

# ZOONOSSES



Beatriz Bernava Sarinho 10758241

Gabriela Nabeiro de Oliveira 10758578

Gabriela Sinder Calichman 10758411

Julia Corigliano Aicardi 10758540

Leticia Naomi Shigemura 9436698

Rafaela Slaviero Pinheiro Cerdeira 10758279

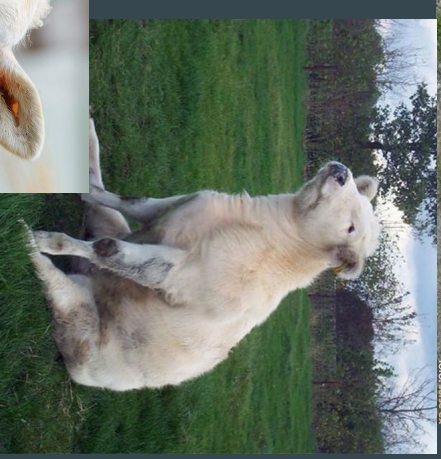
# O que são zoonoses?

- São doenças infecciosas (causadas por uma diversidade de microrganismos) que podem ser naturalmente transmitidas entre animais e seres humanos.
- Podem ser de três tipos:
  - **Anfíxeneses;**
  - **Antropozoonoses;**
  - **Zooantropónoses.**

**Anthrax**  
**...**

# O que Anthrax?

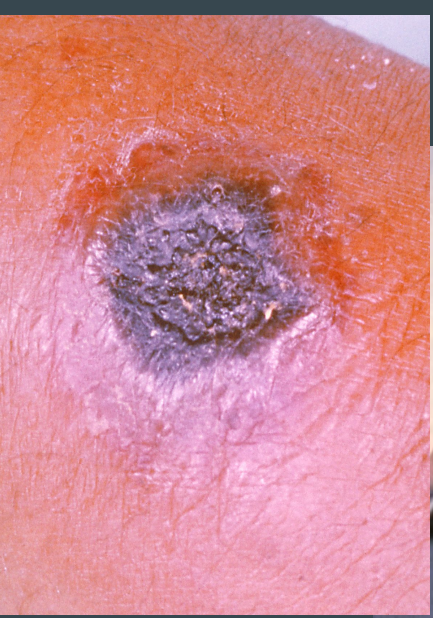
- Uma Infecção causada pela bactéria *Bacillus anthracis*;
- Geralmente acomete herbívoros, mas também pode ser contraída por seres humanos - uma antroponose;
- A transmissão se dá pelo contato com os esporos da bactéria:
  - Contato direto com animais infectados, produtos animais contaminados e/ou contato direto com o agente.
- Existem três tipos de rota de contaminação e manifestação clínica da infecção em humanos:
  - Cutânea, gastrointestinal e pulmonar.



# Formas de contágio e manifestação clínica

- *Anthrax cutânea*

- Manifestação mais comum da infecção;
- Adquirida através da penetração dos esporos de *Bacillus anthracis* em **lesões na pele**;
- Incubação de 1 a 12 dias;
- Ocorre a formação de pápulas, que evoluem para vesículas, até se tornarem **úlceras** de tamanho variável, **indolores e pretas**;
- Perda da sensação dolorosa;
- **Pus** somente em caso de contaminação secundária da ferida com bactérias piogênicas (ex.: *Staphylococcus aureus*);
- Anthrax em grego significa **carvão**;
- Mortalidade de 20% sem tratamento e apenas 1% com tratamento.



- ***Anthrax gastrointestinal***

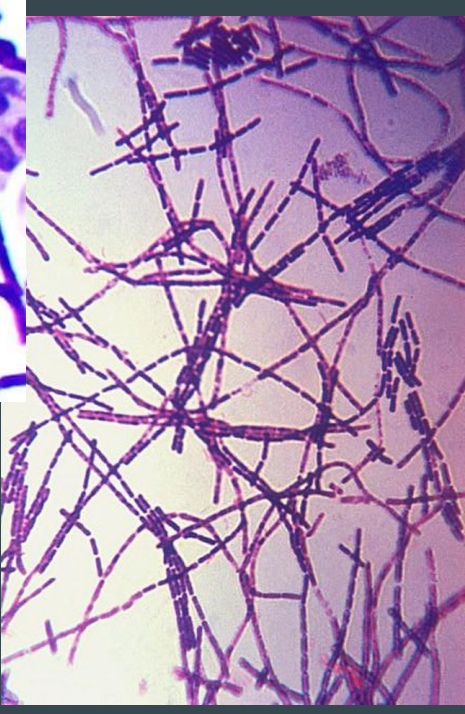
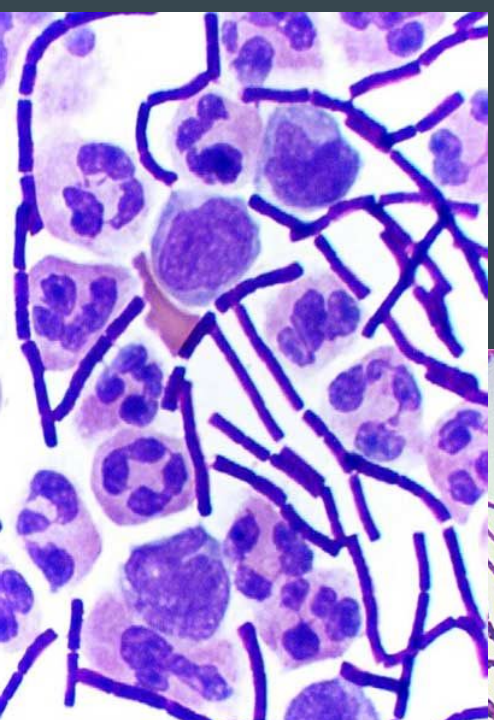
- Adquirida, geralmente, pela ingestão de carne contaminada com esporos;
- Início da infecção se dá entre 2 e 5 dias após a ingestão do material contaminado;
- Pode causar lesões da cavidade oral até o ceco;
- As toxinas liberadas ao longo da proliferação das bactérias causam úlceras necróticas, que podem evoluir hemorragias e perfuração intestinal;
- Subdividida nas formas intestinal e oro-esofaríngea.
- Diagnóstico difícil dada a sintomatologia inespecífica - mortalidade 50%.

