



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



HADASSA DE ALMEIDA SOUZA

**BIODIVERSIDADE DE PULGAS NO PERÍODO EPIDÊMICO E PÓS EPIDÊMICO
EM ÁREAS FOCAIS DE TRANSMISSÃO DA PESTE NO ESTADO DE
PERNAMBUCO, BRASIL (1966-2008)**

Recife
2025

HADASSA DE ALMEIDA SOUZA

**BIODIVERSIDADE DE PULGAS NO PERÍODO EPIDÊMICO E PÓS EPIDÊMICO
EM ÁREAS FOCAIS DE TRANSMISSÃO DA PESTE NO ESTADO DE
PERNAMBUCO, BRASIL (1966-2008)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas

Área de concentração: Meio Ambiente.

Orientadora: Alzira Maria Paiva de Almeida

Recife
2025

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Souza, Hadassa de Almeida.

Biodiversidade de pulgas no período epidêmico e pós-epidêmico em áreas focais de transmissão da peste no Estado de Pernambuco, Brasil (1966-2008) / Hadassa de Almeida Souza. - Recife, 2025. 83f.: il.

Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2025.

Orientação: Alzira Maria Paiva de Almeida.

1. Siphonaptera; 2. Zoonoses; 3. Doenças de roedores; 4. Ecologia; 5. Mudanças climáticas; 6. Yersinia pestis. I. Almeida, Alzira Maria Paiva de. II. Título.

UFPE-Biblioteca Central

HADASSA DE ALMEIDA SOUZA

**BIODIVERSIDADE DE PULGAS NO PERÍODO EPIDÊMICO E PÓS EPIDÊMICO
EM ÁREAS FOCAIS DE TRANSMISSÃO DA PESTE NO ESTADO DE
PERNAMBUCO, BRASIL (1966-2008)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 22/04/2025

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Alzira Maria Paiva de Almeida (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Igor Vasconcelos Rocha (Examinador Externo)
Instituto Aggeu Magalhães – FIOCRUZ PE

Dr. João Luiz de Lemos Padilha Pitta (Examinador Externo)
Instituto Aggeu Magalhães – FIOCRUZ PE

A Deus, Criador dos céus e da terra, dono
de toda a sabedoria e ciência, pois tudo
provém Dele e é para Sua glória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me sustenta e guia os meus passos, não chegaria até aqui sem sua maravilhosa graça sobre minha vida.

Aos meus pais, Abel e Lúdia, por todo o amor e sacrifícios feitos ao longo da minha vida, proporcionando-me uma educação que me possibilitou estar aqui hoje. E ao meu irmão Lucas, que sempre acreditou em meu potencial.

Ao meu noivo e futuro esposo, Awdrey, que sempre acreditou e apoiou todos os meus sonhos, tornando a minha vida mais leve desde que chegou.

À Doutora Alzira Almeida, que me orienta desde a iniciação científica, pela oportunidade, ensinamentos, confiança e apoio ao longo dessa trajetória.

Aos meus companheiros de pesquisa, Bruna, Marina, Júlia e Diego pelo apoio no levantamento de dados e georreferenciamento de localidades, além dos conhecimentos compartilhados e amizade que tornaram essa jornada mais leve e prazerosa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado que possibilitou a realização deste trabalho.

Ao Instituto Aggeu Magalhães / FIOCRUZ PE e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas/UFPE, pelo apoio técnico e científico.

À todos que contribuíram de diversas formas para a realização deste trabalho, minha sincera gratidão pelo apoio e colaboração!

"Um pouco de ciência nos afasta
de Deus. Muito, nos aproxima."

LOUIS PASTEUR

RESUMO

As pulgas, além de importantes vetores da peste, também podem contribuir para a perpetuação da infecção nos períodos interepidemiológicos. A peste, uma zoonose de roedores que pode infectar os humanos, circula em focos naturais em diversas regiões do mundo, inclusive no Brasil. O objetivo deste trabalho foi estudar a diversidade e a distribuição espacial das pulgas em três áreas focais de transmissão do estado de Pernambuco localizadas na Chapada do Araripe, Planalto da Borborema e Serra do Triunfo no período de 1966 a 2008. Dados históricos do acervo do Serviço de Referência Nacional de Peste foram analisados com ferramentas de Sistema de Informação Geográfica, estatística descritiva, testes não paramétricos e índices ecológicos. Observou-se maior diversidade de pulgas na Serra do Triunfo (1979-1983) e no período pós-epidêmico (1994-2008) de peste na Chapada do Araripe. A *Polygenis spp.* predominou durante todo o período de estudo e em todos os focos, principalmente no período epidêmico (1966-1980) de peste na Chapada do Araripe, mas houve uma queda significativa de sua abundância no período pós-epidêmico, assim como sua associação com o *Necromys lasiurus*. Em contrapartida a *Xenopsylla cheopis* teve um aumento significativo e permaneceu fortemente associada ao *Rattus rattus*. Em todos os focos, com exceção do Planalto da Borborema, houve uma correlação negativa entre a precipitação e a abundância de pulgas, especialmente da espécie *Polygenis spp.* ($r_s = -0,71$; $p < 0,01$) que se correlacionou positivamente com os casos humanos na Chapada do Araripe ($r_s = 0,91$; $p < 0,01$). A maioria das pulgas infectadas foi registrada no município de Exu e a *Pulex irritans* teve maior prevalência de infecção (18%; 83/461).

Palavras-chave: Siphonaptera, Zoonoses, Doenças de Roedores, Ecologia, Mudanças climáticas, *Yersinia pestis*.

ABSTRACT

Fleas, in addition to being important vectors of plague, may also contribute to the persistence of infection during interepizootic periods. Plague, a rodent-borne zoonosis that can infect humans, circulates in natural foci in various regions of the world, including Brazil. The aim of this study was to analyze the diversity and spatial distribution of fleas in three plague-endemic areas of the state of Pernambuco, located in the Chapada do Araripe, Planalto da Borborema, and Serra do Triunfo, during the period from 1966 to 2008. Historical data from the archive of the Serviço de Referência Nacional de Peste were analyzed using Sistema de Informação Geográfica tools, descriptive statistics, non-parametric tests, and ecological indices. Greater flea diversity was observed in Serra do Triunfo (1979–1983) and during the post-epidemic period (1994–2008) in Chapada do Araripe. *Polygenis spp.* predominated throughout the study period and across all foci, especially during the epidemic period (1966–1980) in Chapada do Araripe, but there was a significant drop in its abundance during the post-epidemic period, as well as in its association with *Necromys lasiurus*. In contrast, *Xenopsylla cheopis* showed a significant increase and remained strongly associated with *Rattus rattus*. In all foci, except for the Planalto da Borborema, there was a negative correlation between precipitation and flea abundance, especially of *Polygenis spp.* ($r_s = -0.71$; $p < 0.01$), which was positively correlated with human cases in Chapada do Araripe ($r_s = 0.91$; $p < 0.01$). Most infected fleas were recorded in the municipality of Exu, and *P. irritans* showed the highest infection prevalence (18%; 83/461). In conclusion, the predominance of *Polygenis spp.*, associated with *N. lasiurus*, suggests the role of this rodent and its flea as amplifiers of plague during epizootics that result in human cases. Furthermore, rainfall in the previous semester influenced the increase in flea abundance, particularly of *Polygenis spp.*, and consequently the rise in human cases in the following semester. The majority of infected fleas were recorded in the municipality of Exu, and *Pulex irritans* showed the highest prevalence of infection (18%; 83/461).

Keywords: Siphonaptera, Zoonoses, Rodent-borne diseases, Ecology, Climate change, *Yersinia pestis*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

DISSERTAÇÃO

Figura 1 –	Ciclo de vida da pulga	22
Figura 2 –	Morfologia de uma pulga fêmea adulta	23
Figura 3 –	Mapa mundial de casos de peste notificados à Organização Mundial da Saúde no século XXI	28
Figura 4 –	Mapa do Brasil mostrando os estados, biomas e áreas de foco da peste	30
Figura 5 –	Modelo de metapopulação como um sistema reservatório de <i>Y. pestis</i>	33
Figura 6 –	Mecanismos de transmissão da <i>Y. pestis</i> por pulgas	37
Figura 7 –	Micrografia eletrônica de varredura de <i>Y. pestis</i> em espinhos proventriculares de uma pulga	37
Figura 8 –	Linha do tempo do controle da peste e dos desenvolvimentos institucionais no Brasil	39

ARTIGO 1: Biodiversidade e distribuição espacial de pulgas do foco de peste da Chapada do Araripe no estado de Pernambuco, Brasil (1966 – 2008)

Figura 1 –	Áreas de foco de peste em Pernambuco	44
Figura 2 –	Variação sazonal das pulgas na área focal de transmissão da peste da Chapada do Araripe, Pernambuco (1966 – 2008).	49
Figura 3 –	Diagrama de Sankey da associação entre espécies de pulgas e seus hospedeiros durante o período epidêmico (1966 – 1980) e pós-epidêmico (1994-2008) da peste no foco da Chapada do Araripe	51
Figura 4 –	Associação de pulgas infectadas por <i>Y. pestis</i> com seus hospedeiros durante período epidêmico (1966-1980) na área focal de transmissão da peste da Chapada do Araripe,	53

Pernambuco.

Figura 5 –	Distribuição espacial de pulgas coletadas no foco de peste na Chapada do Araripe em Pernambuco (1966-2008)	54
------------	--	----

ARTIGO 2: Biodiversidade de pulgas em três áreas de transmissão de peste do estado de Pernambuco, Brasil: Chapada do Araripe, Planalto da Borborema e Serra do Triunfo (1979– 1983)

Figura 1 –	Áreas de foco de peste em Pernambuco	60
Figura 2 –	Variação sazonal das pulgas nos focos de peste em Pernambuco (1979-1983).	64
Figura 3 –	Diagrama de Sankey da associação entre espécies de pulgas e seus hospedeiros nos focos de peste em Pernambuco (1979-1983).	66
Figura 4 –	Distribuição espacial de pulgas coletadas no foco de peste na Chapada do Araripe em Pernambuco (1979-1983).	68
Figura 5 –	Distribuição espacial de pulgas coletadas no foco de peste no Planalto da Borborema em Pernambuco (1979-1983)	68
Figura 6 –	Distribuição espacial de pulgas coletadas no foco de peste na Serra do Triunfo em Pernambuco (1979-1983)	69

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1: Biodiversidade e distribuição espacial de pulgas do foco de peste da Chapada do Araripe no estado de Pernambuco, Brasil (1966 – 2008)

Tabela 1 –	Diversidade de pulgas nos períodos epidêmico (1966-1980) e pós-epidêmico (1994-2008) na área focal de transmissão da peste da Chapada do Araripe, Pernambuco	47
Tabela 2 –	Parâmetros de diversidade de pulgas coletadas nos períodos epidêmico (1966-1980) e pós-epidêmico (1994-2008) na área focal de transmissão da peste da Chapada do Araripe, Pernambuco	47
Tabela 3 –	Pulgas infectadas por <i>Y. pestis</i> durante o período epidêmico (1966 – 1980) na área focal de transmissão da peste da Chapada do Araripe, Pernambuco	52

ARTIGO 2: Biodiversidade de pulgas em três áreas de transmissão de peste do estado de Pernambuco, Brasil: Chapada do Araripe, Planalto da Borborema e Serra do Triunfo (1979– 1983)

Tabela 1 –	Diversidade de espécies de pulgas coletadas nos focos de Peste em Pernambuco entre 1979 e 1983.	62
Tabela 2 –	Parâmetros de diversidade de pulgas coletadas nos focos de Peste em Pernambuco entre 1979 e 1983	62

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SRP	Serviço de Referência Nacional em Peste
SNP	Serviço Nacional de Peste
DSE	Departamento de Saúde do Estado
DNS	Departamento Nacional de Saúde
DNERu	Departamento Nacional de Endemias Rurais
PPP	Plano Piloto de Peste
SISPESTE	Sistema de Informação Nacional de Peste
LACEN	Laboratórios Centrais Estaduais
EUA	Estados Unidos da América
RDC	República Democrática do Congo
UFC	Unidade Formadora de Colônia
BHI	Brain Heart Infusion
BAB	Blood Agar Base
PHA	Passive Hemagglutination Assay
PHI	Passive Hemagglutination Inhibition
A-ELISA	Antigen Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
RDT	Rapid Diagnostic Test
PCR	Polymerase Chain Reaction
LAMP	Loop-mediated Isothermal Amplification

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	OBJETIVOS	17
2.1	GERAL	17
2.2	ESPECÍFICOS	17
3	REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1	A PULGA	18
3.1.1	Taxonomia e distribuição geográfica	18
3.1.2	Ciclo de vida e morfologia	19
3.1.3	Ecologia do parasitismo	23
3.1.4	A importância para a saúde pública	24
3.2	A PESTE	25
3.2.1	Agente etiológico: <i>Yersinia pestis</i>	25
3.2.2	Manifestações clínicas	26
3.2.3	Epidemiologia: Passado e presente	26
3.2.4	Peste no Brasil e Pernambuco	28
3.2.5	Ciclos da Peste e fatores envolvidos	30
3.4	CONTROLE E VIGILÂNCIA DA PESTE	37
3.4.1	Histórico do combate a peste no Brasil	37
3.4.2	Monitoramento atual	40
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1	ARTIGO 1: Biodiversidade e distribuição espacial de pulgas do foco de peste da Chapada do Araripe no estado de Pernambuco, Brasil (1966 – 2008).	41
4.2	ARTIGO 2: Biodiversidade de pulgas em três áreas de transmissão de peste do estado de Pernambuco, Brasil: Chapada do Araripe, Planalto da Borborema e Serra do Triunfo (1979– 1983).	59
5	CONCLUSÕES	71
6	SÚMULA CURRICULAR	72
	REFERÊNCIAS	75

1 INTRODUÇÃO

As pulgas são os principais vetores da peste, uma zoonose de roedores causada pela bactéria *Yersinia pestis*, que pode infectar outros mamíferos, inclusive os humanos, seja através das picadas das pulgas, contato com fluidos ou tecidos contaminados, ou inalação de gotículas respiratórias. A peste pode se manifestar em diferentes formas clínicas, sendo as principais a peste bubônica, septicêmica e pneumônica, além de outras manifestações clínicas menos comuns, como a meningea e faríngea, oftálmica e digestiva (Barbieri *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2023; Brasil, 2008).

A peste causou três grandes pandemias que marcaram a história, incluindo a "Peste de Justiniano" entre 541 e 750 d.C., a "Peste Negra" que se estendeu até o século XIX, dizimando um terço da população europeia e a terceira pandemia, que se originou na China em 1772, espalhando-se ao redor do mundo. Estudos genômicos indicam que, durante a segunda pandemia, a *Yersinia pestis* já havia passado por uma importante evolução ao adquirir o gene *ymt*, essencial para sua sobrevivência no intestino das pulgas e adaptação ao ciclo de transmissão vetorial (Gage e Kosoy, 2005, Barbieri, 2021).

Apesar da menor incidência de casos, a peste ainda circula em focos naturais em várias regiões do mundo, sendo endêmica na África, Ásia e Américas (WHO, 2019). A doença também pode reaparecer em áreas após longos períodos de silêncio epidemiológico e pode provocar uma situação de Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN) ou internacional (ESPII) (Stenseth *et al.*, 2008). A incidência sazonal da peste está intimamente ligada a fatores bióticos, como a densidade populacional de seus hospedeiros e vetores, bem como a fatores abióticos, como mudanças climáticas e ambientais (Grácio e Grácio, 2017; Zeppelini *et al.*, 2016 Rasoamalala *et al.*, 2024; Bezerra *et al.*, 2024).

No Brasil, foi introduzida pelo porto de Santos, em São Paulo, durante sua terceira pandemia em 1899, disseminando-se por diversas cidades portuárias chegando no Recife, em Pernambuco, em 1902. A partir de 1906, espalhou-se para o interior do país e áreas rurais, estabelecendo focos naturais que estão distribuídos desde o Ceará até o norte de Minas Gerais e na Serra

dos Órgãos (Almeida *et al.*, 2020; Brasil, 2008). A presença de anticorpos específicos para a *Y. pestis* continua a ser detectada entre animais sentinela até os dias atuais nas áreas onde são realizadas atividades de vigilância (Costa *et al.*, 2017; SRP- informação pessoal).

Embora os mecanismos de conservação da peste nas áreas focais entre os períodos interepizoóticos ainda não estejam completamente esclarecidas, algumas evidências sugerem um importante papel das pulgas como reservatórios da *Y. pestis* (Zeppelini *et al.*, 2016). Alguns estudos demonstram que o índice de pulgas é um indicador eficaz para prever surtos de peste (Eisen *et al.* 2019; Mou *et al.*, 2022). Além disso, padrões de diversidade de espécies de pulgas, destacam a importância de estudar a diversidade desses vetores para compreender sua influência na persistência de *Y. pestis* e na dinâmica da doença (Zeppelini *et al.*, 2016).

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Analisar a diversidade e distribuição espacial das pulgas no período de 1966 a 2008 nas áreas focais de peste no estado de Pernambuco, Brasil.

2.2 ESPECÍFICOS

- Comparar a diversidade e distribuição espacial de pulgas no período epidêmico e pós epidêmico de peste na área de foco da Chapada do Araripe no estado de Pernambuco;
- Comparar a diversidade e distribuição espacial de pulgas em três áreas de foco de peste no estado de Pernambuco (Chapada do Araripe, Serra do Triunfo e Planalto da Borborema);
- Avaliar a influência de variáveis ambientais (precipitação e altitude) na biodiversidade e prevalência das pulgas.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 A PULGA

3.1.1 Taxonomia e distribuição geográfica

As pulgas são insetos hematófagos que pertencem à ordem *Siphonaptera*, um grupo monofilético que evoluiu da ordem *Mecoptera* durante o início do período Cretáceo, há 130 milhões de anos atrás (Durden e Hinkle, 2019; Krasnov, 2008). Esta ordem compreende quase 3.000 espécies e subespécies descritas globalmente e sua classificação tem sido revisada ao longo do tempo.

Lewis (1998) organizou essa diversidade em 238 gêneros e 15 famílias, incluindo *Ancistropsyllidae*, *Ceratophyllidae*, *Chimaeropsyllidae*, *Coptopsyllidae*, *Ctenophthalmidae*, *Hystrichopsyllidae*, *Ischnopsyllidae*, *Leptopsyllidae*, *Malacopsyllidae*, *Pulicidae*, *Pygiopsyllidae*, *Rhopalopsyllidae*, *Stephanocircidae*, *Vermipsyllidae*, *Xiphiopsyllidae*. No entanto, estudos mais recentes, como o de Bossard *et al.* (2023), expandiram essa classificação, reconhecendo 249 gêneros e 19 famílias, com a inclusão de novas famílias como *Lycopsyllidae*, *Macropsyllidae* e *Stenoponiidae*, *Stivaliidae* e *Tungidae*.

A identificação das espécies de pulgas é confirmada por meio de análise molecular (Whiting *et al.*, 2008), porém baseia-se principalmente na comparação de suas genitálias e na presença e distribuição de cerdas, espinhos e ctenídios em seu corpo (Bitam *et al.*, 2010). Essas características são frequentemente adaptadas ao comportamento e à morfologia dos hospedeiros, sugerindo uma coevolução. Por exemplo, pulgas de roedores terrestres sem pelo especializado, geralmente não possuem pentes e cerdas especializadas. Em contraste, pulgas de hospedeiros arbóreos, como *Myoxopsylla* dos roedores da Família *Glirinae* têm pentes bem desenvolvidos com muitos espinhos (Krasnov, 2008).

A maioria das espécies de pulgas foi descoberta na primeira metade do século XX e os principais taxonomistas responsáveis pela descrição de pulgas foram Jordan e Rothschild, que juntos descreveram mais de 600 espécies e subespécies (Linardi, 2023). Embora a classificação das pulgas esteja relativamente avançada e considerada por alguns autores como completamente estudada, a taxonomia está em constante mudança devido à

descoberta de novas espécies em regiões mais remotas e menos exploradas anteriormente como a Tasmânia na Austrália, sudeste da Ásia e África central (Krasnov, 2008).

Esses insetos estão distribuídos geograficamente em todos os continentes, desde a região Ártica até a Antártica, com maior biodiversidade em regiões temperadas, habitando uma variedade de habitats e hospedeiros (Linardi e Guimarães, 2000). Sua distribuição pelo hemisfério sul é caracterizada por famílias e subfamílias pequenas, em contraste, as maiores famílias de pulgas (*Hystrihopsyllidae*, *Ceratophyllidae*, *Leptopsyllidae* e *Ischnopsyllidae*) habitam principalmente o hemisfério norte (Krasnov, 2008).

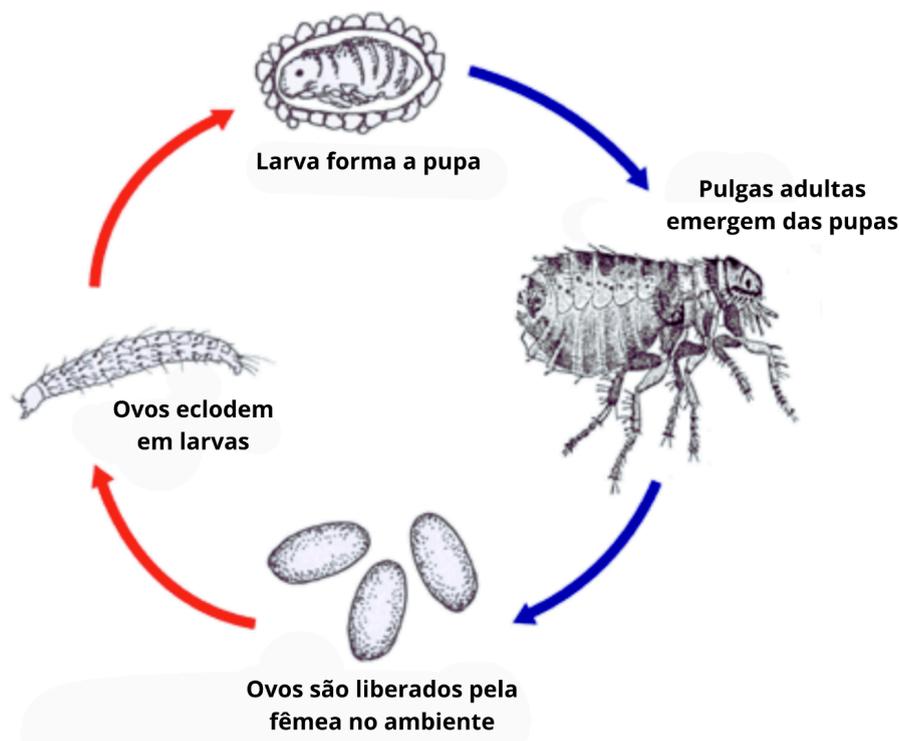
Algumas espécies de pulgas possuem uma distribuição ampla, como *Pulex irritans*, *Xenopsylla cheopis*, *Ctenocephalides canis* e *Ctenocephalides felis*. Apesar do cosmopolitismo, essas pulgas não ocorrem uniformemente pois estão agrupadas onde condições ambientais e hospedeiros favoráveis são predominantes. Por outro lado, existem espécies que estão associadas a habitats específicos, como a *Tunga penetrans*, encontrada em praias e solos arenosos em ambientes tropicais e subtropicais ou a *Glaciopsyllus antarcticus* que é endêmica na Antártica (Krasnov, 2008; Bitam *et al.*, 2010).

