um melhor e mais eficiente diagnóstico para a doença, métodos diretos para diagnóstico do mormo como cultura e métodos moleculares como reação em cadeia da polimerase – PCR e Western blot tem sido estudados com intuito de desenvolver uma técnica que melhor se adeque as características do agente etiológico (KHAN et al., 2012).

A Instrução Normativa 24 da Secretaria de Defesa Agropecuária (MAPA 2004) determina que seja realizado o teste de Fixação de Complemento para diagnóstico do mormo seguido de exame complementar. Recentemente, através do ofício circular 38/2016/DSA/SDA/GM/MAPA o teste de Western Blotting passou a ser considerado o exame confirmatório para casos inconclusivos. Para trânsito nacional e internacional dos equídeos o teste exigido é o teste de Fixação de Complemento (FC) negativo acompanhado de Guia de Transito Animal. (MAPA, 2016).

2.10.1 Fixação de Complemento

A Fixação de Complemento é um teste específico que apresenta alta sensibilidade, detectando anticorpos IgG1 da *B. mallei*, geralmente observados após uma semana da infecção instalada, entretanto os estudos revelam que o período de realização ideal do exame está entre quatro a doze semanas após a infecção, e os dados estatísticos revelam que os resultados obtidos através do FC estão na faixa de 99% de acerto nos casos positivos (BEER, 2010). O exame identifica o animal assintomáticos e sintomáticos na fase crônica.

A técnica é descrita na IN nº 12/2004 – SDA/MAPA, em que um anti-soro identificado como teste é titulado em diluição seriada (1:5 a 1:320) e uma quantidade fixa de antígeno é adicionada a cada poço. Caso o anticorpo esteja presente no anti-soro, formam-se complexos imunes. O complemento então é adicionado à solução e nesta etapa, antígeno, soro teste e complemento reagem juntos. Se os complexos estiverem presentes, o complemento é ativado, sendo fixado e consumido. Na etapa final da reação, as células indicadoras (eritrócitos) juntamente com uma quantidade subaglutinante de anticorpo (anticorpo antieritrocitário) são adicionados à mistura. Se houver qualquer complemento remanescente, estas células serão lisadas e indicarão

resultado negativo. Entretanto, caso o complemento tenha sido fixado pelos complexos imunes, os eritrócitos não serão lisados devido à quantidade insuficiente de complemento presente na solução e evidenciarão resultado positivo. O resultado é baseado no percentual de hemólise dos eritrócitos sensibilizados e leva-se em consideração o tamanho, cor do sobrenadante e espessura do botão, em respectiva ordem de importância. O título registrado é a diluição seguinte da última onde a fixação do complemento for observada. O teste de FC possui validade de 180 dias para animais provenientes de propriedades monitoradas e de 60 dias nos demais casos. (BRASIL, 2004).

Além das interpretações positivo e negativo pela técnica de FC, o resultado também pode ser considerado anticomplementar e inconclusivo sendo que em ambos os casos, se faz necessário uma nova coleta no período de até 30 dias. (BRASIL, 2004). O resultado inconclusivo caracteriza-se por apresentar uma reação fraca na diluição 1:5 o que representa uma insegurança na interpretação do resultado quanto à sua positividade havendo a necessidade de uma nova amostra num período de até 30 dias (CHAVES, 2009).

Reações falso-negativas também podem ser observadas embora o teste FC tenha alta sensibilidade podendo ser observadas no soro de animais jovens, gestantes e idosos assim como reações falso-positivas onde se atribui o uso de antígenos (CRAVITZ; MILLER, 2000). Padronização insuficiente do antígeno pode comprometer a qualidade da reação, interferindo na especificidade e sensibilidade da técnica, e pesquisadores vem questionando a eficácia e aplicabilidade do teste. ((JANA et al. 1982; VERMA et al. 1990; NEUBAUER et al., 2005; NAUREEN et al., 2007).

2.10.2 Teste da maleína

O teste de maleína passou a ser utilizado por volta de 1905 nos Estados Unidos e Canadá sendo utilizado para diagnóstico imunoalérgico do mormo. (VERMA et al., 1994). Um antígeno protéico do citoplasma denominado maleína é inoculado no animal sensibilizado pela bactéria *B. mallei* produzindo assim uma reação alérgica. Esse antígeno inoculado em volume de 0,1ml na pálpebra superior. Sendo a leitura de resultado feita entre 48 a 72 horas. O teste é realizado apenas por Médicos Veterinários do serviço oficial, identifica animal positivo a partir da 3ª semana após infectado. (OIE, 2008).

A prova mostrou-se efetiva em animais infectados, porém para o diagnóstico mais preciso é relevante que o animal apresente sensibilidade a maleína. Nos casos em que a sintomatologia clínica encontra-se avançada o resultado pode ser inconclusivo, havendo necessidade de realizações de testes complementares. (GREGORY e WAAG, 2009).

A positividade se dá através de uma conjuntivite acentuada acompanhada de descarga purulenta, inchaço da pálpebra e blefaroespasmos. O resultado negativo é caracterizado por um leve avermelhamento da conjuntiva e pálpebra inferior, seguida de um fraco lacrimejamento que desaparecem após 24h (OIE, 2008).

Dificuldade na aquisição e o valor do imunógeno que é um produto importado são fatores que se tornam problemáticos para utilização do derivado protéico, assim estudos também revelam que a maleína é um teste de pouca especificidade e que além disso afeta o bem estar animal. (CARVALHO, 2012).

2.10.3 Teste de Western Blotting-WB

Também chamado de Protein Immunoblot (IB), é uma importante técnica utilizada na biologia celular e molecular. O teste é capaz de identificar proteínas específicas extraídas de uma célula, permitindo que uma proteína alvo seja identificada. (TOWBIN et al. 1979; BURNETTE 1981; TOWBIN et al. 1984, HANDBOOK, 2011).

O teste de WB resume-se em cinco etapas: (1) extração e quantificação das proteínas; (2) fracionamento das proteínas da amostra em um gel de poliacrilamida; (3) transferências dessas proteínas para uma membrana; (4) incubação da membrana com um anticorpo para detectar a proteína específica a ser analisada; e (5) revelação dessa membrana para análise dos dados. (HANDBOOK, 2011, MAHMOOD, 2012).

O teste de WB é altamente específico sendo capaz de complementar o teste FC, evitando diagnósticos falso positivos. (ELSCHNER, et al. 2011). Desta forma o MAPA, através de memorando circular 38/2016/DSA/SDA/GM/MAPA adotou o teste como prova complementar confirmatória em substituição ao teste de maleína. (MAPA 2016).

2.11 Prevenção e controle

O tratamento dos animais acometidos pela doença não é permitido pois não há evidências que a antibioticoterapia mostre resultados satisfatórios. (ACHA; SZYFRES, 2005). Vacina animal ou humana que seja eficaz para a infecção por *B. mallei* ainda não está disponível, estudos vem sendo realizados com intuito de aumentar o conhecimento sobre a virulência e patogenicidade do agente etiológico que possam produzir uma vacina que seja segura contra a infecção e um dos complicadores para uma vacina efetiva é que a bactéria *B. mallei* é capaz de penetrar e permanecer viva no meio intracelular, tornando difícil a ação dos anticorpos dificultando a resposta imune. (BONDIE & GOLDBERG, 2008).

A produção de vacinas experimentais que são elaboradas com redução na patogenicidade foram testadas em camundongos, não oferecendo garantia na proteção contra as amostras selvagens da *B. mallei* (AMEMYA et al, 2002, TREVINO et al, 2006).

Interdição de propriedades que foram identificadas como focos, saneamento e eutanásia dos animais positivos aos testes oficiais por profissional do serviço de Defesa Sanitária Oficial são consideradas medidas de controle e profilaxia. (TYSON et al, 2009)

É necessário que haja um controle de trânsito bem como a participação de equídeos em aglomerações, eventos equestres no que se refere ao que preconiza a legislação vigente que determina apresentação de exame negativo para mormo, obedecendo o prazo de validade (MAPA, 2006).

