

LEPTOSPIROSE: UMA DOENÇA ZONÓTICA NEGLIGENCIADA

Luan Gavião Prado^{1,2} e Angela Silva Barbosa¹

1. Instituto Butantan, Laboratório de Bacteriologia, São Paulo, SP, Brasil;

2. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO

A leptospirose é uma doença infecciosa e zoonótica causada por espiroquetas do gênero *Leptospira*. Atualmente, casos de leptospirose humana vêm ocorrendo com maior frequência em todo o mundo, devido a ocorrência de desastres naturais como tufões, enchentes e falta de acesso a saneamento básico pela população mais pobre em países em desenvolvimento. A infecção em seres humanos pode causar sintomas inespecíficos que variam de um quadro semelhante a um estado gripal até falência múltipla dos órgãos e morte. A leptospirose animal também é uma realidade em países em desenvolvimento levando a perdas econômicas aos produtores e a maior exposição dos trabalhadores rurais ao patógeno. As bactérias do gênero *Leptospira* apresentam formato helicoidal, com a presença de dois endoflagelos, possuem parede celular característica com a presença de lipopolissacarídeos. São bactérias altamente móveis, capazes de sobreviver no meio ambiente, em locais úmidos e/ou sujeitos a alagamento. São descritos mais de 300 sorovares e 25 sorogrupos de *Leptospira*, muitos deles causando doença em seres humanos e em animais, simultaneamente. A leptospirose é uma doença tratável e apresenta boas taxas de cura, se o tratamento for iniciado precocemente. Apesar da alta incidência em países em desenvolvimento, a doença, sua distribuição global e local bem como seus aspectos epidemiológicos ainda são poucos estudados, o que a torna uma doença negligenciada em todo o mundo.

Palavras-chave: *Leptospira*, Leptospirose humana e Leptospirose animal.

ABSTRACT

Leptospirosis is an infectious and zoonotic disease caused by spirochetes from the genus *Leptospira*. Currently, cases of human leptospirosis are occurring more frequently worldwide, mainly because of natural disasters such as typhoons and flooding, but also due to poor or no access to basic sanitation in developing countries. In humans, the infections may cause a flu-like syndrome but may also progress to a more severe form leading to multiple organ failure and death. Animal leptospirosis is a reality in developing countries that lead to economic losses and higher exposure of rural workers to the pathogen. *Leptospira* are spiral shaped spirochetes, presenting two endoflagella and a unique cell wall with lipopolysaccharides. They are highly motile, and capable to survive in the environment, mainly in humid and/or floodable areas. To date, more than 300 serovars and 25 serogroups of *Leptospira* have been described, many of them causing disease both in humans and animals. Leptospirosis is a treatable disease with good cure rates, once diagnosed and treated early.

Despite the high incidence rates for the disease in developing countries, its global and local distribution, as well as its epidemiological aspects are still poorly studied, which makes it a neglected disease worldwide.

Keywords: *Leptospira*, Human leptospirosis and Animal leptospirosis.

1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma doença infecciosa e zoonótica, considerada negligenciada em países em desenvolvimento da América Central e do Sul e países do sudeste asiático. O diagnóstico da doença tem aumentado em países europeus, sendo classificada como uma doença emergente nestes países (PICARDEAU, 2013; GRACIE et al., 2014; CASSADOU et al., 2016; PICARDEAU, 2017; MARTELI et al., 2020). É causada por espiroquetas patogênicas do gênero *Leptospira* (LEVETT, 2001; BHARTI et al., 2003) caracterizadas pelo seu formato fino, helicoidal e alongado, e por serem altamente móveis (ADLER, 2015; PICARDEAU, 2017). Uma de suas características mais peculiares é a presença de endoflagelos no espaço periplasmático, dois por célula bacteriana, que nunca cobrem todo o comprimento da bactéria, o que lhe confere um formato de gancho (MOHAMMED et al., 2011).

Independentemente do hospedeiro, a infecção por *Leptospira* se dá pela entrada do patógeno através da pele lesionada, conjuntiva e mucosas. A partir daí as bactérias se disseminam pelo organismo do hospedeiro pela via hematogênica, alojando-se em órgãos específicos como rins, fígado e pulmões. A resposta do hospedeiro frente à infecção varia conforme o sorovar e as condições de saúde do indivíduo infectado, podendo haver doença aguda, com sintomatologia clínica que pode evoluir para casos graves e morte, ou doença crônica e/ou assintomática, o que ocorre principalmente nos roedores (BHARTI et al., 2003; SEGURO; ANDRADE, 2013; ADLER, 2015; DUARTE-NETO et al., 2019).

Este capítulo tem por objetivo sumarizar as mais recentes pesquisas relacionadas à leptospirose e seu agente etiológico *Leptospira*, com foco nas espécies patogênicas, evidenciando fatores associados ao ciclo da doença, seus sinais clínicos e epidemiologia, além de ressaltar a importância da doença em países em desenvolvimento e a escassez de pesquisas epidemiológicas e estratégias eficientes no combate à doença.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Leptospira* spp.

Bactérias do gênero *Leptospira* pertencem ao filo Spirochaete, que engloba outros gêneros bacterianos causadores de doenças em seres humanos e animais, como a sífilis (*Treponema pallidum*), doença de Lyme (*Borrelia burgdorferi*) e espiroquetoses intestinais (*Brachyspira aalborgi* e *Brachyspira pilosicoli*). O gênero *Leptospira* é composto por espécies de vida livre e por espécies patogênicas. Dentre as espécies patogênicas, há aquelas totalmente dependentes do hospedeiro (*Leptospira borgpetersenii*) e as que são capazes de sobreviver no ambiente por curtos períodos de tempo (*Leptospira interrogans*) (LEE et al., 1993; RADOLF et al., 2012; GUPTA; MAHMOOD; ADEOLU, 2013; ADLER, 2015;).

Já foram descritos mais de 300 sorovares para as leptospiros patogênicas e a classificação é baseada na heterogeneidade estrutural do LPS da parede celular bacteriana. A identificação sorológica é baseada na aglutinação mediada pela formação de complexos antígeno-anticorpo quando a bactéria é exposta a um soro específico. Apesar de ser bastante útil, principalmente quando se trata de diagnóstico clínico, a utilização deste tipo de classificação pode levar a erros de interpretação, uma vez que o mesmo sorovar pode ser detectado em espécies diferentes de leptospiros, como por exemplo o sorovar Hardjo (BROWN et al., 2003; COSATE et al., 2017). Análises moleculares de um dos *loci* responsável pela codificação do LPS de *L. interrogans* sorovar Hardjo e *L. borgpetersenii* sorovar Hardjo revelaram uma homologia de até 99%, o que demonstra que, apesar de serem espécies diferentes, possuem LPS idênticos (DE LA PEÑA-MOCTEZUMA et al., 1999; ADLER, 2015).

As leptospiros são bactérias finas, altamente móveis, com formato helicoidal e com a extremidade em formato de gancho (Figura 1). Possuem dois flagelos, ancorados em cada polo, e que se dobram ao longo de todo o periplasma, sem nunca se sobreporem (MOHAMMED et al., 2011). Apresentam membrana celular dupla, típica do gênero, com características tanto de bactérias Gram-negativas quanto de Gram-positivas. Semelhante às Gram-negativas, leptospiros possuem uma membrana externa, uma membrana citoplasmática e uma fina camada de peptidoglicanas, que está intimamente associada à membrana interna ou citoplasmática, como ocorre nas bactérias Gram-positivas (HAAKE, 2000; CULLEN; HAAKE; ADLER, 2004; HAAKE; ZUCKERT, 2015).

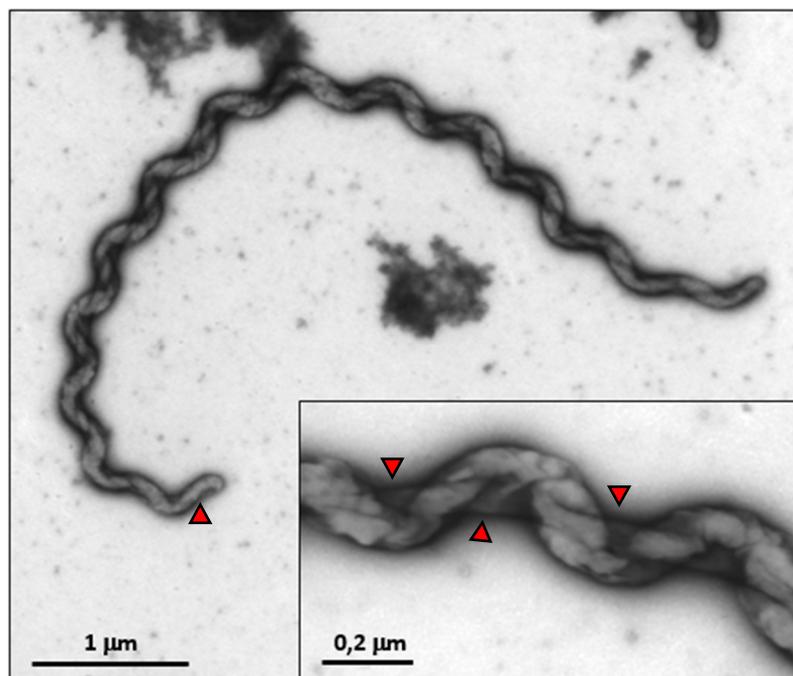


Figura 1. *Leptospira interrogans* observada por microscopia eletrônica de transmissão (contrastação negativa). Extremidade em gancho e endoflagelo no espaço periplásmico evidenciados por cabeças de setas.