3.1.2 Ciclo de vida e morfologia

As pulgas são insetos holometábolos, apresentando um ciclo de vida complexo que envolve três estágios larvários e uma fase pupal antes de se tornar adulta. Em condições ideais de temperatura e umidade, esse ciclo pode durar de 25 a 30 dias (Linardi, 2016) (Figura 1).

O acasalamento das pulgas acontece após a refeição sanguínea nos seus hospedeiros que estimula o amadurecimento dos ovários das fêmeas e a dissolução do tampão testicular dos machos. Logo após o acasalamento e a fertilização, as pulgas fêmeas iniciam a oviposição que ocorre preferencialmente no hospedeiro, e geralmente os ovos são depositados entre os pelos ou nos ninhos dos hospedeiros, embora possam também fazê-lo no chão (piso, carpete ou assoalho) dos prédios ou habitações, em pontos que tenham bastante detritos e poeira (Krasnov, 2008; Linardi, 2016).

Figura 1 - Ciclo de vida de uma pulga



Fonte: Centers for Disease Control and Prevention (CDC)

A oviposição está intimamente relacionada à idade do inseto, diminuindo com o envelhecimento além da influência de fatores ambientais, especialmente a umidade e temperatura, sendo a faixa de 25°C a 30°C considerada a mais favorável para a oviposição e desenvolvimento das pulgas e a quantidade de ovos varia conforme o estado nutricional e as espécies das pulgas. Além disso, características ecológicas do hospedeiro influenciam a reprodução, já que espécies que compartilham o mesmo hospedeiro frequentemente apresentam ciclos reprodutivos semelhantes (Krasnov, 2008; Linardi, 2016).

Os ovos têm formato ovóide ou elipsóides e coloração esbranquiçada, com tamanho variando entre 0,3 a 0,7 mm. Sua eclosão é influenciada pela condição do meio podendo eclodir em um a 10 dias, dependendo da temperatura e umidade. Embora os ovos sejam pegajosos e possam aderir brevemente ao pelame do hospedeiro, podem cair em rachaduras e frestas no solo ou perto de ninhos e materiais de cama quando o animal se movimenta ou se coça, por exemplo, dispersando a prole no ambiente (Linardi e Guimaraes, 2000; Durden e Hinkle, 2019).

As larvas são esbranquiçadas com formato vermiforme, possuem cerdas e um aparelho bucal mastigador que possibilita consumo de materiais

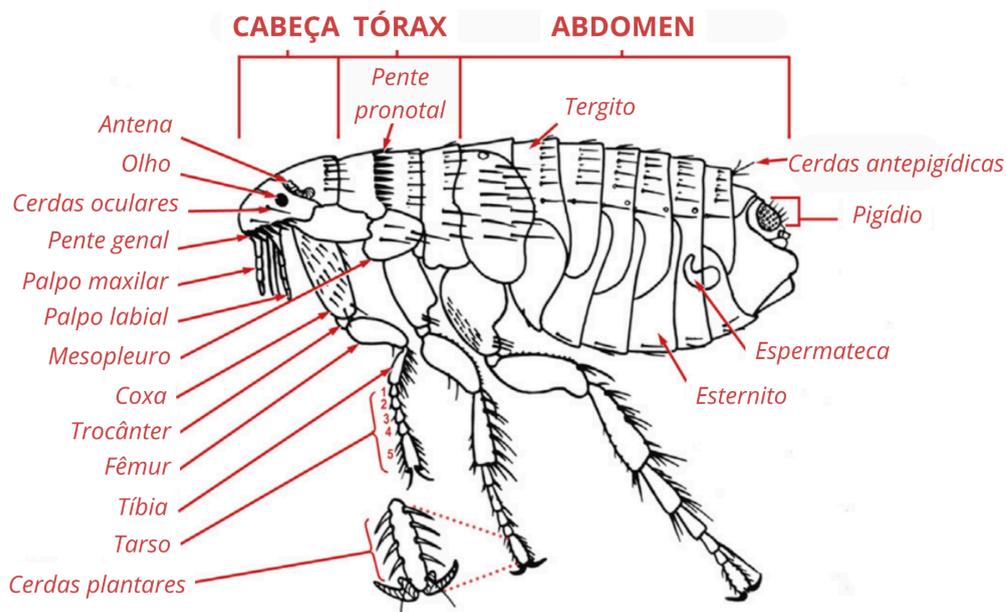
orgânicos do meio, além de apêndices anais utilizados como estruturas de locomoção. Nessa fase de vida, as larvas apresentam fototaxia negativa, por isso são encontradas frequentemente no substrato das tocas dos hospedeiros ou profundamente nas fibras de carpetes e colchões ou no próprio hospedeiro, podendo se alimentar dos derivados da pele, ou de fezes de pulgas adultas contendo o sangue seco dos hospedeiros (Linardi, 2016; Linardi e Guimaraes, 2000).

No terceiro estágio do desenvolvimento, a larva expulsa todo o conteúdo do seu intestino e tece um casulo para transformar-se em pupa. O casulo consiste em uma estrutura ovóide, alongada e esbranquiçada que serve como uma barreira física para proteger a pupa, apresentando uma consistência pegajosa capaz de aderir partículas do meio e se camuflar no ambiente. Ele é formado por fios de seda produzidos pelas glândulas salivares, com a parede interna construída a partir de uma substância secretada pelo epitélio intestinal e/ou pelos túbulos de Malpighii (Linardi e Guimaraes, 2000; Krasnov, 2008).

A emergência de pulgas adultas a partir das pupas é estimulada por pressão mecânica e calor, seja pelo deslocamento de hospedeiros nas proximidades ou abertura de portas e janelas em ambientes fechados. Se a temperatura for favorável ($\pm 20^{\circ}\text{C}$), dentro de 7-10 dias depois, um pré-adulto desenvolve-se dentro do casulo. Contudo, se as condições ambientais forem desfavoráveis, a pulga pode permanecer na fase pupal por vários meses, chegando até a um ano (fenômeno de diapausa). Em *Ctenocephalides felis*, a emergência de adultos das pupas é de 93,3%, com as fêmeas emergindo antes dos machos em aproximadamente uma semana (Wimsatt e Biggins, 2009; Linardi, 2016).

Pulgas adultas apresentam corpo delgado com aproximadamente 1 a 8 mm de comprimento, com um exoesqueleto rígido de quitina. O corpo das pulgas é segmentado e composto pela cabeça, tórax e abdômen e três pares de patas. A cabeça das pulgas está firmemente conectada ao protórax, formando com ele um complexo frontal móvel que inclui placas maxilares, antenas curtas alojadas em fossas antenais, peças bucais adaptadas para perfuração e sucção, olhos bem desenvolvidos compostos por agrupamentos de ocelos podendo apresentar um ctenídio genal na margem ventral da cabeça (Krasnov, 2008; Durden e Hinkle, 2019) (Figura 2).

Figura 2 - Morfologia de uma pulga fêmea adulta



Fonte: Durden e Hinkle (2019)

O abdome se divide em 10 segmentos (tergitos e esternitos) e o tórax é composto por três segmentos (protórax, mesotórax e metatórax), cada um associado a um par de pernas. As pernas traseiras são aumentadas e especializadas para realizar saltos com cerca de 150 vezes o comprimento da pulga. Esta capacidade se deve à resilina, uma proteína elastomérica presente no metatórax da pulga (Linardi e Guimaraes, 2000; Durden e Hinkle, 2019) (Figura 2).

Na região do último tergito abdominal, existe um órgão sensorial chamado sensílio, que detecta movimentos do ambiente e temperatura, auxiliando na detecção de hospedeiros e em algumas espécies também auxilia no processo de acasalamento (Krasnov, 2008; Bitam *et al.*, 2010). Além disso, o corpo das pulgas possui cerdas voltadas para trás, que dificultam sua eliminação do hospedeiro, quando se coça ou sacode o corpo (Linardi e Guimaraes, 2000; Durden e Hinkle, 2019) (Figura 2).

Durante a alimentação, as pulgas perfuram a pele do hospedeiro e sugam o sangue, que passa pela faringe, esôfago e proventrículo, uma estrutura valvular coberta de espinhos que auxilia no transporte do sangue até o intestino médio. A digestão se inicia com movimentos peristálticos e

pulsações contínuas dos músculos do proventrículo, além da contribuição de seus espinhos no desagregamento dos glóbulos vermelhos. A digestão finaliza em poucas horas com a hemólise completa e a liquefação do sangue (Hinnebusch, 2021; Hinnebusch, 2005).

A estrutura genital das pulgas fêmeas é arredondada e consiste em vagina, ducto espermático e espermateca, onde são armazenados os espermatozoides após o acasalamento (Figura 2). Nos machos a estrutura genital é mais complexa, composta de claspers emparelhadas, edeago (pênis) e hastes penianas, com a parte posterior voltada para cima. O tamanho das pulgas difere entre os sexos, com dimorfismo sexual tendencioso para as fêmeas (Linardi, 2016; Durden e Hinkle, 2019).

3.1.3 Ecologia do parasitismo

As pulgas são generalistas quanto aos seus hospedeiros, mas parasitam principalmente mamíferos, embora também possam infestar aves em menor escala e, ocasionalmente, répteis. Entre os hospedeiros mamíferos, cerca de 74% deles são roedores, conhecidos como reservatório de diversas doenças, o que pode facilitar a disseminação de zoonoses por meio da vetorização pelas pulgas. No entanto, a suscetibilidade às infecções das espécies de roedores não necessariamente implica em risco de transbordamento zoonótico (Linardi, 2023; Gibb *et al.*, 2020).

Entre os fatores que influenciam a disseminação de zoonoses, a perda da biodiversidade das espécies hospedeiras é um dos fenômenos principais. Isso faz parte da hipótese do "efeito diluidor", descrito primeiramente por Ostfeld e Keesing (2000) no contexto da doença de Lyme na América do Norte, onde observaram que a biodiversidade pode contribuir para a diluição de agentes patogênicos e a redução do risco de doenças zoonóticas. Gibb *et al.* (2020) destacam o impacto da ação antrópica no desencadeamento de doenças zoonóticas, uma vez que a biodiversidade é perdida e a abundância de espécies zoonóticas eficazes aumenta em ecossistemas dominados pelo homem.

Outros estudos comprovam esse efeito e, confirmam que a alta diversidade *protege* os humanos contra a transmissão de muitos patógenos existentes (Keesing *et al.*, 2010; Civitello *et al.*, 2015; Ostfeld e Keesing, 2012).

No entanto, evidências sugerem que o efeito diluidor não é universal e pode ser idiossincrático (Salkeld *et al.*, 2013), pois em algumas circunstâncias o aumento da diversidade de espécies pode levar ao aumento da densidade do hospedeiro específico do patógeno ou de seus vetores, provocando o efeito de amplificação. Portanto o efeito do aumento da diversidade depende da composição da comunidade de espécies, seus papéis na dinâmica da doença e suas interações com outros hospedeiros, vetores ou patógenos (Luis *et al.*, 2018; Ostfeld e Keesing, 2017).

A escolha pelos seus hospedeiros varia conforme as espécies de pulgas, com algumas tendo associações específicas, como a *Spilopsyllus cuniculi* que possui uma relação mais específica com os coelhos europeus. Em contraste, a *P. irritans*, embora conhecida como a "pulga humana", atualmente é frequentemente encontrada parasitando carnívoros. Da mesma forma, a *X. cheopis* considerada a pulga do rato oriental (*Rattus rattus*), apresenta uma grande valência ecológica, sendo capaz de parasitar cães, gatos, aves e até mesmo humanos (Durden e Hinkle, 2019; Bitam *et al.*, 2010).

A interação complexa entre parasitas e hospedeiros pode influenciar a dinâmica populacional das espécies envolvidas, em níveis espaciais e temporais. A pressão seletiva dos parasitas pode levar a adaptações evolutivas nos hospedeiros, como o aumento da resistência imunológica ou ajustes nas taxas reprodutivas. Da mesma forma, os hospedeiros também podem influenciar a estrutura das comunidades parasitárias, por meio da diversidade de suas espécies, condição corporal e densidade populacional (Thomas *et al.*, 2000; Kessy *et al.*, 2024).

3.1.4 Importância para a saúde pública

As pulgas representam riscos para saúde pública, causando problemas à saúde humana e animal. A picada da pulga e a inoculação de sua saliva podem ter ação irritativa, inflamatória e espoliativa, provocando reações alérgicas com a presença de pápulas eritematosas e edematosas com pontos hemorrágicos na pele do hospedeiro, podendo levar pequenos animais a anemia e até a morte, em casos de infestação severa (Linardi e Guimaraes, 2000; Linardi, 2016).

Além disso, as pulgas estão envolvidas na transmissão de diversas

doenças infecciosas aos seus hospedeiros, como viroses, riquetsioses, doenças bacterianas, protozooses e helmintoses. Elas podem atuar como vetores biológicos, permitindo a multiplicação dos agentes etiológicos em seu interior, ou como hospedeiros intermediários, fazendo parte da conclusão do ciclo biológico de alguns parasitas. Além disso, as pulgas podem servir como reservatórios de diversas zoonoses (Linardi e Guimaraes, 2000).

Mais de 200 espécies de pulgas já foram encontradas naturalmente infectadas com *Y. pestis* (Dubynskiy *et al.*, 2016; Krasnov *et al.*, 2006), o agente etiológico da peste. Importantes vetores de peste incluem espécies do gênero *Xenopsylla*, amplamente distribuídas pelo mundo, como a *X. cheopis*, historicamente associada às pandemias de peste bubônica, a *X. brasiliensis*, encontrada na África, Índia e América do Sul, e *Xenopsylla astia*, presente principalmente na Indonésia e no Sudeste Asiático (Bitam *et al.*, 2010). Na América do Norte, destacam-se as pulgas *Oropsylla tuberculata cynomuris* e *Oropsylla hirsuta*, associadas aos cães-da-pradaria e a *Oropsylla montana*, que infesta esquilos terrestres e esquilos-das-rochas, ambos altamente suscetíveis à doença (Eisen *et al.*, 2006).

No Brasil, especificamente na região Nordeste, as espécies *Polygenis tripus* e *Polygenis b. jordani* foram encontradas naturalmente infectadas por *Y. pestis* (Fernandes *et al.*, 2020, Almeida *et al.*, 1985; Brasil *et al.*, 1989; Oliveira *et al.*, 2009), enquanto no Sudeste prevalecem *Polygenis rimatus* e *Polygenis pradoi*, frequentemente associadas ao roedor silvestre *Akodon cursor* (Carvalho *et al.*, 2001). Em outras regiões endêmicas, como Madagascar, destacam-se *X. cheopis* e *Synopsyllus fonquerniei* como principais vetores e na Uganda a *C. felis* foi associada à surtos de peste (Eisen *et al.*, 2008).

3.2 A PESTE

3.2.1 Agente etiológico: *Yersinia pestis*

A *Y. pestis* pertence à família *Enterobacteriaceae* e ao gênero *Yersinia* que contém mais de 25 espécies, porém apenas três delas são patogênicas: *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* e *Y. enterocolitica*. No contexto genômico a *Y. pestis* apresenta alta homologia com a *Y. pseudotuberculosis*, entretanto, eventos envolvendo alterações genéticas permitiram o desenvolvimento de

mecanismos que divergem tanto em aspectos bioquímicos e fisiológicos, quanto a atributos etiológicos das doenças causadas por esses patógenos (Demeure *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2004; Francis *et al.*, 2019).

Este microrganismo é um bacilo gram-negativo, não esporulado e imóvel, que cresce em meios comuns como o Brain Heart Infusion Broth (BHI) e Blood Agar Base (BAB), dentro de 24 a 72 h, à uma temperatura ótima de 28 a 30°C, e valores de pH entre 7,4 e 7,6, podendo permanecer viável em fezes de pulgas, escarros, tecidos infectados ou até mesmo no solo em baixas temperaturas, não tolerando temperaturas acima de 40 °C (Demeure *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2023).

Inovações desenvolvidas recentemente têm facilitado o cultivo e a identificação e a preservação da *Y. pestis* como o caldo CYP, um meio de cultivo enriquecido com inibidores do crescimento de contaminantes ambientais em amostras de materiais de campo e capaz de recuperar cepas antigas de *Y. pestis* e um novo protocolo de liofilização para preservação da bactéria em um estado viável, para um armazenamento de longo prazo (Rocha *et al.*, 2023; 2024).

A capacidade da peste ser transmitida por picada de pulga representa uma adaptação evolutiva recente que diferenciou a *Y. pseudotuberculosis* em *Y. pestis*, marcada pela obtenção dos plasmídeos de virulência: pPCP1, que codifica a proteína Pla (ativador plasminogênio), e pMT1, que codifica a proteína capsular (Fração 1 ou F1) e a toxina murina (Ymt) ou fosfolipase D (PLD) (Zhou *et al.*, 2004). A Ymt possibilita a sobrevivência e colonização da *Y. pestis* no intestino médio das pulgas, enquanto a Pla favorece a disseminação no organismo do hospedeiro. Já o antígeno F1 atua inibindo a fagocitose por células do sistema imune do hospedeiro mamífero e é altamente imunogênico (Pouillout *et al.*, 2005; Hinnebush *et al.*, 2002; Hinnebush, 2005).

3.2.2 Manifestações clínicas

A peste pode se apresentar de diferentes formas clínicas nos humanos, incluindo a peste bubônica, septicêmica e pneumônica. A forma bubônica é a mais comum, decorrente da inoculação da bactéria através da picada de pulgas infectadas e posterior disseminação para os linfonodos mais próximos, onde se multiplica e provoca uma reação inflamatória caracterizada pela

formação de abscessos conhecidos como “bubões”. O tratamento antibiótico adequado reduziu a taxa de letalidade da peste bubônica de 60% para 5% (Brasil, 2008; Barbieri *et al.*, 2020).

Em casos não tratados, a peste bubônica pode evoluir para uma septicemia ou pneumonia secundária. Na forma septicêmica, as endotoxinas bacterianas causam hemorragias e necrose, podendo evoluir para um quadro grave de choque e morte. No entanto, a forma de infecção mais grave é a pneumônica, pois pode ser transmitida de pessoa para pessoa por inalação direta de gotículas no ar. Além dessas, existem outras manifestações clínicas menos comuns, como a meningea e a faríngea, oftálmica e digestiva (Barbieri *et al.*, 2020; Perry *et al.*, 1997; Brasil, 2008).

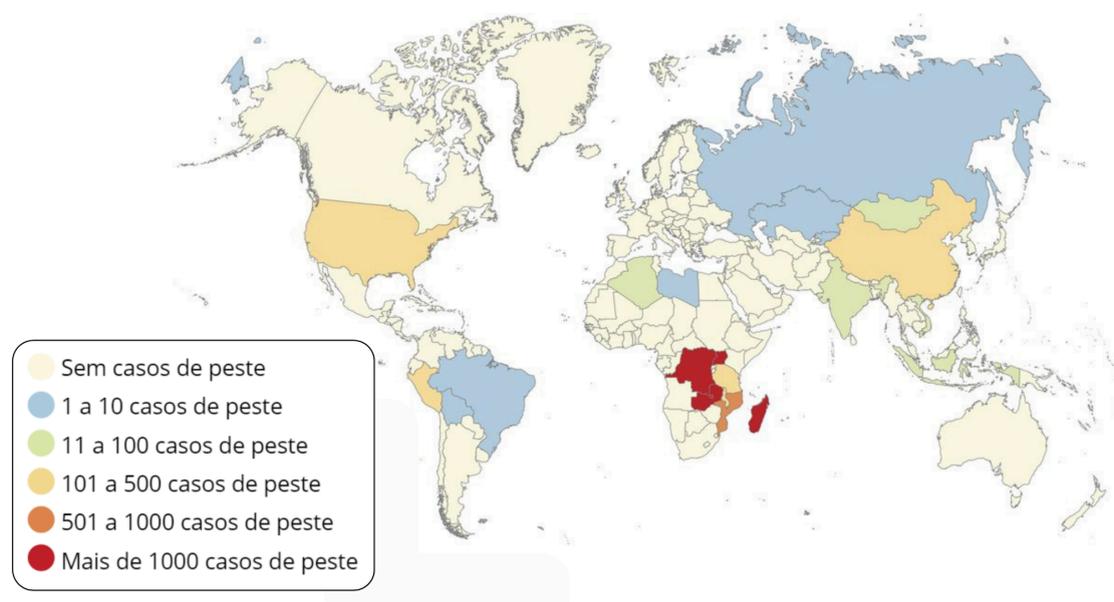
3.2.3 Epidemiologia: Passado e Presente

A peste marcou a história da humanidade com as três pandemias que causou no mundo na era Cristã. A “Peste de Justiniano” que afetou a Bacia do Mediterrâneo entre 541 e 544 DC, a “Peste Negra” que ocorreu entre o século XVI ao XIX, dizimando um terço da população europeia e a “Oceanica ou Contemporanea”. No ano de 1772, durante sua última pandemia que se originou em Yunnan, no sudoeste da China, a peste se disseminou rapidamente por todos os continentes através de rotas marítimas e ferroviárias, estabelecendo focos naturais ao redor do mundo. No entanto, estudos de genomas antigos mostram que a peste já era endêmica em populações humanas antes das pandemias históricas, desde o período Neolítico Tardio (Brasil, 2008; Barbieri *et al.*, 2020).

Apesar de ser frequentemente considerada uma doença do passado, a peste pneumônica ainda é classificada pela OMS como uma das doenças que podem causar uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (WHO, 2016), pelo seu potencial epidêmico e alta letalidade e exige notificação imediata, (WHO, 2022). A ocorrência de surtos epidêmicos registrados em países como Índia (2002) (Joshi *et al.*, 2009), Argélia (2003), Líbia (2009) e China (2019) (Gracio *et al.*, 2017), após longos períodos sem registros, demonstram a capacidade da peste de ressurgir em áreas históricas exigindo registro das áreas afetadas e vigilância contínua nos focos endêmicos (Figura 3).

A peste permanece endêmica na África, Ásia e Américas, com a maioria dos casos sendo notificados em Madagascar e na República Democrática do Congo (RDC). Madagascar teve a maior incidência notificada entre os anos de 2010 e 2019, com mais de 3.000 casos humanos de peste, seguido pela RDC como 892 casos e em menores quantidades o Peru e a Uganda, com 74 casos cada um. Quanto à mortalidade, Madagascar novamente foi o país com maior número de mortes, seguido pelo RDC, com taxas de letalidades que vão até 60% (Butler, 2023) (Figura 3).

Figura 3 - Mapa mundial de casos de peste notificados à Organização Mundial da Saúde no século XXI



Fonte: Barbieri *et al.*, 2020

Ultimamente, a África concentra mais de 90% da incidência global de peste com casos humanos regularmente registrados em quatro países: Madagascar, RDC, Uganda e Tanzânia (WHO, 2022; WHO, 2016). Em Madagascar, foi observado um ciclo de 4 a 5 anos entre as epidemias, com seu último grande surto de peste pneumônica em 2017, resultando em 2.414 casos confirmados e 209 mortes. A Uganda compartilha o mesmo foco de peste da RDC e seus casos são registrados anualmente na região de Arua, e na Tanzânia, o último surto ocorreu no final de 2014 (Randremanana *et al.*, 2019; WHO, 2017) (Figura 3).