Segundo Mota et al., (2000) relatam que para evitar a propagação da *B. mallei* nas propriedades, deve-se realizar medidas profiláticas eficientes como: animais que apresentam sintomatologia clínica referente ao mormo devem ser mantidos separados até que haja a confirmação do diagnóstico; certificação de animais oriundos de propriedades comprovadamente livres da doença; realização de quarentena e exames laboratoriais de animais adquiridos de outras criações, assim como desinfecção das instalações, evitar baias e cochos coletivos, alimentação e mineralização adequadas (MOTA, 2000).

Em humanos, a profilaxia deve ser voltada aos grupos ocupacionais passíveis de infecção, como os veterinários, tratadores de animais, magarefes e profissionais de laboratório (BRASIL, 2012).

O artigo 8º da IN nº 24/2004 - SDA/MAPA preconiza como medidas de erradicação, que a propriedade com diagnóstico de mormo positivo conclusivo para um ou mais animais, será considerada foco da doença, imediatamente interditada e submetida a Regime de Saneamento. Os animais reagentes serão eutanaziados, não cabendo indenização, conforme Decreto Federal nº 24.538/1934 e procedendo-se, em seguida, à incineração ou enterro dos cadáveres no próprio local, à desinfecção das instalações e fômites sob supervisão do serviço veterinário oficial e os demais equídeos da propriedade serão submetidos aos testes diagnósticos para mormo visando saneamento da propriedade e posterior desinterdição (BRASIL, 1934; BRASIL, 2004).

***CAPÍTULO 3: Historical highlights on Glanders from
2007 to 2017 in the State of the Maranhão, Brazil***

Equine Veterinary Journal EVJ

ISSN 0425-1644

Article type: article

Historical highlights on Glanders from 2007 to 2017 in the State of the Maranhão, Brazil

E. C. S. Vieira¹, N. P. Chaves¹, F. A. Melo¹, D. P. Chaves¹, O. S. Baquero², V. C. S. Coimbra³, E. T. K. C. Mesquita³, J. C. A. Ferreira⁴ and F. B. Costa^{1*}

¹ Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), Cidade Universitária Paulo VI, s/n, São Luís/MA, 65055-970, São Luís, MA, Brasil

² Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade De Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (USP), Av. Prof. Orlando Marques de Paiva, 87, 05508-000, São Paulo, SP, Brasil.

³ Agência Estadual de Defesa Agropecuária - AGED/MA, Maranhão, Brasil.

⁴ Superintendência Federal de Agricultura, Pecuária e Abastecimento no Maranhão. Praça da República, 147. Diamante. São Luís/MA. 65.020.500.

*Corresponding author email: franc.borgesma@gmail.com

Keywords: Glanders; Horse; Maranhão;

Summary

Introduction: Glanders is an infectious equid disease that can be transmitted to other animals and humans, in addition to its economic and social importance, there is still no vaccine and its treatment is not recommended and has also been documented as a biological weapon. *Burkholderia mallei* is the etiologic agent, a gram-negative intracellular, non-mobile and facultative bacterium. Recently eradicated in countries such as the United States, England, Australia, Canada but endemic in Africa, Asia, Mongolia, the Middle East, Central and South America. The first description of glanders in Brazil was in 1811.

Objectives: Due to aspects that highlight the importance of the disease and the lack of a systematized study with an extended period, we propose to determine the occurrence of glanders in Maranhão State from 2007 to 2017.

Study design: A database was developed in the Excell program, with the information inherent to the number of outbreaks, by year, sex, age, species, purpose, mesoregions, biome, Human Development Index - HDI, and municipalities of origin of the animal in specific worksheets.

Methods: A database was compiled by official data from the Federal Superintendence of Agriculture in the State of Maranhão / Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply, State Agency of Agricultural and Livestock Defense of the State of Maranhão (AGED) with monthly reports and administrative procedures, in addition to data from the official private laboratory.

Results: a total of 62,555 equids were submitted to the CFT, and the population was distributed among 59,036 horses, 2,981 mules, including 538 donkeys, and of these samples, 35 (0.6%) reacted to the CFT. For ten years of the study, it was observed that 100% of the positive samples were equine (*Equus caballus*) from the rural area, and the months of April and May presented the highest frequencies, while January and December showed no positive samples.

Main limitations: There is no information regarding the negative animals in the official database, therefore, it was not possible to perform a historical sequence through the CFT exams of the database, in addition to the deeper epidemiological study of the cases of the population that had died.

Conclusion: Based on the data analyzed, glanders is endemic in the State of Maranhão and educational measures such as conducting lectures, distributing folders at the sites of agricultural events and within different municipalities where a greater number of “test positive” animals occurred, so as to clarify the originator about the disease; as well as to increase the intensification of vigilance in events and the transit of equids, which should be maintained as a preventive means.

Introduction

Glanders is an infectious disease of equids which can be transmitted to healthy animals and humans, in addition to its economic and social importance, which can be characterized by chronic and acute stages in equines, but the chronic form generally occurring in horses and the acute form occurring in mules and donkeys (DARLING; WOODS, 2004; ZANDT; GREER; GELHAUS, 2013). The etiological agent of glanders is an intracellular, gram-negative, non-mobile and facultative bacterium, and its deliberate use as a biological weapon has been documented (NEUBAUER et al., 1997, WHITLOCK, ESTES, TORRES, 2007).

The first description of glanders in Brazil was reported in 1811 following the importation of infected animals from Europe (BALTAZAR et al., 2012; PADDOCK, 2013). At the time, the presence of nasal secretions and ulcers (PADDOCK, 2013) and the microbiological, epidemiological, clinical, pathological and diagnostic aspects of the glanders in equid in the states of Pernambuco and Alagoas confirmed the reemerging of the disease in the country (MOTA et al., 2000) and more recently in the State of Tocantins, Brazil (ADAPEC, 2017).

For the purposes of diagnosis and control of glanders in Brazil, the Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply (MAPA) recommends only complement fixation tests (CFT) and Mallein, and recently, through Circular 03/2016, it adopted the Western Blot as a conclusive complementary test, replacing the mallein test (MAPA, 2016).

According to MAPA, the National Equine Health Program (PNSE), glanders is one of the most important diseases from both a sanitary and an economic point of view intended for horse herding, and the current legislation apprises that properties which had foci will be interdicted with immediate sacrifice of seropositive animals, besides the impossibility of buying and selling animals during the period of sanitation of the focus in the the property, as well as interference in sporting events due to embargoes on the transit of equids (BRASIL, 2004).

In Brazil, Horse herding is of great economic and social importance, since equids are used in different activities, such as tractive force, transportation, public safety and the treatment of human diseases through equine therapy (ALMEIDA, 2006). Also, the horse agribusiness complex is responsible for generating 3.2 million direct and indirect occupations, with a higher concentration of equids in the Southeast region, followed by the Northeast, Midwest, South and North regions. Besides the equids (1,022,915), the highest concentration of mules (525,092) and

donkeys (286,812) is concentrated in the Northeast (IBGE, 2006; MAPA, 2016). The State of Maranhão currently has a herd of 200,105 equids, 101,728 mules, 34,977 donkeys, totaling 336,810 equids registered in the State (AGED-MA, 2017).

Due to the aspects that highlight the importance of glanders as a reemerging disease and its impact on animal and human health, as well as the absence of systematized study through an extended period of time, it is propose to determine the occurrence of glanders from 2007 to 2017, compiling database of MAPA, AGED and Official Laboratory of the State of Maranhão.

Materials and methods

Type of study

This is a descriptive study on the occurrence of glanders in the State of Maranhão from 2007 to 2017.

Area

The State of Maranhão is located in the Northeast Region, encompasses a territorial area of 331,935,507 km² which is composed of 217 municipalities, with a population totaling 6,569,683 inhabitants. Currently, it is the fourth largest economy in the Northeast region, however, it has one of the lowest Human Development Indexes (HDI) in Brazil, due mainly to social and political problems (IBGE 2016).