Fonte: Fotomicrografia gentilmente cedida pela Dra. Cecília M. Abe, Laboratório de Bacteriologia, Instituto Butantan.

A membrana externa das leptospiros é importante do ponto de vista da patogênese da doença, assim como para o seu diagnóstico, uma vez que o LPS está presente nessa membrana. Nela também se ancoram fosfolipídeos e proteínas de membrana (*Outer Membrane Proteins* – OMPs) que estão envolvidas no reconhecimento do patógeno pelo hospedeiro (PICARDEAU, 2017; SANTECCHIA et al., 2019; BONHOMME et al., 2020).

O LPS é o componente mais abundante da membrana externa e é responsável pela manutenção de sua estrutura. A quelação de cátions divalentes envolvidos na sua ancoragem provoca desestabilização da membrana externa (HAAKE; MATSUNAGA, 2002, 2010). Embora se assemelhe muito ao LPS de bactérias Gram-negativas, apresenta um único fosfato metilado, que não foi ainda identificado em outras bactérias, tornando-o menos endotóxico (QUE-GEWIRTH et al., 2004; MURRAY et al., 2010). Os LPS são reconhecidos por Receptores de Reconhecimento de Padrões (*Pattern Recognition Receptors* – PRRs), os Receptores tipo *Toll* 2 e 4, desencadeando uma resposta pró inflamatória em células da imunidade inata (WERTS et al., 2001; CHASSIN et al., 2009).

As lipoproteínas e proteínas transmembrana totalizam mais de 300 moléculas presentes na membrana externa de *Leptospira* (CULLEN; HAAKE; ADLER, 2004; HAAKE;

MATSUNAGA, 2010). Em um trabalho recente, uma lipoproteína de membrana externa, a Loa22, mostrou-se de grande importância para o reconhecimento de leptospiros pelo hospedeiro por meio do TLR2 (HSU et al., 2021). Extratos de OMPs possuem capacidade de induzir a produção de proteínas de matriz extracelular por células de túbulos contorcidos proximais humanos e parecem estar envolvidas no desencadeamento de fibrose renal em pacientes humanos e em hospedeiros reservatórios (HUNG et al., 2006; JHA et al., 2013; TIAN et al., 2011).

2.2. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA DOENÇA

2.2.1. Leptospirose Humana

Em seres humanos, os sinais clínicos da doença são inespecíficos, incluindo febre, calafrios, cefaleia, mialgia, náuseas, vômitos e hiperemia conjuntival (VIJAYACHARI; SUGUNAN; SHRIRAM, 2008; SEGURO; ANDRADE, 2013; CAGLIERO; VILLANUEVA; MATSUI, 2018). A doença pode evoluir para quadros mais graves em que os pacientes apresentam icterícia, hemorragia pulmonar, falência renal e morte (ADLER, 2015; DIAS et al., 2007; DUARTE-NETO et al., 2019). O diagnóstico laboratorial se baseia no teste de microaglutinação (MAT), considerado o padrão ouro para leptospirose. Outros testes diagnósticos como RT-PCR e cultivo bacteriano estão disponíveis, mas são utilizados com menor frequência devido à dificuldade de execução, demora nos resultados ou aos valores dos testes (WAGGONER et al., 2014, 2015; BLANCO et al., 2016; CASSADOU et al., 2016).

A leptospirose apresenta duas fases distintas, aguda e crônica, ambas com sinais clínicos variando de leves a graves. Na fase aguda o paciente apresenta sinais clínicos inespecíficos, como os supracitados, mas também, em casos graves, pode desenvolver icterícia, miocardite, uveíte, meningite, tubulonefrite intersticial aguda, falência renal, hemorragia pulmonar, disfunção sistêmica dos órgãos que culmina com a morte do paciente. Apenas 10% dos indivíduos infectados apresentam a forma grave da doença, com uma taxa de letalidade por volta de 20% (DIAS et al., 2007; GOUVEIA et al., 2008; SPICHLER et al., 2008; SEGURO; ANDRADE, 2013; DUARTE-NETO et al., 2019; COVISA, 2021).

Alguns sorovares parecem estar envolvidos com quadros mais graves da doença, como é o caso da *L. interrogans* sorogrupo Icterohaemorrhagiae sorovar Copenhageni Fiocruz L1-130 (SPICHLER et al., 2008; DIAS et al., 2007). Em um estudo epidemiológico realizado em Salvador, Bahia, com 1390 participantes, observou-se uma soroprevalência

global de 12,4% para anticorpos anti-*Leptospira*. A maioria dos participantes positivos para *Leptospira* (61%) apresentou reação com sorovares do sorogrupo Icterohaemorrhagiae no MAT (DIAS et al., 2007).

Outro estudo conduzido em Salvador pela Fundação Oswaldo Cruz e a Secretaria de Saúde municipal a partir de março de 1996 identificou pacientes com leptospirose grave associada a hemorragia pulmonar. Amostras de sangue foram coletadas logo após a internação, e duas semanas após a entrada no serviço de saúde, para realização do MAT. Dentre os pacientes que deram entrada com suspeita de leptospirose grave (474 pacientes) 47 apresentavam hemorragia pulmonar grave (10%) e 37 foram confirmados com leptospirose. Dos 47 internados que apresentavam síndrome hemorrágica pulmonar, 23 apresentavam altos títulos no MAT e em 22 deles (96%) os anticorpos eram direcionados contra *L. interrogans* sorovar Copenhageni. Além disso, dos pacientes com leptospirose, mas que não apresentaram a síndrome, 90% (285/316) também apresentavam anticorpos contra o sorovar. Os resultados demonstram a importância epidemiológica deste sorovar em áreas urbanas, já que a maioria dos pacientes eram residentes de favelas no município de Salvador, e o correlacionam com a gravidade da doença (GOUVEIA et al., 2008).

Pacientes que sobrevivem à fase aguda grave ou que apresentam sintomas leves a moderados e, conseqüentemente, não procuram o serviço de saúde, tendem a desenvolver a forma crônica da doença, caracterizada pela presença do patógeno nos túbulos contorcidos proximais renais, nefrite intersticial e fibrose renal leve a moderada. Estudos mostram que pessoas cronicamente infectadas são capazes de eliminar leptospiras na urina, sendo importantes mantenedoras da doença nas áreas em que vivem (YANG et al., 2015; YANG, 2018). Em um estudo na Índia, com 245 pacientes crônicos assintomáticos, 30,2% (74/245) eliminavam o patógeno na urina, e desses pacientes 50 eram negativos para *Leptospira* utilizando-se o MAT (SIVASANKARI; SHANMUGHAPRIYA; NATARAJASEENIVASAN, 2016). Resultados como estes levantam o questionamento sobre a importância dos seres humanos como reservatórios em regiões com alta prevalência da doença (YANG, 2018).

2.2.2. Leptospirose animal

Sinais clínicos da doença variam de acordo com a espécie animal e com o sorovar envolvido na infecção. Segundo uma revisão sistemática de publicações contendo informações sobre a leptospirose animal, o sorovar mais prevalente para cães foi o Canicola e para cavalos e suínos o Icterohaemorrhagiae (PINTO; LIBONATI; LILENBAUM, 2017).

Um estudo soroepidemiológico realizado na Índia utilizando o MAT demonstrou que grande parte da população animal estudada apresentava anticorpos anti-*Leptospira*. Os autores utilizaram um painel com os principais sorovares para o MAT e avaliaram 447 amostras provenientes de cães (108), bovinos (102), suínos (177) e roedores (60). A prevalência encontrada foi de 47,2% para cães, 41,1% para bovinos, 15,8% para suínos e 40% para roedores. Para todas as espécies domésticas avaliadas os sorovares Australis e Autumnalis foram os mais prevalentes, e segundo os autores estes sorovares não estão presentes nas vacinas disponíveis naquele país, tornando os animais mais susceptíveis à doença (BOJIRAJ et al., 2017).

Em espécies domésticas de produção, como bovinos e suínos, um dos principais sintomas da doença é o aborto. Em fêmeas bovinas aborto, natimortalidade, nascimento de bezeros fracos e/ou prematuros são sinais clínicos da infecção por *Leptospira*, principalmente por sorovares pertencentes ao sorogrupo Sejroe. Apesar de comuns, estes sinais clínicos não são tão frequentes. A subfertilidade e morte embrionária precoce são achados mais frequentes e que podem ser confundidos com outras causas, muitas vezes atrasando o diagnóstico de leptospirose e favorecendo a manutenção da doença no rebanho (LILENBAUM; MARTINS, 2014; LOUREIRO; LILENBAUM, 2020).

