

Vigilância da peste no Estado do Ceará: 1990-1999

Surveillance of plague in the State of Ceará: 1990-1999

Antônia Ivoneida Aragão¹, Antônio Carlos M. Seoane¹, Tereza Cristina Arcanjo Leal²,
Nilma Cintra Leal² e Alzira Maria Paiva de Almeida²

Resumo As atividades de vigilância sorológica da peste nos focos do Estado do Ceará detectaram elevação do número de animais indicadores/sentinelas com anticorpos antipestosos a partir de 1995, com pico em 1997 evidenciando aumento da circulação do bacilo pestoso em todos os focos investigados. De um total de 110.725 amostras de soro obtidas de roedores (7.873) e carnívoros domésticos (102.852) analisadas pela técnica de hemaglutinação (HA) para detecção de anticorpos contra o antígeno F1 da *Yersinia pestis*, 905 revelaram-se positivas, sendo 15 de roedores (4 *Rattus rattus* e 11 *Galea* spp), 720 de cães e 170 de gatos. Dos 652 casos humanos suspeitos e contatos investigados apenas dois foram positivos pela HA e um terceiro paciente foi positivo por hemocultura. A cepa isolada revelou-se altamente patogênica para animais de laboratório e mostrou sensibilidade aos antimicrobianos usados no tratamento dos doentes.

Palavras-chaves: *Yersinia pestis*. Peste. Vigilância. Estado do Ceará.

Abstract Serological surveillance activities regarding the foci of plague in Ceará State have detected a rising number of sentinel animals with antiplague antibodies in 1995, with a peak in 1997 demonstrating an increase in the plague bacteria activities throughout all the foci investigated. From a total of 110,725 serum samples collected from rodents (7,873) and domestic carnivores (102,852) analyzed by the Hemagglutination technique (HA) for antibodies against F1 antigen of *Yersinia pestis* 905 samples tested positive. In these samples there were 15 rodents (4 *Rattus rattus* and 11 *Galea* spp), 720 dogs and 170 cats. Of the 652 human suspected and contact cases investigated by HA, only two were positive. A third case had a positive hemoculture for *Y. pestis*. The isolate is highly pathogenic for laboratory animals and showed sensitivity to the antimicrobial drugs used for plague treatment.

Key-words: *Yersinia pestis*. Plague. Surveillance. Ceara State.

A peste, infecção causada pela *Yersinia pestis*, chegou ao Brasil pelo porto de Santos em outubro de 1899, onde ocorreu o primeiro caso humano. Em seguida várias cidades do litoral foram infectadas, tendo se registrado em 1900 o primeiro caso em Fortaleza. A partir de 1907 a infecção passou a penetrar no interior do País, tendo se estabelecido em focos naturais espalhados nas áreas rurais de vários Estados do Nordeste (CE, RN, PB, PE, AL, BA), Nordeste de Minas Gerais e Rio de Janeiro^{7 19}. No Ceará distinguem-se três áreas de foco localizadas nas regiões Norte (Serra da Ibiapaba), Centro (Serra de Baturité, Serra da Pedra Branca, Serra do Machado, Serra das Matas, Serra de Uruburetama) e Sul (Chapada do Araripe)^{7 18}.

A peste está incluída na Classe I do Regulamento Sanitário Internacional, segundo o qual, toda atividade

pestosa exige notificação compulsória, e deve ser mantida uma vigilância permanente nos focos e nos locais por onde a infecção possa ser introduzida a partir de focos ativos de outros países ou continentes. É indispensável conhecer a situação das populações dos roedores e pulgas a cada momento e características das cepas quanto a fatores de virulência e sensibilidade aos antimicrobianos^{10 21}.

A vigilância da peste inclui a pesquisa da *Y. pestis* entre os roedores (hospedeiros/reservatórios) e pulgas (vetores) além de análises sorológicas para detecção de anticorpos antipestosos em algumas espécies de roedores/indicadores e animais sentinela (carnívoros domésticos e selvagens).