Data source

Data were obtained from the State Agency of Agricultural and Livestock Defense of the State of Maranhão (AGED-MA), which has a Central Unit - CU, 18 Regional Units - RUs, 88 Local Animal and Plant Health Units - ULSAV, 80 Community Office Service - EAC, 42 Municipalities Served by ULSAV, seven Municipalities Served by EAC, eight Fixed Agricultural Surveillance Stations (Zoophytosanitary Barriers), two Administrative Offices in the State of Pará (MARANHÃO, 2016). According to AGED data, Maranhão currently has a herd of 200,105 horses, 101,728 mules and 34,977 donkeys with a total of 336,810 equids registered in the State (AGED-MA, 2017). The official data of the Federal Superintendence of Federal Agriculture in the State of Maranhão / Ministry of Agriculture, Livestock, and Supply was obtained from reports of

PNSE activities, monthly reports and administrative procedures, as well as data from the official private laboratory.

Study Design

A database was prepared in the Excell program in specific spreadsheets, with specific information on the number of cases per year, species, sex, age, purpose, biomes, mesoregions, municipality origin of the animals and HDI. Data analysis included the calculation of the frequency distribution of the analyzed variables, the spatial distribution of the number of cases per municipality and logistic regressions. A total of five logistic regressions were fitted: the first included only the intercept; the second included the HDI; the third included the HDI and equine population size; and the last included the HDI, the equine population size and the biome. The Akaike Information Criterion (AIC) was calculated for all models to select the model with the lowest value. The HDI was multiplied by 10 to facilitate its Odds Ratio (OR) in the logistic regression.

Results

A total of 62,555 equines were evaluated using the CFT technique, and the populace was distributed from 59,036 horses, 2,981 mules, and 538 donkeys, and these samples, 35 (0.6%) reacted at the CFT examination for glanders from 2007 to 2017. **Table 1**

Table 1. Quantitative of glanders CFT performed in the State of Maranhão from January 2007 to December 2017

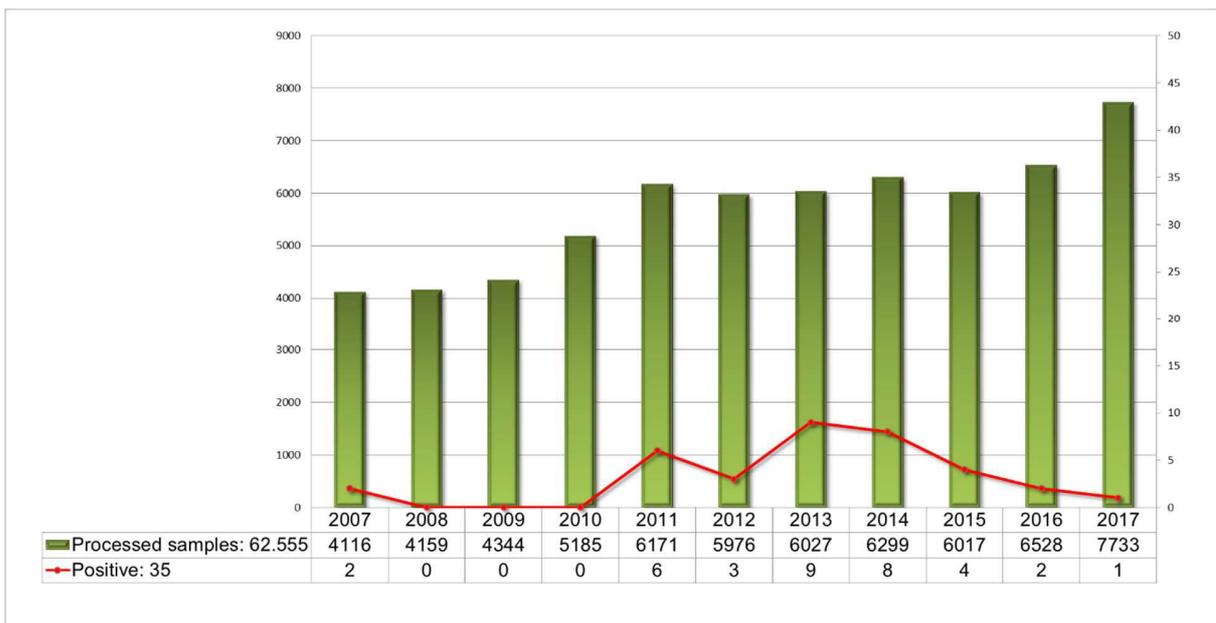
Specie	Year compilation											Total
	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	
Horses	3879	3947	4035	4727	5719	5686	5722	5937	5719	6247	7418	59036
Mules	201	173	256	417	405	254	239	284	254	238	260	2981
Donkeys	36	39	53	41	47	36	66	78	44	43	55	538
Total	4116	4159	4344	5185	6171	5976	6027	6299	6017	6528	7733	62.555

Source: VIEIRA, 2017

In 2007, 4,116 equids were tested, of which two animals were considered positive ($n = 2$; 0.048%). In relation to the years 2008, 2009 and 2010; 4,159, 4,344, 5,185 animals were tested, respectively, and in this period there was no reacting animal in the State. In 2011, six animals were considered positive out of a total of 6,171 samples ($n = 6$; 0.097%). In 2012, 5,976 equids were tested, three animals tested positive ($n = 3$; 0.050%).

For 2013, 6,027 serum samples of equids were examined and the largest number of positive animals was identified throughout the survey period ($n = 9$; 0.149%). In relation to 2014, 6,299 animals were tested and eight animals were identified positive ($n = 8$, 0.127%). In the years 2015 and 2016, 6,017 and 6,528 were examined and four ($n = 4$; 0.066%) and two ($n = 2$; 0.030%) equids reactants were identified, respectively. In 2017, 7,733 equine samples were tested, one being ($n = 1$; 0.012%). **Figure 1.**

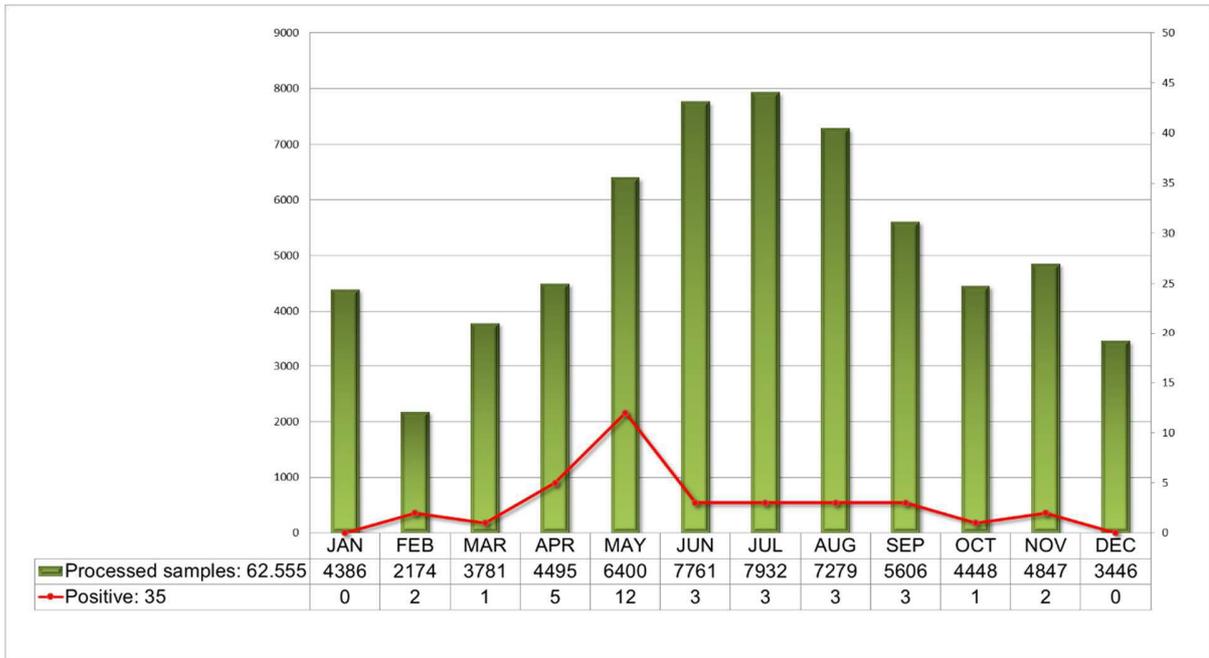
Figure 1. Processed samples x positive animal per year



