



CES Medicina  
ISSN: 0120-8705  
ISSN: 2215-9177  
Universidad CES

Ramírez-García, René; Agudelo-Flórez, Piedad; Acevedo-Sáenz, Liliana  
Inmunología de la leptospirosis  
CES Medicina, vol. 33, núm. 3, 2019, Septiembre-Diciembre, pp. 192-200  
Universidad CES

DOI: <https://doi.org/10.21615/cesmedicina.33.3.4>

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=261162092005>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org



Sistema de Información Científica Redalyc  
Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal  
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso  
abierto

## Revisión de tema

# Inmunología de la leptospirosis

*Immunology of leptospirosis***René Ramírez-García<sup>1</sup>✉, Piedad Agudelo- Flórez<sup>1</sup> [CvLAC](#), Liliana Acevedo-Sáenz<sup>1</sup> [CvLAC](#)****Fecha correspondencia:**

Recibido: marzo 12 de 2019.

Revisado: mayo 20 de 2019.

Aceptado: mayo 29 de 2019.

**Forma de citar:**

Ramírez-García R, Agudelo Flórez P, Acevedo-Sáenz L. Inmunología de la leptospirosis. Rev CES Med 2019; 33(3): 192-200.

[Open access](#)[© Derecho de autor](#)[Licencia creative commons](#)[Ética de publicaciones](#)[Revisión por pares](#)[Gestión por Open Journal System](#)DOI: [http://dx.doi.org/10.21615/](http://dx.doi.org/10.21615/cesmedicina.33.3.4)[cesmedicina.33.3.4](#)

ISSN 0120-8705

e-ISSN 2215-9177

**Sobre los autores:**

1. Grupo de Investigación Ciencias Básicas, Escuela de Graduados, Universidad CES, Medellín, Colombia.

**Resumen**

Leptospirosis es una enfermedad re-emergente de distribución mundial ocasionada por espiroquetas patogénicas del género *Leptospira* que afectan humanos, animales domésticos o silvestres. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad son diversas y son el resultado de la interacción de la respuesta inmune del hospedador y las condiciones de virulencia propias de las especies patógenas. Aunque se desconocen muchos aspectos de la inmunidad en la infección por *Leptospira* spp, es reconocido que los hospederos susceptibles presentan diferencias en su respuesta inmune, como la activación/evasión del sistema del complemento, la activación de subpoblaciones celulares, la producción de citoquina y el desarrollo de anticuerpos. El estudio del perfil inmunológico en pacientes con leptospirosis ha sido documentado y contribuye en la identificación de biomarcadores asociados con severidad. Esta revisión presenta algunos de los eventos relacionados con la respuesta inmune desde el ingreso de la bacteria en la fase inicial de la infección hasta su multiplicación y generación de enfermedad en el humano.

**Palabras claves:** Inmunidad innata; Inmunidad adaptativa; Infección; Zoonosis, Citocinas. Leptospirosis.

**Abstract**

Leptospirosis is a re-emergent disease of worldwide distribution caused by pathogenic spirochetes of the *Leptospira* genus that affect humans, domestic and wild animals. The clinical manifestations of the disease are diverse and are the result of the interaction of the immune response of the host and the virulence conditions of the pathogenic species. Although many aspects of immunity in infection with *Leptospira* spp are unknown, it is recognized that susceptible hosts show differences in their immune response, such as activation / evasion of the complement system, activation of cellular subpopulations, production of cytokines, development of antibodies. Study of the immunological profile in patients with leptospirosis has been documented and contributes in the identification of bio-markers associated with severity. This review presents updated events related to the immune response from the entry of the bacteria in the initial phase of the infection to its multiplication and generation of human disease.