Em cães os sintomas clínicos, assim como em seres humanos, podem variar desde sintomas leves até quadros graves da doença. Os casos graves estão relacionados com sintomatologia associada à injúria renal aguda e hepatite, além de hemorragia pulmonar aguda. Cães e gatos, estes últimos assintomáticos, também participam do ciclo da doença e podem excretar leptospirosas na urina e contaminar água e solo. Portanto, o manejo clínico do paciente é de extrema importância para se evitar a contaminação do meio ambiente, de seus tutores e dos profissionais envolvidos no tratamento. O diagnóstico se baseia em achados clínicos e em testes diagnósticos como o MAT e PCR de sangue, urina ou tecidos (SCHULLER et al., 2015).

Em equinos, os órgãos-alvo da *Leptospira* são os olhos, rins, útero e placenta. Sinais clínicos da infecção estão normalmente associados a aborto, natimortalidade e nascimento de potros fracos e com anticorpos anti-*Leptospira*, demonstrando que há infecção intrauterina, já que não há passagem de anticorpos maternos para o feto durante a gestação. Quadros de injúria renal aguda são relatados em potros jovens e a uveíte recorrente é um quadro clínico clássico da leptospirose em animais adultos. Após abortos, as éguas eliminam o patógeno pela urina durante semanas a meses, contaminando o ambiente e mantendo a doença na propriedade. Há descrição de tratamentos antibióticos após abortamento e

profilaticamente em animais que foram eventualmente expostos, mas ainda faltam estudos e comprovação da sua eficácia (DEEG et al., 2008; YAN et al., 2010; DIVERS et al., 2019).

Roedores, como ratos (*Rattus rattus* e *Rattus norvegicus*) e camundongos (*Mus musculus*), são hospedeiros reservatórios do patógeno, normalmente não apresentam doença clínica, mas podem apresentar lesões renais discretas, sem que haja comprometimento da função renal do animal (FANTON D'ANDON et al., 2014; RICHER et al., 2015; WERTS, 2019). Em uma revisão sistemática sobre a infecção de ratos (*Rattus* spp.) por *Leptospira*, observou-se uma grande variação na prevalência da infecção desses animais, desde 0% até locais com prevalências tão altas quanto 80%, como no Brasil, Filipinas e Índia. Esses resultados demonstram a importância dos roedores na manutenção da doença, tanto em humanos quanto em animais (BOEY; SHIOKAWA; RAJEEV, 2019).

Animais domésticos apresentam sinais clínicos variados, desde abortos e problemas reprodutivos até infecção crônica e assintomática, levando a perdas econômicas importantes, além de serem considerados reservatórios de sorovares causadores de doenças em seres humanos, principalmente os roedores sinantrópicos ou domésticos (ADLER, 2015; BOJIRAJ et al., 2017; PINTO; LIBONATI; LILENBAUM, 2017; VIEIRA; PINTO; LILENBAUM, 2018). A ocorrência de leptospirose em animais de companhia, produção e animais selvagens é uma realidade em países em que há a presença do patógeno. O diagnóstico precário dos animais infectados aliado a uma produção pecuária baseada no extensivismo, no Brasil, tornam a leptospirose um problema de saúde pública e animal que deve ser analisado e combatido sob a ótica da saúde única (VIJAYACHARI; SUGUNAN; SHRIRAM, 2008; PETRAKOVSKY et al., 2014; ALLAN et al., 2015; BOJIRAJ et al., 2017; PINTO; LIBONATI; LILENBAUM, 2017; VIEIRA; PINTO; LILENBAUM, 2018).

2.3. EPIDEMIOLOGIA

Em todo o mundo estima-se que 1.03 milhões de pessoas adoçam e 58.000 pessoas morram anualmente devido à infecção por espécies patogênicas de *Leptospira* (COSTA et al., 2015; CASSADOU et al., 2016; PICARDEAU, 2013; KARPAGAM; GANESH, 2020;). Desastres naturais, urbanização rápida e sem planejamento, falta de saneamento básico (tratamento de água e esgoto e destinação de lixo) são considerados fatores de risco para a ocorrência da doença, tanto em países em desenvolvimento quanto em países desenvolvidos (REIS et al., 2008; GRACIE et al., 2014; KARPAGAM; GANESH, 2020). Em ambientes urbanos as enchentes causadas por chuvas intensas e deficiências no sistema

de escoamento de águas fluviais e pluviais aumentam o risco da ocorrência da doença (Figura 2). Nos anos de 2019 e 2020 na cidade de São Paulo foram registrados 189 e 113 casos, e 19 e 15 óbitos por leptospirose, respectivamente (COVISA, 2021).



Figura 2. Áreas urbanas sujeitas a alagamentos recorrentes. O contato direto de seres humanos com água proveniente de alagamentos urbanos é considerado um fator de risco para a ocorrência de leptospirose.

Outros fatores como ocupação profissional, sexo e idade vêm sendo colocados como importantes preditores da doença em alguns países. Um estudo em uma favela em Salvador, Bahia, demonstrou que homens, pretos, com idade variando entre 24 e 44 anos e que vivem a menos de 20 metros de áreas com esgoto a céu aberto possuem mais chances de contraírem a doença (REIS et al., 2008). Em países asiáticos, homens de 20 a 50 anos e trabalhadores de campos inundados para produção de arroz são considerados de alto risco para a infecção e o desenvolvimento de leptospirose (YANG et al., 2015; YANG, 2018).

Apesar de ser uma doença conhecida há quase dois séculos ainda existem problemas na identificação e no diagnóstico preciso da doença que, muitas vezes, só é diagnosticada após o óbito do paciente (SPICHLER et al., 2008; CASSADOU et al., 2016; DUARTE-NETO et al., 2019). Em países tropicais, como o Brasil, doenças como chicungunya, dengue, febre

amarela e COVID-19 são considerados diagnósticos diferenciais para leptospirose, por se tratarem de doenças febris, com sintomas inespecíficos e semelhantes (WAGGONER et al., 2015; KARPAGAM; GANESH, 2020).

Uma das causas da subnotificação da doença em países do Caribe e da América Central é atribuída ao acesso inadequado aos métodos diagnósticos. Um estudo conduzido em dois territórios ultramarinos franceses na América Central, Guadalupe e Martinica, apontou que, diferentemente da incidência publicada pelos serviços de saúde franceses (22,5/100.000 habitantes e 13,9/100.000 habitantes, respectivamente), a incidência era de três a quatro vezes maior ao se utilizar dois ou mais métodos de diagnóstico (MAT, PCR e/ou IgM ELISA). Os autores justificam essa diferença devido à logística e demora na execução dos testes, já que as amostras de pacientes suspeitos são enviadas para França, onde realiza-se apenas o MAT. Neste estudo, verificou-se também que a doença ocorre com maior frequência em pessoas de 20-59 anos e que homens possuem até seis vezes mais chances de desenvolver a doença em relação às mulheres (CASSADOU et al., 2016).

Em países africanos, o contato entre seres humanos e animais, principalmente bovinos, é considerado um fator de risco importante para a ocorrência da doença em seres humanos, uma vez que bovinos são considerados hospedeiros reservatórios de alguns sorovares de *L. interrogans* (ALLAN et al., 2015). Além da importância como reservatórios e transmissores da doença para seres humanos, a manutenção da leptospirose em rebanhos bovinos é um fator de insegurança alimentar para populações mais pobres e que dependem diretamente dos bovinos como alimento ou como fonte de renda (PERRY; GRACE, 2009; HALLIDAY et al., 2012).

Em uma revisão sistemática sobre a leptospirose no continente africano, avaliaram-se dados publicados sobre prevalência da leptospirose em pacientes internados com síndrome febril. Utilizaram o MAT, associado ou não a outros métodos, para realização do diagnóstico. A prevalência da doença variou de 2,3% a 19,8%. A incidência da doença foi de 75 a 102 casos a cada 100.000 habitantes na Tanzânia e 60 a 101 casos a cada 100.000 habitantes nas Ilhas Seycheles. Ao avaliarem artigos que descreviam animais reservatórios da doença, uma enorme variedade de animais foi listada como possíveis hospedeiros reservatórios, variando de animais domésticos como bovinos, suínos, cães e cabras a roedores, raposa e morcegos. Dos sorogrupos e sorovares descritos nos artigos, 15 sorovares estavam presentes nas infecções em seres humanos, 11 também foram detectados infectando animais, e em bovinos, um total de nove sorovares, dos 15 descritos para seres humanos, foram identificados (ALLAN et al., 2015).

No Brasil, em um levantamento de dados realizado no Sistema de Informação de Agravos de Notificação, do Ministério da Saúde, entre os anos de 2007 e 2017, observou-se em média 3.846 casos de leptospirose por ano, com um total de 42.310 casos confirmados. Há maior prevalência da doença no sul e no norte do país. No Sudeste, devido à maior densidade populacional, a prevalência calculada foi menor quando comparada à de outras regiões brasileiras. Apesar disso, quando avaliada separadamente, a capital paulista apresenta um número alto de casos de leptospirose, tendo sido diagnosticados 2.411 casos entre os anos estudados. Considerando todo o território nacional, a incidência da doença é de 1,9 casos a cada 100.000 mil habitantes (MARTELI et al., 2020).