Source: VIEIRA, 2017

The analysis of the distribution of reactive animals throughout the study revealed that the months of April and May presented the highest frequencies, whereas in January and December there were no reactive animals during the ten years of the compilation database. **Figure 2**

Figure 2. Processed samples x positive animal per month



Source: VIEIRA, 2017

Regardless of the year evaluated, it was observed that 100% (n = 35) of the positive samples were of equine species (*Equus caballus*). Positive animals were from the rural area of the state of Maranhão, mostly male (n = 30/35, 85.7%) and the minority, females (n = 05/35, 14.2%). Regarding the purposes, thirty-two (n = 32/35, 91.4%) of these were raised for sporting purposes and three (n = 3/35, 8.5%) for breeding purposes. The breeds of the positive animals were: twenty-seven animals of the quarter horse breed (n = 27/35, 77.14%), five mangalarga marchador (n = 5/35, 14.28%), a hybrid (n = 1/35, 2.85%), an appaloosa horse (n = 1/35, 2.85%), a paint horse (n = 1/35, 2.85%). Twelve animals aged 7 years (n = 12/35, 34.28%), 10 equines at 8 years (n = 10/35, 28.57%), six at 6 years (n = 6/35, 17.14%), five animals at 5 years (n = 5/35, 14.28%) and one animal at 9 years (n = 1/35, 2.85%). **Chart 1**

Chart 1 .Characteristics of the reactive animals from January to December 2017

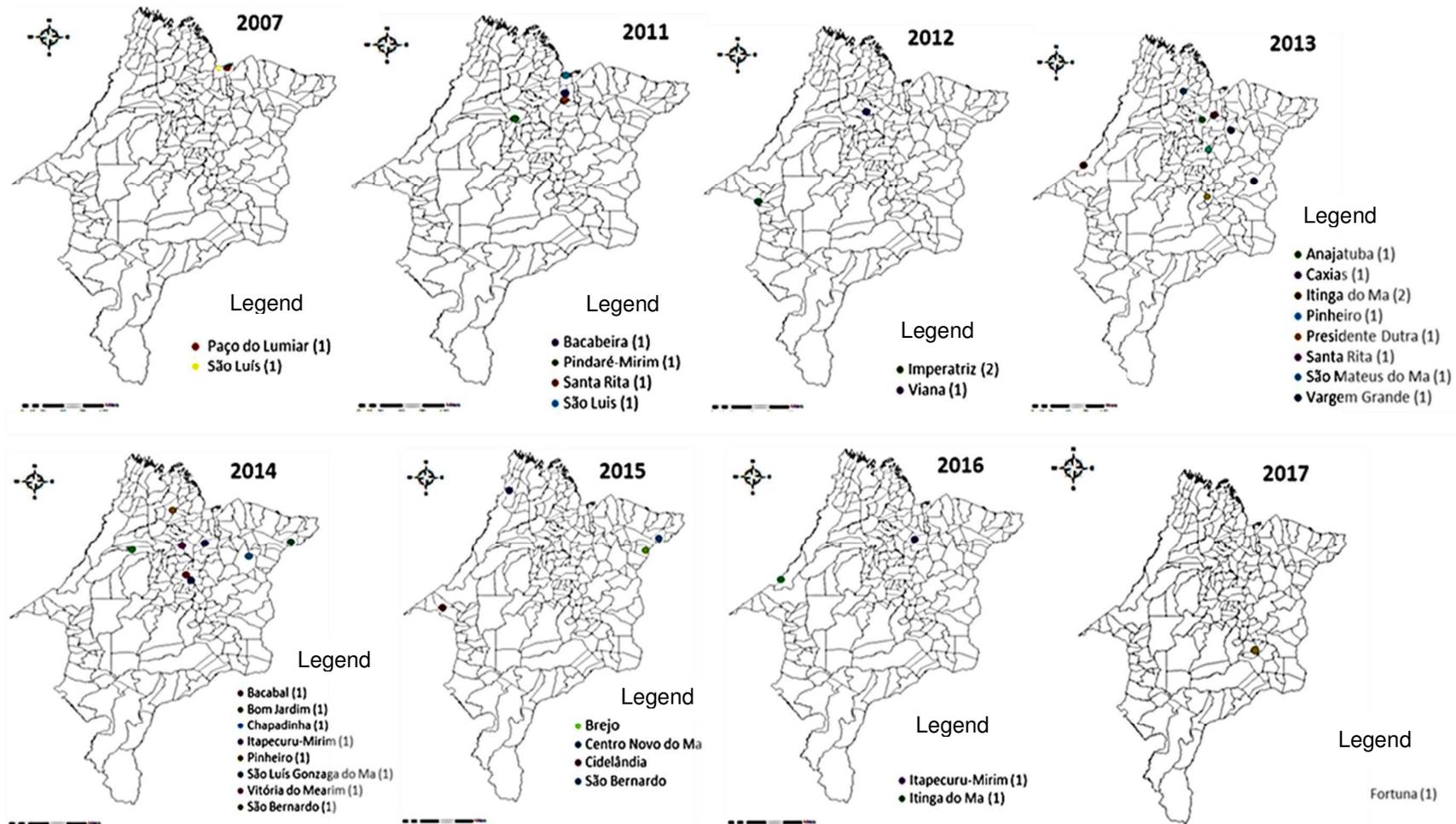
Characteristics of the reactive animals	
Species	100% (equinos - <i>Equus caballus</i>)
Origin on of the animal	100% (area rural)
Sex	86% (male); 14% (females)
Purposes	91% (sporting); 3% (breeding)
Breeds	77% (quarter horse); 14% (manga larga marchador); 3% (hybrid); 3% (appaloosa); 3% (paint house)
Age	34% (7 years); 28% (8 years); 17% (6 years); 14% (5 years); 3% (9 years)

Source: VIEIRA, 2017

By means of the spatial distribution, the cases of glanders were observed in the mesoregions North: 3% (n = 01/35) Anajatuba, Paço do Lumiar, Bacabeira, Viana, Vargem Grande, Vitória do Mearim; 6% (n = 2/35) Santa Rita, Pinheiro, Itapecuru; 9% (n = 3/35) São Luís. West: 3% (n = 01/35) Pindaré Mirim, Bom Jardim, Centro Novo, Cidelândia; 6% (n = 2/35); 9% (n = 3/35) Itinga. East: 3% (01/35) Caxias, Chapadinha. 6% (n = 2/35) São Bernardo. Center: 3% (n = 1/35) President Dutra, São Mateus, Bacabal, São Luís Gonzaga, Fortuna. South: 0% (n = 0/35).