As atividades de vigilância da peste nos focos do Estado do Ceará na década de 1990 a 1999 detectaram

1. Fundação Nacional da Saúde, Coordenação do Ceará, Fortaleza, CE. 2. Laboratório de Peste, Departamento de Microbiologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, FIOCRUZ, Recife, PE
Endereço para correspondência: Dra Alzira de Almeida. CPqAM/FIOCRUZ/MS. Campus da UFPE, Cidade Universitária, Caixa Postal 7472, 50670-420 Recife, PE, Brasil.
Tel: 55 81 3301-2568 Fax: 55 81 3453-2449
e-mail: aalmeida@cpqam.fiocruz.br
Recebido para publicação em 25/7/2001.

aumento de atividade pestosa em todos os focos investigados a partir de 1995 com pico em 1997. Medidas de prevenção e de educação em saúde

adequadas foram imediatamente adotadas e continuam em andamento para evitar propagação da peste na população humana.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta das amostras. As amostras para os exames foram coletadas pelas equipes do Programa de Controle da Peste da Fundação Nacional de Saúde (FUNASA, anteriormente FNS e SUCAM), nas áreas pestígenas da Serra de Baturité, Serra da Pedra Branca e Serra do Machado pertencentes ao Distrito Sanitário de Baturité,

Chapada do Araripe pertencente ao Distrito Sanitário de Crato e Serra da Ibiapaba pertencente ao Distrito Sanitário de Sobral. A Figura 1 mostra a localização geográfica desses focos.

As amostras foram obtidas de pacientes suspeitos de peste com base em evidência clínica e

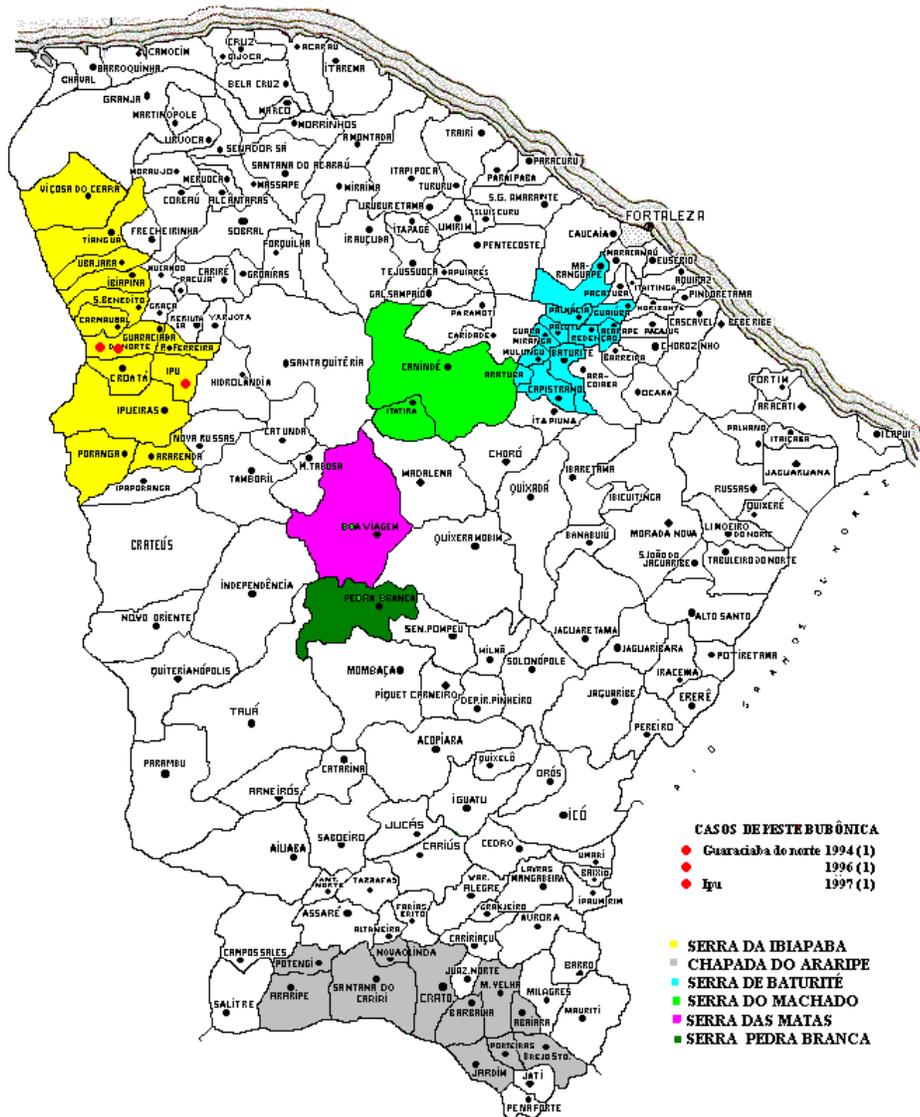


Figura 1 - Mapa do Estado do Ceará com destaque para as áreas pestígenas e casos de peste confirmados.

epidemiológica e seus contatos, e de roedores/sentinela e carnívoros domésticos (cães e gatos) de localidades selecionadas aleatoriamente ou em locais com registro de atividade pestosa nos últimos cinco anos.