**Keywords:** Immunity innate; Adaptive Immunity; Infection; Zoonoses; Cytokines; Leptospirosis.

## Comparte



## Introducción

La leptospirosis es una enfermedad zoonótica re-emergente, causada por espiroquetas gram-negativas pertenecientes al orden *Spirochaetales*, familia *Leptospiraceae* y género *Leptospira*. Es considerada una zoonosis de distribución mundial aunque se encuentra principalmente en regiones tropicales, relacionada con factores ambientales, climáticos y sociales que favorecen su transmisión. Anualmente, a nivel global, se reportan aproximadamente 1,03 millones de casos y 58 900 muertes por la enfermedad (1).

Los humanos infectados con *Leptospira* patogénicas pueden presentar manifestaciones clínicas altamente variables, desde formas asintomáticas hasta presentaciones clínicas severas y potencialmente fatales. Los signos clínicos van desde un cuadro febril simple hasta formas fatales incluyendo el síndrome de Weil, caracterizado por insuficiencia renal, ictericia y hemorragias (2).

La principal vía de infección es el contacto directo de *Leptospira* patogénicas con membranas mucosas o heridas en piel con sangre, tejidos, orina o aguas contaminadas, las cuales se diseminan por sangre y alcanzan órganos como hígado, pulmón y tubos proximales del riñón donde se multiplican y sobreviven por meses (3). En la fase inicial de la infección la respuesta inmune innata juega un papel fundamental como primera línea de defensa en leptospirosis, destacándose la respuesta mediada por receptores de reconocimiento de patrones, fagocitosis por macrófagos, inducción de trampas extracelulares de neutrófilos e intervención del sistema del complemento (4).

La respuesta inmune en el humano tiene un papel esencial en el desarrollo de los signos clínicos, al igual que los factores de virulencia de algunas cepas patógenas. La mayoría de infecciones en humanos son asintomáticas o leves y solo un 10 % de los casos desarrollan formas severas con falla multiorgánica e incremento de las tasas de mortalidad relacionada con una tormenta de citoquinas y un estado de inmuno- parálisis (5).

Las especies patógenas presentan mecanismo de evasión de la respuesta humoral en la fase de bacteremia, aunque no es claro el comportamiento posterior de la respuesta inmune. En estudios realizados en pacientes con múltiples manifestaciones clínicas con leptospirosis se ha asociado la gravedad del cuadro clínico con diversos niveles de citoquinas en suero como TNF- $\alpha$ , IL-10 e IL-6 (6). Sin embargo, otros estudios, de manera controversial, han demostrado asociaciones opuestas a las mencionadas (7). Estas condiciones han abierto el interés en la comprensión de la respuesta inmune en general y profundizar en los eventos biológicos que ocurren en la infección.

Esta revisión pretende compartir los últimos avances y estudios de la respuesta inmune en leptospirosis con el fin de aportar al entendimiento de la interacción de la bacteria con su hospedador; además, reconocer otros mecanismos diferentes de la respuesta de evasión en la fase humoral e integrar información asociada a la identificación de posibles biomarcadores de gravedad, los cuales pueden ser de utilidad en el manejo clínico de la enfermedad.

En la fase inicial de la infección la respuesta inmune innata juega un papel fundamental como primera línea de defensa en leptospirosis, destacándose la respuesta mediada por receptores de reconocimiento de patrones, fagocitosis por macrófagos, inducción de trampas extracelulares de neutrófilos e intervención del sistema del complemento.

## Respuesta del sistema inmune innato y el ingreso de *Leptospira* patogénica en el hospedador susceptible

### *Leptospira* y sistema de complemento

La actividad proteolítica de las proteasas leptospirales contra la matriz extracelular permite que la infección ingrese al torrente circulatorio. El sistema del complemento en el sistema circulatorio es uno de los principales mecanismos de la respuesta inmune innata ante la infección por *Leptospiras* patogénicas y su función es el reconocimiento y eliminación de microorganismos. *Leptospira* ha desarrollado estrategias para escapar al ataque del sistema de complemento mediante la unión de proteínas a moléculas del complemento y producción de proteasas como la termolisina que afecta la cadena  $\alpha$  de la proteína C3. Las cepas patogénicas unen el factor H, la proteína relacionada con el factor H-1 (FHR-1), la proteína tipo factor H-1 (FHL-1) y la proteína de unión al C4b, todas encargadas de inhibir el sistema de complemento (8).