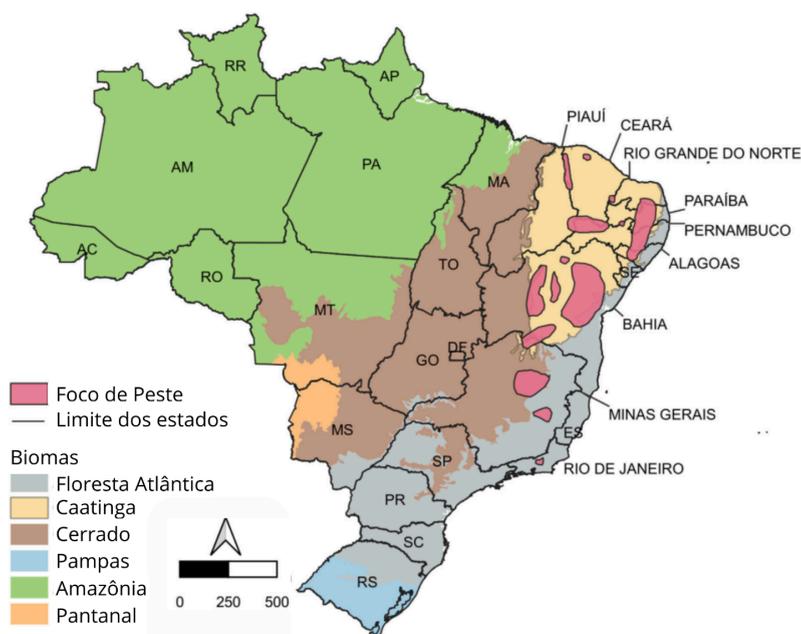
Nas Américas, o país que registra o maior número de casos de peste é o Peru, especialmente no ano de 2010, com 27 casos e 4 óbitos. Nos Estados Unidos (EUA), a peste circula com menor incidência, sendo os casos humanos geralmente associados ao contato com animais domésticos, como cães e gatos como em 2014, no Colorado, quando três indivíduos desenvolveram peste pneumônica após a exposição a um animal infectado (Runfola *et al.*, 2015; WHO, 2016) (Figura 3).

Na Ásia, encontra-se o maior foco natural da peste, afinal essa foi a região de origem da doença. No entanto, os casos atuais são predominantemente relacionados ao consumo de carne ou contato com marmotas, como foi observado no Quirguistão em 2013 e na Federação Russa em 2014, quando dois caçadores de marmota contraíram peste bubônica. Outros países, como Mongólia, Irã, Indonésia, Vietnã e Cazaquistão, registram casos esporádicos (WHO, 2016) (Figura 3).

3.2.4 Peste no Brasil e Pernambuco

No Brasil, a peste foi introduzida pelo porto de Santos, em São Paulo, durante sua terceira pandemia, em outubro de 1899. A doença atingiu várias cidades litorâneas e se espalhou rapidamente para grandes centros urbanos como Rio de Janeiro, Salvador e Recife (Rocha *et al.*, 2025; Brasil, 2008). Vogler *et al.* (2019) confirmaram por meio do sequenciamento genético de cepas brasileiras de *Y. pestis* isoladas de diferentes regiões e períodos, que a peste se disseminou por todo o território brasileiro a partir de uma única introdução da bactéria (Figura 4).

Figura 4 – Mapa do Brasil mostrando os estados, biomas e áreas de foco da peste



Fonte: Fernandes *et al.*, 2020

Os primeiros casos de peste em Pernambuco ocorreram no porto de Recife em 1902. Graças aos esforços do governo e às rigorosas medidas de saúde pública, a incidência de casos e mortes humanas diminuíram. No entanto, a partir de 1913, a doença começou a se expandir para o Agreste, avançando ainda mais em 1919, quando atingiu as regiões da Zona da Mata e Sertão. Os maiores períodos epidêmicos do estado de Pernambuco foram de 1945 a 1954 e 1961 a 1974 com 56 municípios registrando 525 casos de peste, sendo Exu o responsável por mais de 50% destes (Rocha *et al.*, 2025; Fernandes *et al.*, 2021a).

Ao penetrar as áreas rurais do país, frequentemente em pequenos distritos, fazendas e sítios, a peste atingiu a fauna local de roedores silvestres e suas pulgas, fixando-se em diversos complexos ecológicos, onde encontrou áreas com condições ecológicas favoráveis para a sua permanência, denominadas “focos naturais de peste”. Estes focos, estão distribuídos desde o Ceará até o norte de Minas Gerais e no Rio de Janeiro, abrangendo as serras de Ibiapaba e Baturité, a Chapada do Araripe, o Planalto da Borborema, a Serra de Triunfo, o Planalto Oriental, a Chapada Diamantina, Piemonte da Chapada Diamantina, o Vale do Rio Doce, o Vale do Jequitinhonha e a Serra dos Órgãos (Fernandes *et al.*, 2021a; Almeida *et al.*, 2020) (Figura 4).

Os focos de peste são áreas onde a *Y. pestis* pode persistir por longos períodos, causando epidemias ou epizootias (Eisen *et al.*, 2012), e sua

manutenção depende da interação entre hospedeiros suscetíveis, suas pulgas associadas e o patógeno, além de fatores abióticos, como altitude, vegetação e variáveis climáticas (Almeida *et al.*, 2020; Bezerra *et al.*, 2024). Embora o último caso humano de peste no Brasil tenha sido registrado no Ceará em 2005 e o último surto tenha ocorrido há mais de 30 anos na Paraíba (Zeppelini *et al.*, 2018; Leal *et al.*, 1989; Almeida *et al.*, 1989), a detecção de anticorpos específicos contra a peste em animais sentinelas nas regiões de foco indica que a bactéria ainda circula nessas áreas (Costa *et al.*, 2017; SRP - informação pessoal).

3.2.5 Ciclos da Peste e fatores envolvidos

A peste é uma zoonose de roedores causada pela *Y. pestis*, capaz de infectar outros mamíferos como cães, gatos, marsupiais, lagomorfos, primatas e até camelos (Gage e Kosoy, 2005). A peste humana pode ser contraída por diferentes vias, como a picada de pulgas de roedores ou outros mamíferos, manuseio de animais domésticos como os gatos infectados nos Estados Unidos, consumo da carne de animais infectados, como os porquinhos-da-Índia no Peru e Equador, camelos no Oriente Médio ou marmotas na Ásia. Além disso, existe a transmissão de forma direta pela via respiratória de pessoa para pessoa, através de gotículas no ar, na peste pneumônica (Stenseth *et al.*, 2008).

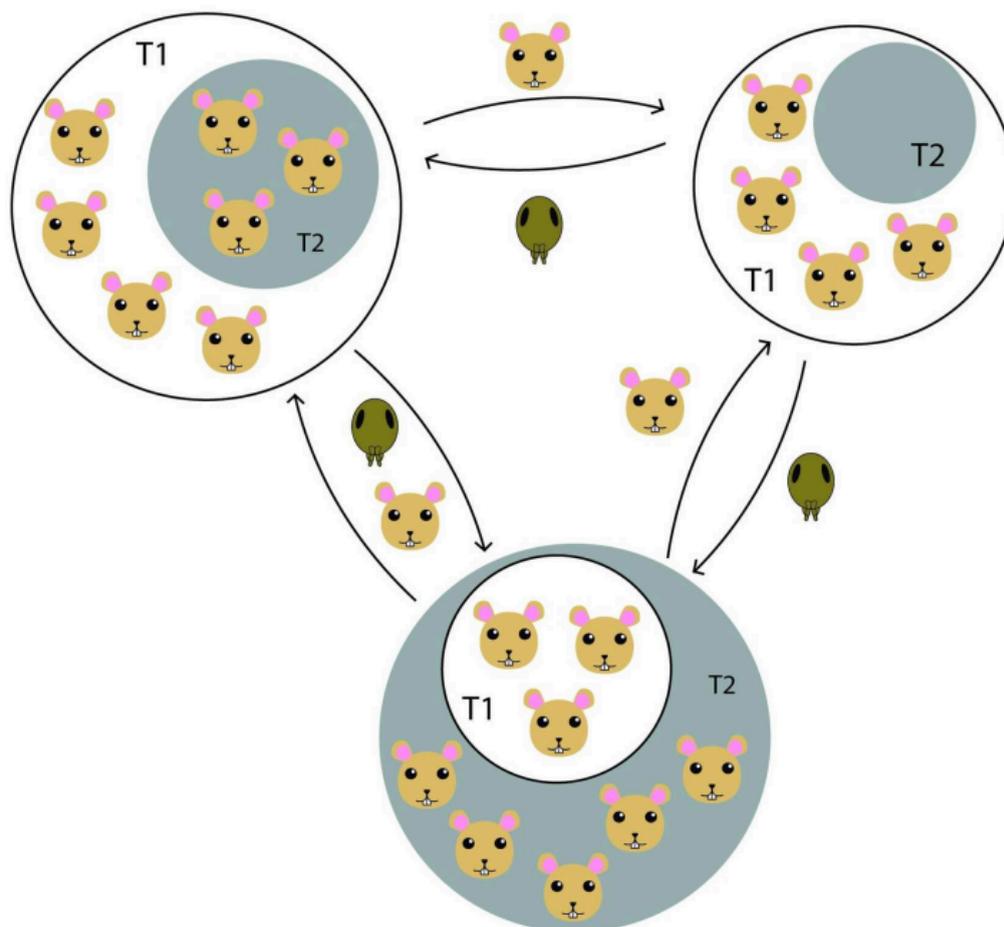
A dinâmica de transmissão e persistência da peste é sustentada por ciclos enzoóticos e epizooticos. Em sua fase enzoótica, a transmissão é mais difícil de ser detectada, pois ocorre entre hospedeiros “primários”, ou seja, parcialmente resistentes à peste, causando pouca mortalidade das espécies. Segundo diversos estudos eles sustentam a peste, pois atuam diluindo a taxa de contato entre pulgas infecciosas e hospedeiros amplificadores, reduzindo a força da infecção (Eisen e Gage, 2008). Por outro lado, as epizootias são detectadas mais facilmente, devido à morte em massa de animais mais suscetíveis a peste, pois quando são infectados desenvolvem alta bacteremia e transbordamento da infecção para os humanos. Os hospedeiros responsáveis pela amplificação da infecção, podem ser “secundários” ou “terciários” (Gage e Kosoy, 2005).

O conceito de peste epizootica é bem estabelecido, porém o conceito da

peste enzoótica ainda é debatido e precisa ser esclarecido. Sabe-se que em epizootias as proporções de mortalidade dos hospedeiros ultrapassam 90% das populações, acontecendo em uma área geográfica definida e em um curto período de tempo, enquanto o ciclo enzoótico apresenta taxas de transmissão de *Y. pestis* mais lentas, podendo afetar os hospedeiros, mas em menores proporções de mortalidade e durante períodos mais longos. Os hospedeiros de "manutenção" estão envolvidos no ciclo enzoótico, enquanto os "amplificadores" são os responsáveis por desencadear epizootias, como é o caso de esquilos terrestres como o *Urocyon spp.*, *Neotamias amoenus* e *Cynomys* (prairie dogs) esquilos galerícolas, e dos roedores do gênero *Neotoma spp.* (Eads *et al.*, 2022).

Vários modelos têm sido propostos para explicar a dinâmica do ciclo enzoótico da peste entre os quais: (1) a existência de hospedeiros resistentes, isto é, espécies capazes de desenvolver uma infecção crônica, (2) pulgas infectadas que sobrevivem por longos períodos (3) persistência da bactéria no solo; (4) um modelo de metapopulação ou feedback positivo, como já foi observado entre os "prairie dogs" nos EUA, no qual não existem espécies resistentes e sem o isolamento geográfico entre comunidades, por causa da territorialidade o que provoca surtos focais, dizimação de uma comunidade hospedeira e recolonização da área por espécies suscetíveis que reiniciarão o ciclo (Biggins e Eads, 2019; Zeppelini *et al.*, 2016; Gage e Kosoy, 2006) (Figura 5).

Figura 5 – Modelo de metapopulação como um sistema reservatório de *Y. pestis*



Legenda: T1: Tamanho da subpopulação na primeira avaliação. T2: Tamanho da subpopulação na segunda avaliação. Setas: indicam o movimento de roedores e/ou pulgas entre subpopulações, permitindo recolonização após surtos locais.

Fonte: Zeppelini *et al.*, 2016

A importância das pulgas na persistência da infecção nos ciclos enzoóticos tem sido explicada pela persistência da *Y. pestis* por longos períodos entre as mesmas seja pela alimentação na fase larval com excrementos das pulgas adultas infectadas ou pela transmissão transovariana da *Y. pestis* em todos os estágios da vida de pulgas colonizadas em laboratório (Pauling *et al.*, 2024); ou sobrevivência prolongada de algumas espécies de pulgas, que mesmo infectadas, não desenvolvem o bloqueio proventricular, podendo chegar até 411 dias de vida, se houver boas condições ambientais e de alimentação (Winsatt e Biggins, 2019; Gage e Kosoy, 2006). A importância das pulgas na dinâmica de transmissão da peste foi demonstrada pelas observações de que o controle dos ectoparasitas aumentou a sobrevivência de

seus hospedeiros e interrompeu a progressão da peste Biggins *et al.* 2010; 2021; Goldberg *et al.* 2021).

Em relação aos fatores que desencadeiam a reemergência do ciclo epizootico da peste, foi observado que o índice de pulgas tende a ser maior em anos de atividade epizootica ou em hospedeiros epizooticos, podendo servir como um preditor de atividade da peste (Eisen *et al.*, 2019; Mou *et al.*, 2023). Segundo Zeppelini *et al.* (2016), a perda da diversidade dos hospedeiros da peste resultante da intervenção humana nos ecossistemas, denominada “diluição reversa”, pode desencadear epizootias e conseqüentemente, surtos humanos.

As condições climáticas sazonais também são fatores importantes para a dinâmica dos ciclos da peste, afinal a temperatura afeta a sobrevivência, reprodução e bloqueio do proventriculo das pulgas, além de exercer influência sobre as taxas de replicação da *Y. pestis* e o aumento da população de hospedeiros (Biggins e Eads., 2019). Vários autores relatam os efeitos em cascata trófica das variáveis climáticas, como a precipitação que promove o crescimento das vegetações, levando a maior disponibilidade de alimentos para os roedores. Esses, por sua vez, se reproduzem abundantemente, assim como as suas pulgas, vetores da peste (Ben Ari *et al.*, 2011; Biggins *et al.*, 2021; Parmenter *et al.*, 1999; Stenseth *et al.*, 2006).

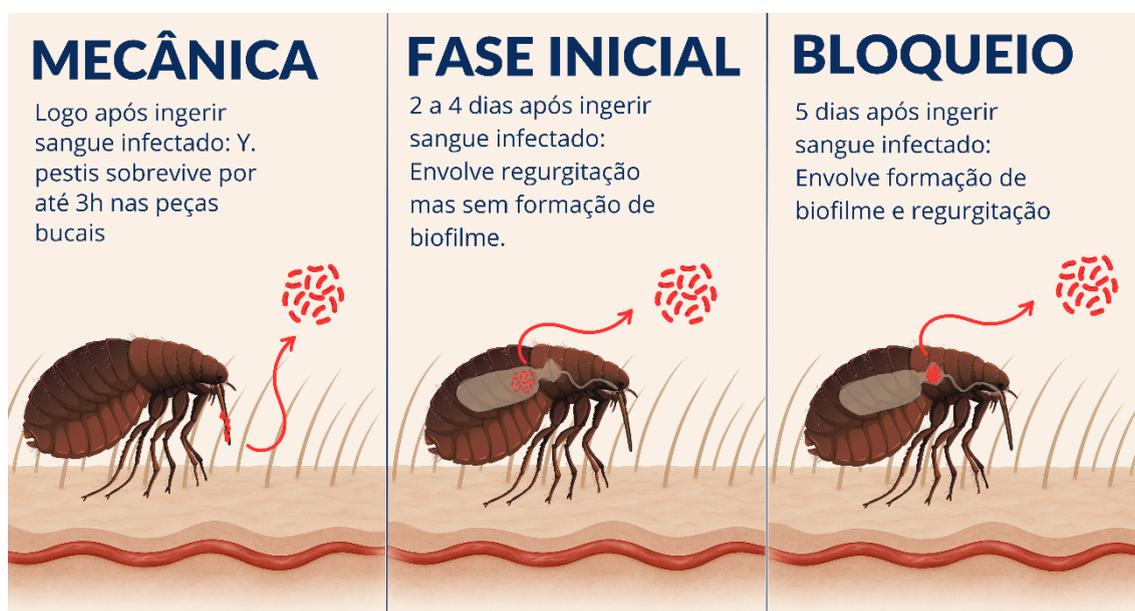
Outro fator ambiental importante que tem sido observado, são os padrões estruturais das paisagens onde a peste costuma estabelecer focos naturais, geralmente em zonas rurais com baixas concentrações populacionais, altitudes elevadas em zonas áridas ou semiáridas com solo salino. Em Madagascar, as áreas de foco estão localizadas no centro e norte da ilha, principalmente nos distritos de Ambalavao e Tsiroanomandidy; na RDC, em Ituri, distritos de Haut-Uele e na província de Kivu do Norte; na Uganda, em regiões do Nilo Ocidental; na Tanzânia, em Lushoto e Mbulu; nos EUA, em estados do oeste, como Novo México, Arizona e Colorado e no Brasil, no Nordeste e na Serra dos Órgãos no Rio de Janeiro (Barbieri *et al.*, 2020).

3.2.6 Mecanismos de transmissão por pulgas

Atualmente, são considerados, pelo menos, três mecanismos diferentes de transmissão da peste pelas pulgas: (1) O modelo clássico de transmissão

de peste por pulgas inicialmente proposto por Bacot e Martin (1914), que descreveram o fenômeno de bloqueio do proventrículo na *X. cheopis*. (2) a transmissão mecânica, que ocorre quando a pulga se alimenta em um hospedeiro altamente septicêmico e depois faz o repasto em um novo hospedeiro, inoculando bactérias que estão no exterior do seu aparelho bucal (Burroughs, 1947; Almeida *et al.*, 2003) (3) “transmissão precoce” ou de fase inicial, que ocorre nos primeiros dias após a infecção da pulga (Eisen *et al.*, 2015; Almeida *et al.*, 2003) (Figura 7).

Figura 7 – Mecanismos de transmissão da *Y. pestis* por pulgas



Fonte: O autor

Por muito tempo, o bloqueio do proventrículo foi considerado crucial para a transmissão eficiente da peste, pois induz a fome e estimula a pulga a buscar alimento com mais avidez, levando à transmissão regurgitativa de *Y. pestis* para seus hospedeiros (Hinnebusch *et al.*, 2002; 2004). Além disso, acreditava-se que a colonização no intestino médio da pulga ocorria através da formação de um coágulo de fibrina produzido pelo ativador do plasminogênio da *Y. pestis* (Hinnebusch e Erickson, 2008). Entretanto, outras linhas de investigação contradizem este modelo. Cepas mutantes de *Y. pestis*, por exemplo, desprovidas do gene *pla*, ainda são capazes de bloquear o proventrículo de pulgas (Hinnebusch *et al.*, 1998).

Atualmente, acredita-se que o crescimento agregado de *Y. pestis* no trato digestivo da pulga ocorra pela formação de um biofilme, mediado principalmente pelos genes do locus cromossomal *hms*, localizado na ilha de patogenicidade da bactéria (Jarrett *et al.*, 2004). Após a ingestão de sangue de um hospedeiro infectado com *Y. pestis*, com uma bacteremia mínima de 10^6 UFC/ml ocorre a formação de um biofilme bacteriano denso que bloqueia o intestino anterior da pulga (Eisen e Gage, 2012). Sabe-se também que, ao entrar no intestino das pulgas, a *Y. pestis* enfrenta mudanças de temperatura, pH e a ação do sistema imunológico do inseto, tornando-se vulnerável à eliminação pelas suas fezes, pois não aderem ao epitélio do intestino médio. No entanto, a ação da fosfolipase D, codificada pelo plasmídeo pMT1 e de reguladores transcricionais, como *rovM*, *oxyR*, *galU* e *arnB*, permite a sobrevivência da *Y. pestis* no intestino da pulga (Hinnebusch *et al.*, 2017, Eisen e Gage, 2008).

A formação do biofilme começa com a expressão do locus *hms*, levando à agregação bacteriana a uma matriz exógena derivada da refeição sanguínea da pulga. À medida que a infecção progride, o biofilme amadurece, bloqueando o proventrículo, o que pode causar bloqueio parcial ou total. A formação deste bloqueio dependerá de diversos fatores como as diferenças do conteúdo genético das cepas de *Y. pestis*, a temperatura do meio ambiente, as espécies das pulgas e morfologia de seus proventrículos (Hinnebusch *et al.*, 2017, Eisen e Gage, 2008) (Figura 8).

Figura 8 - Micrografia eletrônica de varredura de *Y. pestis* em espinhos proventriculares de uma pulga



Fonte: Public Health Image Library (PHIL)

Hinnebusch *et al.* (1996) demonstraram que a deleção do gene *hmsR* em uma cepa mutante de *Y. pestis* a tornou incapaz de bloqueio em pulgas. Kirilina *et al.* (2004) demonstraram como a temperatura afeta a expressão *in vitro* dos genes *HmsT* e *HmsP*, essenciais para a formação do biofilme e Hinnebusch *et al.* (1998) relataram a diminuição das taxas de bloqueio com o aumento de temperatura sendo totalmente inibida a 30 °C. Além disso, algumas espécies de pulgas, como *X. cheopis*, bloqueiam rapidamente (3 a 15 dias), enquanto outras apresentam bloqueio mais lento ou inexistente em infecções experimentais com *Y. pestis* (Gage e Kosoy, 2005; Eisen *et al.*, 2009). Como o bloqueio requer um longo período de incubação, não explica suficientemente a rápida taxa de propagação que caracteriza as epizootias (Hinnebusch e Erickson, 2008; Eisen e Gage, 2012). Além disso, estudos revelaram que a maioria das espécies de pulgas, incluindo *Oropsylla montana* que é um vetor-chave de *Y. pestis* no sudoeste dos Estados Unidos, não formam bloqueios proventriculares prontamente, evidenciando que a eficiência do vetor não pode ser simplesmente equiparada à capacidade de uma pulga de formar um bloqueio proventricular (Eisen *et al.*, 2009; Almeida *et al.*, 2003).

O modelo de transmissão mecânica tem sido desconsiderado devido à curta viabilidade da bactéria nas peças bucais da pulga, que geralmente não ultrapassa três horas. (Eisen *et al.*, 2009). Atualmente o modelo considerado o mais eficaz é o de "transmissão precoce" ou "transmissão em massa", que já foi observado em *X. cheopis*, *O. montana*, *C. felis*, entre outras espécies de pulgas (Eisen *et al.*, 2015). Este mecanismo de transmissão ocorre durante os primeiros dias após a pulga se alimentar de sangue infectado (entre 1 e 4 dias após a infecção), mas antes do potencial desenvolvimento de um bloqueio proventricular, apesar de ainda envolver a regurgitação de material infectante no momento da picada (Eisen *et al.*, 2006; Eisen e Gage, 2012) (Figura 7).