Provas sorológicas. As amostras de soro foram analisadas pela técnica de hemaglutinação (HA) para detecção de anticorpos contra o antígeno capsular específico da *Y. pestis* (F1). Amostras com títulos de HA $\geq 1/16$ foram submetidas à prova de inibição da hemaglutinação (HI)²⁰. Foram considerados positivos soros com títulos de HA $\geq 1/16$ e pelo menos quatro vezes acima dos títulos de HI.

Provas bacteriológicas e estudo da *Yersinia pestis*. As amostras de sangue dos pacientes coletadas

na fase aguda da doença foram submetidas a provas bacteriológicas segundo recomendado por Bahmanyar & Cavanaugh⁸ para identificação e isolamento da *Y. pestis*. A caracterização da *Y. pestis* foi realizada através de cultivo no meio agar vermelho Congo, inoculações em animais de laboratório (camundongos, cobaias e coelhos), testes de sensibilidade aos antimicrobianos e análise do conteúdo plasmidial segundo técnicas descritas^{8, 14}. Para caracterização bioquímica foi usado o *Kit-system API 20 E*. O perfil protéico foi analisado por eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), homogêneo, 12,5%, corado com Azul de Coomassie, utilizando o *Phast System* (Pharmacia) conforme recomendações do fabricante.

RESULTADOS

Peste humana. Foram analisadas 1.129 amostras de soro de 652 pacientes suspeitos de peste com base nas evidências clínicas e epidemiológicas e contatos (454 do sexo masculino e 198 do sexo feminino). De 190 pacientes foi coletada apenas uma amostra; de 447, duas amostras e de 15 pacientes, três ou quatro amostras. A primeira amostra foi obtida no dia da investigação, no período de 0 a 90 dias depois dos primeiros sintomas e as outras até 307 dias mais tarde. A Tabela 1 mostra a distribuição por ano dos casos suspeitos notificados e investigados. A distribuição da

origem dos pacientes por Distrito Sanitário e foco correspondente encontra-se na Tabela 2.

Apenas dois pacientes do foco da Serra da Ibiapaba (município de Guaraciaba do Norte) resultaram positivos pela HA. De cada paciente foram analisadas quatro amostras de soro: a primeira amostra coletada na fase aguda da doença, ou seja, no dia da investigação e exame clínico (3 a 4 dias após os primeiros sintomas), a segunda após a convalescença (cerca de 30 dias depois), a terceira amostra depois de 2 a 9 meses e a quarta depois de 23 a 54 meses.

Tabela 1 - Distribuição por ano dos casos humanos suspeitos e amostras de soro de roedores e carnívoros domésticos (cães e gatos) dos focos de peste do Estado do Ceará analisados pela HA no período de 1990 a 1999.

Ano	Casos humanos suspeitos		Roedores		Carnívoros		
	examinados	positivos	examinados	positivos	examinados	positivos	positivos
						cães	gatos
1990	107	0	992	0	8.280	31	10
1991	87	0	704	0	8.315	6	3
1992	47	0	680	0	6.956	5	3
1993	26	0	508	0	6.469	1	4
1994	42	1	684	0	8.032	1	1
1995	74	0	1.148	2	7.947	10	15
1996	76	1	774	0	9.233	73	19
1997	77	0*	1.058	10	14.337	417	67
1998	46	0	711	2	16.660	45	17
1999	70	0	614	1	16.623	131	31
Total	652	2	7.873	15**	102.852	720	170

* 1 paciente positivo por hemocultura

***Rattus rattus*, *Galea* sp

Tabela 2 - Distribuição por Distrito Sanitário e por foco dos pacientes suspeitos investigados, amostras de soro dos animais analisadas, e positivamente.

Distrito Sanitário	Focos	Pacientes			Roedores			Carnívoros		
		exam	pos	%	exam	pos	%	exam	Pos	%
Baturité	Serra de Baturité	44	0	0,00	1.963	2	0,84	26.870	234	4,90
Crato	Chapada do Araripe	8	0	0,00	3.684	8	1,36	31.747	224	5,90
Sobral	Serra da Ibiapaba	600	3*	0,20	2.226	5	3,17	44.235	432	9,70

Exam: examinados

Pos: positivos

*2 por HA e 1 por hemocultura

Um paciente (ORS, 1994) teve a primeira amostra negativa, na segunda apresentou um título $>1/128$ que se manteve até a última avaliação 54 meses depois. A primeira amostra do outro paciente (LHPF, 1996) teve uma determinação de $1/16$ na primeira amostra, aumentou para $1/32$ na segunda e $>1/128$ na terceira amostra permanecendo até a última análise após 35 meses.