La proteína relacionada con el factor H-1 -1 inhibe la actividad de la convertasa C5, evitando la generación de moléculas C5b y la eliminación de *Leptospira* (9). La proteína de unión al C4b inhibe la vía alternativa y la vía de las lectinas al actuar como cofactor del factor I para clivar la molécula C4b e inhibir la formación de la convertasa C3. Un mecanismo regulador del sistema del complemento requiere de la proteasa serina, factor I, el cual en presencia del cofactor factor H-1 o la proteína cofactor de membrana clivan C3b en fragmentos, lo que resulta en la inhibición de la cascada del complemento y la producción de iC3b opsonina que es reconocida por los receptores CR1 y CR3. Las proteasas producidas por *Leptospiras* patogénicas clivan C3b en productos distintos a los producidos por el factor I; estas proteasas bacterianas también pueden clivar iC3b, inactivando esta molécula como opsonina (10).

*Leptospiras* patogénicas también interactúan con el factor regulador C1INH manteniendo su capacidad reguladora con C1, impidiendo así la activación del sistema de complemento. La adhesina Lsa23 leptospiral inhibe el ensamble del complejo de ataque a membrana (8). *Leptospiras* patogénicas logran evadir la respuesta humoral y continúa su progresión en la infección.

### *Leptospira* y receptores de inmunidad innata

*Leptospiras* patogénicas son reconocidas por receptores de inmunidad innata presentes en células fagocíticas que identifican patrones moleculares asociados a microorganismos como lipopolisacáridos, lipoproteínas de membrana externa y ácido desoxirribonucleico hipometilado. Receptores tipo Toll (TLR) y receptores tipo Nod (NLR's) presentes en células fagocíticas participan en la respuesta y han sido relacionados con el control temprano de la leptospirosis. El heterodímero TLR2/TLR1 identifica lipopolisacáridos y LipL32 induciendo la producción de TNF $\alpha$  y es reconocido como el principal receptor involucrado en el reconocimiento de la bacteria. Individuos con polimorfismo Arg753Gln (2258 G>A) en el gen *tlr2* y Ile602Ser (1805 T>G) en el gen *tlr1* se han asociado con susceptibilidad a la leptospirosis. El polimorfismo de Arg753Gln del *tlr2* en pacientes con leptospirosis los hace más susceptibles a desarrollar cuadros clínicos con insuficiencia renal e ictericia, lo que se explica por la deficiencia en la señalización del *tlr2* afectando la heterodimerización *tlr2/tlr6*, la fosforilación de residuos de tirosina y el reclutamiento de las proteínas adaptadoras MyD88. El SNP Ile602Ser en el *tlr1* afecta la expresión de molécula en la superficie de la célula fagocítica (11).

El sistema del complemento en el sistema circulatorio es uno de los principales mecanismos de la respuesta inmune innata ante la infección por *Leptospiras* patogénicas y su función es el reconocimiento y eliminación de microorganismos.

### ***Leptospira* y neutrófilos**

Durante la infección las especies patógenas de *Leptospira* desencadenan una fuerte activación de neutrófilos y de la respuesta pro-inflamatoria. Los neutrófilos son importantes en el control de microorganismo, pero también contribuyen con el daño de tejidos en el hospedero. *Leptospira* estimula la formación de netosis, un tipo de muerte celular ocasionada por trampas extracelulares de neutrófilos. Se ha demostrado que los bajos niveles de trampas extracelulares de neutrófilos por baja actividad de neutrófilos en sangre incrementan la leptospiremia, lo que determina que la formación intravascular de trampas de neutrófilos puede ser crítica en la prevención de la diseminación temprana de *Leptospiras* patogénicas (4).