A avaliação da incidência e as correlações entre fatores de risco e a ocorrência da doença são dados importantes e que devem ser avaliados com cautela. No estado do Rio de Janeiro, na capital e em uma favela do município do Rio de Janeiro houve correlações diferentes entre os fatores de risco e a leptospirose. Por exemplo, a proporção de pessoas vivendo em favelas apresentou correlação positiva para a doença a níveis estadual e local (favela), mas não apresentou correlação a nível municipal. Já a falta de acesso a rede de esgoto foi um fator de risco relacionado à leptospirose apenas a nível municipal e não estadual e local. Estes dados demonstram que os estudos epidemiológicos precisam ser direcionados de forma a se avaliarem fatores específicos de cada localidade, município, estado ou país (GRACIE et al., 2014).

O Brasil apresenta proporções continentais e muitas vezes o diagnóstico e a notificação de doenças podem ser menores do que os observados pelas autoridades de saúde. Assim, levanta-se o questionamento: quantos casos de leptospirose deixam de ser diagnosticados e/ou notificados por ano no país?

2.4. FATORES DE VIRULÊNCIA

Leptospiras possuem importantes fatores de virulência, responsáveis pela evasão a mecanismos de proteção do hospedeiro, como células da imunidade inata, moléculas do sistema complemento e imunidade adquirida. Ao evadir a estes mecanismos o patógeno garante a invasão e persistência no organismo, causando doença nos hospedeiros susceptíveis e colonizando os hospedeiros reservatórios, fechando assim, o ciclo de transmissão (BARBOSA; ISAAC, 2020). Além de fatores de virulência já amplamente descritos para outras bactérias, como a presença de LPS (VINH; ADLER; FAINE, 1986), *Leptospira* spp. expressam proteínas de membrana que se ligam a macromoléculas da

matriz extracelular e a células do hospedeiro, bem como a proteínas reguladoras do sistema complemento humano, contribuindo, dessa forma, para os processos de invasão e evasão imune da bactéria (BARBOSA et al., 2010; HAAKE; ZUCKERT, 2015; BARBOSA; ISAAC, 2020).

A dificuldade de manipulação genética de leptospiras retardou o estudo de tais fatores de virulência, mas nos últimos 20 anos o desenvolvimento de técnicas de manipulação genética para esta espiroqueta permitiu a identificação de genes importantes para a patogênese da bactéria (MURRAY et al., 2010; ESHGHI et al., 2012; ADLER, 2015; ESHGHI et al., 2019).

2.4.1. Síntese e processamento de LPS

A presença de LPS na membrana externa de bactérias Gram-negativas é um fator de virulência amplamente descrito e estudado há muitos anos (WERTS et al., 2001; CHASSIN et al., 2009; HARPER et al., 2011; BENDER et al., 2013; RAMACHANDRAN, 2014; VILAFARRÉS et al., 2015; BONHOMME et al., 2020; HSU et al., 2021). Inativação dos genes *la1641* e *lman 1406*, responsáveis pela codificação de proteínas envolvidas na biossíntese e processamento do LPS, leva à diminuição da virulência, e as leptospiras se tornam incapazes de causar doença e morte em hamsters, hospedeiros conhecidos pela suscetibilidade à infecção por *Leptospira*, além de falharem na colonização de rins de camundongos e hamsters após infecção (MARCSISIN et al., 2013).

Diferenças no tamanho do LPS entre bactérias virulentas, atenuadas e não patogênicas foram relacionadas à resposta do hospedeiro frente à infecção. Espécies não patogênicas como *L. biflexa* sorovar Patoc possuem LPS menores em comparação às espécies patogênicas como a *L. interrogans*, e são eficientemente reconhecidas pelos TLRs das células da imunidade inata (BONHOMME et al., 2020; HSU et al., 2021).

2.4.2. Adesão, motilidade e disseminação no hospedeiro

As proteínas Lig A e Lig B fazem parte de uma superfamília de proteínas bacterianas contendo repetições semelhantes a imunoglobulinas (*immunoglobulin-like repeat domain proteins*). Elas possuem capacidade de se ligar a proteínas de matriz extracelular, atuando como adesinas (CHOY et al., 2007, LIN; CHANG, 2008; LIN; CHEN; YAN, 2008; LIN et al., 2010, CHOY et al., 2011; LIN et al., 2011). Outra função importante descrita para as Ligs é

sua interação com componentes do sistema do complemento, especificamente com os reguladores negativos Fator H (FH) e C4b *Binding Protein* (C4BP), o que sugere um papel destas proteínas na evasão à imunidade inata do hospedeiro (CASTIBLANCO-VALENCIA et al., 2012). Estudos de inibição da expressão das proteínas Lig indicam que ambas contribuem para a patogênese da leptospirose (PAPPAS; PICARDEAU, 2015). LigA vem se mostrando um importante candidato vacinal, mas apesar de induzir resposta protetora no hospedeiro, não confere imunidade esterilizante, uma vez que os animais imunizados e desafiados continuam portadores (KOIZUMI; WATANABE, 2004; ADLER et al., 2011).

Espécies patogênicas de *Leptospira* spp. produzem aproximadamente 20 proteínas contendo domínios com repetições ricas em leucina (LRR – *Leucine-rich repeat*) envolvidas em diversas funções bacterianas e consideradas fatores de virulência. Essas proteínas se ligam a E-caderina e a VE-caderina, possuem formato de ferradura e uma região de ligação às caderinas. Estas características lhes conferem função de adesina, importante na adesão inicial às células do hospedeiro e posterior disseminação (ESHGHI et al., 2019; HSU et al., 2020). Diversas outras proteínas de membrana de *Leptospira* foram descritas como ligantes de moléculas presentes na matriz extracelular do hospedeiro, mas a validação de que realmente desempenham a função de adesinas durante a infecção ainda depende de estudos de inativação dos genes que codificam tais proteínas (BARBOSA et al., 2006; BARBOSA et al., 2010; VIEIRA et al., 2014).

Em um modelo de infecção utilizando camundongos C57BL/6 e *L. interrogans* sorovar Manilae, por via intraperitoneal, os autores demonstraram que há adesão inicial das bactérias ao polo basal de células de túbulo contorcido proximal e após aproximadamente 25 dias da infecção essas bactérias encontram-se no lúmen dos túbulos. Não se sabe exatamente quais os mecanismos utilizados pela bactéria durante a translocação do polo basal para o apical, mas é evidente a necessidade da adesão inicial à célula para que o processo ocorra (YAMAGUCHI et al., 2018).

Durante a invasão tecidual pelas bactérias, há produção e secreção de proteases capazes de degradar proteínas presentes na matriz extracelular dos tecidos como fibronectina, colágenos e proteoglicanas como decorina, biglican e lumican (DA SILVA et al., 2018). A colagenase ColA degrada diferentes tipos de colágeno do hospedeiro, e parece ter um papel na invasão tecidual pela bactéria. Hamsters infectados com leptospirose contendo o gene que codifica essa enzima inativado apresentaram menor número de bactérias em órgãos como pulmões, fígado e rins, quando comparados aos animais infectados com a cepa

selvagem. Esses dados demonstram a importância de enzimas proteolíticas na invasão e disseminação de leptospiros no organismo do hospedeiro (KASSEGNE et al., 2014).

Leptospiros são altamente móveis o que garante sua locomoção e rápida disseminação pela corrente sanguínea alcançando rapidamente os órgãos alvo (WUNDER et al., 2016; GIBSON et al., 2020). Leptospiros imóveis, devido à inativação induzida em genes responsáveis pela codificação dos flagelos, são menos virulentas em modelos de infecção animal, devido à sua remoção da corrente sanguínea (LIAO et al., 2009; LAMBERT et al., 2012; WUNDER et al., 2016; FONTANA et al., 2016). Além da importância para a locomoção, a localização dos endoflagelos no espaço periplasmático é um importante mecanismo de evasão utilizado pelas leptospiros, garantindo que proteínas flagelares, como as flagelinas, não sejam reconhecidas pelo TLR5, principal receptor para estas proteínas (HOLZAPFEL et al., 2020).

2.4.3. Resistência ao estresse oxidativo

A produção da enzima catalase por leptospiros está relacionada à resistência ao estresse oxidativo e, conseqüentemente, à sobrevivência da bactéria, já que a espécie reativa de oxigênio mais produzida durante a infecção, o peróxido de hidrogênio, é clivada pela enzima. O gene *KatE* é responsável pela codificação da catalase em *L. interrogans* sorovar Copenhageni e sua expressão está aumentada em ambientes contendo altas concentrações de peróxido de hidrogênio. Os sorovares Manilae e Pomona contendo o gene *KatE* inativado se mostraram menos virulentos e causaram doença mais branda em hamsters (ESHGHI et al., 2012).