Figure 3

Figure 3. Spatial distribution of glanders in Maranhão, 2007 à 2017*

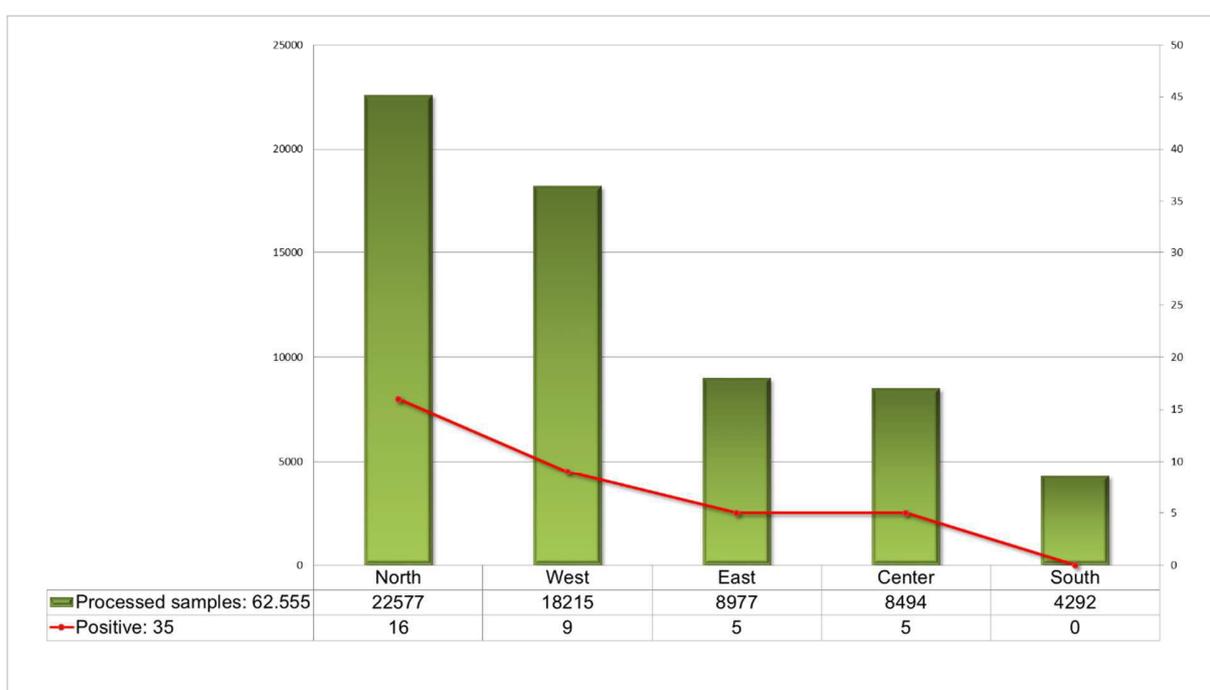


*Illustrations contemplate glanders foci in the assessed period

During the research period, North of Maranhão presented a total of 22,577 (36.09%) of processed samples, followed by the West with 18,215 (29.11%). The central region of Maranhão had a total of 8,977 samples (14.35%) sent to the laboratory. The East with 8,494 (13.57%) and the South of Maranhão obtained the smallest quantity of samples with 4,292 (6.86%).

The highest rates of occurrence of glanders were identified in northern Maranhão with 16 cases, followed by the western mesoregion with 9 cases, mesoregions east and center with 5 cases respectively and 0 in southern Maranhão. **Figure 4**

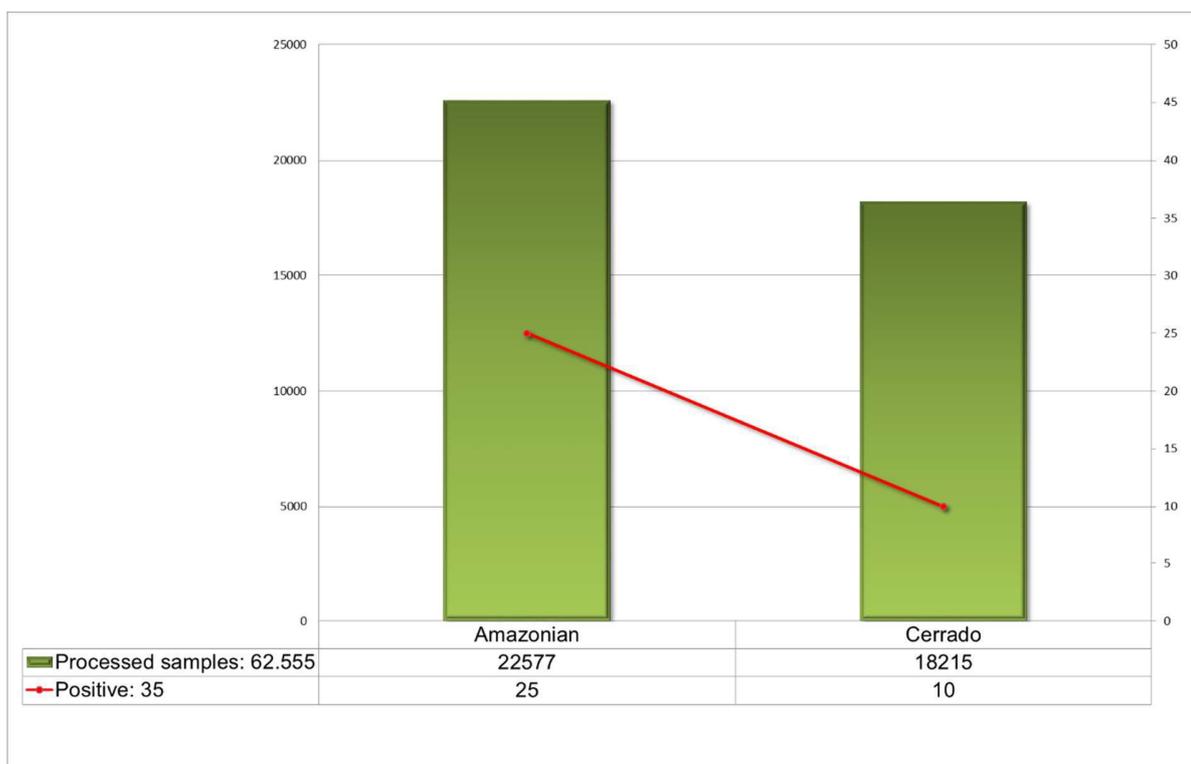
Figure 4. Processed samples x positive animal per mesoregion



Source: VIEIRA, 2017

The presence of foci of glanders was clearly evident in the Amazonian biome, with 71% ($n = 25/35$) and 28% ($n = 10/35$) for the Cerrado biome as evidenced in figure 5.

Figure 5. Processed samples x positive animal per biome

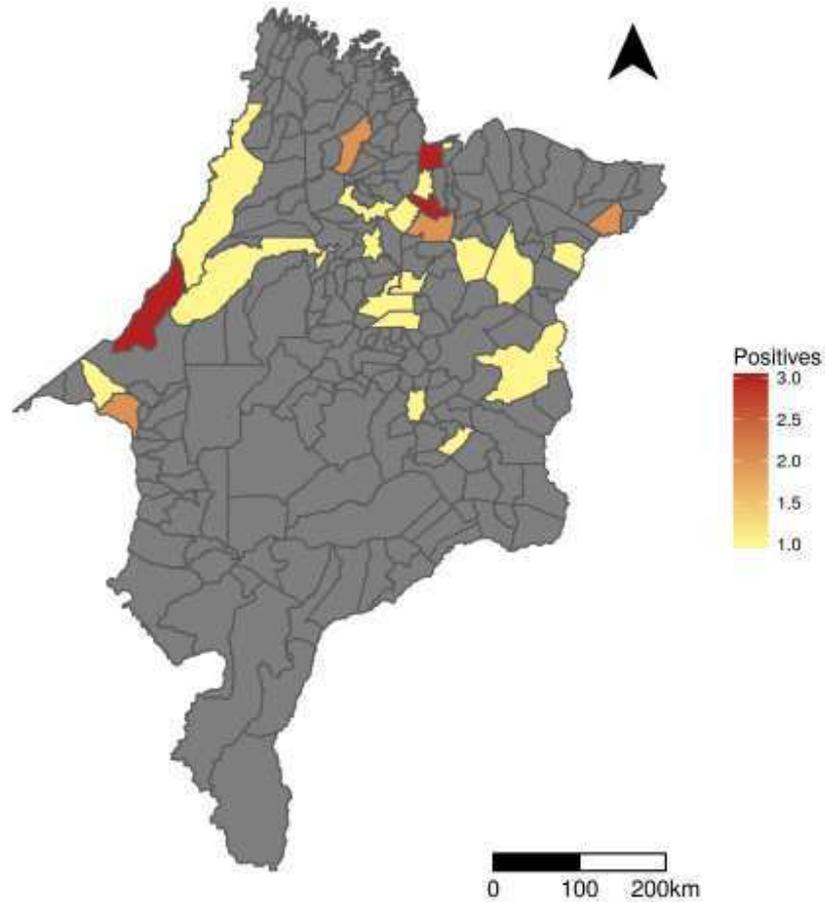


Source: VIEIRA, 2017

Out of the 35 positive samples for CFT, only 18 were tested for two consecutive tests of mallein with a 45-day interval, in accordance with current MAPA legislation. The mallein test was performed intradermally on the lower eyelid of one of the animal's eyes using a 0.5 mL insulin syringe with 0.1 mL volume. The reading was performed 48 hours later.