Inicialmente usou-se o termo "transmissão em massa" pela necessidade de várias pulgas se alimentarem simultaneamente de um animal suscetível, porém, tendo sido observada a transmissão dentro dos primeiros dias após a ingestão de sangue infectado, o termo "transmissão precoce" foi associado a esse modo de transmissão. Os experimentos consistiam, de maneira sucinta, em expor roedores suscetíveis a grupos de pulgas previamente alimentadas em hospedeiros infectados. Com isso, evidenciaram que a taxa de sucesso na

transmissão aumenta com o número de pulgas empregadas e durante os primeiros dias após a refeição sanguínea infecciosa (Hinnebusch *et al.*, 2017) (Figura 7).

Estudos indicam que a fonte de sangue do hospedeiro influencia significativamente a eficiência da transmissão na fase inicial (Bosio *et al.*, 2020; Bland *et al.*, 2018). Mitchel *et al.* (2022) demonstraram que as pulgas alimentadas com sangue de rato (*Rattus norvegicus*) permanecem infectadas por períodos mais longos e são capazes de transmitir um número significativamente maior de bactérias viáveis de *Y. pestis* na fase inicial da infecção (variando de 3 a 2.000 UFC), em comparação às pulgas alimentadas com sangue de camundongo. No entanto, a eficiência de transmissão foi ainda maior nas pulgas com bloqueio completo, que transmitiram entre 1 e mais de 10.000 UFC por pulgas individuais.

A localização da bactéria no trato digestivo da pulga também é um fator que influencia na eficácia da transmissão na fase inicial da infecção, podendo ocorrer mesmo que a carga bacteriana seja baixa, desde que estejam localizadas próximas às peças bucais da pulga (Eisen *et al.*, 2009). Eisen *et al.* (2007) observaram que quando pulgas *O. montana* infectadas eram alimentadas com refeição subsequente de sangue não infectado, eliminavam a infecção mais rapidamente. Esse achado sugere que a digestão rápida do sangue ingerido pode reduzir a eficiência na transmissão da peste, possivelmente devido à menor retenção de bactérias no trato digestivo que se deslocam para regiões menos favoráveis, como o intestino posterior (Eisen *et al.*, 2009).

3.4 CONTROLE E VIGILÂNCIA DA PESTE

3.4.1 Histórico do combate a peste no Brasil

Em Santos (SP) uma epizootia murina precedeu o reconhecimento da peste humana apesar do registro de dezenas de casos de uma doença febril acompanhada de bubões, que foram ignorados por falta de um diagnóstico preciso. A doença só foi confirmada após as investigações de Vital Brasil, Adolpho Lutz, Emílio Ribas e Oswaldo Cruz que ali estiveram. Quando a doença chegou ao Rio de Janeiro em 1900, ainda capital do Brasil, o governo federal adotou medidas imediatas sob a liderança de Oswaldo Cruz e apoio do

Departamento de Saúde do Estado (DSE). As ações incluíram campanhas profiláticas como quarentena, isolamento de áreas contaminadas e controle de roedores e suas pulgas, além do início das primeiras investigações científicas sobre a peste no Brasil (BRASIL, 2008, Rocha *et al.*, 2025, Tavares *et al.*, 2012) (Figura 9).

Figura 9 - Linha do tempo do controle da peste e dos desenvolvimentos institucionais no Brasil



Fonte: Rocha *et al.*, 2025

A partir de 1936, o Departamento Nacional de Saúde (DNS) assumiu a responsabilidade do combate a peste no Brasil e em 1941, foi criado o Serviço Nacional de Peste (SNP), que foi desativado e incorporado ao Departamento Nacional de Endemias Rurais (DNERu) em 1956. Para controlar os focos da doença em 142 municípios dos estados do Nordeste, suas principais atividades envolviam a captura de roedores e suas pulgas para classificação taxonômica e determinação de índices, coleta de amostras de material em humanos ou animais para diagnosticar a infecção e o extermínio de roedores, como forma de prevenir novas epidemias (Rocha *et al.*, 2025, Tavares *et al.*, 2012) (Figura 9).

Posteriormente, com a diminuição dos casos e a mortalidade por peste, muitos laboratórios foram desativados, entretanto, a doença ressurgiu em 1960 principalmente nos estados de Pernambuco, Bahia e Ceará. Em resposta, o

governo brasileiro, com auxílio de organizações internacionais criou o projeto: Plano Piloto de Peste (PPP) em 1966, no município de Exu, localizado na área de transmissão da Chapada do Araripe, com o objetivo de estudar os mecanismos de persistência, focalização, epizootização e epidemização da peste no Brasil e fortalecer a vigilância (Rocha *et al.*, 2025, Tavares *et al.*, 2012) (Figura 9).

As atividades deste programa resultaram na produção de um grande inventário da fauna de roedores e outros pequenos mamíferos, bem como de seus ectoparasitas, nas áreas de peste do Nordeste e o desenvolvimento de estudos experimentais em laboratório para determinar a suscetibilidade das espécies mais prevalentes e a capacidade vetorial das pulgas (Tavares *et al.*, 2012) (Figura 9).

Pela análise dos inventários de roedores documentados o *Necromys lasiurus* foi identificado como a espécie mais abundante, além de ser considerado o principal hospedeiro amplificador da doença. O *Rattus rattus* também foi abundante, principalmente no período enzoótico da doença, sendo encontrado nos ambientes domésticos, enquanto *Necromys lasiurus* foi mais frequentemente capturado em ambientes silvestres (Fernandes *et al.*, 2020; 2021b). A prevalência de roedores e outros pequenos mamíferos infectados nos focos do Nordeste decaiu após o período epidêmico para apenas 0,25%, referente a um marsupial (*Monodelphis domestica*) com baixo título de anticorpos antipestosos (Costa *et al.*, 2017).

Durante a década de 1980, houve a incorporação de novas técnicas de diagnóstico, com a introdução da análise sorológica utilizando as técnicas de hemaglutinação passiva (PHA) e inibição da hemaglutinação (PHI) para detectar anticorpos anti-F1 da *Y. pestis*. Também foi implementado o Sistema de Informação Nacional de Peste (SISPESTE), um banco de dados para registrar todos os casos de peste. A partir do século XX, com o declínio dos casos de peste no Brasil, houve uma mudança na estratégia de vigilância, que passou a ser baseada no monitoramento sorológico de carnívoros domésticos (cães e gatos) e algumas espécies de roedores. A partir de 2007, a vigilância passou a ser restrita aos cães pois são considerados animais sentinelas mais eficientes para a vigilância da peste (Rocha *et al.*, 2024, Tavares *et al.*, 2012) (Figura 9).

3.4.2 Monitoramento atual

Desde 2002, as atividades de controle da peste foram descentralizadas para as administrações municipais, com o suporte contínuo de instituições como o Serviço de Referência Nacional em Peste (SRP), ligado ao Instituto Aggeu Magalhães, e à Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), que oferecem assistência técnica e científica. A responsabilidade pelo diagnóstico da doença é compartilhada entre os Laboratórios Centrais Estaduais (LACEN) e o SRP e o cultivo bacteriológico continua sendo o padrão-ouro (Rocha *et al.*, 2024; Tavares *et al.*, 2012).

As funções do SRP incluem o desenvolvimento e aplicação de métodos analíticos avançados, como o desenvolvimento de testes rápidos de diagnóstico, como o ELISA baseado em proteína A e teste rápido para peste (detecção de anticorpo), ambos baseados no antígeno F1 da *Y. pestis*, que permitem a detecção rápida e eficiente da infecção em humanos, roedores e pulgas (Bezerra *et al.*, 2022). Além disso, também desenvolve e utiliza técnicas moleculares sensíveis, como a Multiplex-PCR (M-PCR), a Nested-PCR e a LAMP, para identificar o material genético da bactéria em diferentes tipos de amostras (Leal e Almeida, 1999). No diagnóstico tradicional, o cultivo bacteriológico permanece como o padrão-ouro, com o uso de meios seletivos como o Caldo CYP, específico para o isolamento da *Y. pestis*, mesmo em amostras contaminadas (Rocha *et al.*, 2023).

Além do aspecto laboratorial, o SRP também é responsável por realizar a supervisão e capacitação de profissionais na área de diagnóstico e controle da peste por meio do monitoramentos de sua atividade enzoótica, como os inquéritos sorológicos em animais sentinelas (Rocha *et al.*, 2024; Tavares *et al.*, 2012).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dessa dissertação estão apresentados na forma de artigos.

4.1 ARTIGO 1: A ser submetido à Revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz (<https://memorias.ioc.fiocruz.br/>).

Estudo retrospectivo da biodiversidade e distribuição espacial de pulgas do foco de peste da Chapada do Araripe no estado de Pernambuco, Brasil (1966 – 2008)

Hadassa de Almeida Souza¹, Alzira Maria Paiva de Almeida²

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas/Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil.

² Departamento de Microbiologia, Instituto Aggeu Magalhães–Fiocruz PE, Recife, Pernambuco, Brasil.

Resumo

A pulga, principal vetor da peste, uma zoonose de roedores causada pela *Yersinia pestis*, também pode atuar na manutenção da infecção durante os períodos interepidêmicos. A peste ainda é endêmica em diversas regiões do mundo, inclusive no Brasil. O objetivo deste trabalho foi estudar a diversidade e a distribuição espacial das pulgas no foco de peste da Chapada do Araripe no nordeste do Brasil, durante o período epidêmico (1966 a 1980) e pós epidêmico (1994 a 2008) de peste. Os dados históricos do acervo do Serviço de Referência Nacional de Peste (SRP) foram analisados com ferramentas de Sistema de Informação Geográfica, estatística descritiva, testes não paramétricos e índices ecológicos. Observou-se maior diversidade de pulgas após o período epidêmico de peste. A *Polygenis spp.* predominou durante todo o período de estudo, principalmente no período epidêmico ($d'=0,85$), mas houve uma queda significativa de sua abundância no período pós epidêmico assim como sua associação com o *Necromys lasiurus*. Em contrapartida a *Xenopsylla cheopis* teve um aumento significativo e permaneceu fortemente associada ao *Rattus rattus*. A maioria das pulgas infectadas foi registrada no

município de Exu e a *Pulex irritans* teve maior prevalência de infecção (18%; 83/461). Houve uma correlação negativa entre a precipitação e a abundância de pulgas, especialmente da espécie *Polygenis spp.* ($r_s = -0,71$; $p < 0,01$) que se correlacionou positivamente com os casos humanos ($r_s = 0,91$; $p < 0,01$). Em conclusão, a predominância da *Polygenis spp.*, associada ao *Necromys lasiurus*, sugere o papel desse roedor e sua pulga como amplificadores da peste durante as epizootias responsáveis pelos casos humanos. Além disso, a precipitação do semestre anterior influenciou o aumento da abundância de pulgas principalmente da *Polygenis spp.*, e, conseqüentemente, dos casos humanos no semestre seguinte.

Palavras-chave

Siphonaptera, Zoonoses, Doenças de Roedores, Ecologia, Mudanças climáticas, *Yersinia pestis*.

Introdução

As pulgas são insetos hematófagos pertencentes à ordem *Siphonaptera*, que compreende mais de 2.500 espécies e subespécies descritas globalmente, com o Brasil registrando aproximadamente 60 destas espécies. Esses artrópodes parasitam uma ampla gama de espécies hospedeiras, principalmente mamíferos. Além disso, as pulgas possuem uma grande importância epidemiológica sendo vetores e reservatório de diversas zoonoses, como a peste bubônica, tifo murino, febre maculosa e helmintíases (Durden e Hinkle, 2019; Linardi, 2023).

Mais de 200 espécies de pulgas já foram encontradas naturalmente infectadas com *Yersinia pestis* (Dubynskiy *et al.*, 2016; Krasnov *et al.*, 2006), bactéria gram-negativa reconhecida como agente etiológico da peste, uma doença predominantemente associada aos roedores, que são seus principais hospedeiros. No entanto, outros mamíferos também podem ser infectados, inclusive os humanos que podem manifestar diferentes formas clínicas, incluindo a peste bubônica, septicêmica e pneumônica, além de outras manifestações mais raras, como a meningea e faríngea (Barbieri *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2023; Brasil, 2008).

Apesar de ser erroneamente considerada uma doença do passado, a

peste continua sendo endêmica na África, Ásia e Américas, com a maioria dos casos notificados em Madagascar e República Democrática do Congo (WHO, 2022). Surtos em países como Índia (2002), Argélia (2003), Líbia (2009) e China (2019) (Gracio e Gracio, 2017), após longos períodos sem ocorrências, indicam a capacidade da doença de reaparecer em áreas silenciosas, por mecanismos ainda não completamente compreendidos, exigindo vigilância constante nas áreas focais de transmissão. Devido ao seu potencial epidêmico e alta letalidade, a peste pneumônica pode acarretar uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional e sua ocorrência exige notificação imediata, segundo o Regulamento Sanitário Internacional vigente (WHO, 2016).

No Brasil, a peste foi introduzida pelo porto de Santos, em São Paulo, durante sua terceira pandemia em 1899, disseminando-se por diversas cidades portuárias e a partir de 1906, se espalhou para o interior do país e áreas rurais, estabelecendo focos naturais que estão distribuídos desde o Ceará até o norte de Minas Gerais e na Serra dos Órgãos (Almeida *et al.*, 2020, BRASIL, 2008). O último caso humano ocorreu em 2005 no Ceará, e o último surto ocorreu há mais de 30 anos, na Paraíba (Zeppelini, 2018; Leal *et al.*, 1989; Almeida *et al.*, 1989). Entretanto a presença de anticorpos específicos para a *Y. pestis* entre animais sentinela tem sido detectada até os dias atuais nas áreas onde são realizadas atividades de vigilância (SRP: Comunicação pessoal), sendo considerada uma notificação obrigatória (Brasil, 2017). Em Pernambuco a peste entrou pelo porto do Recife em 1902, disseminou-se para o interior e se fixou em áreas favoráveis à sua permanência localizadas nos complexos ecológicos da Chapada do Araripe, Planalto da Borborema e Serra do Triunfo (Fernandes *et al.*, 2021b).

Embora os mecanismos de conservação nas áreas focais entre os períodos interepizooticos ainda não estejam completamente esclarecidas, algumas evidências sugerem um importante papel das pulgas como reservatórios da *Y. pestis* (Zeppelini *et al.*, 2016). Por isso, o índice de pulgas, que avalia a densidade desses insetos por hospedeiro, tem sido utilizado como um indicador de risco para a disseminação da peste entre os animais e a ocorrência de casos em humanos (Eisen *et al.*, 2019; Mou *et al.*, 2022).

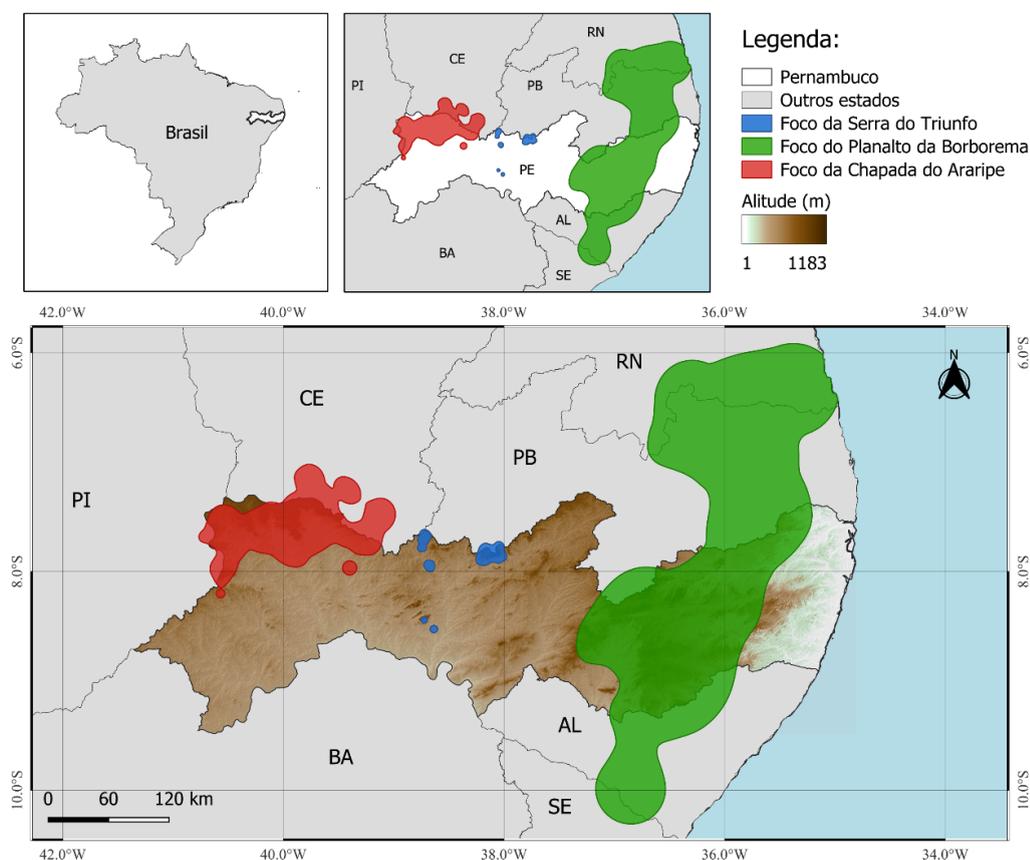
Além disso, a persistência dos focos de peste está intimamente ligada a fatores abióticos, como condições específicas de altitude, vegetação e

variáveis climáticas, como temperatura e precipitação, que afetam todos os níveis do ciclo da peste, gerando uma resposta em cascata trófica (Ben Ari *et al.*, 2011; Bezerra *et al.*, 2024). Nesse contexto, o objetivo deste estudo é compreender a diversidade e distribuição espacial das pulgas no período de 1966 a 2008 no foco de peste da Chapada do Araripe em Pernambuco.

Materiais e Métodos

O estudo foi realizado no estado de Pernambuco, localizado no centro-leste da região Nordeste do Brasil. Sua área territorial abrange cerca de 98.067,877 km² e 9.058.931 habitantes. Pernambuco faz fronteira com os estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba e Piauí (IBGE, 2023). É caracterizada por uma grande diversidade de paisagens e ecossistemas, incluindo importantes complexos ecológicos como a Chapada do Araripe, o Planalto da Borborema e a Serra do Triunfo (Brasil, 2008) (Figura 1).

Figura 1. Áreas de foco de peste no estado de Pernambuco, nordeste do Brasil



Os dados históricos analisados neste estudo foram obtidos a partir de cadernos ou fichas de classificação de pulgas que foram elaborados durante as atividades do Programa de Controle da Peste (PCP) nas áreas focais de Pernambuco como descrito anteriormente (Brasil *et al.*, 1989; Brasil, 2008) e estão preservados no acervo do Serviço de Referência Nacional em Peste (SRP), no Instituto Aggeu Magalhães (IAM), em Pernambuco.

Os dados sobre pulgas infectadas e casos humanos de peste foram obtidos a partir do CONCEPAS, um sistema desenvolvido no SRP contendo informações sobre as culturas de *Y. pestis* a partir dos casos humanos, dos roedores analisados e das pulgas com detalhamento da identificação das espécies, data e localidade do isolamento das culturas ou cepas. Devido a metodologia empregada para identificação das pulgas, a classificação dos espécimes do gênero *Polygenis* foi limitada ao gênero (*Polygenis spp.*) e as duas espécies existentes na área (*Polygenis bolhsi jordani* e *Polygenis tripus*) não foram distinguidas.

O georreferenciamento das localidades das coletas das pulgas foi realizado com base nas informações dos cadernos ou fichas de classificação de pulgas. Os dados vetoriais referentes aos municípios, estado e país, foram obtidos do acervo de malhas vetoriais IBGE e cada ponto de coleta foi registrado em um Sistema de Informações Geográficas, através do *software* QGIS 3.44. Os dados do Modelo Digital de Elevação (MDE) foram obtidos da Shuttle Radar Topography Mission (SRTM). A hidrografia da área foi obtida no portal de metadados da Agência Nacional de Águas (ANA).

As análises descritivas foram realizadas no Excel. As associações entre as espécies de pulgas e seus hospedeiros foram ilustradas por meio de diagramas de Sankey, elaborados com a ferramenta SankeyMATIC um web service disponível em: <https://sankeymatic.com/build>. Os parâmetros ecológicos foram estimados no *software* R, utilizando o pacote Vegan: Índice de diversidade de Shannon-Wiener (Shannon e Wiener 1949), índice de dominância de Simpson (Simpson, 1949), índice de Berger-Parker (Berger e Parker, 1970) e prevalência da infecção. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software* BioEstat 5.3: Teste de Friedman, teste de Wilcoxon e correlação de Spearman.

Resultados e Discussão

Diversidade de pulgas nos períodos epidêmico (1966-1980) e pós-epidêmico (1994-2008) de peste no foco da Chapada do Araripe

No período de 1966 a 2008, foram identificadas um total de 149.362 pulgas, coletadas no período epidêmico de 1966 a 1980 (107.504) e pós-epidêmico de 1994 a 2008 (41.858) distribuídas nas famílias *Pulicidae*: *Pulex irritans* (n=526), *Xenopsylla cheopis* (n=33.071) e *Ctenocephalides felis* (n=668); *Rhopalopsyllidae*: *Polygenis* (*Polygenis bolhsi jordani* e *Polygenis tripus*) spp. (n=115.032); e *Hystrihopsyllidae*: *Adoratopsylla antiquorum* (n=65) (Tabela 1).

A *Polygenis* spp. foi o gênero mais abundante, representando mais da metade dos espécimes coletados nos dois períodos: período epidêmico (84,8%) e pós-epidêmico (56,8%), seguido da *X. cheopis* (14,4% no período epidêmico e 42% no período pós-epidêmico). As demais espécies, tiveram menores frequências sendo apenas cerca de 1% para a *C. felis* no período pós-epidêmico (n=447) e ainda menor para a *A. antiquorum* (Tabela 1).

A riqueza de espécies foi igual nos dois períodos (n=5), assim como o índice de Simpson (D) que foi de 0,97, indicando uma forte dominância de poucas espécies durante todo o período de estudo. No entanto alguns índices ecológicos variaram, como o índice de Shannon-Wiener (H') que subiu de 4,18 para 4,54 e o índice de Berger-Parker, que mediu a dominância da espécie mais abundante (*Polygenis* spp.), foi de 0,85 no período epidêmico, para 0,57 no pós-epidêmico (Tabela 2).

A ocorrência de mais espécies de uma comunidade ou a estabilidade de sua riqueza entre períodos e áreas de estudo, não necessariamente significa que possua mais diversidade ecológica. Por isso, o índice de Shannon-Wiener (Shannon e Wiener, 1949), primeiramente associado à teoria da informação e posteriormente adaptado ao contexto ecológico (Margalef, 1948), é bastante utilizado, pois considera não só a riqueza, mas também a equabilidade da amostra, que é a forma como as espécies estão distribuídas.