Além de *KatE*, outras proteínas de *Leptospira* estão envolvidas na resistência ao estresse oxidativo como *ClpB* e *HtpG*, chaperonas importantes na patogenia da doença, uma vez que bactérias com os genes *clpB* e *htpG* inativados são menos virulentas em modelos de infecção animal. *ClpB* é uma proteína *heatshock* da família HSP100/*Clp* conhecida por prevenir a formação de agregados proteicos durante o estresse oxidativo. Esta chaperona parece ser crucial para a manutenção da integridade de enzimas associadas à resistência ao estresse oxidativo em *Leptospira* (LOURDAULT et al., 2011; KING et al., 2014).

2.4.4. Evasão ao sistema do complemento

Após entrar no organismo do hospedeiro, leptospiros atingem a corrente sanguínea e se disseminam para os órgãos (SEGURO; ANDRADE, 2013). Durante a leptospiremia, há

exposição do patógeno ao sistema complemento, um mecanismo importante da imunidade inata que atua no controle de infecções ao causar a lise de microorganismos pela formação de poros na membrana, ou seja, do complexo de ataque a membrana (MAC). O sistema complemento pode também contribuir para a fagocitose de patógenos, uma vez que sua ativação leva à produção de opsoninas que se depositam sobre superfícies-alvo (BARBOSA; ISAAC, 2020).

Leptospiras patogênicas possuem mecanismos para inativar o sistema complemento e, conseqüentemente, sobreviver na circulação, o que garante a subsequente colonização de órgãos-alvo. Dentre os mecanismos de resistência ao soro humano descritos para leptospiras estão a capacidade de recrutar proteínas reguladoras negativas do sistema complemento, como FH e C4BP, e a capacidade de degradar moléculas efetoras deste sistema (MERI et al., 2005; BARBOSA et al., 2010; FRAGA et al., 2014; BARBOSA; ISAAC, 2020). As proteínas LigA e LigB, já descritas como adesinas, também contribuem para a evasão imune de leptospiras ao se ligarem aos reguladores FH e C4BP (CASTIBLANCO-VALENCIA et al., 2012). Uma série de outras proteínas presentes na superfície de leptospiras patogênicas foram descritas como ligantes destes reguladores (BARBOSA; ISAAC, 2020). Ainda, metaloproteinases secretadas por estas espiroquetas alvejam uma gama de moléculas do hospedeiro incluindo proteínas do complemento, da matriz extracelular e da cascata de coagulação (FRAGA et al., 2014; CHURA-CHAMBI et al., 2018; DA SILVA et al., 2018). Em conjunto, essas proteínas presentes na membrana ou secretadas pela bactéria auxiliam a disseminação e a colonização de órgãos-alvo durante a infecção.

2.5. PREVENÇÃO, CONTROLE E TRATAMENTO

Como não há uma vacina para combater a leptospirose em seres humanos, a principal forma de prevenção da transmissão da doença seria o controle de roedores e a melhoria do saneamento básico em áreas urbanas e rurais. Diante deste cenário, a conscientização da população para os riscos oriundos do contato com água de enchente, da exposição em áreas sujeitas a alagamento e da necessidade de proteção em atividades que envolvam animais ou contato direto com a água é de suma importância (REIS et al., 2008; KARPAGAM; GANESH, 2020).

Em medicina veterinária, já existem vacinas contra leptospirose para bovinos, equinos suínos e cães. A vacinação é capaz de evitar casos graves da doença, mas em sua maioria, não oferece proteção cruzada entre sorovares diferentes. A estratégia adotada pelos

produtores das vacinas para uso animal é a utilização dos sorovares mais prevalentes na região. Para isso se faz necessário o levantamento sorológico e epidemiológico da ocorrência dos sorovares em uma determinada população (LILENBAUM; MARTINS, 2014; PINTO; LIBONATI; LILENBAUM, 2017).

O desenvolvimento de vacinas para imunização de pessoas, principalmente para aquelas que estão diretamente expostas ao patógeno, como trabalhadores rurais e pessoas em situação de extrema pobreza, é um desafio real. Além da dificuldade em se desenvolver vacinas de sub-unidade que garantam proteção satisfatória, faltam políticas públicas voltadas para doenças negligenciadas, o que representa um forte entrave na luta contra a leptospirose, no Brasil e no mundo (ADLER, 2015; HOTEZ; FERRIS, 2006; HOTEZ, 2018; MARTELLI et al., 2020).

Antibioticoterapia à base de beta-lactâmicos como doxiciclina e penicilinas é a terapia recomendada para o tratamento da leptospirose, humana ou animal. Em seres humanos, o tratamento da leptospirose depende da gravidade da doença e a doxiciclina (100 mg/BID) é recomendada para casos leves da doença. A instituição de tratamento precoce está associada à recuperação mais rápida do paciente, sem maiores complicações (MCCLAIN et al., 1984). Casos graves que necessitem de internação são tratados com antibioticoterapia a base de penicilinas, ventilação mecânica e, se necessário, diálise peritoneal ou hemodiálise (GONSALEZ et al., 1998; PANAPHUT et al., 2003; SUPUTTAMONGKOL et al., 2004; GRIFFITH; HOSPENTHAL; MURRAY, 2006; BRETT-MAJOR; COLDREN, 2012).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A leptospirose é uma doença zoonótica negligenciada de ocorrência mundial, com maior concentração de casos em países em desenvolvimento e em áreas tropicais, o que favorece a manutenção do patógeno no ambiente e, conseqüentemente, o ciclo de transmissão da doença. Levantamentos epidemiológicos que utilizem métodos diagnósticos combinados, resultando em dados mais confiáveis em relação à real incidência da doença nesses países são necessários para que haja a implementação de políticas públicas específicas para o combate à doença. Além disso, também é necessária a identificação dos sorovares de maior ocorrência na doença humana e animal, a fim de se identificar a contribuição dos animais na manutenção da doença em seres humanos.

A manipulação genética desses patógenos vem facilitando o estudo de fatores de virulência que garantam sua sobrevivência no hospedeiro. Estes estudos auxiliam a compreensão dos mecanismos subjacentes à relação bactéria-hospedeiro, contribuindo para a elucidação da fisiopatologia da doença e possibilitando o direcionamento de eventuais terapias que possam ser utilizadas no tratamento da leptospirose aguda, crônica e de suas sequelas.

4. REFERÊNCIAS

- ADLER, B.; LO, M.; SEEMANN, T.; MURRAY, G. L. Pathogenesis of leptospirosis: The influence of genomics. **Veterinary Microbiology**, v. 153, n. 1–2, p. 73–81, 2011.
- ADLER, B. **Current topics in microbiology and immunology: Leptospira and leptospirosis**. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2015. v. 387
- ALLAN, K. J.; BIGGS, H.; HALLIDAY, J.; KASWALA, R. R.; MARO, V. P.; CLEVELAND, S.; et al. Epidemiology of Leptospirosis in Africa: A Systematic Review of a Neglected Zoonosis and a Paradigm for 'One Health' in Africa. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 9, p. 1–25, 2015.
- BARBOSA, A. S.; ABREU, P. A. E.; NEVES, F. O.; ATZINGEN, M. V.; WATANABE, M. M.; VIEIRA, M. L.; et al. A newly identified leptospiral adhesin mediates attachment to laminin. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 11, p. 6356–6364, 2006.
- BARBOSA, A. S.; MONARIS, D.; SILVA, L. B.; MORAIS, Z. M.; VASCONCELOS, S. A.; CIANCIARULLO, A. M.; et al. Functional characterization of LcpA, a surface-exposed protein of *Leptospira* spp. that binds the human complement regulator C4BP. **Infection and Immunity**, v. 78, n. 7, p. 3207–3216, 2010.
- BARBOSA, A. S.; ISAAC, L. Strategies used by *Leptospira* spirochetes to evade the host complement system. **FEBS Letters**, v. 594, n. 16, p. 1–12, 2020.
- BENDER, J. K.; WILLIE, T.; BLANK, K.; LANGE, A.; GERLACH, R. G. LPS structure and PhoQ activity are important for *Salmonella* Typhimurium virulence in the *Galleria mellonella* infection model [corrected]. **PloS one**, v. 8, n. 8, p. 1–12, 2013.
- BHARTI, A. R.; NALLY, J. E.; RICARDI, J. N.; MATHIAS, M. A.; DIAZ, M. M.; LOVETT, M. A.; et al. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 3, p. 757–771, 2003.
- BLANCO, M. R.; SANTOS, L. F.; GALLOWAY, R. L.; ROMERO, E. C. Is the microagglutination test (MAT) good for predicting the infecting serogroup for leptospirosis in Brazil? **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 44, n. 1, p. 34–36, 2016.
- BOEY, K.; SHIOKAWA, K.; RAJEEV, S. *Leptospira* infection in rats: A literature review of global prevalence and distribution. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 8, p. 1–24, 2019.

BOJIRAJ, M.; PORTEEN, K.; GUNASEELAN, L.; SURESHKANNAN, S. Seroprevalence of Leptospirosis in Animals and Its Public Health Significance. **International Journal of Livestock Research**, v. 7, n. 11, p. 1, 2017.