- ***Anthrax pulmonar***

- Adquirida por inalação dos esporos do bacilo;
- Sintomas iniciais semelhantes aos da gripe, com evolução rápida para a febre súbita, dispneia, diaforese, derrame pleural, taquicardia, hemorragia mediastinal, choque e morte;
- Metade dos casos apresentam desenvolvimento de meningite com hemorragia subaracnóidea;
- Forma mais rara da infecção, com mortalidade de 75% em casos tratados e entre 90 e 100% em casos não tratados;
- Em casos fatais o intervalo entre início dos sintomas e morte é de aprox. 3 dias.

# Bactéria causadora: *Bacillus anthracis*

- Formato bacilar grande:
  - entre 4 e 8  $\mu\text{m}$  de comprimento
- Gram-positiva;
- Imóvel;
- Anaeróbia facultativa;
- Esporogênica:
  - Na forma esporulada mede cerca de 1  $\mu\text{m}$ .
- Crescimento entre 15 e 42°C:
  - Temperatura ótima de 32°C.



# Meio de cultivo

- Cresce bem em ágar com 5% de sangue de cordeiro, formando colônias características:
- Colônias grandes (2 a 5mm) e rugosas, brancas ou cinzas - aparência de vidro translúcido/opaco.
- Colônias com bordas redondas e irregulares - morfologia conhecida como “cabeças de medusa”.
- O cultivo em alta concentração de CO<sub>2</sub> leva a formação de cápsulas lisas e mucóides.



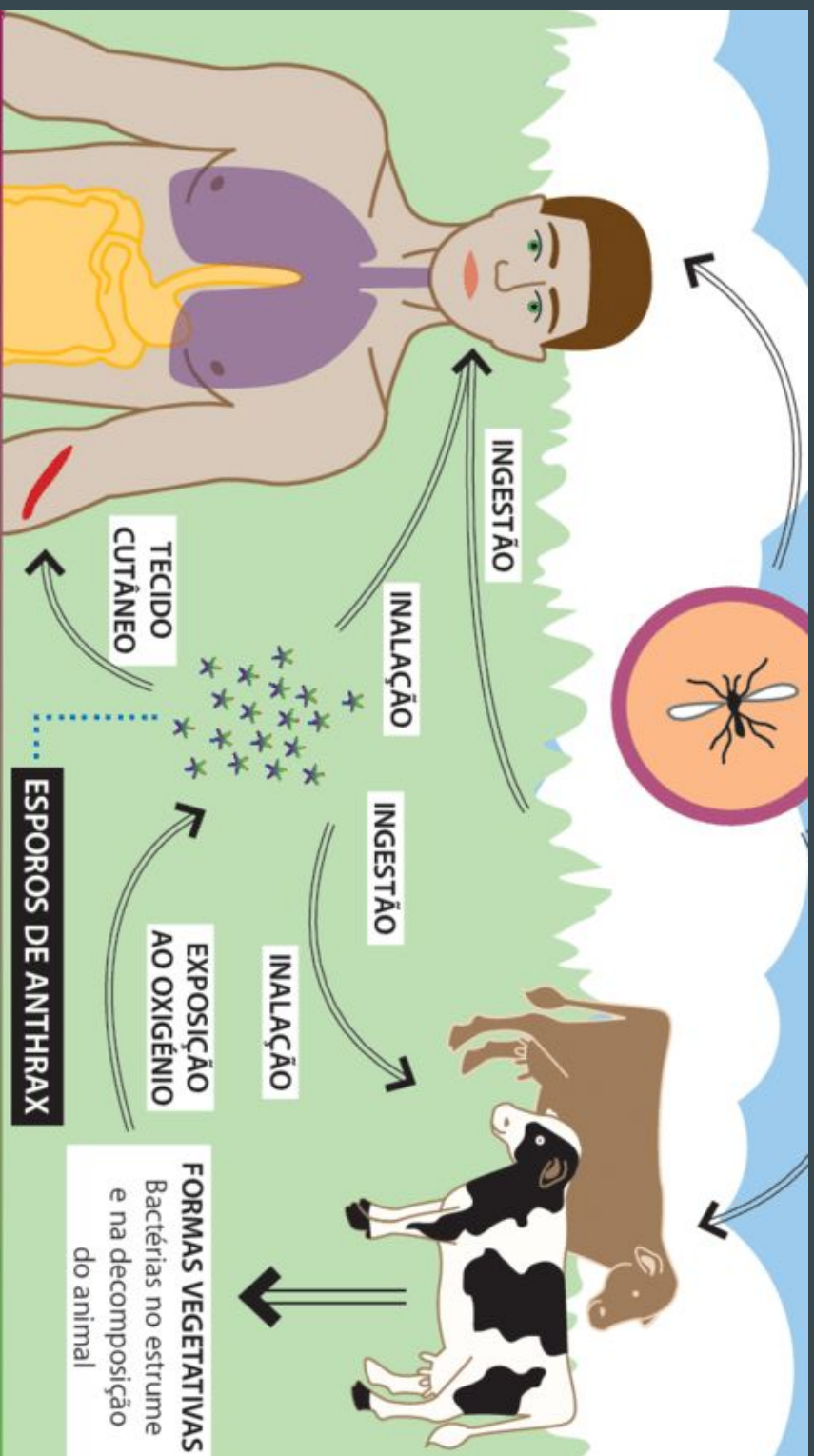


# Esporos

- Esporulação é desencadeada pela exposição da forma vegetativa à atmosfera.
- Esporos podem sobreviver até 200 anos:
  - Alta resistência térmica e à desinfetantes químicos;
  - Condições para destruição: exposição a temperatura ao redor de 140°C por 3h.
- Em temperatura ótima leva de 7 a 8 horas.
- Formação de “campos malditos”.