Tabela 1 – Diversidade de pulgas nos períodos epidêmico (1966-1980) e pós-epidêmico (1994-2008) na área focal de transmissão da peste da

Chapada do Araripe, Pernambuco

Espécies	Período epidêmico		Período pós-epidêmico	
	FA	FR	FA	FR
<i>Polygenis spp.</i>	91252	84,88	23780	56,81
<i>Xenopsylla cheopis</i>	15506	14,42	17565	41,96
<i>Pulex irritans</i>	461	0,43	65	0,16
<i>Ctenocephalides felis</i>	221	0,21	447	1,07
<i>Adoratopsylla antiquorum</i>	64	0,06	1	0,00
Total	107504	-	41858	-

Legenda: FA= Frequência absoluta, FR= Frequência relativa

Tabela 2 – Parâmetros de diversidade de pulgas coletadas nos períodos epidêmico (1966-1980) e pós-epidêmico (1994-2008) na área focal de transmissão da peste da Chapada do Araripe, Pernambuco

Parâmetros ecológicos	Período epidêmico	Período pós-epidêmico
Riqueza (S)	5	5
Índice de Simpson (D)	0,97	0,97
Índice de Shanon-Wiener (H')	4,18	4,54
Índice de Berger-Parker (d)	0,85	0,57

O teste de Friedman comparou as médias mensais da ocorrência das espécies de pulgas no período epidêmico (Fr = 103,05; $p < 0,01$) e pós-epidêmico (Fr = 248,99; $p < 0,01$), e em ambos os períodos houve diferenças significativas na composição das espécies, organizando-se em três grupos estatisticamente distintos: *Polygenis spp.* apresentando a maior média mensal, seguida por *X. cheopis*, enquanto as demais espécies ocorreram em baixas quantidades, sem diferenças entre elas.

Por outro lado, ao comparar a frequência média mensal de cada espécie entre os períodos por meio do teste de Wilcoxon, foram observadas variações significativas na *Polygenis spp.* ($Z = 2,93$; $p < 0,01$) e *P. irritans* ($Z = 2,40$; $p < 0,05$) que apresentaram redução da frequência no período pós-epidêmico, enquanto *X. cheopis* ($Z = 2,82$; $p < 0,01$) aumentou. Em trabalho anterior, Oliveira *et al.* (2009) também refere a *X. cheopis* como a espécie mais

abundante no foco de peste na Chapada do Araripe após o período epidêmico. Adicionalmente, Fernandes *et al.* (2021b) observaram a substituição do *Necromys lasiurus*, frequentemente associado a *Polygenis spp.* pelo *Rattus rattus*, principal hospedeiro da *X. cheopis*, sugerindo uma mudança ecológica favorável a esta última.

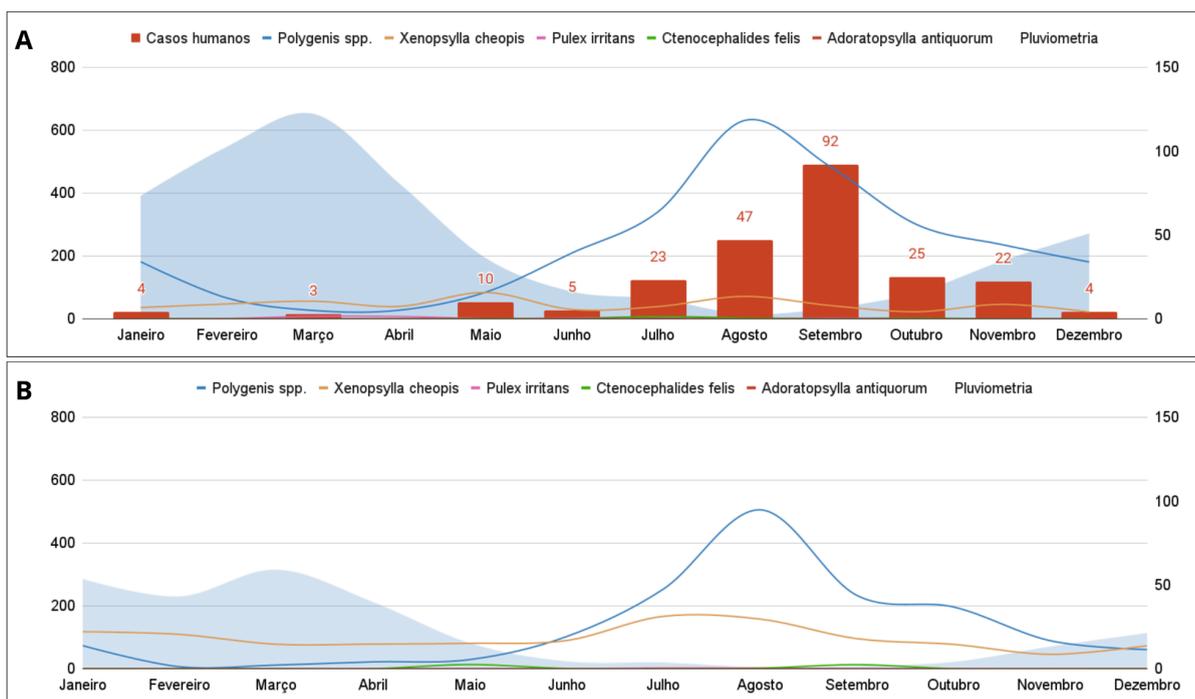
Variação sazonal das pulgas no foco de peste na Chapada do Araripe (1966 – 2008).

O período com as menores médias de chuva acumulada ocorreu nos meses de junho a novembro, coincidindo com o período de maior incidência de pulgas (Figura 2). A análise de correlação de Spearman confirmou uma associação inversa altamente significativa entre a média pluviométrica e a abundância média total de pulgas ($r_s = -0,7774$; $p < 0,01$), fenômeno que também ocorreu especificamente sobre a *Polygenis spp.* ($r_s = -0,7113$; $p < 0,01$). As demais espécies também apresentaram correlação negativa com a pluviometria média, porém os resultados não foram estatisticamente significativos ($p > 0,05$). Além disso, a média pluviométrica apresentou uma correlação negativa forte com abundância de pulgas infectadas ($r_s = -0,8803$; $p < 0,01$), já a ocorrência de casos humanos de peste, esteve fortemente correlacionado com a abundância da *Polygenis spp.* ($r_s = 0,9193$; $p < 0,01$).

A relação entre os fatores climáticos e a peste já foi observada em diversos outros focos de peste. Bezerra *et al.* (2024) identificaram uma correlação positiva entre a precipitação do ano anterior com os casos humanos de peste e infectividade de roedores e pulgas. Esse padrão também foi observado na China e Mongolia, onde a precipitação influenciou significativamente o risco de peste, desde que a densidade de hospedeiros ultrapassasse 0,63 marmotas por hectare (Xu *et al.*, 2023). De forma semelhante, Stenseth *et al.* (2006) observaram que a temperatura exerce um efeito imediato, aumentando a carga de pulgas na mesma estação, enquanto a precipitação tem efeito atrasado, influenciando positivamente a carga de pulgas da estação seguinte, influenciando a transmissão da peste entre os gerbilos no Cazaquistão.

Figura 2 – Variação sazonal das pulgas na área focal de transmissão da

peste da Chapada do Araripe, Pernambuco (1966 – 2008).



Legenda: A= Período epidêmico (1966-1980), B= Período pós-epidêmico (1994 – 2008), eixo X= meses, eixo Y principal= médias das coletas das pulgas, eixo Y secundário= pluviometria e casos humanos

Associação entre espécies de pulgas e seus hospedeiros durante o período epidêmico (1966 – 1980) e pós-epidêmico (1994-2008) da peste no foco da Chapada do Araripe.

Em relação aos hospedeiros, as pulgas foram coletadas de roedores silvestres (*Necromys lasiurus*, *Cerradomys langguthi*, *Thrichomys laurentius*, *Oligoryzomys nigripes*, *Calomys expulsus*, *Galea spixii* e *Wiedomys pyrrhorhinos*), roedores sinantrópico-comensais (*Rattus rattus* e *Mus musculus*), marsupiais (*Monodelphis domestica*, *Didelphis paraguayensis*, e *Didelphis albiventris*) e gato doméstico (Figura 3).

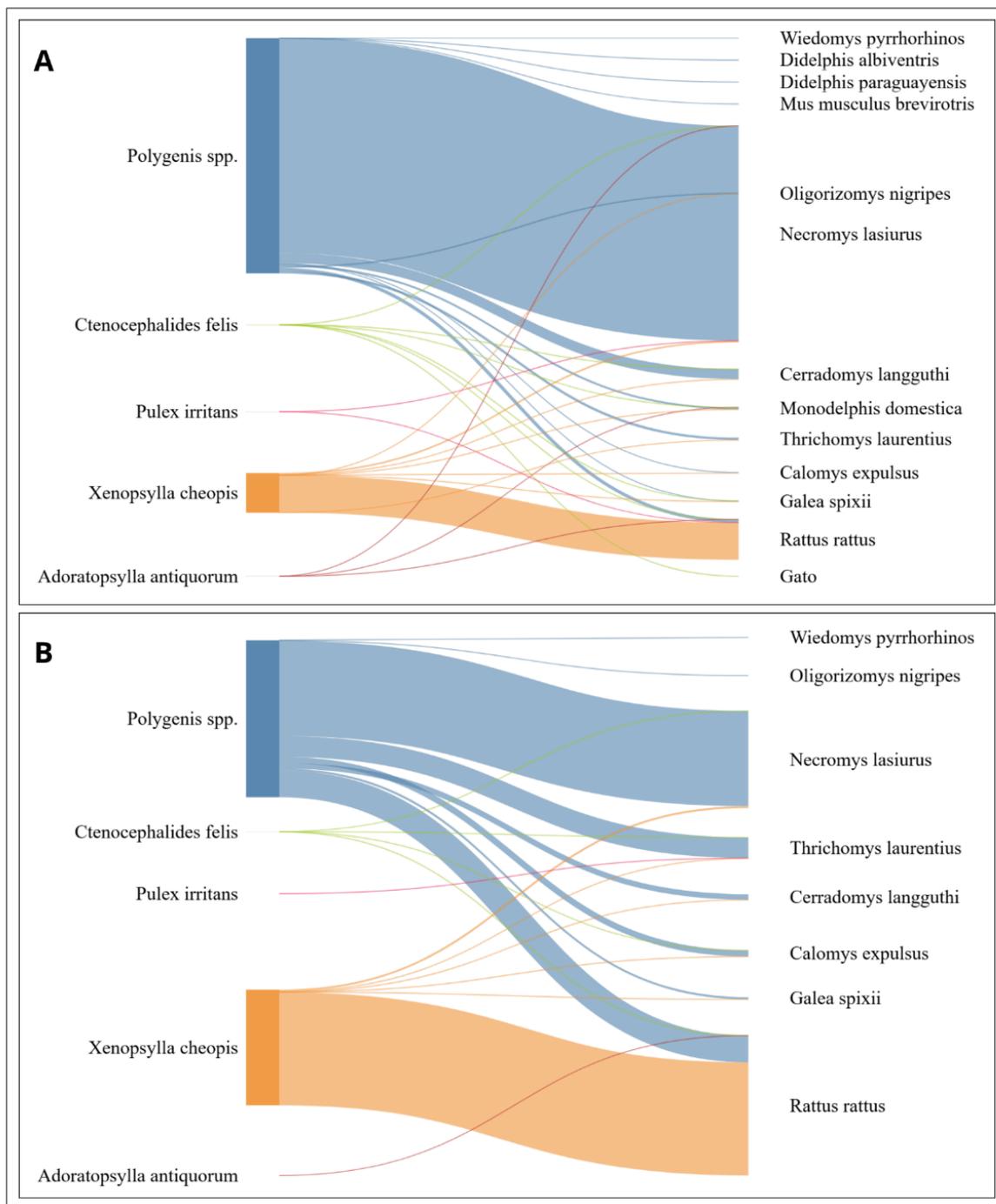
A *Polygenis spp.* apresentou maior valência de hospedeiros, parasitando 12 espécies de pequenos mamíferos, seguido da *X. cheopis* e *C. felis* que parasitaram oito espécies, enquanto a *P. irritans* e *A. antiquorum*, apresentaram a menor valência ecológica, encontradas em apenas três espécies de hospedeiros (Figura 3). Durante o período epidêmico, 91,4% (n= 83.371) das coletas de *Polygenis spp.* foram provenientes do *N. lasiurus* e no período pós-epidêmico esse percentual foi de 60,6% (n= 14.418). Em relação á *X.*

cheopis, 92,9% (n= 14.411) dos espécimes foram registrados parasitando o *R. rattus* no período epidêmico e 97,5% (n= 17.129) no período pós-epidêmico (Figura 3).

Trabalhos anteriores registraram a associação entre *Polygenis spp.* e o roedor silvestre *N. lasiurus* sendo, por isso, considerado um indicativo de risco para o transbordamento da peste aos seres humanos. A associação entre *X. cheopis* e o roedor sinantrópico comensal *R. rattus* também já foi registrada (Brasil, 2008, Almeida *et al.*, 1985, Brasil *et al.*, 1989). Oliveira *et al.*, 2009 observaram que *Polygenis spp.* parasita quase todas as espécies de roedores, enquanto *X. cheopis* restringiu-se aos roedores sinantrópicos. No nosso estudo, verificou-se que *X. cheopis* também podem parasitar roedores silvestres em baixa frequência.

As coletas das pulgas de hospedeiros humanos e pulgas livres nas habitações forneceram: *P. irritans* com 91,9% (n= 424) e 95,4% (n= 62) de seus espécimes encontrados nos pisos das casas, durante o período epidêmico e pós epidêmico da peste, respectivamente (Figura 3). A *C. felis* também foi mais comumente encontrada nos pisos das casas (60,2% no período epidêmico; 86,8% no período pós-epidêmico). Em menores frequências, também houve registros de espécimes de *X. cheopis* coletados de pisos das casas (1,1% no período epidêmico e 0,12% no período pós-epidêmico) (Figura 3).

Figura 3 – Diagrama de Sankey da associação entre espécies de pulgas e seus hospedeiros durante o período epidêmico (1966 – 1980) e pós-epidêmico (1994-2008) da peste no foco da Chapada do Araripe



Legenda: A= Período epidêmico (1966-1980), B= Período pós-epidêmico (1994 – 2008)

Pulgas infectadas por *Y. pestis* durante o período epidêmico (1966 – 1980) na foco de peste na Chapada do Araripe

Ao longo do período epidêmico, 227 cepas de *Y. pestis* foram isoladas de 2.820 pulgas infectadas, pertencentes às seguintes espécies: *Polygenis spp.* (n=2.464; 87,4%), *X. cheopis* (n= 244; 8,7%), *P. irritans* (n=83; 2,9%) e *C. felis* (n=29; 1%). A prevalência de infecção variou de 1,6%(244/15506) para a

X. cheopis até 18%(83/461) para a *P. irritans* (Tabela 3). Essas pulgas parasitavam principalmente o *N. lasiurus* e o *R. rattus*, além de também serem encontradas em gatos ou livres no piso das casas. Todos os espécimes de *P. irritans* infectados foram encontrados no piso das casas, enquanto todos os espécimes de *C. felis* infectado foram coletados de gato (Figura 4).

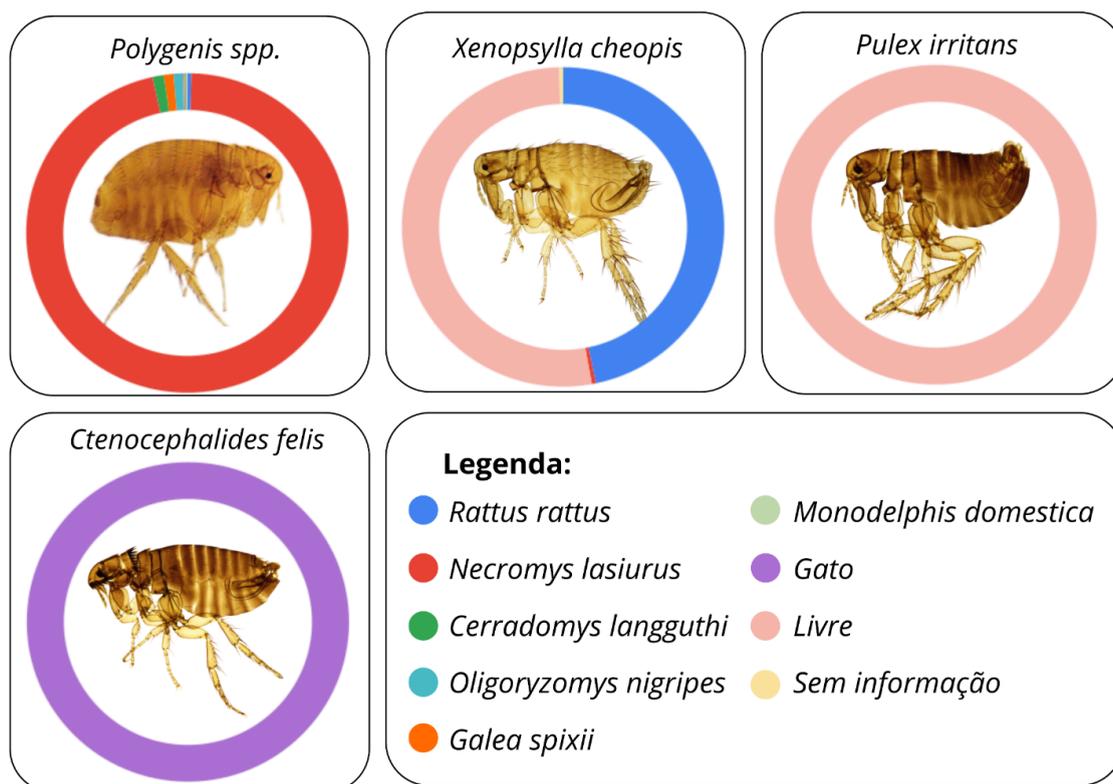
A *P. irritans* é uma espécie cosmopolita popularmente conhecida como a pulga do homem, mas que pode parasitar animais domésticos, como cães e suínos (Linardi e Guimaraes, 2000). Apesar de sua baixa competência vetorial em comparação com outras espécies, como *X. cheopis* ou *Synopsyllus fonquerniei*, especialmente pelo baixo nível de transmissão na fase inicial da infecção e baixo nível de bloqueio do proventículo (Miarinjara *et al.*, 2021), desempenhou um papel importante na transmissão da peste em um surto ocorrido em Madagascar em 2013 sendo a espécie mais abundante nas residências afetadas, com 73,3% das pulgas coletadas pertencendo a essa espécie (Ratovonjato *et al.*, 2014). Portanto, sua ocorrência em humanos também pode representar um risco de peste nos focos brasileiros, uma vez que apresentaram uma taxa de infecção de 18% (83/461) no presente trabalho.

Tabela 3 – Pulgas infectadas por *Y. pestis* durante o período epidêmico (1966 – 1980) na área focal de transmissão da peste da Chapada do Araripe, Pernambuco

Espécies	FA	FR (%)	PI (%)
<i>Polygenis spp.</i>	2464	87,4%	2,7%
<i>Xenopsylla cheopis</i>	244	8,7%	1,6%
<i>Pulex irritans</i>	83	2,9%	18,0%
<i>Ctenocephalides felis</i>	29	1,0%	13,1%

Legenda: FA= Frequência absoluta, FR= Frequência relativa, PI= Prevalência da infecção

Figura 4 - Associação de pulgas infectadas por *Y.pestis* com seus hospedeiros durante período epidêmico (1966-1980) na área focal de transmissão da peste da Chapada do Araripe, Pernambuco.



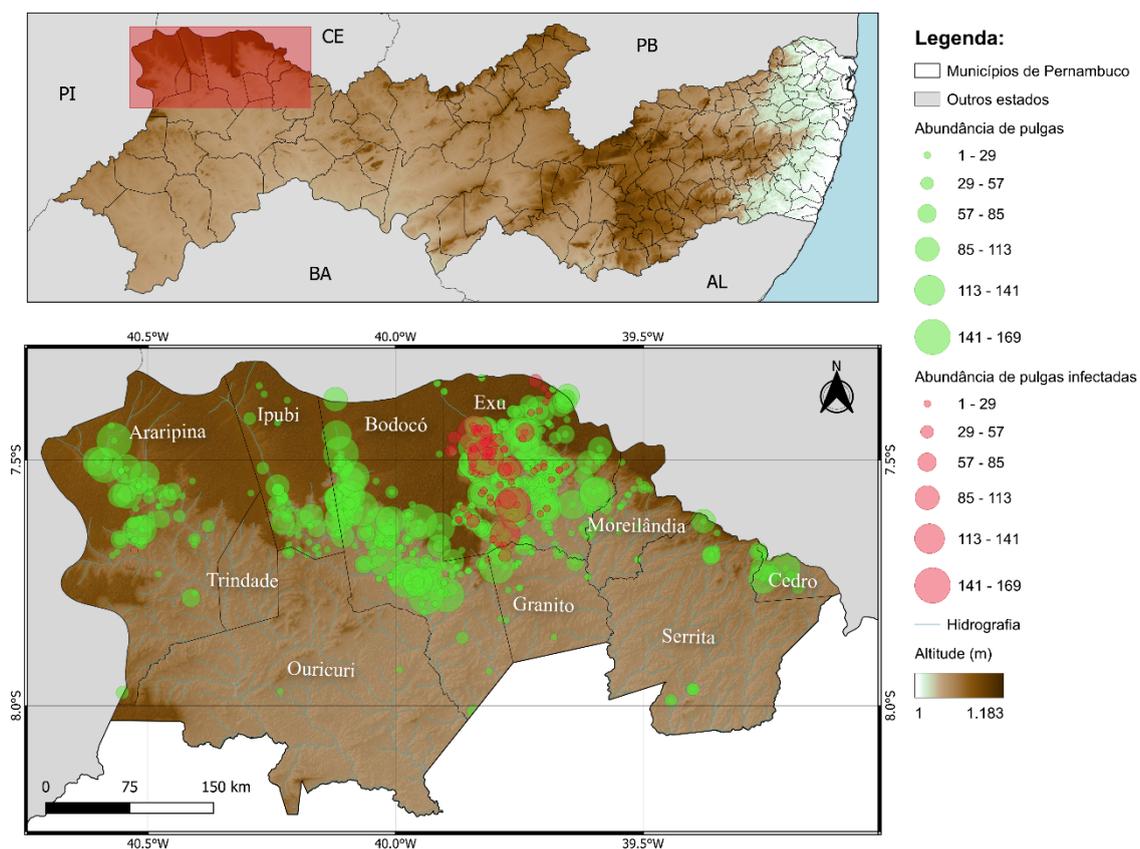
Distribuição espacial de pulgas coletadas no foco de peste na Chapada do Araripe (1966-2008)

No mapa apresentado na figura 5, a abundância de pulgas em cada localidade é representada pelo tamanho dos círculos, além de também conter informações de altitude e hidrografia da região. O município de Exu concentrou a maior abundância de pulgas (n=113.453), seguido dos municípios de Bodocó (n=21.891), Araripina (n=8.230), Ipubi (n=2.042) e Serrita (n=1.183), que registraram coletas de mais de 1.000 pulgas, enquanto os demais municípios (Granito, Cedro, Moreilândia, Trindade, Ouricuri) tiveram menor abundância. Exu também apresentou maior abundância de pulgas infectadas por *Y. pestis*, sendo o município com maior infectividade (n=2.809). Quanto às variáveis ambientais, a maior abundância de pulgas infectadas ocorreu nas encostas da chapada e próximo a rios (Figura 5).