### ***Leptospira* y macrófagos**

En la fase inicial de infección por *Leptospira* los macrófagos juegan un papel importante en la eliminación de la bacteria. Su mecanismo efector junto con una eficiente respuesta de citoquinas está relacionado con el control fagocítico y la diseminación de la infección, aunque se ha demostrado que *Leptospira* spp induce apoptosis en macrófagos a través de la vía Fas/FasL-caspasa-8-3 y facilitan su supervivencia y proliferación en el hospedero, debido a la liberación de factor mitocondrial inductor de apoptosis y endonucleasas (EndoG) en macrófagos infectados (12).

Bajos niveles de trampas extracelulares de neutrófilos por baja actividad de neutrófilos en sangre incrementan la leptospiremia, por lo que la formación intravascular de trampas de neutrófilos puede ser crítica en la prevención de la diseminación temprana de *Leptospiras* patogénicas.

La producción de especies reactivas de oxígeno lleva a la defosforilación de Akt y el clivaje de Bid (agonista de muerte con dominio BH3). Este procesamiento en Bid genera una permeabilización de la membrana mitocondrial y la liberación del factor inductor de apoptosis mitocondrial y Endo G, moléculas que van al núcleo de la célula y causa fragmentación del ADN y apoptosis (13).

Otro mecanismo de apoptosis independiente de caspasa se relaciona con la translocación intranuclear de p53 que induce un incremento en la expresión de p21 y de las proteínas de la familia pro apoptótica BCL-2 (Bax, Noxa y Puma) y, junto a la liberación de factor inductor de apoptosis mitocondrial y EndoG, lleva a apoptosis de macrófagos infectados con *Leptospira* (14).

Recientemente, se han realizado investigaciones con la caracterización del microtranscriptoma de macrófagos infectados con *Leptospira* en los mecanismos epigenéticos como la regulación post transcripcional por RNA. Los macrófagos infectados con *Leptospira* han demostrado que los micro RNA (miRNAs) son regulados por la infección con la espiroqueta, lo que demuestra que esta regulación es de vital importancia en la respuesta de estas células del sistema inmune en la infección por *Leptospira* (15).

En macrófagos humanos, la activación del inflammasoma mediada por especies reactivas de oxígeno y catepsina B lisosomal generada por la infección con *Leptospira* presenta niveles altos de NLRP3 y de IL-18, favoreciendo la producción de IL-1 $\beta$  lo que demuestra la alta habilidad para la fagocitosis y la rápida modelación de algunas citoquina correlacionadas con la resistencia a la leptospirosis (16).

### ***Leptospira* y célula dendrítica**

Las células dendríticas a través de sus receptores DC-SIGN ingresan a su citoplasma *Leptospiras* con contenido de manosa en sus membranas, que es el principal componente glúcido estructural de *Leptospira*. Este glúcido contribuye a que la bacteria sea fagocitada y posteriormente sea presentada para estímulo de la respuesta adaptativa a través de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad II

(CMH-II). La unión de DC-SIGN y manosa inducen la maduración de células dendríticas y la producción de citoquinas como TNF- $\alpha$ , IL-12 e IL-10 (17). La manosa presente en *L. interrogans* puede estar relacionada con la unidad de manobiosa presente en el lipopolisacárido de *Leptospiras* y puede ser un importante antígeno específico. No se conocen muchos aspectos de la infección de *Leptospira* en la célula dendrítica, pero esta población celular ha sido relacionada en presencia con otras células inflamatorias en tejido linfoide terciario en infecciones por *Leptospira* en nefritis folicular linfoide (18).