Foram coletadas amostras de sangue, na fase aguda da doença, para hemocultura e análise por técnicas bacteriológicas em 72 pacientes suspeitos: 12 em 1997, 19 em 1998 e 41 em 1999.

Uma hemocultura de um paciente (FMMR, 1997) da Serra da Ibiapaba (município de Ipú) revelou-se positiva. A cepa isolada da hemocultura (catalogada no laboratório como P. CE 882) mostrou sensibilidade a ampicilina, estreptomicina, cloranfenicol, sulfametoprim, kanamicina, e resistência à penicilina que não tem ação em bactérias gram-negativas; produziu apenas colônias vermelhas (virulentas) no meio agar vermelho Congo, revelou-se altamente patogênica para camundongos ($DL_{50} < 10$ UFC), letal para cobaias inoculados pela via percutânea; coelhos inoculados com a cepa inativada pelo formol produziram

anticorpos detectáveis pela HA. Foi evidenciada a presença dos três plasmídios clássicos da *Y. pestis* (pFra, pYV pPst) e um perfil protéico característico das cepas típicas.

Sorologia de roedores. Foram analisadas 7.873 amostras de soro de roedores sinantrópicos comensais (*Rattus rattus*) e silvestres (*Galea spixii*) resultando em 15 positificações, sendo 04 *Rattus rattus* (HA: $1/16$) e 11 *Galea spixii* (HA: $1/16 = 8$, $1/32 = 1$, $1/64 = 11$, $1/128 = 1$). A Tabela 1 mostra a distribuição por ano das amostras de soro dos roedores, analisadas e positivas e a Tabela 2 mostra a distribuição dos animais por Distrito Sanitário e foco correspondente.

Sorologia de carnívoros domésticos (cães e gatos). Foram analisadas 102.852 amostras de soro de carnívoros domésticos (cães e gatos), resultando em 890 positificações, sendo 720 cães e 170 gatos. A Tabela 1 mostra a distribuição por ano das amostras de soro analisadas, e positivas. A distribuição por Distrito Sanitário e por foco dos animais analisados e positificações é mostrada na Tabela 2. Os títulos encontrados nas amostras de soro dos carnívoros domésticos encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3 - Distribuição por ano dos títulos de anticorpos anti-F1 da *Yersinia pestis* detectados pela HA nos soros dos carnívoros domésticos (cães e gatos) analisados.

Ano	Títulos										Total
	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1.024	1/2.048	1/4.096	1/8.192	
1990	24	10	5	2	0	0	0	0	0	0	41
1991	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	9
1992	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	8
1993	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	5
1994	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2
1995	13	6	2	4	0	0	0	0	0	0	25
1996	55	28	8	1	0	0	0	0	0	0	92
1997	181	168	112	15	4	2	0	1	1	0	484
1998	6	25	22	4	2	1	1	0	1	0	62
1999	23	58	60	8	8	1	1	2	0	1	162
Total	316	305	209	34	14	4	2	3	2	1	890

DISCUSSÃO

A peste se mantém entre as populações de roedores através de ciclos de erupções epizooticas nas espécies susceptíveis resultando em rápida propagação e disseminação geográfica, seguidos de períodos de regressão com provável manutenção entre as espécies resistentes, que constituem o foco enzoótico permanente. O risco para o homem aumenta durante os períodos epizooticos, particularmente se a infecção atinge as populações de roedores de área urbana. Carnívoros domésticos (cães e gatos) e selvagens também são envolvidos no ciclo epidemiológico da infecção e são considerados valiosos indicadores da circulação da *Y. pestis* nos focos^{15,21}.

A vigilância sorológica da peste vem sendo feita no Brasil desde o início da década de 80¹⁵ e no Ceará teve início em 1987. Inicialmente, foram analisadas

amostras apenas dos casos humanos suspeitos e de roedores de locais relacionados aos casos humanos. Gradativamente foi sendo introduzida a sorologia de carnívoros domésticos (cães e gatos), iniciando em 1989 na Serra de Baturité e Chapada do Araripe, em 1990 na Serra da Ibiapaba, em 1996 na Serra do Machado. Na Serra da Pedra Branca foi realizada investigação sorológica apenas em 1997 após denúncia de um caso humano suspeito.