Bezerra *et al.* (2024) identificaram um risco mais elevado de peste em áreas de baixa altitude, localizadas nos sopés da Chapada do Araripe e sugerem que essas regiões apresentam condições ambientais específicas que favorecem a perpetuação da infecção na natureza. Zeppelini *et al.* (2016) e Barbieri *et al.* (2020) mostraram que os focos de peste tendem a compartilhar

características ambientais semelhantes, como altitudes de até 500 metros nos focos brasileiros e acima de 1.000 metros na África, além de estarem localizados em zonas áridas ou semiáridas, geralmente rurais e com baixa densidade populacional. As áreas rurais do município de Exu são majoritariamente ocupadas por propriedades dedicadas à agricultura familiar chamadas “sítios”, distribuídas principalmente ao longo das encostas da Chapada do Araripe, próximas aos cursos d’água. Esse cenário favorece a proximidade entre seres humanos, roedores e suas pulgas (Fernandes *et al.*, 2021b).

Figura 5 - Distribuição espacial de pulgas coletadas no foco de peste na Chapada do Araripe em Pernambuco (1966-2008)



Em conclusão, a *Polygenis spp.*, em associação com seu principal hospedeiro, *N. lasiurus*, pode ter atuado como um amplificador da peste durante eventos epizoóticos, uma vez que a queda significativa na abundância dessa pulga coincidiu com a transição para o período enzoótico da doença.

Além disso, apesar de *P. irritans* ter apresentado maior prevalência de infecção, a *Polygenis spp.* teve maior número de pulgas infectadas e correlação positiva com a ocorrência de casos humanos de peste na Chapada do Araripe.

Alguns parâmetros ecológicos das comunidades de pulgas diferiram significativamente entre os períodos analisados, como a diversidade que foi superior no período pós-epidêmico, enquanto a associação entre *Polygenis spp.* e *N. lasiurus* enfraqueceu, com registros dessa pulga parasitando outros hospedeiros. Em contraste, *X. cheopis* manteve forte associação com *R. rattus* em ambos os períodos analisados, sugerindo estabilidade na relação parasita-hospedeiro nesse contexto.

Quanto às variáveis abióticas, houve uma correlação negativa significativa entre a precipitação e a abundância de pulgas, especialmente da espécie *Polygenis spp.* ($p < 0,01$), sugerindo que as chuvas do semestre anterior influenciam o aumento das pulgas de forma geral, e da *Polygenis spp.* em especial, do semestre seguinte. A distribuição espacial das pulgas infectadas foi concentrada nas encostas da Chapada do Araripe e próximo a corpos hídricos e o município de Exu apresentou as maiores abundâncias de pulgas totais e infectadas.

Referências

- ALMEIDA, A. M. P. de *et al.* Isolamento da *Yersinia pestis* nos focos pestosos do Nordeste do Brasil no período de 1966 a 1982. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 207–218, ago. 1985.
- ALMEIDA, A. M. P. *et al.* Estudos bacteriológicos e sorológicos de um surto de peste no Estado da Paraíba, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 84, n. 2, p. 249–256, jun. 1989.
- ALMEIDA, A. M. P. de *et al.* Does the plague still threaten us? *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 53, p. e20190136, 16 mar. 2020.
- ALMEIDA, F. F. M. *et al.* Províncias estruturais brasileiras. *Actas*, [S.l.], p. 366-391. 1977.
- BARBIERI, R. *et al.* *Yersinia pestis*: the Natural History of Plague. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 34, n. 1, 9 dez. 2020.
- BEN ARI, T. *et al.* Plague and climate: scales matter. *PLoS Pathogens*, [S.l.], v. 7, n. 9, e1002160, 15 set. 2011.

BERGER, W. H. e PARKER, F. L. Diversity of planktonic foraminifera in deep-sea sediments. *Science*, Washington, DC, v. 168, n. 3937, p. 1345–1347, 12 jun. 1970.

BEZERRA, M. F. *et al.* Ecologic, geoclimatic, and genomic factors modulating plague epidemics in primary natural focus, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, v. 30, n. 9, 23 ago. 2024.

BOSIO, C. F. *et al.* Comparison of the transmission efficiency and plague progression dynamics associated with two mechanisms by which fleas transmit *Yersinia pestis*. *PLOS Pathogens*, v. 16, n. 12, p. e1009092, 7 dez. 2020.

BRASIL, D. P. *et al.* Pesquisa da infecção natural por *Yersinia pestis*, em pulicídeos provenientes de focos pestosos do nordeste do Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 22, n. 4, p. 177–181, dez. 1989.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle da Peste. Brasília:Ministério da Saúde, 2008. 92 p. il. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação nº 4, de 28 de setembro de 2017. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2017.

COSTA, E D. C. V. *et al.* Rodents and other small mammal reservoirs in plague foci in northeastern Brazil. *The Journal of Infection in Developing Countries*, v. 11, n. 5, p. 426-430, 1 jun. 2017.

DUBYANSKIY, V. M. e YESZHANOV, A. B. Ecology of *Yersinia pestis* and the Epidemiology of Plague. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, v. 101, p. 1-70, 2016.

DURDEN, L. A. e HINKLE, N. C. Fleas (Siphonaptera). *Medical and Veterinary Entomology*, p. 145-169, 2019.

EISEN, R. J. *et al.* An evaluation of the flea index as a predictor of plague epizootics in the West Nile region of Uganda. *Journal of Medical Entomology*, v. 57, n. 3, p. 893-900, 31 dez. 2019.

EISEN, R. J. e GAGE, K. L. Transmission of Flea-Borne Zoonotic Agents. *Annual Review of Entomology*, v. 57, n. 1, p. 61-82, jan. 2012.

FERNANDES, D. L. R. S. *et al.* Spatial and temporal distribution of rodents during the epizootic and enzootic periods of plague, with a focus on Exu, Northeastern Brazil. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, [S.l.], v. 6, n. 4, p. 195, 1 dez. 2021b.

FERREIRA, J. C. V. *et al.* Atividade de campo e o ensino de geografia física: uma proposta de roteiro científico para a Chapada do Araripe, Ceará, NE do Brasil. *Sociedade e Território*, v. 28, n. 1, p. 174–192, 2016.

GRÁCIO, A. J. dos S. e GRÁCIO, M. A. A. Plague: a millenary infectious disease reemerging in the XXI century. *BioMed Research International*, 2017.

IBGE. IBGE | Portal do IBGE. 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/>. Acesso em: 5 fev. 2025.

KRASNOV, B. R. Ecological characteristics of flea species relate to their suitability as plague vectors. *Oecologia*, v. 149, n. 3, p. 474-481, set. 2006.

LEAL, N. C *et al.* Plasmid composition and virulence-associated factors of *Yersinia pestis* isolates from a plague outbreak at the Paraíba State, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 31, n. 5, p. 295–300, 1 out. 1989.

LINARDI, P. M. e GUIMARÃES, L. R. Sifonápteros do Brasil. 2000.

LINARDI, P. M. Fleas as useful tools for science. *Diversity [Internet]*, v. 15, n. 11, art. 1153, 1 nov. 2023.

MARGALEF, R. Information theory in ecology. *General Systems*, Barcelona, v.3, p.36-71, 1958.

MIARINJARA, A. *et al.* Poor vector competence of the human flea, *Pulex irritans*, to transmit *Yersinia pestis*. *Parasites & Vectors*, [S. l.], v. 14, n. 1, 10 jun. 2021.

MOU, W. *et al.* Flea index predicts plague epizootics among great gerbils (*Rhombomys opimus*) in the Junggar Basin China plague focus. *Parasites & Vectors*, v. 15, n. 1, 17 jun. 2022.

NOVAES, R. L. M. e LAURINDO, R. de S. Morcegos da Chapada do Araripe, nordeste do Brasil. *Papéis Avulsos de Zoologia (São Paulo)*, São Paulo, v. 54, n. 22, p. 315–328, 2014.

OLIVEIRA, G. M. *et al.* Sifonápteros de roedores no foco de peste da Chapada do Araripe, Pernambuco, Brasil, 2002-2008. *Revista de Patologia Tropical*, Goiânia, v. 38, n. 3, 19 out. 2009.

PÔRTO, K. *et al.* Brejos de Altitude em Pernambuco e Paraíba.

RATOVONJATO, J. *et al.* *Yersinia pestis* in *Pulex irritans* fleas during plague outbreak, Madagascar. *Emerging Infectious Diseases*, [S. l.], v. 20, n. 8, p. 1414–1415, ago. 2014.

SHANNON, C.E. e WIENER, W. The mathematical theory of communication. Urbana: University of Illinois Press, 1949.

SIMPSON, E. H. Measurement of diversity. *Nature*, Londres, v. 163, n. 4148, p. 688, abr. 1949.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. International Health Regulations (2005) Third Edition. 2016. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241580496>. Acesso em: 5 fev. 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Plague. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/plague>. Acesso em: 5 fev. 2025.

XU, L. *et al.* Climate-driven marmot-plague dynamics in Mongolia and China. *Scientific Reports*, [S.l.], v. 13, n. 1, p. 11906, 24 jul. 2023.

YANG, R. *et al.* *Yersinia pestis* and Plague: Some Knowns and Unknowns. *Zoonoses*, v. 3, n. 1, 2023.

ZEPPELINI, C. G. *et al.* Zoonoses as ecological entities: a case review of plague. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 10, n. 10, 6 out. 2016.

ZEPPELINI, C. G. *et al.* Ongoing quiescence in the Borborema Plateau Plague focus (Paraíba, Brazil). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 90, p. 3007–3015, 2018.

Agradecimentos

Ao corpo técnico do Serviço de Referência Nacional em Peste e ao Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ-PE) por todo o apoio e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro por meio da concessão de bolsa de estudo.

Contribuição dos autores

HAS - Coleta e organização dos dados, análise e interpretação dos dados, redação do rascunho original; AMPA - Orientação, disponibilização dos dados e revisão crítica do manuscrito.

4.2 ARTIGO 2: A ser submetido À Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (<https://www.scielo.br/j/rsbmt/>) – Comunicação Breve

Biodiversidade de pulgas em três áreas de transmissão de peste do estado de Pernambuco, Brasil: Chapada do Araripe, Planalto da Borborema e Serra do Triunfo (1979– 1983)

Hadassa de Almeida Souza¹, Alzira Maria Paiva de Almeida²

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas/Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil.

² Departamento de Microbiologia, Instituto Aggeu Magalhães–Fiocruz PE, Recife, Pernambuco, Brasil.

Resumo

As pulgas além de importantes vetores da peste também podem contribuir para a perpetuação da infecção nos períodos interepizoóticos. A peste, uma zoonose de roedores que pode infectar os humanos, circula em focos naturais em diversas regiões do mundo, inclusive no Brasil. O objetivo deste trabalho foi estudar a diversidade e a distribuição espacial das pulgas nas três áreas focais de transmissão do estado de Pernambuco localizadas na Chapada do Araripe, Planalto da Borborema e Serra do Triunfo no período de 1979 a 1983. Dados históricos do acervo do Serviço de Referência Nacional de Peste foram analisados com ferramentas de Sistema de Informação Geográfica, estatística descritiva, testes não paramétricos e índices ecológicos. As análises mostraram maior abundância da *Polygenis spp.* geralmente associada ao roedor *Necromys lasiurus* nos três focos estudados; a *Xenopsylla cheopis* associada ao *Rattus rattus* teve abundância significativamente maior na Chapada do Araripe e *Pulex irritans* apresentou frequência significativamente mais elevada no Planalto da Borborema, onde também foram encontradas as espécies *Xenopsylla brasiliensis* e *Tunga penetrans*. Apesar da Serra do Triunfo ter apresentado a menor riqueza de espécies, foi neste foco que se observou a maior diversidade. Verificou-se ainda correlação negativa entre a pluviometria e a frequência de *Polygenis spp.* em todos os focos, exceto no

foco do Planalto Borborema.

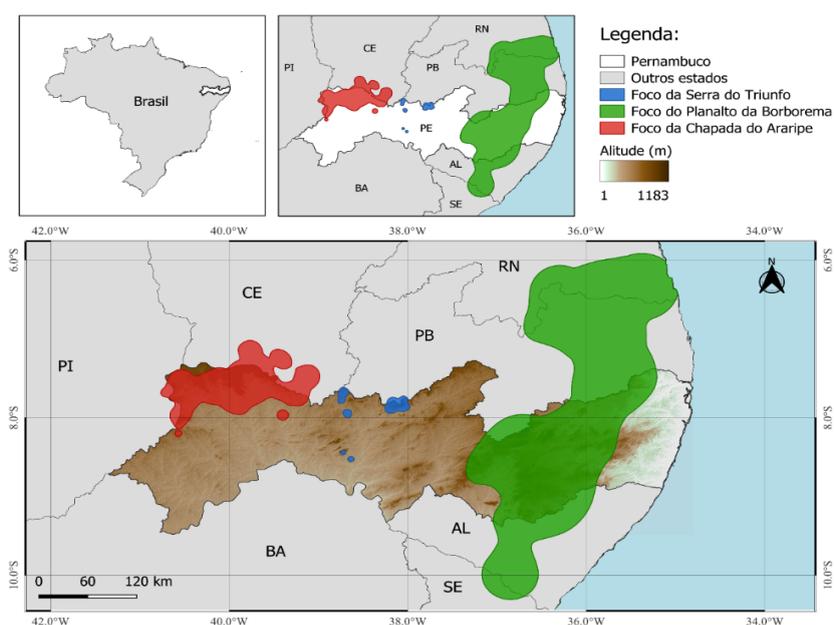
Palavras-chave

Siphonaptera, Zoonoses, Doenças de Roedores, Ecologia, Mudanças climáticas, *Yersinia pestis*.

As pulgas são insetos hematófagos pertencentes à ordem *Siphonaptera*, que atuam como vetores e reservatório de diversas zoonoses, como a peste bubônica, uma zoonose de roedores causada pela bactéria *Yersinia pestis* que pode infectar outros mamíferos, inclusive os humanos (Durden e Hinkle, 2019; Yang *et al.*, 2023). Essa doença ainda é endêmica na África, Ásia e Américas, podendo reaparecer em áreas silenciosas, por mecanismos que ainda não foram totalmente esclarecidos (WHO, 2022; Zeppelini *et al.*, 2016).

No Brasil, a peste foi introduzida pelo porto de Santos em São Paulo no ano de 1899 e estabeleceu focos naturais que estão distribuídos desde o Ceará até o norte de Minas Gerais e na Serra dos Órgãos. Em Pernambuco, as áreas de foco abrangem importantes complexos ecológicos (Figura 1) como: a Chapada do Araripe, o Planalto da Borborema e a Serra do Triunfo (Brasil, 2008; Almeida *et al.*, 2020). A presença de anticorpos específicos para a *Y. pestis* entre animais sentinela tem sido detectada até os dias atuais nas áreas onde são realizadas atividades de vigilância (SRP – informação pessoal).

Figura 1. Áreas de foco de peste em Pernambuco



A diversidade de pulgas nas três áreas focais de transmissão do estado de Pernambuco foi comparada utilizando um acervo de dados completos sobre as datas e locais das coletas de pulgas realizadas ininterruptamente durante o Programa de Controle da Peste (PCP), além de dados da pluviosidade e relevo obtidos a partir da Shuttle Radar Topography Mission (SRTM), por meio da plataforma Google Earth Engine, e do Sistema Nacional de Informações sobre Recursos Hídricos da Agência Nacional de Águas (ANA), abrangendo todo o período de estudo.

As análises descritivas foram realizadas no Excel, incluindo o cálculo de frequências absoluta e relativa, as análises ecológicas foram conduzidas no software R, com o auxílio do pacote *vegan*, para estimativa de parâmetros de diversidade; e no software BioEstat 5.3 para aplicação de testes estatísticos não paramétricos, adotando-se nível de significância de 5%.

No período de 1979 a 1983, foram coletadas 87.547 pulgas nas áreas focais de transmissão da peste do estado de Pernambuco localizadas na Chapada do Araripe (n=47811), Planalto da Borborema (n=30036) e Serra do Triunfo (n=9.700). Essas pulgas fazem parte das famílias *Pulicidae*, com *P. irritans* (n=4.094), *X. cheopis* (n=20.454), *C. felis* (n=1071) e *Xenopsylla brasiliensis* (n=964); *Rhopalopsyllidae*, com *Polygenis spp.* (n=60.940); *Hystrihopsyllidae*, com *A. antiquorum* (n=21); e Tungidae, com *Tunga penetrans* (n=3) (Tabela 1).

A pulga mais abundante em todos os focos foi as pertencentes ao gênero *Polygenis spp.*, alcançando o maior índice de dominância específica no foco do Planalto da Borborema, onde o índice de Berger-Parker foi de 0,75. A *X. cheopis* também predominou entre os focos, chegando a compor até 41,3% (n= 4.003) das pulgas coletadas na Serra do Triunfo. A *A. antiquorum* apresentou baixas frequências de coleta e só ocorreu no foco da Chapada do Araripe e no Planalto da Borborema. Já as espécies *P. irritans* e *C. felis* tiveram suas maiores frequências de coleta na região do Planalto da Borborema. Além disso, esse foi o único foco com ocorrência das espécies *X. brasiliensis* e *T. penetrans*, representando respectivamente 3,21% e 0,01% da fauna de pulgas coletadas nessa região (Tabela 1).

Tabela 1 – Diversidade de espécies de pulgas coletadas nos focos de Peste em Pernambuco entre 1979 e 1983.

Espécies	Chapada do Araripe		Planalto da Borborema		Serra do Triunfo	
	FA	FR	FA	FR	FA	FR
<i>Polygenis spp.</i>	33508	70,08	22583	75,19	4849	49,99
<i>Xenopsylla cheopis</i>	13610	28,47	2841	9,46	4003	41,27
<i>Pulex irritans</i>	324	0,68	3176	10,57	594	6,12
<i>Ctenocephalides felis</i>	368	0,77	449	1,49	254	2,62
<i>Adoratopsylla antiquorum</i>	1	0,00	20	0,07	0	0,00
<i>Xenopsylla brasiliensis</i>	0	0,00	964	3,21	0	0,00
<i>Tunga penetrans</i>	0	0,00	3	0,01	0	0,00
Total	47811	-	30036	-	9700	-

Legenda: FA= Frequência absoluta, FR= Frequência relativa

O foco do Planalto da Borborema apresentou a maior riqueza de espécies ($n=7$), diferentemente do foco da Serra do Triunfo que só registrou quatro (4) espécies. O maior índice de Shannon-Wiener (H') (4,39) foi registrado na Serra do Triunfo, enquanto o foco da Chapada do Araripe apresentou o menor (3,88). O índice de Simpson, foi alto em todos os focos, variando entre 0,97 e 0,98 (Tabela 2).

Tabela 2 – Parâmetros de diversidade de pulgas coletadas nos focos de Peste em Pernambuco entre 1979 e 1983

Parâmetros	Chapada do Araripe	Planalto da Borborema	Serra do Triunfo
Riqueza (S)	5	7	4
Índice de Simpson (D)	0,97	0,98	0,98
Índice de Shanon-Wiener (H')	3,88	4,17	4,39
Índice de Berger-Parker (d)	0,70	0,75	0,50

Nos focos da Chapada do Araripe ($Fr= 41,28$) e Serra do Triunfo ($Fr= 30,80$), o teste de Friedman indicou um padrão semelhante na frequência das comunidades de pulgas, com *Polygenis spp.* e *X. cheopis* representando as espécies mais abundantes, sem diferenças significativas entre elas ($p>0,05$), mas que se diferenciam significativamente de outras espécies, como *P. irritans*, *C. felis* e *A. antiquorum* ($p<0,05$), que ocorrem em menor abundância. No foco

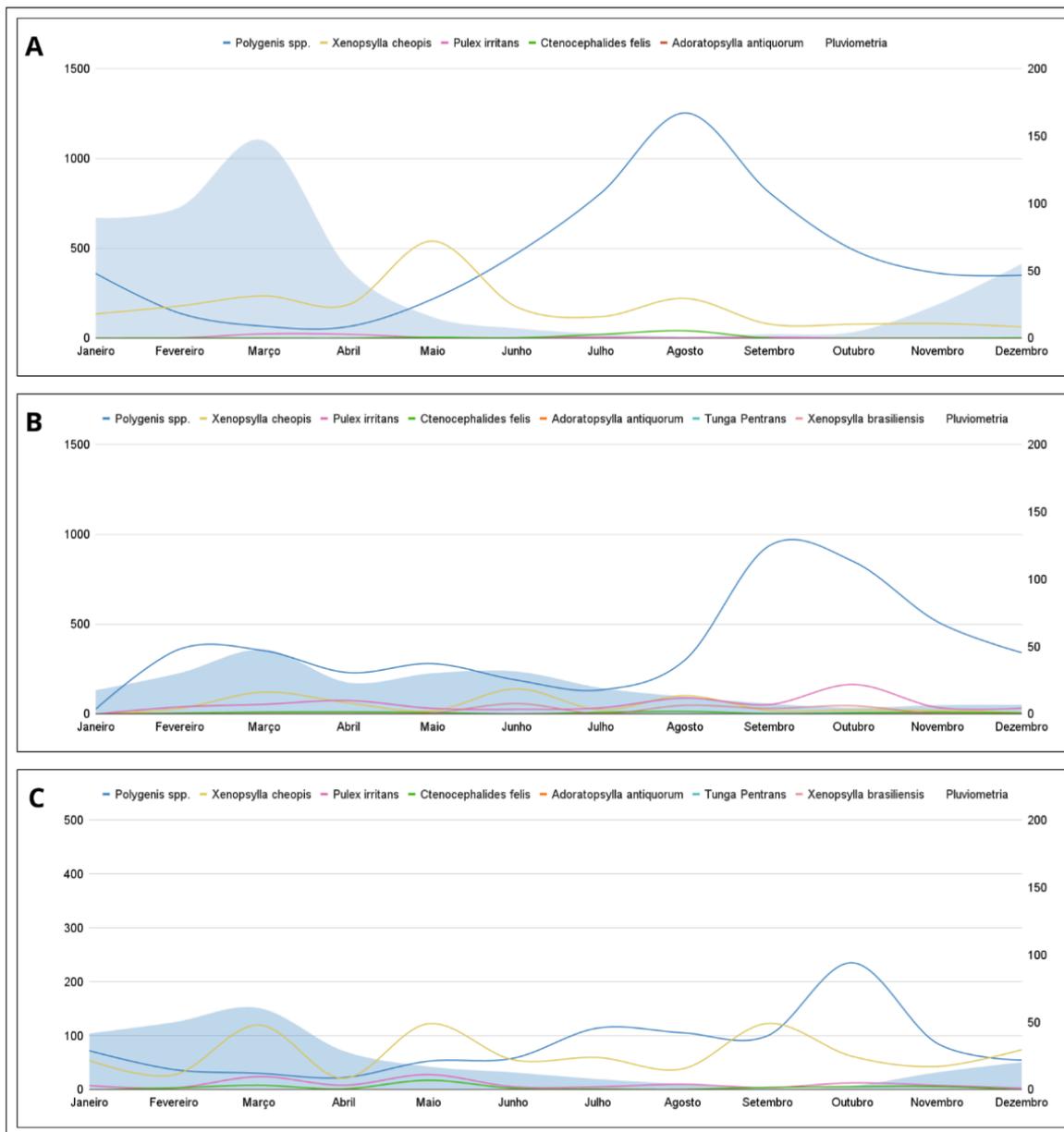
do Planalto da Borborema ($F_r = 55,76$) também não houve diferença significativa entre as espécies menos frequentes: *C. felis*, *A. antiquorum*, *T. penetrans* e *X. brasiliensis* ($p > 0,05$), mas foram significativamente diferentes em relação a *Polygenis spp.* que foi mais abundante ($p < 0,05$).