## Respuesta del sistema inmune adaptativo y progresión de la infección con *Leptospira* patogénica

### Respuesta de linfocitos T y citoquinas

Especies patógenas de *Leptospira* inducen una respuesta inmune mediada por linfocitos T y B, acompañada con la expresión de citoquinas que pueden asociarse con cuadros de gravedad. La activación de linfocitos T durante la infección con *Leptospiras* inicia la respuesta inflamatoria, principalmente con la producción de citoquinas; esto es fundamental en la eliminación temprana de la infección, pero también la producción no controlada de citoquinas pro-inflamatorias puede resultar en un proceso de tormenta de citoquinas seguida de un estado de inmuno-parálisis que puede conducir a sepsis y falla multiorgánica (5).

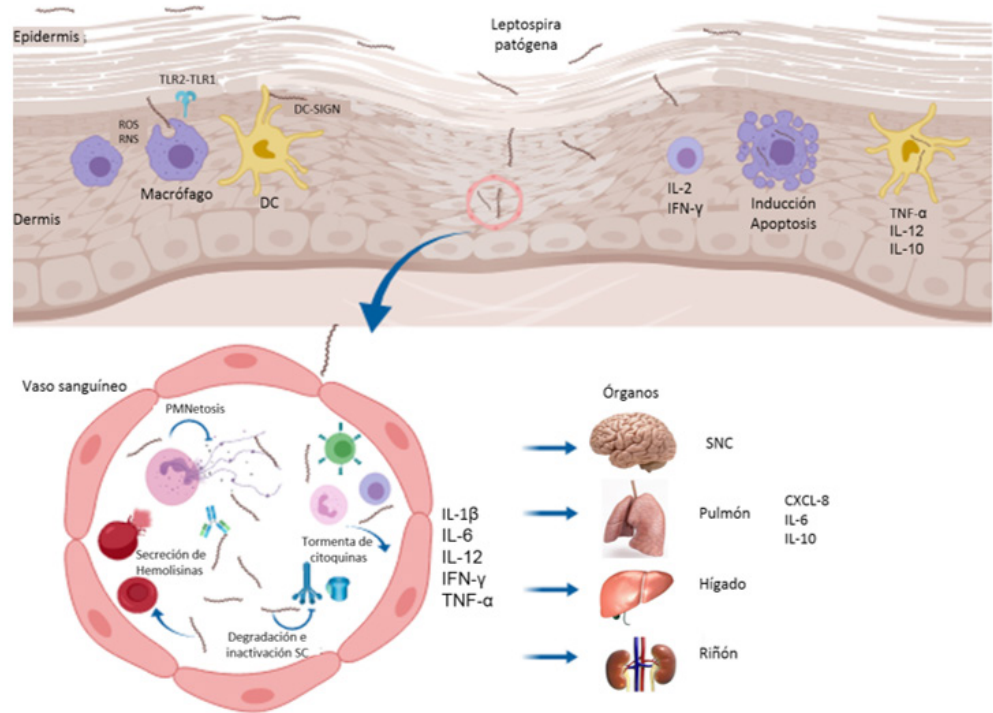
La activación de linfocitos T durante la infección con *Leptospiras* inicia la respuesta inflamatoria, principalmente con la producción de citoquinas, siendo fundamental para la eliminación temprana de la infección. Pero la producción no controlada de citoquinas pro-inflamatorias puede resultar en una tormenta de citoquinas seguida de un estado de inmuno-parálisis que puede conducir a sepsis y falla multiorgánica

Las células leucocitarias y linfocitos T producen IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$  que actúan como quimio-atrayentes para recrudecer la acción de leucocitos en el sitio de la infección. En pacientes con leptospirosis severas y con compromiso pulmonar se obtuvieron niveles altos de IL-6, CXCL8 e IL-10 cuando fueron comparados con pacientes con leptospirosis leves (6). Estas concentraciones altas de citoquinas en pacientes con leptospirosis evidencian el importante papel en el desarrollo de leptospirosis severa.