The model with the lowest AIC had only one covariate, the HDI, and it was a significant risk factor (OR = 6.25, CI 95% = 2.61 – 16.37, p-value = 0.0001). Thus, the increase of 0.1 units in the HDI increased the chance of cases in the municipality by a factor of 5.25. **Figure 6**

Figure 6. Cases in the municipality



Source: VIEIRA, 2017

Discussion

The State of Maranhão is of great importance for the Brazilian agribusiness, in this context, the investigations of diseases of compulsory notification (DNC), as well as the rapid detection and identification of the etiological agent involved, are important to minimize the transference and dissemination of the disease in Brazil. (CHAVES et al., 2016). In addition, systematized retrospective studies, based on data collection in archives, have become increasingly important in the area of animal health, since it is through these surveys that the prevalence of a disease can be defined in epidemiological, clinical and anatomopathological data. (FIGUERA, 2008).

A total of 35 horses were considered positive for the CFT. This number is significant because of the importance of diseases in animal and human health, such as social and economic issues. On the other hand, mules and donkeys did not react to the CFT. These findings are similar to previous studies when comparing frequencies among other places in Brazil (MACHADO et al., 2013) and, for example, India (MALIC et al., 2015). Age, sex, race, sports and breeding activities and biomes, provided no significant differences for serological positivity. MOTA et al. 2000, reports age as a relevant factor for the appearance of the clinical form of natural infection with higher prevalence in senile animals and debilitated by stressful conditions. In addition, predisposing factors, such as poor diet, stress and housing in contaminated environments, are potential causes for the occurrence of glanders.

Leading the volume of reactive horses were the Quarter Horse group, followed by Mangalarga Marchador, and these breeds are predominant in Maranhao State, which may be due to probably that these breeds are known for their great versatility which can be used in competition, working and racing (SILVA ET AL, 2013).

Unfortunately, during ten years of observation, the disease has been consistently reported almost every year, except for 2008, 2009 and 2010, with an increase in frequency in subsequent years. The increase in the number of tests performed may be associated with a set of official health actions carried out in the last decades in virtually all regions of the country. It is important to emphasize that the control of the disease in Brazil was regulated by Normative Instruction (IN) n° 24/2004 - SDA / MAPA. Another important aspect for increasing the diagnosis was when the disease acquired prominence in the states of Zona da Mata Pernambuco and Alagoas by MOTA et al., 2000, after approximately 30 years absence of the disease in the country.

According to the descriptive analysis, it can be inferred that the highest percentage of positive cases of glanders was concentrated in the months of April, May, June, and July, the month of May generating the highest frequency over the years. The increase in cases from April to July in the state of Maranhão may be associated with a greater demand for assessments due to the period of equestrian events (i.e., rodeo events and barrel racing). Thus, laboratory tests for equine infectious anemia (EIA) and glanders diseases are also increased, as a consequence of animal health requirements for the transit of animals. Hence, for the issuance of the Guide to Animal Transit - GTA, negative tests are obligatory, within its validity (60 days).

According to AGED, the highest concentration of equids is found in the southwest of the state of Maranhão with approximately 40,081 registered animals. However, throughout the study period, the North mesoregion had the highest rates of occurrence of glanders with 16 positive cases, which may be related to a higher amount of GTAs issued and followed by the western mesoregion with 9 positive cases, East and Center mesoregions with 5 positive cases and the South of the State had an absence of cases. There was no occurrence of glanders in the south of Maranhão, which could be related to the number of exams performed during the evaluated period, which is lower than the other regions.

It is possible to infer that the highest index of samples sent to the laboratory in the mesoregions North and West are related to the transit of animals to equestrian events which are very common in this region.

The HDI was a risk factor, possibly due to underreporting in municipalities with lower HDI. Animals used for sporting and breeding purposes require negative tests results so that they can participate in equestrian events, accordingly, exams are performed periodically. On the other hand, animals bred for daily work rarely require testing, since negative testing is only necessary for animal transit. It is possible that municipalities with higher HDI have more animals used for sporting and breeding purposes, whereas municipalities with lower HDI have more animals used for daily work. If this occurred in Maranhão during the period under study, underreporting might have been higher in municipalities with lower HDI. This is a possible explanation for the observed effect of the HDI.

Conclusions

Based on the data analyzed, it was possible to observe that glanders has been endemic in the state of Maranhão over the years stated and it is possible that underreporting is occurring in municipalities with a lower HDI, in addition to an intensification of surveillance in regional events concerning the transit of equids must be maintained as a preventive measure.

Authors' declaration of interests

No competing interests have been declared.

Ethical animal research

The study isn't requirements.

Sources of funding

This study was partly funded by Fundação de Ampara à Pesquisa, Ciência e Tecnologia do Estado do Maranhão – FAPEMA, and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

Acknowledgements

To the Ministry of Agriculture Livestock and Supply (MAPA), to the State Agency of Agricultural and Livestock Defense of Maranhão (AGED-MA) and Laboratory Cernitas for the concession of the data for the accomplishment of this study.

Authorship

Conceptualization: ECSV NPC FAM FBC; **Data curation:** ECSV OSB NPC VCSC ETKCM JCAF FAM DPC FBC; **Formal analysis:** ESSV OSB FBC; **Funding acquisition:** FAM DPC FBC; **Investigation:** ESCV NPC VCSC ETKCM JCAF FBC; **Methodology:** ECSV NPC FBC; **Project administration:** ECSV FBC; **Resources:** FAM DPC FBC; **Supervision:** FBC. **Validation:** ECSV FBC; **Visualization:** ECSV NPC FAM FBC; **Writing ± original draft:** ECSV NPC FBC; **Writing ± review & editing:** ECSV OSB NPC VCSC ETKCM JCAF FAM DPC FBC.

Manufacturers' address

Preventive Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, State University of Maranhão, Cidade Universitária Paulo VI – Caixa Postal 09 – São Luís, MA, Brazil.

CAPÍTULO 4: CONSIDERAÇÕES FINAIS

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos dados analisados, referente ao período estudado, foi possível concluir que o mormo é endêmico no Estado do Maranhão. Os focos foram identificados nas mesorregiões norte, oeste, leste, centro e ausência no sul do Maranhão. Observou-se também que, houve no Estado, uma diminuição de animais positivos a partir de 2016, provavelmente associado as medidas de controle e erradicação da doença que se tornaram mais intensas bem como a mudança no diagnóstico que anteriormente para casos inconclusivos utilizava-se a maleína um teste pouco específico e recentemente o MAPA adotou o teste Western blot como teste confirmatório um teste altamente específico que apresenta um resultado preciso. É importante observar que medidas educativas como realização de palestras, distribuição de folders nos locais dos eventos agropecuários e nos diferentes municípios em que ocorreu maior quantidade de animais positivos com intuito de esclarecer o criador sobre a doença; intensificação da vigilância nos eventos e no trânsito dos equídeos devem ser mantidas como meio de impedir que o Mormo se propague às outras regiões, do Estado. Espera-se que o presente estudo possa contribuir com a Equideocultura maranhense e como uma fonte atualizada de informações acerca da temática estudada.