# Ciclo do Anthrax



# Mecanismos de patogenicidade e fatores de virulência

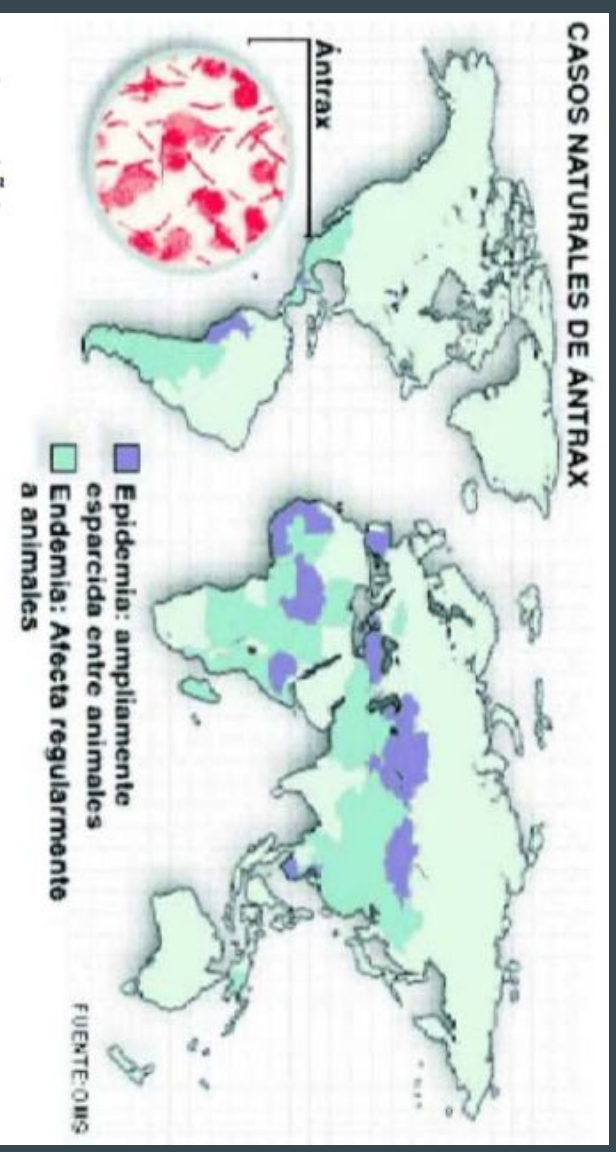
- Cápsula bacteriana:
  - Formada por polipeptídeos de ácido D-glutâmico.
- Toxina composta por três tipos de proteínas de ação sinérgica:
  - FE, o fator de edema (I);
  - AP, o antígeno protetor (II);
  - FL, o fator letal (III).
- Os níveis de toxina presentes são proporcionais à quantidade de bactérias.
- A produção dos fatores responsáveis pela toxicidade é favorecida pelo ambiente interno do hospedeiro: quente e rico em bicarbonato.
- Dose letal entre 8 e 10 mil esporos.

# Diagnóstico e tratamento

- Anthrax cutâneo:
  - Diagnóstico por meio do isolamento da bactéria no sangue, nas lesões, nas secreções ou nos tecidos. Detecção de anticorpos em imunofluorescência;
  - Tratamento com antibióticos - amoxicilina, doxicilina, penicilina e ciprofloxacina.
- Anthrax gastrointestinal:
  - Diagnóstico difícil, baseado nos sintomas e no isolamento de bactérias;
  - Tratamento feito com antibióticos.
- Anthrax pulmonar:
  - Diagnóstico difícil, baseado na identificação dos dois estágios da enfermidade. Percepção de aumento do volume do mediastino em radiografias do pulmão;
  - Tratamento com antibióticos, mas baixíssimas taxas de recuperação, com ou sem tratamento.

# Epidemiologia

- Entre 2 e 20 mil casos naturais estimados ao ano;
- Aerolização dos esporos e/ou contaminação de mantimentos em casos de bioterrorismo;
- Áreas de maior prevalência: Oriente Médio, Ásia e África, partes da América do Sul (Andes), Central, Caribe e sudeste da Europa.



# Controle: profilaxia e vacinação

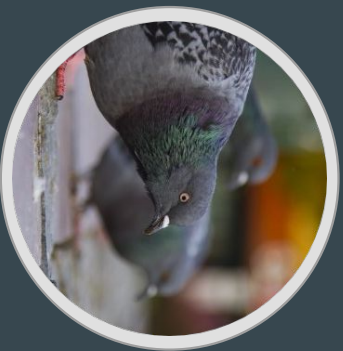
- Em casos de uso intencional da bactéria, deve-se agir de forma rápida, almejando impedir a proliferação do microrganismo:
  - Descontaminação de superfícies afetadas com soluções de hipoclorito de sódio ou formol. Observar pessoas que manipularam o material - quimioprevenção com ciprofloxacino se necessário.
- Não há casos de transmissão pessoa-pessoa;
- Cuidado especial para a realização de autópsias e embalsamento de cadáveres;
- Vacina humana: falta aperfeiçoamento;
- Vacinação de animais em áreas de infecções prévias.

Pragas  
...