En pacientes con infección grave se encuentran linfocitos T CD4+ con perfil pro-inflamatorio y productores de IL-2 e IFN $\gamma$  y están casi ausentes linfocitos T CD4+ CD25<sup>high</sup> productores de IL-10. La regulación de la respuesta inmune mediada por linfocitos T parece no prevenir el daño tisular generado por la respuesta inflamatoria por *Leptospira*. En linfocitos T CD4+ de humanos con leptospirosis severa se ha encontrado que la producción de TNF- $\alpha$  y otras citoquinas proinflamatorias es más alta que aquellos con cuadros leves, lo cual determina que estas citoquinas hayan sido relacionadas como marcadores de severidad en la fase inmunológica de la infección (19).

La producción de IL-10 se ha asociado con riesgo de muerte en humanos con leptospirosis; sin embargo, un estudio realizado con humanos expuestos y asintomáticos asocia la producción de esta citoquina con el control de la respuesta inflamatoria y sobrevida (19). Durante la infección por *Leptospira* los mediadores inflamatorios y la acción de algunas células leucocitarias como los linfocitos T son rápidamente regulados en individuos resistentes contrastando esta regulación en individuos con formas severas de leptospirosis (5) (figura 1).





**Figura 1. Respuesta inmunológica en la infección por *Leptospira* spp patógenas.** Representación esquemática desde el ingreso de la espiroqueta a través del contacto con la epidermis, progresión por la dermis hacia el vaso sanguíneo y efecto sobre los órganos.

Las vacunas actualmente disponibles para leptospirosis están compuestas de preparaciones completas de la célula y tiene limitaciones como una baja eficacia, múltiples efectos secundarios, generación de baja memoria inmunológica y falta de protección cruzada para diferentes serovares.

### Respuesta humoral en leptospirosis

La respuesta humoral específica contra *Leptospira* se caracteriza por la producción hacia el tercer día de iniciado el cuadro clínico de anticuerpos IgM y de IgG; además, se ha reportado producción de IgA desde el quinto día hasta el noveno mes post-infección; el incremento de IgM ha sido usado como alternativa en el diagnóstico temprano de leptospirosis (20).

El efecto de la respuesta humoral en humanos con leptospirosis ha permitido que, hasta la actualidad, se haya realizado diagnóstico serológico después de la infección natural (21), incluso con el descubrimiento de nuevos péptidos de *Leptospira* propuestos para nuevos esquemas de detección serológica (22).

Sin duda, el aspecto más importante de la respuesta humoral en la infección con *Leptospira* es la formación de anticuerpos protectores. Las vacunas actualmente disponibles para leptospirosis están compuestas de preparaciones completas de la célula y tiene limitaciones como una baja eficacia, múltiples efectos secundarios, generación de baja memoria inmunológica y falta de protección cruzada para diferentes serovares; así, el desarrollo de nuevas vacunas es necesario para el control de la enfermedad por lo que en la actualidad se desarrollan investigaciones para producir vacunas a partir de la inmunización genética (23).

Las proteínas de membrana externa de *Leptospira* han sido consideradas como antígenos con mejor inmunogenicidad para linfocitos B, entre estos se encuentran los epítopes estructurales OmpL187-98, OmpL1173-191, OmpL1297-320, LipL4130-48,

LipL41233-256, y LipL41263-282 (24). Estos epítopes son candidatos promisorios para el desarrollo de una vacuna universal.

Además, se han explorado estrategias de inmunización basadas en el sistema *DNA prime-protein boost*, *DNA vaccine*, puesto que estudios en modelos animales han demostrado que se requiere tanto de la inducción de una respuesta humoral como celular en la infección (25).

Recientes investigaciones con proteínas recombinantes relacionadas con factores de virulencia como LcpA (rLcpA), LenA (rLenA) y LTB (rLTB) han demostrado la inmunogenicidad de estos antígenos en modelos animales y su capacidad protectora ante *L. interrogans*, aunque se continúa con la expectativa de la permanencia en el tiempo de títulos de anticuerpos protectores (26). Aunque se han probado muchos antígenos candidatos a vacunas a partir de la membrana celular de la bacteria y con la formación de anticuerpos post vacunales especialmente contra lipopolisacáridos, los resultados de estas vacunas en humanos siguen siendo limitados.