REFERÊNCIAS

ALAM, S., AMEMIYA, K., BERNHARDS, R. C., Ulrich, R. G., Waag, D. M., & Saikh, K. U. (2015). **Characterization of cellular immune response and innate immune signaling in human and nonhuman primate primary mononuclear cells exposed to *Burkholderia mallei***. *Microbial pathogenesis*, 78, 20-28

AMERICAN ASSOCIATION OF ZOO VETERINARIANS. Infectious Disease Committee Manual: Infectious Diseases of Concern to Captive and Free Ranging Animals in North America. 2. ed. Yulee, FL: AAZV, 2013. Disponível em: http://c.ymcdn.com/sites/www.aazv.org/resource/resmgr/IDM/IDM_Glanders_2013.pdf.> Acesso em: 27 jul. 2017

ALMEIDA, V. M. A. et al. Anemia infecciosa equina: prevalência em equídeos de serviço em Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.**, Belo Horizonte, v. 58, n. 2, p. 141-148, abr. 2006.

AL-ANI, F. K.; ROBERSON, J. **Glanders in horses: A review of the literature**. *Vet. Arhiv.* v. 77, n. 3, p. 203-218, 2007. Disponível em: <<http://www.vef.unizg.hr/vetarhiv/papers/2007-77-3-1.pdf>>. Acesso em: 05 abr. 2017.

ANDERSON, PD e G. BORKOR, 2012. **Bioterrorism: pathogens as weapons**. *J. Pharm.*

ARUN, S. H. NEUBAUER, A. GURIEL, G. AYYDIZ E B. KUSCU et al, 1999. **Equine glanders in Turkey**. *The Veterinary Record*

BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. São Paulo: Editora Roca Ltda, 1999, p.142-147.

BRASIL. Instrução Normativa N° 24, de 5 de abril de 2004, da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em:

<<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 20 de junho de 2017. (b)

BRIDGET, C.G.; WAAG, D.M. **Glanders**. In: BORDEN INSTITUTE. Medical Aspects of Biological Warfare. p. 121-146, 2007.

BLANCOU, J. Les anciennes methods de surveillance et de controle de la morve. **Bulletin Société Vétérinaire Prat. de France**, v. 78, n.01, p. 35-54, 1994)

CARVALHO FILHO, M. B. **Desenvolvimento e avaliação de um novo método para produção de maleína para diagnóstico de mormo**. 2012. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012

CANAL RURAL. **Brasil registra mais de 150 casos de mormo em 2015**. Disponível em: <<http://www.canalrural.com.br>>. Acesso em: 02 agosto. 2017.

CHAVES, N. P., BEZERRA, D. C., DOS SANTOS VIEIRA, E. C., DA SILVA COIMBRA, V. C., & SANTOS, B. C. (2016). **Doenças de notificação compulsória em animais de produção no período de 2011 a 2014 no Estado do Maranhão**. Revista Brasileira de Ciência Veterinária, 23(1/2), 31-36. Acesso em 09 set. 2017

CHAVES, D. P. **Soroprevalência de mormo, anemia infecciosa equina e brucelose do cavalo baixadeiro**. 2015. Disponível em:< http://www.uff.br/rbcv/ojs/index.php/rbcv/article/viewFile/746/pdf_1>. Acesso em: 09 set. 2017.

CERNITAS. **Esquema da Fixação de Complemento com Diferentes Resultados**. Disponível em:< <http://www.cernitas.com.br/content/2009/12/resultados-do-exame-de-mormo/>>. Acesso em: 09 jul. 2017

DARLING RG, WOODS JB: **Glanders and Melioidosis**. In US Army Medical Research Institute of Infectious Diseases Medical Management of Biological Casualties Handbook. 5th edition. Fort Detrick, MD: USAMRIID; 2004:32–39.

DERBYSHIRE, J. B. **The eradication of glanders in Canada**. *Can. Vet. J.* v.43, p. 722-726, 2002

ELSCHNER, SCHOLZ, MELZER, SAQIB, MARTEN, RASSBACH, SCHMOOCK, SANTANA, SOUZA, WERNERY, NEUBAUER. **Use of a Western blot technique for the serodiagnosis of glanders**. *BMC Veterinary Research* 2011.

GALYOV, E.E.; BRETT, P.J.; DESHAZER, D. **Molecular insights into *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei* pathogenesis**. *Annual Review of Microbiology*, v.64, p.495-517, 2010.

HIRSH, D. C.; MACLACHLAN, N. J.; WALKER, R. L. ***Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei***. In: HIRSH, D. C.; BIBERSTEIN, E. L. *Vet. Microb.* 2. ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2004. cap.17, p.113-114.

KETTLE, A. N. B.; WERNERY, U. **Glanders and the risk for its introduction through the international movement of horses**. *Equine veterinary journal*, v. 48, n. 5, p. 654-658, 2016.

MALIK P, SINGHA, H., GOYAL, S. K, KHURANA, S. K, TRIPATHI, B. N., DUTT, A, SINGH, SHARMA, D. N., JAIN, S. **Incidence of *Burkholderia mallei* infection among indigenous equines in India**. *Vet Rec Open* 2015;2: e000129. doi:10.1136/ vetreco-2015-000129.

MACHADO, SILVEIRA, BANDEIRA, MORAIS, SANTOS, BARÇANTE. **Prevalência de mormo no estado de Pernambuco no período de 2006 a 2011**. *Ciênc. vet. tróp.*, Recife-PE, v. 16, no 1/2/3, p. 37-44 - janeiro/dezembro, 2013

MOTA, R. A. et al. **Mormo em equídeos nos Estados de Pernambuco e Alagoas. Pesq. Vet. Bras.**, v. 20, n. 4, p. 15-159, 2000.

MOTA, R. A. **Aspectos etiopatológicos, epidemiológicos e clínicos do mormo. Vet. e Zootec.** v.13, n.2, p. 117-124, 2006.

MOTA, A. R.; SILVA, L. B.; CUNHA, A. P.; SOBRINHO, E. S. N.; JUNIOR, J. W. P.; RABELO, S. S. A.; OLIVEIRA, A. A. F. **Alterações clínicas em cobaias (*Cavia porcellus*) inoculados experimentalmente com isolados de campo de *Burkholderia mallei* de equídeos com mormo. Medicina Veterinária**, v. 2, n. 1, p.1-9, 2008. Disponível em:<
<http://www.revista.dmv.ufrpe.br/index.php/rdmv/article/view/43/43>>. Acesso em: 02 nov. 2016.

MORAES, D. D. A. **Prevalência de mormo e anemia infecciosa equina em equídeos de tração do Distrito Federal.** 2011. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal). Universidade de Brasília, Brasília, 2011.

MAHMOOD. **Western Blot: Technique, Theory, and Trouble Shooting.** North American Journal of Medical Sciences. 2012

NEUBAUER H, MEYER H, FINKE EJ: **Human Glanders.** Internati onal Review of the Armed Forces Medical Services 1997, 70:258–265.

NEUBAUER, H. et al. **Serodiagnosis of *Burkholderia mallei* infections in horses: state-of-the-art and perspectives. J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health.** v. 52, p. 201-205, 2005

OIE. OFFICE INTERNATIONAL DES EPIZOOTIES. Glanders. **OIE Terrestrial Manual.** OIE, Paris, France, 2013. cap. 2.5.11. Disponível em: < <http://www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrial-manual/access-online/> >. Acesso em: 09 jul. 2017.

PADDOCK – Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias. 2013. Disponível em:
<http://www.laboratoriopaddock.com.br/Mormo2.pdf>. Acesso em: 08 jun. 2017

RADOSTITS, O. M. et al. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos. bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara. Koogan, 2002.

REZENDE. **Equinos utilizados para tração de carroças em Aquidauana (MS) estão aptos para tal finalidade?** Agrarian. 2013;6(22):505-13.