# O que são pragas?

Aumento exagerado de uma população, causando desequilíbrio em uma comunidade.

animais



plantas



patógenos





# Pestes urbanas

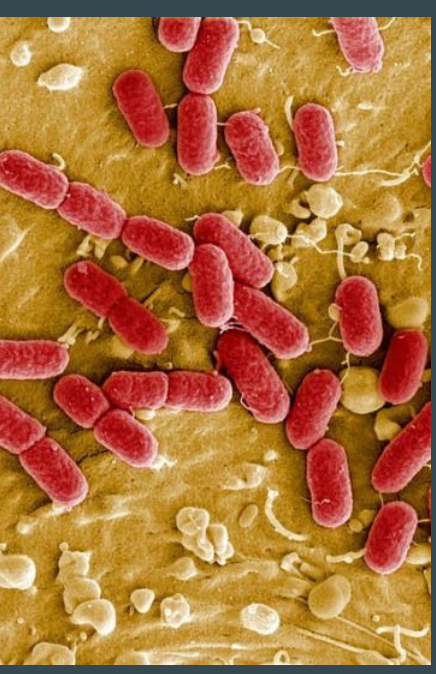


## *Yersinia pestis*

- Peste Pneumônica
- Peste Bubônica
- Peste Septicêmica

### Características

- Gram (-);
- Aeróbico facultativo;
- *Coccobacillus*;
- Fatores de virulência são codificados em genes localizados no cromossomo e nos três plasmídeos prototípicos: pPst, pFra e PYV;
- Na contaminação humana, a bactéria se dissemina através do sistema linfático;
- A bacteremia secundária é comum e pode resultar pneumonia;
- Não se expressam em temperaturas menores que 37°C.



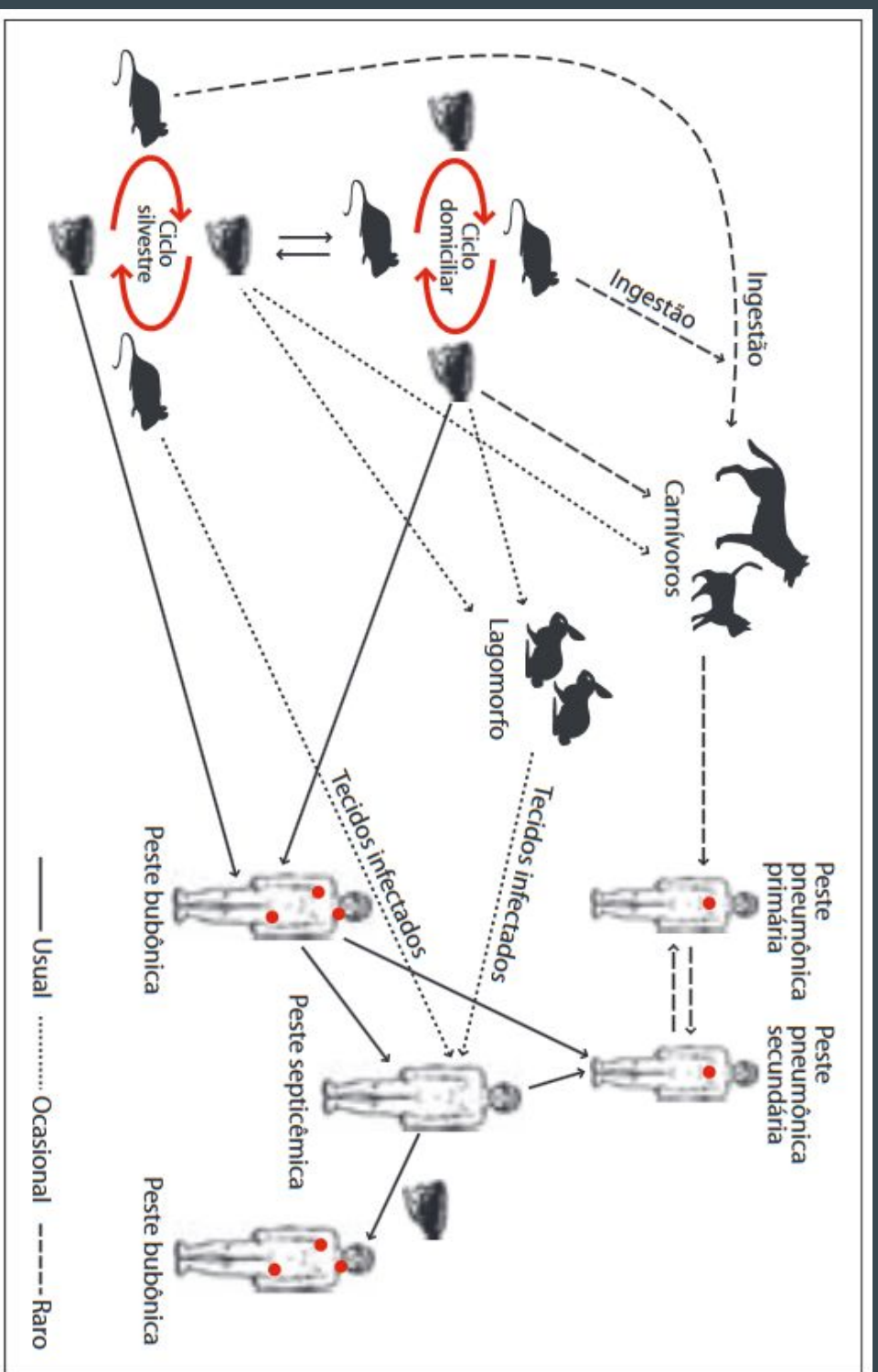
# Manifestação clínica

- Podem haver casos leves;
- Sintomas comuns: febre alta, calafrios, dor de cabeça intensa, falta de apetite, olhos avermelhados, pressão arterial baixa;
- Peste Bubônica: Após 2 ou 3 dias aparece tumefação nos linfonodos superficiais;
- Peste Septicêmica: Hemorragias, dificuldade na fala, necrose e coma;
- Peste Pneumônica: Dor no tórax, falta de fôlego.



# Ciclos da peste

- Ciclo enzoótico:
- Ciclo epizóótico;
- Ciclo domiciliar;
- Ciclo pneumônico.