## Conclusión

La comprensión de la respuesta inmune frente a la infección con *Leptospira* no está completamente dilucidada, debido entre otros factores, a que está profundamente relacionada con el comportamiento clínico de los pacientes con leptospirosis que interactúan con los diferentes factores de virulencia del genoma bacteriano y que le confieren a *Leptospira* una sólida capacidad patógena. Ha habido avances en el conocimiento de la interacción entre "respuesta inmune del hospedero y factores de virulencia de *Leptospira* spp" que han permitido desarrollar tratamientos, estrategias inmunoprotectoras y principalmente diagnósticas, pero el camino de generación de conocimiento de esta interacción que lleve a disminuir la carga de la morbi-mortalidad causada por leptospirosis a nivel global, apenas comienza.

Se han explorado estrategias de inmunización basadas en el sistema *DNA prime-protein boost*, *DNA vaccine*.

## Financiación

Dirección de Investigación e Innovación Universidad CES mediante el proyecto INV022015004.

## Bibliografía

1. Costa F, Hagan JE, Calcagno J, Kane M, Torgerson P, Martinez-Silveira MS, et al. Global morbidity and mortality of Leptospirosis: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(9):e0003898.
2. Haake DA, Levett PN. Leptospirosis in humans. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2015;387:65-97.
3. Seguro AC, Andrade L. Pathophysiology of leptospirosis. *Shock Augusta Ga*. 2013;39 Suppl 1:17-23.
4. Scharrig E, Carestia A, Ferrer MF, Cédola M, Pretre G, Drut R, et al. Neutrophil extracellular traps are involved in the innate immune response to infection with *Leptospira*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9(7):e0003927.
5. Cagliero J, Villanueva SYAM, Matsui M. Leptospirosis pathophysiology: into the storm of cytokines. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018;8:204.



6. Reis EAG, Hagan JE, Ribeiro GS, Teixeira-Carvalho A, Martins-Filho OA, Montgomery RR, et al. Cytokine response signatures in disease progression and development of severe clinical outcomes for Leptospirosis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(9):e2457.
7. Kyriakidis I, Samara P, Papa A. Serum TNF- $\alpha$ , sTNFR1, IL-6, IL-8 and IL-10 levels in Weil's syndrome. *Cytokine*. 2011;54(2):117-20.
8. Fraga TR, Isaac L, Barbosa AS. Complement evasion by pathogenic *Leptospira*. *Front Immunol*. 2016;7:623.
9. Heinen S, Hartmann A, Lauer N, Wiehl U, Dahse H-M, Schirmer S, et al. Factor H-related protein 1 (CFHR-1) inhibits complement C5 convertase activity and terminal complex formation. *Blood*. 2009;114(12):2439-47.
10. Fraga TR, Courrol DDS, Castiblanco-Valencia MM, Hirata IY, Vasconcellos SA, Juliano L, et al. Immune evasion by pathogenic *Leptospira* strains: the secretion of proteases that directly cleave complement proteins. *J Infect Dis*. 2014;209(6):876-86.
11. Cédola M, Chiani Y, Pretre G, Alberdi L, Vanasco B, Gómez RM. Association of Toll-like receptor 2 Arg753Gln and Toll-like receptor 1 Ile602Ser single-nucleotide polymorphisms with leptospirosis in an Argentine population. *Acta Trop*. 2015;146:73-80.
12. Du P, Li S-J, Ojcius DM, Li K-X, Hu W-L, Lin X, et al. A novel Fas-binding outer membrane protein and lipopolysaccharide of *Leptospira interrogans* induce macrophage apoptosis through the Fas/FasL-caspase-8/-3 pathway. *Emerg Microbes Infect*. 31 de julio de 2018;7(1):135.
13. Hu W-L, Dong H-Y, Li Y, Ojcius DM, Li S-J, Yan J. Bid-Induced Release of AIF/EndoG from mitochondria causes apoptosis of macrophages during infection with *Leptospira interrogans*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;7:471.
14. Hu W, Ge Y, Ojcius DM, Sun D, Dong H, Yang XF, et al. p53 signalling controls cell cycle arrest and caspase-independent apoptosis in macrophages infected with pathogenic *Leptospira* species. *Cell Microbiol*. 2013;15(10):1642-59.
15. Garcia LE, de Araújo Junior EC, Melo LM, Bragato JP, Peiró JR, Félix de Lima VM, et al. Characterization of the microtranscriptome of macrophages infected with virulent, attenuated and saprophyte strains of *Leptospira* spp. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12(7):e0006621.
16. Silva PL da, Lauretti-Ferreira F, Caldas de Lima M, Lima SS, Covarrubias AE, De Franco M, et al. Phagocytosis of *Leptospira* by leukocytes from mice with different susceptibility to Leptospirosis and possible role of chemokines. *BMC Microbiol*. 2019;19(1):4.
17. Gaudart N, Ekpo P, Pattanapanyasat K, van Kooyk Y, Engering A. *Leptospira interrogans* is recognized through DC-SIGN and induces maturation and cytokine production by human dendritic cells. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2008;53(3):359-67.