SANTOS, F. L.; FILHO, H. C. M.; MENDONÇA, C. L. Mormo. In: RIET, et al. **Doenças de ruminantes e eqüídeos**. 3. ed., v.1, Fernovi Editora, p. 394-404, 2007.

SILVEIRA, MACHADO, BANDEIRA, MORAIS, SANTOS, SILVEIRA, ROCHA.
Comparação da Prevalência do Mormo entre as Zonas da Mata, Agreste e Sertão de Pernambuco, de 2005 à 2011.

Ciênc. vet. tróp., Recife-PE, v. 16, no 1/2/3, p. 45-52 - janeiro/dezembro, 2013

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

SHELL, M. A. et al. **Type VI secretion is a major virulence determinant in *Burkholderia mallei***. *Mol. Microbiol.* v. 64, n. 6, p. 1466-1485, 2007.

SPRAGUE, L.D.; ZACHARIAH, R.; NEUBAUER, H.; WERNERY, R.; JOSEPH, M.; SCHOLZ, H.C.; WERNERY, U. **Prevalence-dependent use of serological tests for diagnosing glanders in horses**. *BioMed Central Veterinary Research*, v.5, n.32, 2009. Disponível em:
<<http://www.biomedcentral.com/1746-6148/5/32>>. Acesso em: 19 de mai. 2017.

TELES, J. A. et al. **Desenvolvimento e avaliação de um teste ELISA indireto para o diagnóstico sorológico do mormo em eqüídeos**. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 31, n.9, p.838-842, 2012.

USAHA. **United States Animal Health Association. Foreign Animal Diseases.** 7.ed. Canada: Boca Publications Group, 2008. p.281-286.

VERMA, et al. **Development of an avidin-biotin dot enzyme-linked immunosorbent assay and its comparison with other serological tests for diagnosis of glanders in equines.** *Vet. Microbiol.* Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1990. p.2577-2585.

WHITLOCK, G.C.; ESTES, D.M.; TORRE, A.G. **Glanders: off to the races with *Burkholderia mallei*.** Federation of European Microbiological Societies, p.115-122, 2007.

WILKINSON, L. **Glanders: medicine and veterinary medicine in common pursuit of contagious disease.** *Med.Hist.* v. 25, 1981.

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

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa No 50, de 24 de setembro de 2013. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 10 jul. 2016

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 24, de 05 de abril de 2004. Aprova as normas para o controle e a erradicação do mormo.

Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 12 abr. 2004. Disponível em:<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=6896> >. Acesso em: 11 jul. 2017.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 12, de 29 de janeiro de 2004. Aprova as normas para o credenciamento e monitoramento de laboratórios para diagnóstico sorológico do mormo por meio da técnica de Fixação do Complemento.

Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 05 fev. 2004. Disponível em:<<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 11 jul. 2017.

ANEXO 1

FORM		Formulário de Requisição e Resultado de teste para Mormo		<input type="checkbox"/> PC <input type="checkbox"/> Web		N.º do FORM/MOR (para uso do Serviço Veterinário Oficial)		FORM CONT. <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim N.º		Identificação do formulário → UF Seta N.º sequencial	
1. Informações sobre o médico veterinário requisitante Nome _____ CRMV _____ Registro ou cadastro no SVD _____ CPO _____ Telefone fixo _____ Celular _____ E-mail _____											
2. Informações sobre o proprietário do animal Nome _____ CPF _____ Endereço _____ Município _____ UF _____ Telefone fixo _____ Celular _____ E-mail _____											
3. Informações sobre o local onde se encontra o animal Nome _____ Código no SVD _____ Telefone de contato _____ Endereço _____ Município _____ UF _____ Tipo: <input type="checkbox"/> Propriedade rural <input type="checkbox"/> Ascentamento <input type="checkbox"/> Local para aglomeração <input type="checkbox"/> Hospital/clínica veterinária <input type="checkbox"/> Unidade de pesquisa <input type="checkbox"/> Alojamento <input type="checkbox"/> Hama <input type="checkbox"/> Unidade militar <input type="checkbox"/> Sociedade filípica <input type="checkbox"/> Jôquei club <input type="checkbox"/> Propriedade de espere de abate de equídeos <input type="checkbox"/> Propriedade fococollora de equídeos <input type="checkbox"/> Comunidades											
4. Finalidade do teste, segundo classificação do laboratório											
<input type="checkbox"/> Triênito <input type="checkbox"/> Estudo epidemiológico não oficial <input type="checkbox"/> Controle de plantel		<input type="checkbox"/> Triênito <input type="checkbox"/> Seroamento/investigação de foco ou suspiço <input type="checkbox"/> Estudo epidemiológico oficial		<input type="checkbox"/> Seroamento/investigação de foco ou suspiço <input type="checkbox"/> Estudo epidemiológico oficial		5. N.º de equídeos no momento de coleta _____					
6. Informações sobre o animal Nome _____ Idade _____ Registro/n.º/marca/briço/ID eletrônica _____ Raça _____ Espécie _____ Sexo _____ <input type="checkbox"/> Equino <input type="checkbox"/> Asino <input type="checkbox"/> Muro <input type="checkbox"/> Zebra <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> Prenhe? <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim → Tempo de gestação: <input type="checkbox"/> 14 <input type="checkbox"/> 24 <input type="checkbox"/> 26											
7. Para uso exclusivo do Laboratório Nome _____ Município _____ UF _____ N.º de controle _____ Contato de credenciamento _____ Telefone _____ E-mail _____ Data do exame _____ Endereço _____ Data de validade _____ Antígeno _____ RESULTADO _____ Marca _____ Partida _____ Lote _____ Assinatura e Carimbo do Responsável Técnico ou RVT Substituto e número no CRMV _____											

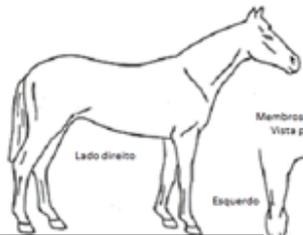
ANEXO 2

ID do laudo laboratorial		Resultado do teste		Data do resultado	Laboratório que realizou o teste
<input type="checkbox"/> Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/> Inconclusivo <input type="checkbox"/> Anticomplementar					
<input type="checkbox"/> Positivo <input type="checkbox"/> Negativo <input type="checkbox"/> Inconclusivo <input type="checkbox"/> Anticomplementar					

2. Informações sobre o animal

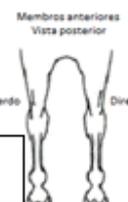
Nome: _____ Idade: _____ Registro/nº/marca/brinco: _____ ID eletrônica: _____
 Dia(s) Mês(es) Ano(s)

Raça: _____ Espécie: Equino Alino Mur Zebra Sexo: M F



Lado direito

Esquerdo



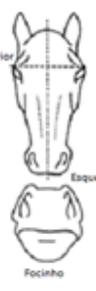
Membros anteriores
Vista posterior

Esquerdo

Direito



Pescoço
Vista inferior



Linha superior dos olhos

Focinho



Membros posteriores
Vista posterior

Esquerdo

Direito

Lado esquerdo

3. Informações sobre o exame

Data de aplicação da malina (dd/mm/aaaa): _____ Data de leitura (dd/mm/aaaa): _____

Aplicação realizada no olho: **Sinais observados durante a leitura:**

Direito Edema palpebral Fotofobia Edema palpebral discreto Secção ocular viscosa ou purulenta

Esquerdo Biflorocapismo Secção nasal Dor no local de inoculação

Informações sobre a malina utilizada: Fabricante: _____ Partida: _____ Data de validade da malina: _____

Inserção do exame: POSITIVO Negativo

Data de validade do exame: _____

4. Médico veterinário responsável pelo exame

Nome: _____ CPF: _____ Unidade Regional: _____

Município de lotação: _____ UF: _____ Telefone Fixo: _____ E-mail: _____

Carimbo e assinatura do responsável pelo exame → _____