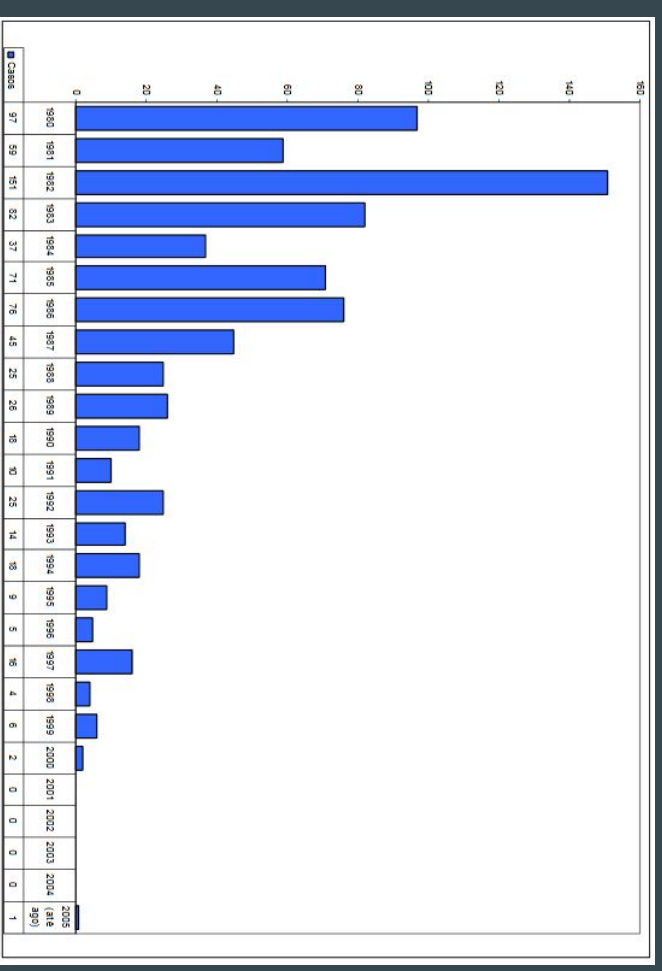


# Epidemiologia



REGIÕES DE FOCO NO BRASIL

- Áreas serranas ou de planaltos;
- Atualmente a maior parte dos casos ocorre na África (de 80% a 90% dos casos). O restante é reportado na Ásia e nas Américas;
- No Brasil, o maior foco está nos estados do Nordeste, com menor ocorrência no Rio de Janeiro e Minas Gerais;
- Mortalidade baixa no país.



NÚMEROS DE CASOS HUMANOS NO BRASIL

# Diagnóstico e Tratamento

- A peste pode ser diagnosticada por técnicas de bacteriologia e sorologia.
- Semeio em placa: duas placas são seneadas (BAB). Bacteriófago antipestoso é instilado em uma das placas. Após 48/72 horas de incubamento a 28°C é possível ver colônias de *Yersinia pestis*.



- Assim que identificada a bactéria, o tratamento deve começar o mais rápido possível;
- Tratamento com antibióticos: estreptomina, tetraciclinas, cloranfenicol e kanamicina;
- Evitar leite;
- Não usar antiácidos à base de Al, Mg, Ca e Bi;
- Não utilizar antidiarréicos;

# Controle de pragas

- Tipos de controle:
  - ◆ Controle mecânico
  - ◆ Controle biológico
  - ◆ Controle legal
  - ◆ Controle químico
- Controle integrado ou manejo integrado de pragas;
- Ações educativas.



# Controle mecânico

→ Uso de técnicas manuais ou uso de equipamentos simples que dificultem o acesso do animal à população (barreiras):

- ◆ Telagem;
- ◆ Destruição de criadouros;
- ◆ Catação manual do animal.



Catação manual de caramujos



Telagem

# Controle legal

→ Uso de instrumentos jurídicos que auxiliem questões de saúde pública:

- ◆ Coleta adequada de lixo;
- ◆ Limpeza de terrenos baldios.

---

# Controle biológico

→ Utilização de inimigos naturais para diminuição da população:

- ◆ Predadores;
- ◆ Parasitas;
- ◆ Patógenos.



Joaninhas são predadoras de afídeos

# Controle químico

→ Uso de produtos químicos que visam reduzir a população alvo:

- ◆ Raticidas;
- ◆ Bactericidas.





# Tularemia

...

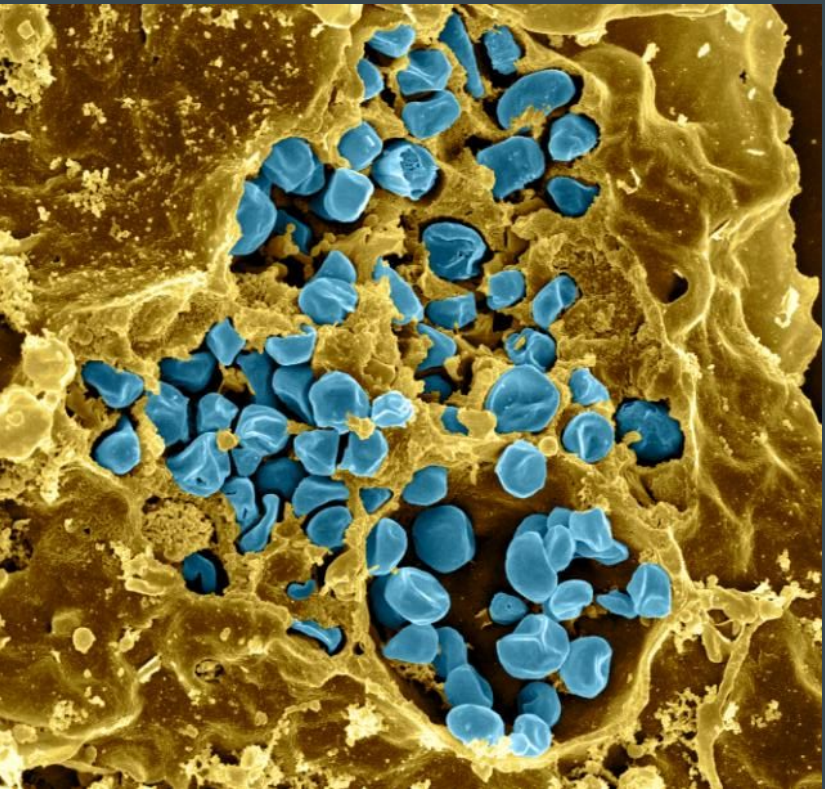
# Tularemia: *Francisella tularensis*

*Febre do coelho; Febre da mosca-do-cervo*

- Contato direto com animais infectados (+ fluidos e tecidos);
- Picada de artrópodes infectados (carrapatos, moscas, mosquitos);
- Ingestão de água e comida infectadas;
- Inalação de aerossóis infecciosos.
- Ulceroglandular;
- Oculoglandular;
- Respiratória;
- Orefaríngea;
- Septicêmico;
- Tifóide.