BONHOMME, D.; SANTECCHIA, I.; VERNEL-PAUILLAC, F.; CAROFF, M.; GERMON, P.; MURRAY, G.; et al. Leptospiral LPS escapes mouse TLR4 internalization and TRIF-associated antimicrobial responses through O antigen and associated lipoproteins. **PLoS Pathogens**, v. 16, n. 8, p. 1–26, 2020.

BRETT-MAJOR, D. M.; COLDREN, R. Antibiotics for leptospirosis. **Cochrane Database of Systematic Reviews** 2012, n. 2. p. CD008264, 2012.

BROWN, R. A.; BLUMERMAN, S.; GAY, C.; BOLIN, C.; DUBY, R.; BALDWIN, C. L. Comparison of three different leptospiral vaccines for induction of a type 1 immune response to *Leptospira borgpetersenii* serovar Hardjo. **Vaccine**, v. 21, n. 27–30, p. 4448–4458, 2003.

CAGLIERO, J.; VILLANUEVA, S. Y. A. M.; MATSUI, M. Leptospirosis pathophysiology: Into the storm of cytokines. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 8, p. 1–8, 2018.

CASSADOU, S.; ROSINE, J.; FLAMAND, C.; ESCHER, M.; LEDRANS, M.; BOURHY, P.; et al. Underestimation of Leptospirosis Incidence in the French West Indies. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 4, p. 1–10, 2016.

CASTIBLANCO-VALENCIA, M. M.; FRAGA, T. R.; SILVA, L. B.; MONARIS, D.; ABREU, P. A. E.; STROBEL, S.; et al. Leptospiral Immunoglobulin-like Proteins Interact With Human Complement Regulators Factor H, FHL-1, FHR-1, and C4BP. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 205, p. 995–1004, 2012.

CHASSIN, C.; PICARDEAU, M.; GOUJON, J.; BOURHY, P.; QUELLARD, N.; DARCHE, S.; et al.; TLR4- and TLR2-Mediated B Cell Responses Control the Clearance of the Bacterial Pathogen, *Leptospira interrogans*. **The Journal of Immunology**, v. 183, n. 4, p. 2669–2677, 2009.

CHOY, H. A.; KELLEY, M. M.; CHEN, T. L.; MØLLER, A. K.; MATSUNAGA, J.; HAAKE, D. A. Physiological osmotic induction of *Leptospira interrogans* adhesion: LigA and LigB bind extracellular matrix proteins and fibrinogen. **Infection and Immunity**, v. 75, n. 5, p. 2441–2450, 2007.

CHOY, H. A.; KELLEY, M. M.; MATSUNAGA, J.; BABBIT, J. T.; KO, A. I.; et al. The multifunctional LigB adhesin binds homeostatic proteins with potential roles in cutaneous infection by pathogenic *Leptospira interrogans*. **PLoS ONE**, v. 6, n. 2, 2011.

COSATE, M. R. V.; SAKAMOTO, T.; MENDES, T. A. O.; MOREIRA, E. C.; SILVA, C. G. R.; BRASIL, B. S. A. F.; et al. Molecular typing of *Leptospira interrogans* serovar Hardjo isolates from leptospirosis outbreaks in Brazilian livestock. **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 1, p. 1–12, 2017.

COSTA, F.; HAGAN, J. H.; CALCAGNO, J.; KANE, M.; TOGERSON, P.; MARTINEZ-SILVEIRA, M. S.; et al. Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 9, p. 1–19, 2015.

COVISA. **Coordenação de Vigilância Sanitária do Município de São Paulo**. Disponível em <https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/saude/vigilancia_em_saude/index.php?p=245602> Acessado em 26/03/2021.

CULLEN, P. A.; HAAKE, D. A.; ADLER, B. Outer membrane proteins of pathogenic spirochetes. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 28, n. 3, p. 291–318, 2004.

DA SILVA, L. B.; MENEZES, M. C.; KITANO, E. S.; OLIVEIRA, A. K.; ABREU, A. G.; SOUZ, G. O.; et al. *Leptospira interrogans* secreted proteases degrade extracellular matrix and plasma proteins from the host. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 8, n. 92, p. 1–11, 2018.

DE LA PEÑA-MOCTEZUMA, A.; BUACH, D. M.; KALAMBAHETI, T.; ADLER, B. Comparative analysis of the LPS biosynthetic loci of the genetic subtypes of serovar Hardjo: *Leptospira interrogans* subtype Hardjoprajitno and *Leptospira borgpetersenii* subtype Hardjobovis. **FEMS Microbiology Letters**, v. 177, n. 2, p. 319–326, 1999.

DEEG, C. A.; HAUCK, S. M.; AMANN, B.; POMPETZKI, D.; ALTMANN, F.; RAITH, A.; et al. Equine recurrent uveitis - A spontaneous horse model of uveitis. **Ophthalmic Research**, v. 40, n. 3-4, p. 151-153, 2008.

DIAS, J. P.; TEIXEIRA, M. G.; COSTA, M. C. N.; MENDES, C. M. C.; GUIMARÃES, P.; REIS, M. G.; et al. Factors associated with *Leptospira* sp infection in a large urban center in northeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 5, p. 499–504, 2007.

DIVERS, T. J.; CHANG, Y. F.; IRBY, N. L.; SMITH, J. L.; CARTER, C. N. Leptospirosis: An important infectious disease in North American horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 51, n. 3, p. 28-292. 2019.

DUARTE-NETO, A. N.; CRODA, J.; PAGLIARI, C.; SORIANO, F. G.; NICODEMOS, A. C.; DUARTE, M. I. S. Severe Leptospirosis Features in the Spleen Indicate Cellular Immunosuppression Similar to That Found in Septic Shock. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 1–15, 2019.

ESHGHI, A.; LOURDAULT, K.; MURRAY, G. L.; BARTPHO, T.; SERMSWAN, R.; PICARDEAU, M.; et al. *Leptospira interrogans* catalase is required for resistance to H₂O₂ and for virulence. **Infection and Immunity**, v. 80, n. 11, p. 3892–3899, 2012.

ESHGHI, A., GAUTNEY, R. A.; ENGLAND, P.; BRÛLÉ, S.; MIRAS, I.; SATO, H.; et al. An extracellular *Leptospira interrogans* leucine-rich repeat protein binds human E- and VE-cadherins. **Cellular Microbiology**, v. 21, n. 2, p. 1–14, 2019.

FANTON D'ANDON, M., QUELLARD, N.; FERNANDEZ, B.; RATET, G.; LACROIX-LAMANDÉ, S.; VANDEWALLE, A.; et al. *Leptospira Interrogans* Induces Fibrosis in the Mouse Kidney through Inos-Dependent, TLR- and NLR-Independent Signaling Pathways. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 1, p. 11, 2014.

FONTANA, C., LAMBER, A.; BENAROUDJ, N.; GASPARINI, D.; GORGETTE, O.; CACHET, N.; et al. Analysis of a spontaneous non-motile and avirulent mutant shows that FliM is required for full endoflagella assembly in *Leptospira interrogans*. **PLoS ONE**, v. 11, n. 4, p. 1–16, 2016.

FRAGA, T. R.; COURROUL, D. S.; CASTIBLANCO-VALENCIA, M. M.; HIRATA, I. Y.; VASCONCELLOS, S. A.; JULIANO, L.; et al. Immune Evasion by Pathogenic *Leptospira* Strains: The Secretion of Proteases that Directly Cleave Complement Proteins. **The journal of in**, v. 209, p. 876–886, 2014.