A média mensal da *Polygenis spp.* variou de 64,4 a 1.253,60 na Chapada do Araripe, de 26,8 a 936,4 no Planalto da Borborema e de 22,4 a 235,4 na Serra do Triunfo, atingindo pico nos meses de agosto, setembro e outubro nos focos da Chapada do Araripe, Planalto da Borborema e Serra do Triunfo, respectivamente (Figura 2). O teste de Kruskal-Wallis detectou uma diferença significativa na frequência mensal da *Polygenis spp.* entre os focos ($H = 15,2748$; $p = < 0,01$) e o pós-teste de Dunn identificou o foco da Serra do Triunfo como o responsável, apresentando frequências significativamente inferiores dessa espécie, em relação aos outros focos ($p < 0,05$).

A *X. cheopis* teve maior ocorrência nos meses de maio na Chapada do Araripe ($n = 540,4$), em junho no Planalto da Borborema ($n = 140,2$) e na Serra do Triunfo apresentou oscilações durante o ano, alcançando seus maiores valores de coleta nos meses de março ($n = 120$), maio ($n = 122,4$) e setembro ($n = 122,8$) (Figura 2). O teste de Kruskal-wallis ($p < 0,01$) com o pós-teste de Dunn ($p < 0,05$), também revelou variações significativas na frequência dessa espécie entre os focos, com o foco da Chapada do Araripe apresentando uma frequência de *X. cheopis* significativamente maior.

O teste de Kruskal-wallis ($p < 0,01$) juntamente com o pós-teste de Dunn ($p > 0,05$), também detectou que o foco do Planalto da Borborema apresentou médias mensais da coleta da *P. irritans* significativamente maiores do que em outros focos. Na figura 2, também é possível observar que a *Polygenis spp.* alcança as maiores frequências médias durante os meses de menor pluviometria, havendo correlação negativa entre esses fatores na Chapada do Araripe ($r_s = -0,87$; $p < 0,01$) e Serra do Triunfo ($r_s = -0,84$; $p < 0,01$).

Figura 2 – Variação sazonal das coletas de pulgas nos focos de peste em Pernambuco (1979-1983).



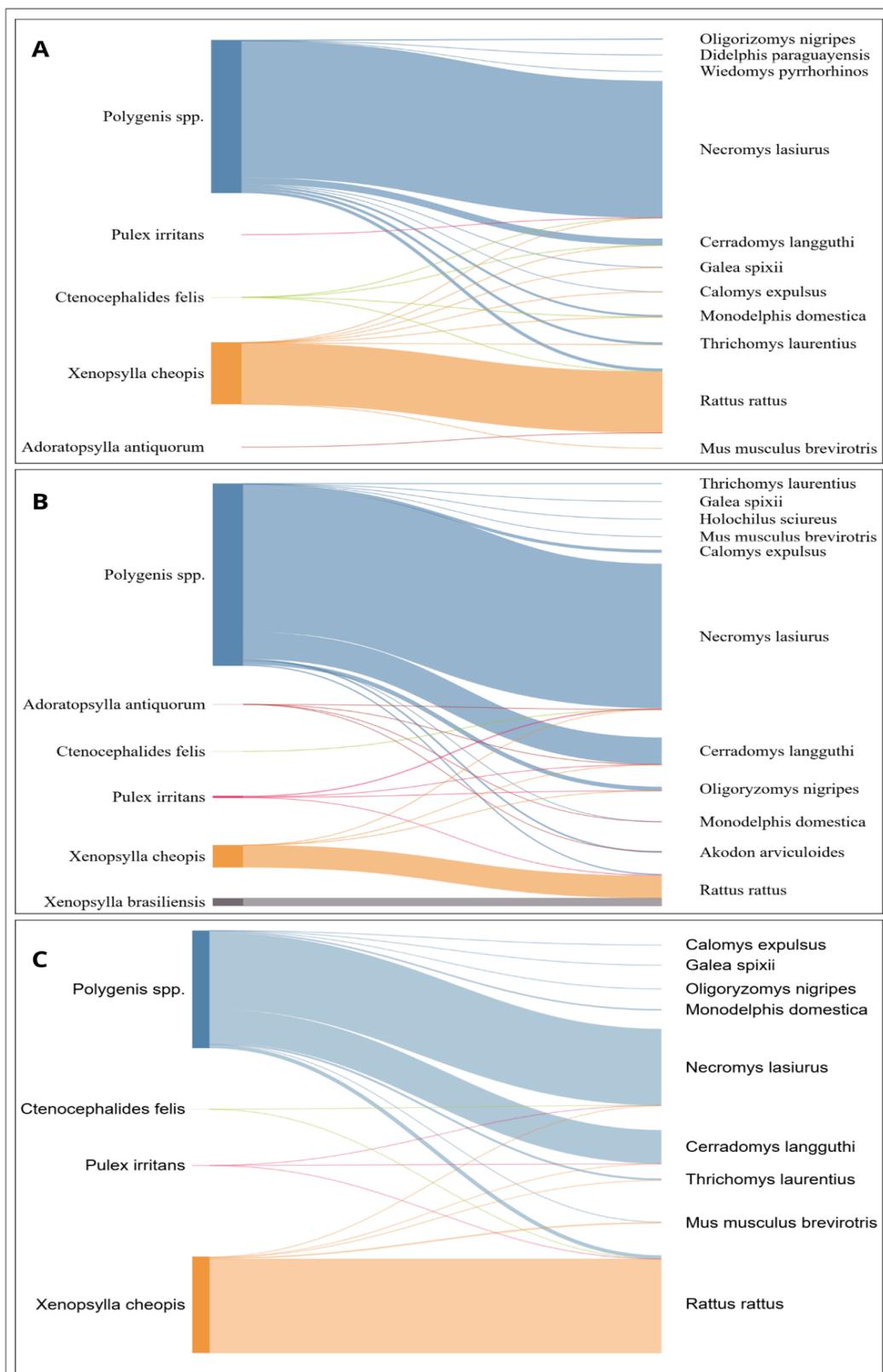
Legenda: A= Foco da Chapada do Araripe, B= Foco do Planalto da Borborema, C= Foco da Serra do Triunfo, eixo X= meses, eixo Y principal= médias das coletas das pulgas, eixo Y secundário= pluviometria e casos humanos

Em todos os focos, mais de 90% das pulgas da espécie *X. cheopis* foram encontradas no *R. rattus*. Também houve registros da *X. cheopis* em menores frequências no roedor comensal *Mus musculus brevis* (1,3% na Serra do Triunfo) e no roedor silvestre *N. lasiurus* (0,7% na Chapada do Araripe, 0,4% no Planalto da Borborema e 0,6% na Serra do Triunfo). Notavelmente, mais da metade das *Polygenis spp.* parasitavam o *N. lasiurus* em todos os focos: sendo 89,4% na Chapada do Araripe, 79,1% no Planalto

da Borborema e 60,9% na Serra do Triunfo. A *Polygenis spp.* também parasitou com frequência o *C. langguthi*, chegando a representar 26,7% das pulgas coletadas neste roedor, no foco da Serra do Triunfo e também foi encontrada no *R. rattus* em todos os focos (Figura 3).

A *C. felis* foi encontrada parasitando principalmente *M. domestica* na Chapada do Araripe (8,4%), *N. lasiurus* no Planalto da Borborema (5,8%) e *R. rattus* na Serra do Triunfo (1,6%). A *P. irritans* foi encontrada parasitando principalmente o *N. lasiurus* no foco da Chapada do Araripe (1,8%), do Planalto da Borborema (5,8%) e da Serra do Triunfo (1%). A *A. antiquorum* só foi encontrada em *R. rattus* na Chapada do Araripe, mas no foco do Planalto da Borborema foi encontrada parasitando o *C. langguthi* (40%), *Akodon arviculoides* (20%), *N. lasiurus* (15%) e o marsupial *M. domestica* (10%). A *X. brasiliensis* foi encontrada apenas em *R. rattus* no foco do Planalto da Borborema em uma frequência de 99,7%, (Figura 3).

Figura 3 - Diagrama de Sankey da associação entre espécies de pulgas e seus hospedeiros nos focos de peste em Pernambuco (1979-1983).



Legenda: A= Foco da Chapada do Araripe, B= Foco do Planalto da Borborema, C= Foco da Serra do Triunfo

As coletas das pulgas de hospedeiros humanos e pulgas livres nas habitações

fornececeram: *P. irritans* com 98,1% (n= 318), 91,4% (n= 2.904) e 95,8% (n=569) de seus espécimes encontrados nos pisos das casas, no foco de peste da Chapada do Araripe, Planalto da Borborema e Serra do Triunfo, respectivamente. A *C. felis* também foi mais comumente encontrada nos pisos das casas, representando 84,8% (n= 312) no foco da Chapada do Araripe, 94,2% (n=423) no Planalto da Borborema e 81,9% (n=208) na Serra do Triunfo. Em menores frequências, também houve registros de espécimes de *X. cheopis* coletados de pisos das casas: 0,3% (n=41) no foco da Chapada do Araripe, 2% (n=56) no Planalto da Borborema e 1,5% (n=61) na Serra do Triunfo) (Figura 3).

Nos mapas apresentados nas figuras 4, 5 e 6, a abundância de pulgas em cada localidade é representada pelo tamanho dos círculos, além de também conter informações de altitude e hidrografia da região. Os municípios com maior número de registros de *Polygenis spp.* associada ao *N. lasiurus* e *X. cheopis* associada ao *R. rattus* foram Exu (Foco da Chapada do Araripe), Bom Conselho (Foco do Planalto da Borborema) e Triunfo (Foco da Serra do Triunfo) (Figura 4, 5 e 6).

No foco da Chapada do Araripe, o município de Exu concentrou a maior abundância de pulgas (n=113.453), seguido dos municípios de Araripina (n=10.542), Bodocó (n=9.156) e Ipubi (n=1.968). No Planalto da Borborema, a abundância de pulgas está dispersa em várias localidades, com maior concentração no município de Bom Conselho (n=10.094) e em outros como São Caitano, Caetés, Buíque, Correntes e Garanhuns, com mais de 1.000 pulgas coletadas, enquanto os demais apresentaram menores abundâncias (Tacaimbó, Caruaru, Cachoeirinha, Capoeiras, Brejo da Madre de Deus, Altinho, Angelim, Lagoa do Ouro, Terezinha, Canhotinho, São João, Vitória de Santo Antão). Na foco da Serra do Triunfo, foram coletadas pulgas apenas no município de Triunfo (n=6.446) e Santa Cruz da Baixa Verde (n=3.254) (Figura 4, 5, 6).

Figura 4 - Distribuição espacial de pulgas coletadas no foco de peste na Chapada do Araripe em Pernambuco (1979-1983)

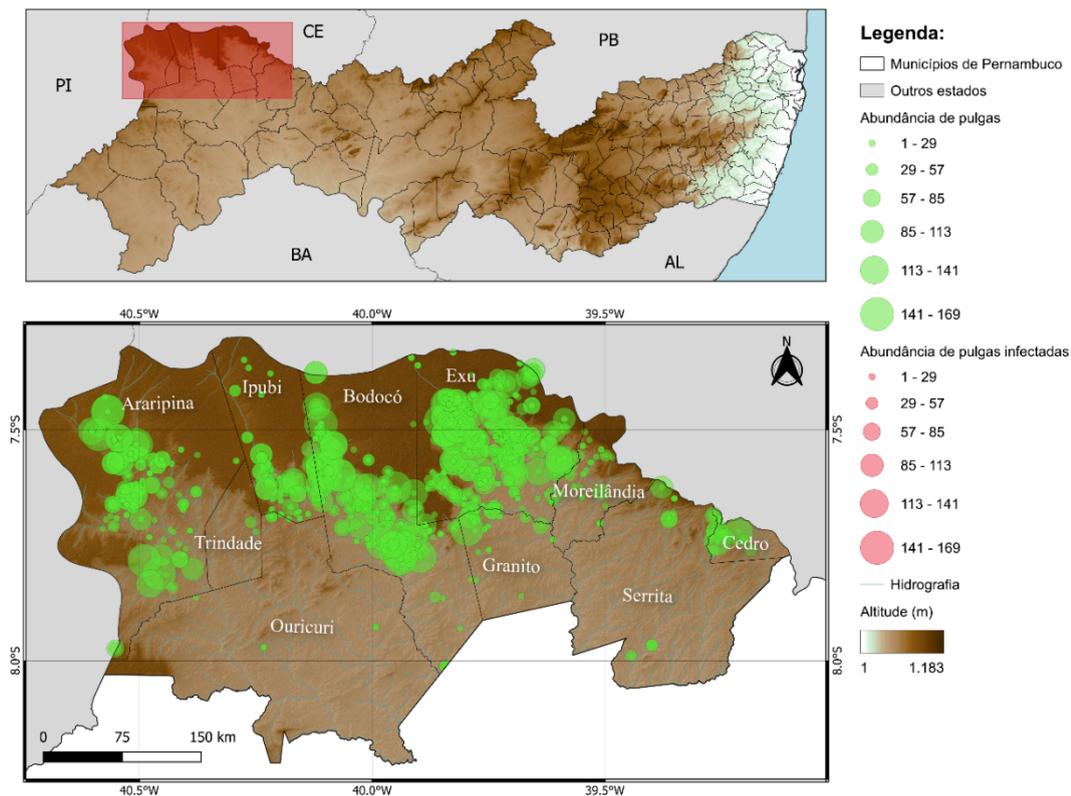


Figura 5 - Distribuição espacial de pulgas coletadas no foco de peste no Planalto da Borborema em Pernambuco (1979-1983)

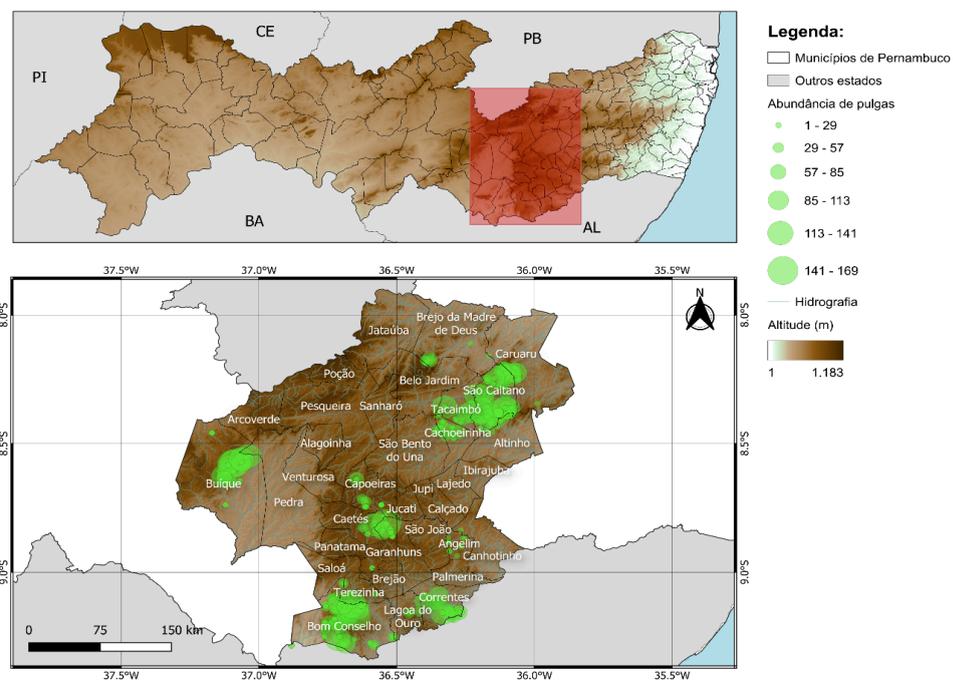
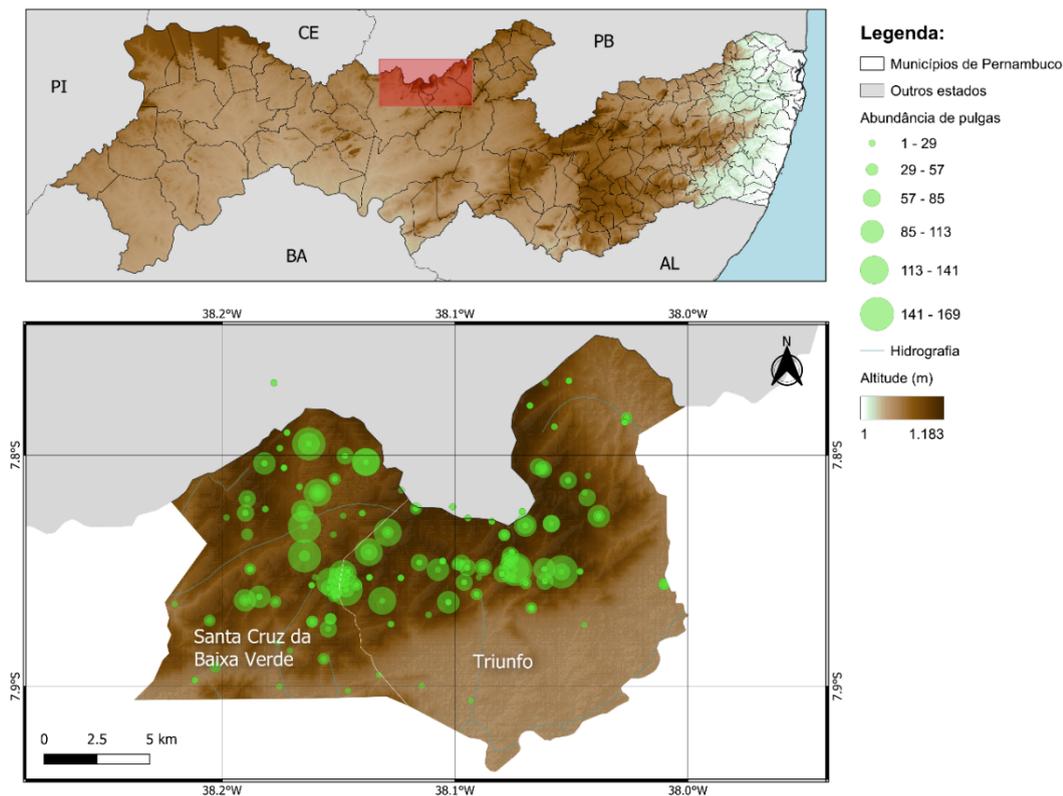


Figura 6 - Distribuição espacial de pulgas coletadas no foco de peste na Serra do Triunfo em Pernambuco (1979-1983)



Em conclusão, embora o foco da Serra de Triunfo tenha apresentado maior diversidade ecológica de pulgas, todos os focos compartilham similaridades na comunidade de pulgas, sendo a *Polygenis spp.* a espécie predominante, geralmente associada ao roedor *N. lasiurus*, enquanto a *X. cheopis* apresentou forte associação com *R. rattus*, já a *Pulex spp.* e *C. felis* foram mais comumente encontradas no piso das residências em todos os focos analisados. Também foi observado uma correlação negativa significativa entre a precipitação e a abundância de pulgas — especialmente *Polygenis spp.* — em todos os focos, com exceção do Planalto da Borborema. Esses achados sugerem que as chuvas do semestre anterior influenciam o aumento da abundância de pulgas, em especial de *Polygenis spp.*, no semestre subsequente. O município de Exu concentrou a maior abundância de pulgas no foco da Chapada do Araripe, no Planalto da Borborema foi o de Bom Conselho e na Serra do Triunfo as coletas ocorreram apenas nos municípios de Triunfo e Santa Cruz da Baixa Verde.

Referências

ALMEIDA, A. M. P. de *et al.* Does the plague still threaten us? Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 53, p. e20190136, 16 mar. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle da Peste. Brasília:Ministério da Saúde, 2008. 92 p. il. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

DURDEN, L. A. e HINKLE, N. C. Fleas (Siphonaptera). Medical and Veterinary Entomology, p. 145-169, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Plague. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/plague>. Acesso em: 5 fev. 2025.

YANG, R. *et al.* *Yersinia pestis* and Plague: Some Knowns and Unknowns. Zoonoses, v. 3, n. 1, 2023.

ZEPPELINI, C. G. *et al.* Zoonoses as ecological entities: a case review of plague. PLoS Neglected Tropical Diseases, v. 10, n. 10, 6 out. 2016.

Agradecimentos

Ao corpo técnico do Serviço de Referência Nacional em Peste e ao Instituto Aggeu Magalhães (FIOCRUZ-PE) por todo o apoio e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro por meio da concessão de bolsa de estudo.

5 CONCLUSÕES

Em conclusão, a *Polygenis spp.*, em associação com seu principal hospedeiro, *N. lasiurus*, pode ter atuado como um amplificador da peste durante eventos epizoóticos, uma vez que a queda significativa na abundância dessa pulga coincidiu com a transição para o período enzoótico da doença e sua frequência correlacionou-se com a ocorrência de casos humanos de peste na Chapada do Araripe. Apesar disso, foi a *P. irritans* que apresentou maior prevalência de infecção.

A diversidade de pulgas foi superior no período pós-epidêmico de peste na Chapada do Araripe, quando a associação entre *Polygenis spp.* e *N. lasiurus* enfraqueceu, com registros dessa pulga parasitando outros hospedeiros. Em contraste, *X. cheopis* manteve forte associação com *R. rattus* em ambos os períodos analisados, sugerindo estabilidade na relação parasita-hospedeiro nesse contexto.

No período de 1979 a 1983, a Serra de Triunfo apresentou maior diversidade ecológica de pulgas, porém todos os focos apresentaram um padrão: *Polygenis spp.* como a espécie predominante, associada ao *N. lasiurus*. Já a *Pulex spp.* e *C. felis* foram mais frequentemente encontradas no piso das residências em todos os focos analisados.

Houve uma correlação negativa significativa entre a precipitação e a abundância de pulgas, especialmente da espécie *Polygenis spp.* ($p < 0,01$), sugerindo que as chuvas do semestre anterior influenciam o aumento das pulgas de forma geral, e da *Polygenis spp.* em especial, do semestre seguinte. Esse fenômeno ocorreu durante todo o período de estudo em todos os focos, com exceção do Planalto da Borborema.

A distribuição espacial das pulgas infectadas foi concentrada nas encostas da Chapada do Araripe e próximo a corpos hídricos e o município de Exu apresentou as maiores abundâncias de pulgas totais e infectadas. No Planalto da Borborema foi o de Bom Conselho e na Serra do Triunfo as coletas ocorreram apenas nos municípios de Triunfo e Santa Cruz da Baixa Verde.