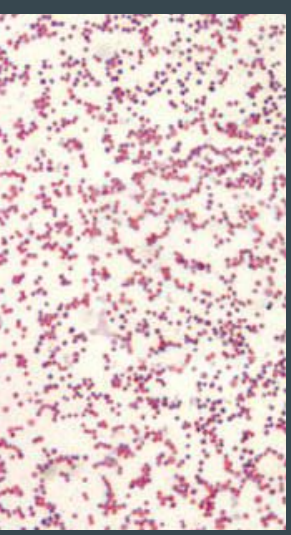


# Morfologia: *F. tularensis*



0,2 x 0,2 - 0,7 µm

- Cocobacilo (Proteobacteria)
- Gram negativa
- Aeróbio | Quimioorganotrofo
- Não móvel | Não forma esporos | Pleomórfico
- Pili: adesão
- Sobrevive várias semanas em T° baixa em diversos ambientes
- Arma biológica: alvo de pesquisa no séc. 20 | Muito virulento → 10 células viáveis para infecção
- Cinco subespécies:
  - *F. t. tularensis* (tipo A)
  - *F. t. holarctica* (tipo B)
  - *F. t. novicida*
  - *F. t. mediasiatica*
  - *F. t. philomiragia*



# Condições de cultivo



24 - 72h | 35 - 37°C | pH 5,5 ~ pH 7,5

Ágar cistina coração base

Ágar chocolate II

- Ágar cistina coração base:
  - Organismo fastidioso - cisteína e ferro
  - Infusão de coração ou cérebro: bovino, ovino ou de roedores;
  - Peptona, Dextrose, L-Cisteína, solução de hemoglobina (2%), NaCl, Agar;
- Colônias lisas, pequenas envolvidas por zona verde descolorida (hemólise) com brilho opalescente;
- Oxidase e urease negativa;
- $\beta$ -lactamase positiva e catalase levemente positiva;

# Virulência & Patogenicidade

## OPERON igABCD

- Fagócito não acidifica
- Não formação do fagolisossoma
- Rompimento da vesícula fagossômica (**genes FPI**) → acesso ao citosol do macrófago (1 - 4h)
- Acúmulo de macrófagos infectados → granulomas → paredes de infecção
- Células dendríticas → **linfonodos** regionais (reapresentação contínua) → hipersecreção de citocinas

## CITOCINAS INF- $\gamma$ E TNF

- Interferon- $\gamma$
- Fator tumor necrosis
- Hiperativação dos macrófagos → produção de espécies oxigenadas reativas e óxido nítrico (tóxicos)
- Resposta humoral < citocinas

## ALTA TAXA DE REPLICAÇÃO

- Tempo de replicação intracelular ~ 1h
- 50 - 1500 fold
- Esgotamento de recursos → morte celular do hospedeiro → bactéria no ambiente extracelular
- Ataque a órgãos sistêmicos (fígado e baço)