18. Pezzolato M, Maina E, Lonardi S, Bozzetta E, Grassi F, Scanziani E, et al. Development of tertiary lymphoid structures in the kidneys of pigs with chronic leptospiral nephritis. *Vet Immunol Immunopathol*. 2012;145(1-2):546-50.
19. Volz MS, Moos V, Allers K, Luge E, Mayer-Scholl A, Nöckler K, et al. Specific CD4+ T-Cell reactivity and cytokine release in different clinical presentations of Leptospirosis. *Clin Vaccine Immunol CVI*. 2015;22(12):1276-84.
20. Alia SN, Joseph N, Philip N, Azhari NN, Garba B, Masri SN, et al. Diagnostic accuracy of rapid diagnostic tests for the early detection of Leptospirosis. *J Infect Public Health*. 2018.
21. Rubbo P-A, Soupé-Gilbert M-E, Golongba DM, Mbombo F, Girault D, Nakouné E, et al. Evidence of human Leptospirosis cases in a cohort of febrile patients in Bangui, Central African Republic: a retrospective study, 2012-2015. *BMC Infect Dis*. 2018;18(1):376.
22. Ramli SR, Moreira GMSG, Zantow J, Goris MGA, Nguyen VK, Novoselova N, et al. Discovery of *Leptospira spp.* seroreactive peptides using ORFeome phage display. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(1):e0007131.
23. Silveira MM, Oliveira TL, Schuch RA, McBride AJA, Dellagostin OA, Hartwig DD. DNA vaccines against Leptospirosis: A literature review. *Vaccine*. 09 de 2017;35(42):5559-67.
24. Lin X, Xiao G, Luo D, Kong L, Chen X, Sun D, et al. Chimeric epitope vaccine against *Leptospira interrogans* infection and induced specific immunity in guinea pigs. *BMC Microbiol*. 2016;16(1):241.
25. Koizumi N, Muto MM, Izumiya H, Suzuki M, Ohnishi M. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis and clinical characterization of *Leptospira interrogans canine* isolates. *J Med Microbiol*;64(Pt 3):288-94.
26. Ghazali-Bina M, Reza Pourmand M, Mirshafiey A, Bakhtiari R, Khaledi A, Kazemian H et al. Vaccine potential of LenA and LcpA proteins of *Leptospira interrogans* in combination with *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin, B subunit (LTB). - PubMed - NCBI [Internet]. [citado 24 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30996830>