Depois de um período de grande atividade, a incidência da peste humana nos focos do Ceará diminuiu após 1986 (último óbito em 1976) sendo os últimos casos registrados em 1986, na Serra de Ibiapaba¹⁸. A vigilância sorológica da peste detectou elevação do número de animais com anticorpos antipestosos a partir de 1995, com pico em 1997

evidenciando a circulação do bacilo pestoso em todos os focos trabalhados principalmente no foco da Serra da Ibiapaba (Distrito Sanitário de Sobral) como se observa na Tabela 2.

A positividade foi mais alta nos cães do que entre os gatos. Conforme observado anteriormente quando são incluídos na amostragem soros de animais originados de locais afastados dos domicílios dos pacientes ocorre maior positividade em cães⁵. Em contrapartida quando são examinados apenas animais que compartilham o domicílio dos pacientes a positividade entre os gatos é mais alta^{2,3}.

Anticorpos contra a *Y. pestis* podem ser detectados a partir do 5º dia da infecção e permanecem por vários anos no homem e pelo menos por cerca de 300 dias após a infecção, em cães e gatos^{9,12,16}. O registro dos pacientes suspeitos é realizado com base na data do aparecimento dos primeiros sintomas, mas no caso dos roedores e carnívoros, o registro é feito pela data da coleta do material para exame, assim entre estes não se pode precisar a data da infecção que pode ser antiga ou recente. Entretanto as variações quantitativas sugerem contaminações dos animais em períodos distintos, considerando-se que um título alto ($\geq 1/64$) indica infecção recente.

No período 1990 a 1999, 652 casos humanos suspeitos foram analisados. Desses apenas dois foram positivos pela HA. Trabalhos anteriores sugeriram diferentes causas da baixa positividade: coleta inadequada de amostras, antibioticoterapia precoce¹, baixa sensibilidade da técnica⁴, outra etiologia como a leishmaniose bubônica¹⁷. Aragão e colaboradores⁶ analisaram amostras de soro de 160 pacientes suspeitos de peste, com reação de HA negativa, pelo teste de ELISA para diagnóstico de leishmaniose e encontraram seis pacientes positivos. Uma resposta imune insuficiente nos outros pacientes, devido à coleta precoce das amostras pode ser admitida, pois tendo a peste um período de incubação variável, 19,4% das amostras podem ter sido coletadas precocemente, isto é, dentro de 20 dias dos primeiros sintomas. Este resultado enfatiza a necessidade de uma avaliação mais criteriosa dos casos suspeitos de peste.

Inicialmente, o diagnóstico da peste no Brasil era realizado por técnicas bacteriológicas¹, entretanto desde a implantação do diagnóstico sorológico⁵ a coleta de material dos pacientes para diagnóstico bacteriológico da peste não foi mais realizada. Com o aumento do número de animais com anticorpos antipestosos e diante do grande número de pacientes sorologicamente negativos foi decidido realizar a coleta de sangue para hemocultura. Das 72 amostras analisadas, uma foi positiva e paradoxalmente, quatro amostras de soro desse paciente foram negativas pela HA. Embora surpreendente este é o terceiro caso de paciente com cultura positiva e sorologia negativa registrado no Brasil¹². Estudos realizados para verificar o poder patogênico e capacidade imunogênica da cepa isolada do paciente mostraram a presença dos três plasmídios típicos; o gene que codifica o antígeno F1 (*caf1*) localizado no plasmídio pFra foi amplificado por multiplex-PCR¹⁴. Além disso, a cepa produz a proteína F1 e os coelhos inoculados com a cepa inativada fizeram soroconversão.

Recentemente foram detectadas em outros países cepas de *Y. pestis* com novas características genéticas e multirresistência aos antimicrobianos^{11,13} o que parece ainda não estar acontecendo nos focos brasileiros, pois a cepa P. CE 882 é sensível a todos os antibióticos usados para o tratamento da peste.