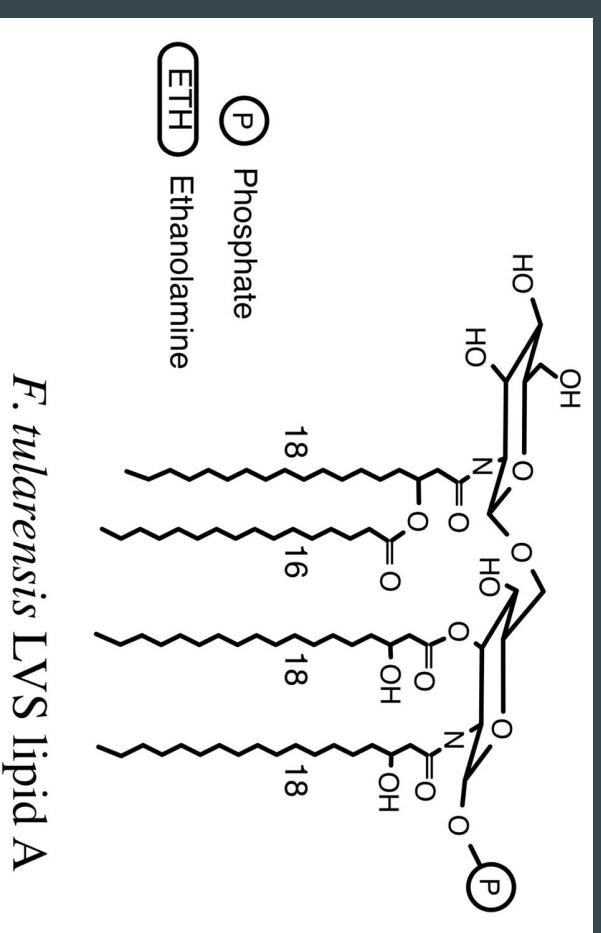
---

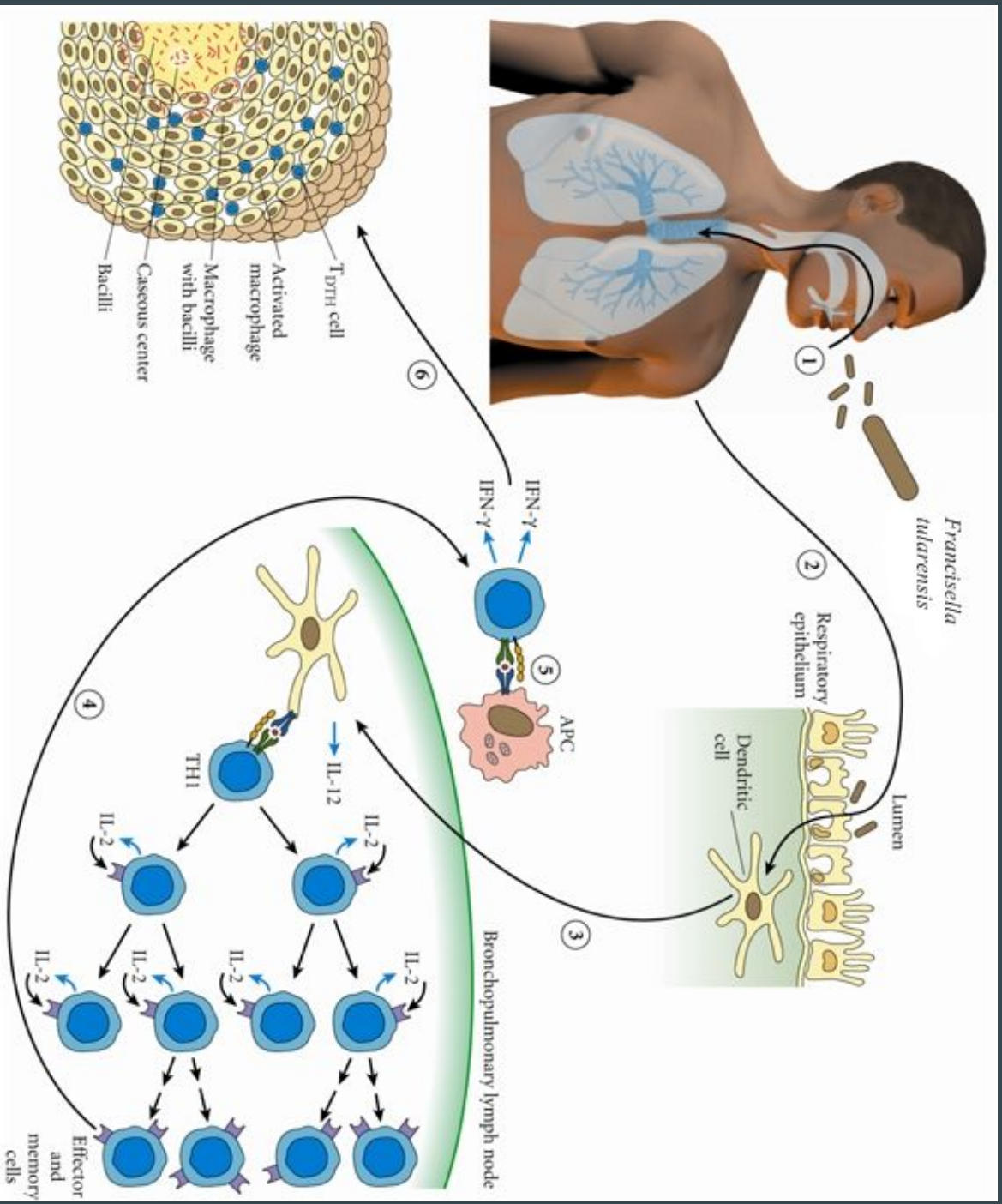
## GÁPSULA LIPÍDICA

- Manose, ramnose e açúcares didesoxi
- Grupo 4
- Crescimento no citosol de diversas células do hospedeiro
- LPS inerte + glicoproteínas que carregam **antígeno-O** (sofre glicosilação)
- Proteção do antígeno contra complementos + estímulo à captação do bacilo → receptores de complemento
- **Lipídio A**

## LIPÍDIO A

- Causa resposta humoral lenta
- Assimétrico | Tetracilado | Cadeias de ácidos graxos maiores
- Grupos fosfato indisponíveis → não interage com **TLR-4** e **CD14** → atrasa resposta pró-inflamatória
- Endotoxina inerte → inatividade do LPS





# Mecanismo de patogenicidade



# Manifestações clínicas

## ULCEROGLANDULAR (mais comum)

*Vetor: contato direto ou indireto*

- Lesões primárias nas mãos ou nos dedos;
- Úlcera no local de exposição → cicatrizada;
- Pápula → pústula + zona de inflamação;
- Febre → crescimento do linfonodo regional;
- Supuração;

## TIFOIDE (comum)

*Rota de transmissão indeterminada*

- Sem indicação do local da inoculação ou infecção localizada;
- Sem lesão da pele e da membrana mucosa e/ou crescimento de linfonodo;

## OCULOGLANDULAR (incomum)

*Contato do olho com dedos infectados ou poeira contaminada*

- Inflamação de linfonodos ipsilaterais, pré-auriculares, submandibulares e cervicais + deformação da bochecha;
- Febre;
- Conjuntivite (lesões granulomatosas, inchaço nas pálpebras, lacrimação excessiva, fotofobia e supuração);

# Manifestações clínicas

## RESPIRATÓRIA (incommum)

*Poeira contaminada ou infecção de laboratório*

- Adenopatia hilar assimétrica com ou sem derrame pleural hemático;
- Pneumonia, tosse, dor no peito e aumento da frequência respiratória;
- **Tipo A:** pneumonia fulminante; Calafrios, febre alta, dispnéia, tosse seca ou produtiva, faringite, dor no peito, dor de cabeça, sudorese, sonolência, fraqueza geral; Infiltração bronco-pneumonial
- **Tipo B:** Adenopatia hilar, infiltração pneumônica, efusão pleural

## OROFARÍNGEO (raro)

*Ingestão de alimentos e água contaminada*

- Faringite e adenopatia cervical (unilateral);
- Estomatite ulcerativa-exsudativa e faringite;
- Vermelhidão nas mucosas faríngeas e na boca;

## SEPTICÊMICO (raro)

*Consequência da tularemia respiratória do tipo A*

- Doença sistêmica grave com hipotensão, síndrome da angústia respiratória aguda, coagulação intravascular disseminada e disfunção de múltiplos órgãos;