- GIBSON, K. H.; TRAJTENBERG, F.; WUNDER, E. A.; BRADU, M. R.; MARTIN, F. S.; MECHALY, A.; et al. An asymmetric sheath controls flagellar supercoiling and motility in the leptospira spirochete. **eLife**, v. 9, p. 1–24, 2020.
- GONSALEZ, C. R., CASSEB, J.; MONTEIRO, F. G. V.; PAULA-NETO, J. B.; FERNANDEZ, R. B.; SILVA, M. V.; et al. Use of doxycycline for leptospirosis after high-risk exposure in São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 40, n. 1, p. 59–61, 1998.
- GOUVEIA, E. L.; METCALFE, J.; CARVALHO, A. L. F.; AIRES, T. S. F.; VILLASBOAS-BISNETO, J. C.; QUEIRROZ, A.; et al. Leptospirosis-associated severe pulmonary hemorrhagic syndrome, Salvador, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 3, p. 505–508, 2008.
- GRACIE, R.; BARCELLOS, C.; MAGALH~ES, M.; SOUZA-SANTOS, R.; BARROCAS, P. R. G. Geographical scale effects on the analysis of leptospirosis determinants. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, n. 10, p. 10366–10383, 2014.
- GRIFFITH, M. E.; HOSPENTHAL, D. R.; MURRAY, C. K. Antimicrobial therapy of leptospirosis. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 19, n. 6, p. 533–537, 2006.
- GUPTA, R. S.; MAHMOOD, S.; ADEOLU, M. A phylogenomic and molecular signature based approach for characterization of the phylum spirochaetes and its major clades: Proposal for a taxonomic revision of the phylum. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p. 1–18, 2013.
- HAAKE, D. A. Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis. **Microbiology**, v. 146, n. 7, p. 1491–1504, 2000.
- HAAKE, D. A.; MATSUNAGA, J. Characterization of the leptospiral outer membrane and description of three novel leptospiral membrane proteins. **Infection and Immunity**, v. 70, n. 9, p. 4936–4945, 2002.
- HAAKE, D. A.; MATSUNAGA, J. Leptospira: A spirochaete with a hybrid outer membrane. **Molecular Microbiology**, v. 77, n. 4, p. 805–814, 2010.
- HAAKE, D. A.; ZUCKERT, W. R. The Leptospiral Outer Membrane. In: **Leptospira and Leptospirosis, Current Topics in Microbiology and Immunology**. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, v. 387, p. 187–221, 2015.
- HALLIDAY, J.; DABORN, C.; AUTY, H.; MTEMA, Z.; LEMBO, T.; BRONSVOORT, B. M. deC.; et al. Bringing together emerging and endemic zoonoses surveillance: Shared challenges and a common solution. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 367, n. 1604, p. 2872–2880, 2012.
- HARPER, M.; COX, A. D.; ADLER, A.; BOYCE, J. D. Pasteurella multocida lipopolysaccharide: The long and the short of it. **Veterinary Microbiology**, v. 153, n. 1–2, p. 109–115, 2011.
- HOLZAPFEL, M.; BONHOMME, D.; CAGLIERO, J.; VERNEL-PAUILLAC, F.; FANTON D'ANDON, M.; BORTOLUSSI, S.; et al. Escape of TLR5 Recognition by Leptospira spp.: A Rationale for Atypical Endoflagella. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 1–20, 2020.
- HOTEZ, P. J. The global fight to develop antipoverty vaccines in the anti-vaccine era. **Human Vaccines and Immunotherapeutics**, v. 14, n. 9, p. 2128–2131, 2018.

- HOTEZ, P. J.; FERRIS, M. T. The antipoverty vaccines. **Vaccine**, v. 24, n. 31–32, p. 5787–5799, 2006.
- HSU, S. H.; CHU, C. H.; TIAN, Y. C.; CHANG, M. Y.; CHOU, L. F.; SUN, Y. J.; et al. Crystal structure of *Leptospira* leucine-rich repeat 20 reveals a novel E-cadherin binding protein to induce NGAL expression in HK2 cells. **Biochemical Journal**, v. 477, n. 21, p. 4313–4326, 2020.
- HSU, S. H.; CHANG, M. Y.; LIN, S. M.; KO, Y. C.; CHOU, L. F.; TIAN, Y. C.; et al. Peptidoglycan mediates *Leptospira* outer membrane protein Loa22 to toll-like receptor 2 for inflammatory interaction: a novel innate immune recognition. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–16, 2021.
- HUNG, C. C.; CHANG, C. T.; TIAN, Y. C.; WU, M. S.; YU, C. C.; PAN, M. J.; et al. Leptospiral membrane proteins stimulate pro-inflammatory chemokines secretion by renal tubule epithelial cells through toll-like receptor 2 and p38 mitogen activated protein kinase. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 21, n. 4, p. 898–910, 2006.
- JHA, V.; GARCIA-GARCIA, G.; ISEKI, K.; LI, Z.; NAICKER, S.; PLATTNER, B.; et al. Chronic kidney disease: Global dimension and perspectives. **The Lancet**, v. 382, n. 9888, p. 260–272, 2013.
- KARPAGAM, K. B.; GANESH, B. Leptospirosis: a neglected tropical zoonotic infection of public health importance—an updated review. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 39, n. 5, p. 835–846, 2020.
- KASSENE, K.; HU, W.; OJCIUS, D. M.; SUN, D.; GE, Y.; ZHAO, J.; et al. Identification of collagenase as a critical virulence factor for invasiveness and transmission of pathogenic leptospira species. **Journal of Infectious Diseases**, v. 209, n. 7, p. 1105–1115, 2014.
- KING, A. M.; PRETE, G.; BARTPHO, T.; SERMSWAN, R. W.; TOMA, C.; SUZUKI, T.; et al. High-temperature protein G is an essential virulence factor of *Leptospira interrogans*. **Infection and Immunity**, v. 82, n. 3, p. 1123–1131, 2014.
- KOIZUMI, N.; WATANABE, H. Leptospiral immunoglobulin-like proteins elicit protective immunity. **Vaccine**, v. 22, n. 11–12, p. 1545–1552, 2004.
- LAMBERT, A.; PICARDEAU, M.; KAAKE, D. A.; SERMSWAN, R. W.; SRIKRAM, A.; ADLER, B.; et al. FlaA proteins in *Leptospira interrogans* are essential for motility and virulence but are not required for formation of the flagellum sheath. **Infection and Immunity**, v. 80, n. 6, p. 2019–2025, 2012.
- LEE, J. I.; HAMPSON, D. J.; LYMBERY, A. J.; HARDERS, S. J. The porcine intestinal spirochaetes: identification of new genetic groups. **Veterinary Microbiology**, v. 34, n. 3, p. 273–285, 1993.
- LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 2, p. 296–326, 2001.
- LIAO, S.; SUN, A.; OJCIUS, D. M.; WU, S.; ZHAO, J.; YAN, J. Inactivation of the flhY gene encoding a flagellar motor switch protein attenuates mobility and virulence of *Leptospira interrogans* strain Lai. **BMC Microbiology**, v. 9, p. e 253, 2009.
- LILENBAUM, W.; MARTINS, G. Leptospirosis in cattle: A challenging scenario for the understanding of the epidemiology. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 61, n. suppl1., p. 63–68, 2014.

- LIN, X.; CHEN, Y.; YAN, J. Recombinant multiepitope protein for diagnosis of leptospirosis. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 15, n. 11, p. 1711–1714, 2008.
- LIN, Y. P.; MCDONOUGH, S. P.; SHARMA, Y.; CHANG, Y. F. The terminal immunoglobulin-like repeats of LigA and LigB of *Leptospira* enhance their binding to gelatin binding domain of fibronectin and host cells. **PLoS ONE**, v. 5, n. 6, e e11301, 2010.
- LIN, Y. P.; MCDONOUGH, S. P.; SHARMA, Y.; CHANG, Y. F. *Leptospira* immunoglobulin-like protein B (LigB) binding to the C-terminal fibrinogen α C domain inhibits fibrin clot formation, platelet adhesion and aggregation. **Molecular Microbiology**, v. 79, n. 4, p. 1063–1076, 2011.
- LIN, Y. P.; CHANG, Y. F. The C-terminal variable domain of LigB from *Leptospira* mediates binding to fibronectin. **Journal of Veterinary Science**, v. 9, n. 2, p. 133–144, 2008.
- LOURDAULT, K.; CERQUEIRA, G. M.; WUNDER, E. A.; PICARDEAU, M. Inactivation of clpB in the pathogen *Leptospira interrogans* reduces virulence and resistance to stress conditions.. **Infection and Immunity**, v. 79, n. 9, p. 3711–3717, 2011.
- LOUREIRO, A. P.; LILENBAUM, W. **Genital bovine leptospirosis: A new look for an old disease** *Theriogenology*, Elsevier Ltd, 2020.
- MARCSISIN, R. A.; BARTPHO, T.; BULACH, D. M.; SRIKRAM, A.; SERMSWAN, R. W.; ADLER, B.; et al. Use of a high-throughput screen to identify *Leptospira* mutants unable to colonize the carrier host or cause disease in the acute model of infection. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, n. 10, p. 1601–1608, 2013.
- MARTELI, A. N.; GENRO, L. V.; DIAMENT, D.; GUASSELLI, L. A. Análise espacial da leptospirose no Brasil. **Saúde em Debate**, v. 44, n. 126, p. 805–817, 2020.
- MCCLAIN, J. B.; BALLOU, W. R.; HARRISON, S. M.; STEINWEG, D. L. Doxycycline therapy for leptospirosis. **Annals of Internal Medicine**, v. 100, n. 5, p. 696–698, 1984.
- MERI, T.; MURGIA, R.; STEFANEL, P.; MERI, S.; CINCO, M. Regulation of complement activation at the C3-level by serum resistant leptospires. **Microbial Pathogenesis**, v. 39, p. 139–147, 2005.
- MOHAMMED, H.; NOZHA, C.; HAKIM, K.; ABDELAZIZ, F.; REKIA, B. LEPTOSPIRA : Morphology , Classification and Pathogenesis. **J Bacteriol Parasitol**, v. 2, n. 6, p. 6–9, 2011.
- MURRAY, G. L.; SRIKRAM, A.; HENRY, R.; HARTSKEERL, R. A.; SERMSWAN, R. W.; ADLER, B. Mutations affecting *Leptospira interrogans* lipopolysaccharide attenuate virulence. **Molecular Microbiology**, v. 78, n. 3, p. 701–709, 2010.
- PANAPHUT, T.; DOMRONGKITCHAIPORN, S.; VIBHAGOOL, A.; THINKAMROP, B.; SUSAENGRAT, W. Ceftriaxone compared with sodium penicillin G for treatment of severe leptospirosis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 36, n. 12, p. 1507–1513, 2003.
- PAPPAS, C. J.; PICARDEAU, M. Control of Gene Expression in *Leptospira* spp . by Transcription Activator-Like Effectors Demonstrates a Potential Role for LigA and LigB in *Leptospira interrogans* Virulence. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 22, p. 7888–7892, 2015.
- PERRY, B.; GRACE, D. The impacts of livestock diseases and their control on growth and development processes that are pro-poor. **Philosophical Transactions of the Royal**

Society B: Biological Sciences, v. 364, n. 1530, p. 2643-2655, 2009.