6 SÚMULA CURRICULAR

RESUMOS PUBLICADOS EM ANAIS DE CONGRESSOS E EVENTOS CIENTÍFICOS

- Influência das variáveis climáticas na população de roedores hospedeiros da Peste. GOMES, M.M; FERNANDES, D.L.R; DUARTE, B.M; **SOUZA, H.A**; BEZERRA, M.F; SOBREIRA, M ; ALMEIDA, A.M.P. In: 11º Semana de Biociências e Biotecnologia em Saúde, 2023, Recife, PE. Disponível em: <https://www.even3.com.br/documentos>. Acesso em: 21 jan. 2025. Código de verificação: 18874723.83701817.015104.8.8874723837018170151048 .
- Novos dados sobre roedores, reservatórios da peste, nas áreas de transmissão do Brasil. GOMES, M.M; FERNANDES, D.L.R; DUARTE, B.M; **SOUZA, H.A**; BEZERRA, M.F; ALMEIDA, A.M.P; SOBREIRA, M. In: 58º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2023, Salvador, BA. Disponível em: validacertificados.iweventos.com.br. Acesso em: 21 jan. 2025. Código de verificação: 35860fe503.
- Dinâmica da distribuição e circulação de anticorpos contra a peste no estado de Pernambuco, Brasil. DUARTE, B.M; FERNANDES, D.L.R.S; **SOUZA, H.A**; GOMES, M.M; SOBREIRA, M; BEZERRA, M.F; ALMEIDA, A.M.P. In: 58º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2023, Salvador, BA. Disponível em: validacertificados.iweventos.com.br. Acesso em: 21 jan. 2025. Código de verificação: b1fdcf1bb4
- Pulgas (Insecta, Siphonaptera) parasitos de roedores e outros pequenos mamíferos durante períodos epidêmico e pós-epidêmico no foco de Peste na Chapada do Araripe (Pernambuco, Brasil). **SOUZA, H.A**; DUARTE, B.M; FERNANDES, D.L.R.S; GOMES, M.M; BEZERRA, M.F; ALMEIDA, A.M.P; SOBREIRA, M. In: 58º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2023, Salvador, BA. Disponível em: validacertificados.iweventos.com.br. Acesso em: 21 jan. 2025. Código de verificação: 089a38a576.
- Análise retrospectiva da diversidade de ectoparasitas de roedores e outros pequenos mamíferos na área focal de Peste da Chapada do Araripe (Pernambuco, Brasil). **SOUZA, H.A**; DUARTE, B.M; FERNANDES,

D.L.R.S; GOMES, M.M; AMANCIO, J.G.C; SOBREIRA, M; BEZERRA, M.F; ALMEIDA, A.M.P. . In: 59º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2024, São Paulo, SP. Disponível em: validacertificados.iweventos.com.br. Acesso em: 21 jan. 2025. Código de verificação: 33aaddb4bb.

- Perfil da associação de pulgas/ectoparasitas com roedores e outros pequenos mamíferos no foco de peste da Serra do Triunfo (PE) no período epizootico de 1978 a 1988. GOMES, M.M; DUARTE, B.M; FERNANDES, D.L.R.S; **SOUZA, H.A**; AMANCIO, J.G.C; SOBREIRA, M; BEZERRA, M.F; ALMEIDA, A.M.P. In: 59º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2024, São Paulo, SP. Disponível em: validacertificados.iweventos.com.br. Acesso em: 21 jan. 2025. Código de verificação: e8f2b7d7e2.

PARTICIPAÇÃO DE CURSOS DE ATUALIZAÇÃO (ouvinte)

- Participação no curso: “Capacitação Vigilância de Ambientes da Febre Maculosa e da Peste”, com carga horária total de 40 horas, promovido pela Secretaria Executiva de Vigilância em Saúde (SEVS), do seu Núcleo de Educação Permanente em Saúde (NEPS) e da Gerência de Vigilância Ambiental e Controle de Zoonoses (GEVACZ), de 18 a 22 de novembro de 2024.
- Participação no curso: “XVII Curso de Biossegurança Laboratorial e Coleções Científicas - Módulo de Trabalho em Campo com Animais Silvestres: do planejamento da expedição ao retorno para o laboratório, com ênfase na biossegurança, acidentes e zoonoses”, com carga horária total de 40 horas, promovido pela Fundação Oswaldo Cruz de 26 a 28 de agosto de 2024. Disponível em: [https://campusvirtual.fiocruz.br/gestordecursos/hotsite/cvf-node-30225-submission-9945/\\$1\\$ZhoH](https://campusvirtual.fiocruz.br/gestordecursos/hotsite/cvf-node-30225-submission-9945/1ZhoH). Acesso em: 21 jan. 2025. Código de verificação: \$1\$ZhoH.

PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS (expositora)

- Participação no evento: “Fiocruz pra Você”, promovida pelo Instituto Aggeu Magalhães, com carga horário total de 3 horas, realizado na

cidade do Recife, em 18 de novembro de 2023, das 9h às 12h30.

- Participação no evento: “Conhecendo a Fiocruz Pernambuco”, promovida pelo Instituto Aggeu Magalhães, com carga horária total de 3 horas, realizada no dia 22 de setembro de 2023, das 9h às 12h.
- Participação no evento: “Conhecendo a Fiocruz Pernambuco”, promovida pelo Instituto Aggeu Magalhães, com carga horária total de 6 horas, realizada no dia 16 de outubro de 2024, das 9h às 12h e das 14h às 17h.
- Participação no evento: “21ª Semana Nacional de Ciência e Tecnologia na Fiocruz”, promovida pelo Instituto Aggeu Magalhães, com carga horária total de 8 horas, realizada no dia 18 de outubro de 2024, das 9h às 17h.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A. M. P. *et al.* Isolamento da *Yersinia pestis* nos focos pestosos do Nordeste do Brasil no período de 1966 a 1982. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 27, n. 4, p. 207–218, ago. 1985.

ALMEIDA, A. M. P. *et al.* Estudos bacteriológicos e sorológicos de um surto de peste no Estado da Paraíba, Brasil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 84, n. 2, p. 249–256, jun. 1989.

ALMEIDA, A. M. P. *et al.* Does the plague still threaten us? *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 53, p. e20190136, 16 mar. 2020.

ALMEIDA, A. *et al.* Transmission of *Yersinia pestis* cultures with different plasmid content from *Xenopsylla cheopis* to *Calomys callosus*. *Parasitology Research*, v. 89, n. 3, p. 159–162, fev. 2003.

BACOT, A. W. e MARTIN, C. J. Observations on the mechanism of the transmission of plague by fleas. *J Hygiene Plague Suppl* 3, v. 13, p. 423-439, 1914.

BARBIERI, R. *et al.* *Yersinia pestis*: the Natural History of Plague. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 34, n. 1, 9 dez. 2020.

BARBIERI, R. Origin, transmission, and evolution of plague over 400 y in Europe. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Washington, v. 118, n. 39, e2114241118, 22 set. 2021.

BRASIL, D. P. *et al.* Pesquisa da infecção natural por *Yersinia pestis*, em pulicídeos provenientes de focos pestosos do nordeste do Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 22, n. 4, p. 177–181, dez. 1989.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle da Peste. Brasília:Ministério da Saúde, 2008. 92 p. il. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BEN ARI, T. *et al.* Plague and climate: scales matter. *PLoS Pathogens*, v. 7, n. 9, e1002160, 15 set. 2011.

BEZERRA, M. F. *et al.* Performance assessment of a new indirect rapid diagnostic test for plague detection in humans and other mammalian hosts. *Acta Tropica*, v. 231, p. 106427, 24 mar. 2022.

BEZERRA, M. F. *et al.* Ecologic, geoclimatic, and genomic factors modulating plague epidemics in primary natural focus, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, v. 30, n. 9, 23 ago. 2024.

BIGGINS, D. E. *et al.* Vector control improves survival of three species of prairie dogs (*Cynomys*) in areas considered enzootic for plague. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, v. 10, n. 1, p. 17–26, fev. 2010.

BIGGINS, D. E. *et al.* Plague transforms positive effects of precipitation on prairie dogs to negative effects. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, v. 14, p. 329–334, abr. 2021.

BIGGINS, D. E. e EADS, D. A. Prairie dogs, persistent plague, flocking fleas, and pernicious positive feedback. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 6, 28 mar. 2019.

- BITAM, I. *et al.* Fleas and flea-borne diseases. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 14, n. 8, p. e667-e676, 1 ago. 2010.
- BLAND, D. M. *et al.* Infectious blood source alters early foregut infection and regurgitative transmission of *Yersinia pestis* by rodent fleas. *PLOS Pathogens*, v. 14, n. 1, p. e1006859, 22 jan. 2018.
- BOSSARD, R. L. *et al.* Flea (Insecta: Siphonaptera) Family Diversity. *Diversity*, v. 15, n. 10, art. 1096, 21 out. 2023.
- BOSIO, C. F. *et al.* Comparison of the transmission efficiency and plague progression dynamics associated with two mechanisms by which fleas transmit *Yersinia pestis*. *PLOS Pathogens*, v. 16, n. 12, p. e1009092, 7 dez. 2020.
- BUTLER, T. Plague gives surprises in the second decade of the twenty-first century. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 109, n. 5, p. 985–988, 1 nov. 2023.
- BURROUGHS, A. L. Sylvatic plague studies. The vector efficiency of nine species of fleas compared with *Xenopsylla cheopis*. *Journal of Hygiene*, v. 45, n. 3, p. 371-396, ago. 1947.
- DEMEURE, C. E. *Yersinia pestis* and plague: an updated view on evolution, virulence determinants, immune subversion, vaccination, and diagnostics. *Genes e Immunity*, v. 20, n. 5, p. 357-370, abr. 2019.
- DUBYANSKIY, V. M.; YESZHANOV, A. B. Ecology of *Yersinia pestis* and the Epidemiology of Plague. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, v. 101, p. 1-70, 2016.
- COSTA, E D. C. V. *et al.* Rodents and other small mammal reservoirs in plague foci in northeastern Brazil. *The Journal of Infection in Developing Countries*, v. 11, n. 5, p. 426-430, 1 jun. 2017.
- CIVITELLO, D. J. *et al.* Biodiversity inhibits parasites: Broad evidence for the dilution effect. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 112, n. 28, p. 8667–8671, 11 jun. 2015.
- DURDEN, L. A. e HINKLE, N. C. Fleas (Siphonaptera). *Medical and Veterinary Entomology*, p. 145-169, 2019.
- EADS, D. A. *et al.* Exploring and mitigating plague for One Health purposes. *Current Tropical Medicine Reports*, v. 9, n. 4, p. 169–184, 2 set. 2022.
- EISEN, R. J. *et al.* Temporal dynamics of early-phase transmission of *Yersinia pestis* by unblocked fleas: secondary infectious feeds prolong efficient transmission by *Oropsylla montana* (Siphonaptera: Ceratophyllidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 44, n. 4, p. 672–677, 1 jul. 2007.
- EISEN, R. J. *et al.* Studies of vector competency and efficiency of North American fleas for *Yersinia pestis*: state of the field and future research needs. *Journal of Medical Entomology*, v. 46, n. 4, p. 737–744, 1 jul. 2009.
- EISEN, R. J. *et al.* Flea diversity as an element for persistence of plague bacteria in an

East African plague focus. *PLOS ONE*, v. 7, n. 4, e35598, 2012.

EISEN, R. J. *et al.* The role of early-phase transmission in the spread of *Yersinia pestis*. *Journal of Medical Entomology*, v. 52, n. 6, p. 1183–1192, 19 ago. 2015.

EISEN, R. J. *et al.* An evaluation of the flea index as a predictor of plague epizootics in the West Nile region of Uganda. *Journal of Medical Entomology*, v. 57, n. 3, p. 893-900, 31 dez. 2019.

EISEN, R. J.; GAGE, K. L. Adaptive strategies of *Yersinia pestis* to persist during inter-epizootic and epizootic periods. *Veterinary Research*, v. 40, n. 2, p. 01, 23 set. 2008.

FERNANDES, D. L. S. *et al.* Rodent hosts and flea vectors in Brazilian plague foci: a review. *Integrative Zoology*, v. 16, n. 6, p. 810–819, 26 ago. 2020.

FERNANDES, D. L. R. S. *et al.* Spatiotemporal analysis of bubonic plague in Pernambuco, northeast of Brazil: case study in the municipality of Exu. *PLOS ONE*, v. 16, n. 4, e0249464, 2 abr. 2021a.

FERNANDES, D. L. R. S. *et al.* Spatial and temporal distribution of rodents during the epizootic and enzootic periods of plague, with a focus on Exu, Northeastern Brazil. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, [S.l.], v. 6, n. 4, p. 195, 1 dez. 2021b.

FRANCIS, M. S. Editorial: The Pathogenic *Yersiniae*—Advances in the Understanding of Physiology and Virulence, Second Edition. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 9, p. 1-2, abr. 2019.

GAGE, K. L. e KOSOY, M. Y. Natural history of plague: perspectives from more than a century of research. *Annual Review of Entomology*, v. 50, p. 505–528, 2005.

GAGE, K. e KOSOY, M. Y. Recent trends in plague ecology. *USG Survey*, p. 213–231, 2006.

GIBB, R. *et al.* Zoonotic host diversity increases in human-dominated ecosystems. *Nature*, v. 584, n. 7821, p. 398-402, 5 ago. 2020.

GRÁCIO, A. J. dos S. e GRÁCIO, M. A. A. Plague: a millenary infectious disease reemerging in the XXI century. *BioMed Research International*, 2017.

GOLDBERG, A. R. *et al.* Effects of experimental flea removal and plague vaccine treatments on survival of northern Idaho ground squirrels and two coexisting sciurids. *Global Ecology and Conservation*, v. 26, e01489, 1 abr. 2021.

HINNEBUSCH, B. J. *et al.* Role of the *Yersinia pestis* hemin storage (hms) locus in the transmission of plague by fleas. *Science*, v. 273, n. 5273, p. 367-370, 19 jul. 1996.

HINNEBUSCH, B. J. *et al.* Evaluation of the role of the *Yersinia pestis* plasminogen activator and other plasmid-encoded factors in temperature-dependent blockage of the flea. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 178, n. 5, p. 1406-1415, nov. 1998.

HINNEBUSCH, B. J. Role of *Yersinia murine* Toxin in Survival of *Yersinia pestis* in the Midgut of the Flea Vector. *Science*, v. 296, n. 5568, p. 733-735, abr. 2002.

HINNEBUSCH, B. J. The evolution of flea-borne transmission in *Yersinia pestis*. *Curr*

Issues Mol Biol, v. 7, n. 2, p. 197-212, 2 ago. 2005.

HINNEBUSCH, B. J. *et al.* "Fleaing" the plague: adaptations of *Yersinia pestis* to its insect vector that lead to transmission. *Annual Review of Microbiology*, v. 71, p. 215-232, 8 set. 2017.

HINNEBUSCH, B. J. *et al.* M. Molecular and genetic mechanisms that mediate transmission of *Yersinia pestis* by fleas. *Biomolecules*, v. 11, n. 2, art. 210, 3 fev. 2021.

HINNEBUSCH, B. J. e ERICKSON, D.L. Transmission Factors: *Yersinia pestis* Genes Required to Infect the Flea Vector of Plague. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2004, p. 55-62.

HINNEBUSCH, B. J. e ERICKSON, D. L. *Yersinia pestis* biofilm in the flea vector and its role in the transmission of plague. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, v. 322, p. 229-248, 2008.

JARRETT, C. O. *et al.* Transmission of *Yersinia pestis* from an infectious biofilm in the flea vector. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 190, n. 4, p. 783-792, 15 ago. 2004.

JOSHI, K. *et al.* Epidemiological features of pneumonic plague outbreak in Himachal Pradesh, India. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 103, n. 5, p. 455-460, maio 2009.

KEESING, F. *et al.* Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. *Nature*, v. 468, n. 7324, p. 647-652, dez. 2010.

KESSY, S. T. Flea infestation of rodent and their community structure in frequent and non-frequent plague outbreak areas in Mbulu district, northern Tanzania. *International Journal for Parasitology Parasites and Wildlife*, v. 23, p. 100921-1, mar. 2024.

KIRILLINA, O. *et al.* HmsP, a putative phosphodiesterase, and HmsT, a putative diguanylate cyclase, control Hms-dependent biofilm formation in *Yersinia pestis*. *Molecular Microbiology*, v. 54, n. 1, p. 75-88, 11 ago. 2004.

KRASNOV, B. R. Ecological characteristics of flea species relate to their suitability as plague vectors. *Oecologia*, v. 149, n. 3, p. 474-481, set. 2006.

KRASNOV, B. R. *Functional and evolutionary ecology of fleas*. Cambridge: Cambridge University Press, 2008.

LEAL, N. C. *et al.* Plasmid composition and virulence-associated factors of *Yersinia pestis* isolates from a plague outbreak at the Paraíba State, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 31, n. 5, p. 295-300, 1 out. 1989.

LEAL, N. C. e ALMEIDA, A. M. P. de. Diagnosis of plague and identification of virulence markers in *Yersinia pestis* by multiplex-PCR. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 41, p. 339-342, 1 nov. 1999.

LEWIS, R. E. Résumé of the Siphonaptera (Insecta) of the World. *Journal of Medical Entomology*, v. 35, n. 4, p. 377-389, 1 jul. 1998.

LINARDI, P. M.; GUIMARÃES, L. R. *Sifonápteros do Brasil*. 2000.

LINARDI, P. M. *Fleas and diseases*. Springer eBooks, p. 517-536, 11 nov. 2016.

LINARDI, P. M. Fleas as useful tools for science. *Diversity*, v. 15, n. 11, art. 1153, 1 nov. 2023.

LUIS, A. D. *et al.* Species diversity concurrently dilutes and amplifies transmission in a zoonotic host–pathogen system through competing mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 115, n. 31, p. 7979–7984, 16 jul. 2018.

MITCHELL, C. L. *et al.* A role for early-phase transmission in the enzootic maintenance of plague. *PLOS Pathogens*, v. 18, n. 12, p. e1010996, 15 dez. 2022.

MOU, W. *et al.* Flea index predicts plague epizootics among great gerbils (*Rhombomys opimus*) in the Junggar Basin China plague focus. *Parasites e Vectors*, v. 15, n. 1, 17 jun. 2022.

OLIVEIRA, G. M. *et al.* Sifonápteros de roedores no foco de peste da Chapada do Araripe, Pernambuco, Brasil, 2002-2008. *Revista de Patologia Tropical*, v. 38, n. 3, 19 out. 2009.

OSTFELD, R. S. e KEESING, F. Biodiversity series: The function of biodiversity in the ecology of vector-borne zoonotic diseases. *Canadian Journal of Zoology*, v. 78, n. 12, p. 2061-2078, 1 dez. 2000.

OSTFELD, R. S.; KEESING, F. Effects of host diversity on infectious disease. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, v. 43, n. 1, p. 157–182, dez. 2012.

OSTFELD, R. S.; KEESING, F. Is biodiversity bad for your health? *Ecosphere*, v. 8, n. 3, e01676, mar. 2017.

PAULING, C. D. *et al.* Transovarial transmission of *Yersinia pestis* in its flea vector *Xenopsylla cheopis*. *Nature Communications*, v. 15, n. 1, 23 ago. 2024.

PARMENTER, R. R. *et al.* Incidence of plague associated with increased winter-spring precipitation in New Mexico. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 61, n. 5, p. 814–821, 1999.

PERRY, R. D. e FETHERSTON, J. D. *Yersinia pestis*--etiologic agent of plague. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 10, n. 1, p. 35-66, jan. 1997.

POUILLOT, F. *et al.* Evaluation of O-antigen inactivation on Pla activity and virulence of *Yersinia pseudotuberculosis* harbouring the pPla plasmid. *Microbiology*, v. 151, n. 11, p. 3759-3768, nov. 2005.

RANDREMANANA, R. *et al.* Epidemiological characteristics of an urban plague epidemic in Madagascar, August–November, 2017: an outbreak report. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 19, n. 5, p. 537–545, maio 2019.

RASOAMALALA, F. *et al.* Population dynamics of plague vector fleas in an endemic focus: implications for plague surveillance. *JOURNAL OF MEDICAL ENTOMOLOGY*, v. 61, n. 1, p. 201–211, jan. 2024.

ROCHA, I. V. *et al.* CYP broth: a tool for *Yersinia pestis* isolation in ancient culture collections and field samples. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 107, n. 7-8, p. 2653-2660, mar. 2023.

- ROCHA, I. V. *et al.* Lyophilization for bacteria preservation: a promising approach for *Yersinia pestis* strains from a unique collection in Brazil (Fiocruz-CYP). *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 117, n. 1, p. 1-11, mar. 2024.
- ROCHA, I. V. *et al.* 125 years of the plague in Brazil: lessons learnt, historical insights and contemporary challenges. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 120, 1 jan. 2025.
- RUNFOLA, J. K. *et al.* Outbreak of human pneumonic plague with dog-to-human and possible human-to-human transmission — Colorado, June–July 2014. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, v. 64, n. 16, p. 429, maio 2015.
- SALKELD, D. J. *et al.* A meta-analysis suggesting that the relationship between biodiversity and risk of zoonotic pathogen transmission is idiosyncratic. *Ecology Letters*, v. 16, n. 5, p. 679-686, 11 mar. 2013.
- STENSETH, N. C. *et al.* Plague: past, present, and future. *PLoS Medicine*, v. 5, n. 1, p. e3, 15 jan. 2008.
- STENSETH, N. C. *et al.* Plague dynamics are driven by climate variation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 103, n. 35, p. 13110–13115, 29 ago. 2006.
- TAVARES, C. *et al.* Plague in Brazil: from now and then. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, p. 69–77, 1 jan. 2012.
- THOMAS, F. *et al.* Parasites and host life-history traits: implications for community ecology and species co-existence. *International Journal for Parasitology*, v. 30, n. 5, p. 669-674, abr. 2000.
- VOGLER, A. J. *et al.* A single introduction of *Yersinia pestis* to Brazil during the 3rd plague pandemic. *PLOS ONE*, v. 14, n. 1, e0209478, 9 jan. 2019.
- YANG, R. *et al.* *Yersinia pestis* and Plague: Some Knowns and Unknowns. *Zoonoses*, v. 3, n. 1, 2023.
- WHITING, M. F. *et al.* A molecular phylogeny of fleas (Insecta: Siphonaptera): origins and host associations. *Cladistics*, v. 24, n. 5, p. 677-707, out. 2008.
- WHO. Plague around the world in 2019. *Weekly Epidemiological Record*, v. 94, p. 289–292, 2019.
- WIMSATT, J. e A.; BIGGINS, E. A review of plague persistence with special emphasis on fleas. *Journal of Vector Borne Diseases*, v. 46, p. 85–99, 2009.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. International Health Regulations (2005) Third Edition. 2016. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241580496>. Acesso em: 5 fev. 2025.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Madagascar's plague epidemic is slowing, but we must sustain the response. *World Health Organization*, 27 nov. 2017. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/detail/27-11-2017-madagascar-s-plague-epidemic-is-slowing-but-we-must-sustain-the-response>. Acesso em: 12 fev. 2025.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Plague. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/plague>. Acesso em: 5 fev. 2025.

ZEPPELINI, C. G. *et al.* Zoonoses as ecological entities: a case review of plague. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 10, n. 10, 6 out. 2016.

ZEPPELINI, C. G. *et al.* Ongoing quiescence in the Borborema Plateau Plague focus (Paraíba, Brazil). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 90, p. 3007–3015, 2018.

ZHOU, D. Comparative and evolutionary genomics of *Yersinia pestis*. *Microbes and Infection*, v. 6, n. 13, p. 1226-1234, nov. 2004.