Na última década a incidência da peste aumentou mundialmente e está sendo considerada pela OMS como doença reemergente. No continente americano a peste vinha ocorrendo no Peru, USA e Brasil; reaparecendo no Equador em 1998 com 14 casos fatais²². As atividades de vigilância da peste no Brasil estavam estruturadas em nível nacional sob o comando da SUCAM, FNS e FUNASA. Com a reforma do Ministério da Saúde e reorganização do Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica este programa deverá passar para a Secretaria de Saúde de cada Município. Diante da evidência do aumento de atividade pestosa no Estado do Ceará, as atividades de vigilância e controle precisam ser mantidas para evitar que este agravo se propague nas populações humanas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida CR, Almeida AMP, Vieira JBF, Guida U, Butler T. Plague in Brazil during two years of bacteriological and serological surveillance. Bulletin World Health Organization 59:591-597, 1981.
- Almeida AMP, Brasil DP, Leal NC, Melo MEB, Rego RVB, Almeida CR. Estudos bacteriológicos e sorológicos de um surto de peste no Estado da Paraíba, Brasil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 84:249-256, 1989.
- Almeida AMP, Brasil DP, Melo MEB, Leal NC, Almeida CR. Importância dos carnívoros domésticos (cães e gatos) na epidemiologia da peste nos focos do Nordeste do Brasil. Cadernos de Saúde Pública 1:49-55, 1988.
- Almeida AMP, Ferreira LCS. Evaluation of three serological tests for the detection of human plague in Northeast Brazil. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 87:87-92, 1992.
- Almeida AMP, Leal NC, Carvalho FG, Dantas Sobrinho J, Almeida CR. Plague surveillance in Brazil: 1983 - 1992. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 37:511-516, 1995.
- Aragão AI, Gomes JVM, Seoane ACM, Fiúza IR, Teixeira MJ, Almeida AMP. Estudo comparativo: peste e leishmaniose no estado do Ceará. In: Resumos do XXXV Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Guarapari, ES p. 34, 1999.
- Bahmanyar M, Cavanaugh DC. Plague Manual. Geneva. World Health Organization, 1976.
- Baltazard M. Viagem de estudo ao Brasil para a organização de um projeto de pesquisas sobre a peste. Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais 20:335-366, 1968.
- Butler T, Hudson, BW. The serological response to *Yersinia pestis* infection. Bulletin World Health Organization 55:39-42, 1977.

10. Fritz CL, Dennis DT, Tipple MA, Campbell GL, McCance CR, Gubler DJ. Surveillance for pneumonic plague in the United States during an international emergency: a model for control of imported emerging diseases. *Emerging Infectious Disease* 2:30-36, 1996.
11. Galimand M, Guiyoule A, Gerbaud G, Rasoamanana MD, Chanteau S, Carniel E, Courvalin P. Multidrug resistance in *Yersinia pestis* mediated by a transferable plasmid. *The New England Journal of Medicine* 337: 677-680, 1997.
12. Gasper PW, Barnes AM, Quan TJ, Benziger JP, Carter LG, Beard ML, Maupin GO. Plague (*Yersinia pestis*) in cats: description of experimentally induced disease. *Journal of Medical Entomology* 30:20-26, 1993.
13. Guiyoule A, Rasoamanana B, Buchrieser C, Michielis P, Chanteau S, Carniel E. Recent emergence of new variants of *Yersinia pestis* in Madagascar. *Journal of Clinical Microbiology* 35:2826-2833, 1997.
14. Leal NC, Almeida AMP. Diagnosis of plague and identification of virulence markers in *Yersinia pestis* by multiplex-PCR. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 41:339-342, 1999.
15. Perry RD, Fetherston JD. *Yersinia pestis*-etiologic agent of plague. *Clinical Microbiology Review* 10:35-66, 1997.
16. Rust JH, Cavanaugh DC, O'Shita R, Marshall JD. The role of domestic animals in the epidemiology of plague. I. Experimental infection of dogs and cats. *Journal of Infectious Diseases* 124:522-526, 1971.
17. Sousa AQ, Parise ME, Pompeu ML, Coelho Filho JM, Vasconcelos IAB, Lima JWO, Oliveira EG, Vasconcelos AW, David JR, Maguire JH. Bubonic leishmaniasis: a common manifestation of *Leishmania (Viannia) brasiliensis* infection in Ceara, Brazil. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 53:380-385, 1995.
18. Vieira JBF, Almeida AMP, Almeida CR. Epidemiologia e Controle da Peste no Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 27 (supl III):51-58, 1994.
19. World Health Organization. Plague in the Americas. Scientific Publication N° 115:44-68, 1965.
20. World Health Organization. Technical Report Series, WHO Expert Committee on Plague, Fourth Report, 447:23-25, 1970.
21. World Health Organization/CDS/CSR/EDC/99. Plague Manual. Epidemiology, Distribution, Surveillance and Control, 1999.
22. World Health Organization. Human plague in 1998 and 1999. *Weekly Epidemiological Record* 42:338-344, 2000.