PETRAKOVSKY, J.; BIANCHI, A.; FISUN, H.; NÁJERA-AGUILAR, P.; PEREIRA, M. M. Animal leptospirosis in Latin America and the caribbean countries: Reported outbreaks and literature review (2002–2014). **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, n. 10, p. 10770-10789, 2014.

PICARDEAU, M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. **Medecine et Maladies Infectieuses**, v. 43, n. 1, p. 1–9, 2013.

PICARDEAU, M. Virulence of the zoonotic agent of leptospirosis: Still terra incognita? **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, n. 5, p. 297–307, 2017.

PINTO, P. S.; LIBONATI, H.; LILENBAUM, W. A systematic review of leptospirosis on dogs , pigs , and horses in Latin America. **Tropical Animal Health and Production**, v. 49, n. 2, p. 231–238, 2017.

QUE-GEWIRTH, N. L. S.; RIBEIRO, A. A.; KALB, S. R.; COTTER, R. J.; BULACH, D. M.; ADLER, B.; et al. A Methylated Phosphate Group and Four Amide-linked Acyl Chains in *Leptospira interrogans* Lipid A. The Membrane Anchor of an Unusual Lipopolysaccharide that Activates TLR2. **Journal of Biological Chemistry**, v. 279, n. 24, p. 25420–25429, 2004.

RADOLF, J. D.; CAIMANO, M. J.; STEVENSON, B.; HU, L. Of ticks, mice and men: Understanding the dual-host lifestyle of Lyme disease spirochaetes. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 2, p. 87–99, 2012.

RAMACHANDRAN, G. Gram-positive and gram-negative bacterial toxins in sepsis. **Landes Bioscience**, v. 5, n. 1, p. 213–218, 2014.

REIS, R. B.; RIBEIRO, G. S.; FELZEMBURGH, R. D. M.; SANTNA, F. S.; MOHR, S. MELENDEZ, A. X. T. O.; et al. Impact of environment and social gradient on *Leptospira* infection in urban slums. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 2, n. 4, p. 11–18, 2008.

RICHER, L.; POTULA, H. H.; MELO, R.; VIEIRA, A.; GOMES-SOLECKI, M. Mouse model for sublethal *Leptospira interrogans* infection. **Infection and Immunity**, v. 83, n. 12, p. 4693–4700, 2015.

SANTECCHIA, I.; VERNEL-PAUILLAC, F.; RASID, O.; QUINTIN, J.; GOMES-SOLECKI, M. BONECA, I. G.; et al. Innate immune memory through TLR2 and NOD2 contributes to the control of *leptospira interrogans* infection. **PLoS Pathogens**, v. 15, n. 5, p. 1–26, 2019.

SCHULLER, S.; FRANCEY, T.; HARTMANN, K.; HUGONNARD, M.; KOHN, B.; NALLY, J. E.; et al. European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. **Journal of Small Animal Practice**, v. 56, n. 3, p. 159-179, 2015.

SEGURO, A. C.; ANDRADE, L. Pathophysiology of leptospirosis. **Shock**, v. 39, n. 7 suppl.1, p. 17–23, 2013.

SIVASANKARI, K.; SHANMUGHAPRIYA, S.; NATARAJASEENIVASAN, K. Leptospiral renal colonization status in asymptomatic rural population of Tiruchirapalli district, Tamilnadu, India. **Pathogens and Global Health**, v. 110, n. 4–5, p. 209–215, 2016.

SPICHLER, A. S.; VILAÇA, P. J.; ATHANAZIO, D. A.; ALBUQUERQUE, J. O. M.; BUZZAR, M.; CASTRO, B.; et al. Predictors of lethality in severe leptospirosis in urban Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, n. 6, p. 911–914, 2008.

SUPUTTAMONGKOL, Y.; NIWATTAYAKUL, K.; SUTTINONT, C.; LOSUWANALUK, K.; LIMPAIBOON, R.; CHIERAKUL, W.; et al. An open, randomized, controlled trial of penicillin, doxycycline, and cefotaxime for patients with severe leptospirosis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 39, n. 10, p. 1417–1424, 2004.

TIAN, Y. C.; HUNG, C. C.; LI, Y. J.; CHEN, Y. C.; CHANG, M. Y.; YEN, T. H.; et al. *Leptospira santarosai* serovar shermani detergent extract induces an increase in fibronectin production through a toll-like receptor 2-mediated pathway. **Infection and Immunity**, v. 79, n. 3, p. 1134–1142, 2011.

VIEIRA, A. S.; PINTO, P. S.; LILENBAUM, W. A systematic review of leptospirosis on wild animals in Latin America. **Tropical Animal Health and Production**, v. 50, p. 229–238, 2018.

VIEIRA, M. L.; FERNANDES, L. G.; DOMINGOS, R. F.; OLIVEIRA, R.; SIQUEIRA, G. H.; SOUZA, N. M.; et al. Leptospiral extracellular matrix adhesins as mediators of pathogen – host interactions. **FEMS Microbiology Letters**, v. 352, p. 129–139, 2014.

VIJAYACHARI, P.; SUGUNAN, A. P.; SHRIRAM, A. N. Leptospirosis: an emerging global public health problem P. **J Biosci**, v. 33, n. 4, p. 557–569, 2008.

VILA-FARRÉS, X.; FERRER-NAVARRO, M.; CALLARISA, A. E.; MARTI, S.; ESPINAL, P.; GUPTA, S.; et al. Loss of LPS is involved in the virulence and resistance to colistin of colistin-resistant *Acinetobacter nosocomialis* mutants selected in vitro. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 11, p. 2981–2986, 2015.

VINH, T.; ADLER, B.; FAINE, S. Ultrastructure and Chemical Composition of Lipopolysaccharide Extracted from *Leptospira interrogans* serovar copenhageni. **Journal of General Microbiology**, v. 132, p. 103–109, 1986.

WAGGONER, J. J.; BALASSIANO, I.; ABEYNAYAKE, J.; SAHOO, M. K.; MOHAMED-HADLEY, A.; LIU, Y.; et al. Sensitive real-time PCR detection of pathogenic leptospira spp. and a comparison of nucleic acid amplification methods for the diagnosis of leptospirosis. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, p. 1–8, 2014.

WAGGONER, J. J.; BALASSIANO, I.; MOHAMED-HADLEY, A.; VITAL-BRAZIL, J. M.; SAHOO, M. K.; PINSKY, B. A. Reverse-transcriptase PCR detection of *Leptospira*: Absence of agreement with single-specimen microscopic agglutination testing. **PLoS ONE**, v. 10, n. 7, p. 1–11, 2015.

WERTS, C.; TAPPING, R. I.; MATHISON, J. C.; CHUANG, T. H.; KRAVCHENKO, V.; GIRON, I. S.; et al. Leptospiral lipopolysaccharide activates cells through a TLR2-dependent mechanism. **Nature Immunology**, v. 2, n. 4, p. 346–352, 2001.

WERTS, C. Murine Models for Leptospirosis Kidney Disease. **Translational Research in Biomedicine**, v. 7, p. 65–75, 2019.

WUNDER, E. A.; FIGUEIRA, C. P.; BENAROUJ, N.; HU, B.; TONG, B. A.; TRAJTENBERG, F.; et al. A novel flagellar sheath protein, FcpA, determines filament coiling, translational motility and virulence for the *Leptospira* spirochete. **Molecular Microbiology**, v. 101, n. 3, p. 457–470, 2016.

YAMAGUCHI, T.; HIGA, N.; OKURA, N.; MATSUMOTO, A.; HERMAWAN, I.; YAMASHIRO, T.; et al. Characterizing interactions of *Leptospira interrogans* with proximal renal tubule epithelial cells. **BMC Microbiology**, v. 18, n. 1, p. 1–11, 2018.

YAN, W.; FAISAL, S. M.; DIVERS, T.; MCDONOUGH, S. P.; AKEY, B.; CHANG, Y. F. Experimental *Leptospira interrogans* Serovar Kennewicki Infection of Horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, p. 912–917, 2010.

YANG, C. W. Leptospirosis renal disease: Emerging culprit of chronic kidney disease unknown etiology. **Nephron**, v. 138, n. 2, p. 129–136, 2018.

YANG, H. Y.; HUNG, C. C.; LIU, S; H.; GUO, Y. G.; CHEN, Y. C.; KO, Y. C.; et al. Overlooked Risk for Chronic Kidney Disease after Leptospiral Infection: A Population-Based Survey and Epidemiological Cohort Evidence. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 10, p. 1–15, 2015.