# Epidemiologia

## Hemisfério norte:

- *F. t. tularensis* → América do Norte (EUA)
- *F. t. holarctica* → América do Norte +

## Eurásia

- *F. t. novicida* → Eurásia + países nórdicos
- *F. t. mediasiatica* → Ásia central (pouca pesquisa)

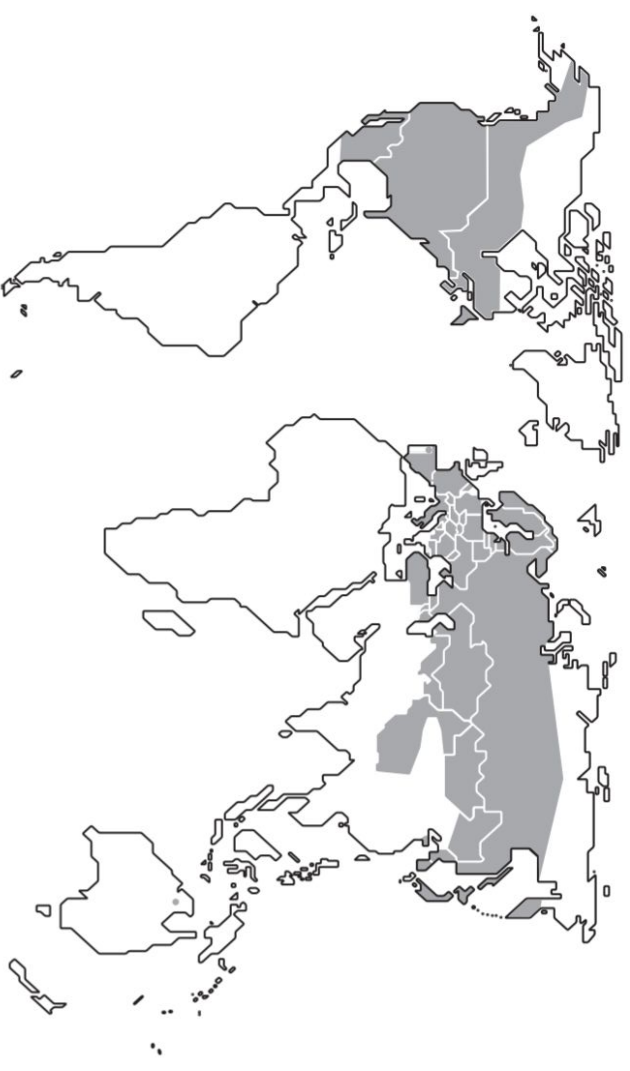
## Surtos mais recentes (2001/2002):

- Portugal, Espanha, Suécia e Kosovo;

## Nos EUA mais de 50% dos casos:

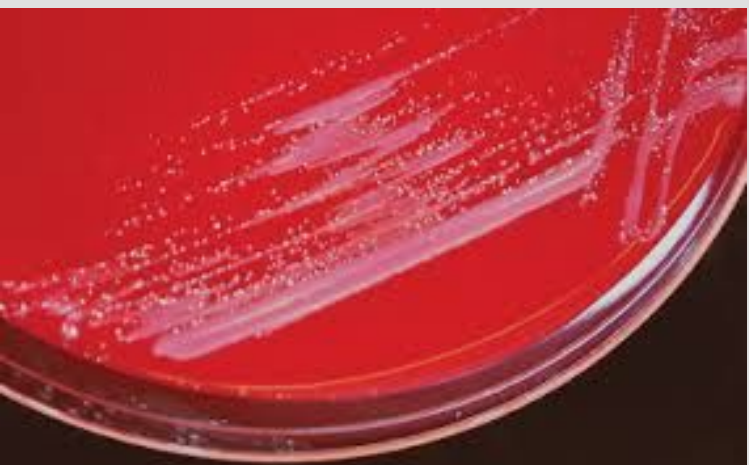
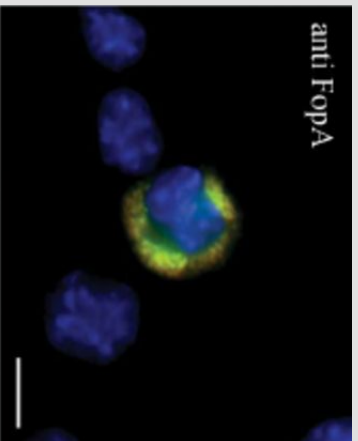
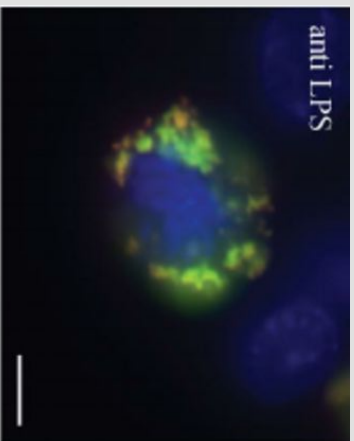
- Arkansas, Missouri, Dakota do Sul e Oklahoma

- Roedores aquáticos → contaminação de corpos de água;
- Áreas rurais: contato com vetores, água contaminada, celeiros (aerossóis), carcaças



# Diagnóstico

Sangue; soro; secreções  
respiratórias; swab; biópsia  
de tecidos



## CULTURA

- Diferenciar espécies e subespécies
- Meios de cultivo

## SOROLOGIA

- Confirmação
- **Aglutinação** de anticorpos (FopA, LPS, OMP)
- **ELISA** (IgM, LPS)
- **ELISA + Western Blot**

## DETECÇÃO

- De antígenos: **Imunofluorescência**;
- Molecular: **PCR** (genes fopA e tul4 - codificam proteínas da membrana externa)

# Diagnóstico diferencial

Discriminating characteristics of *Francisella* species and subspecies

Characteristic	<i>F. tularensis</i> subspecies				<i>F. philomiragia</i>
	<i>tularensis</i>	<i>holarctica</i>	<i>mediasiatica</i>	<i>novicida</i>	
Cysteine/cystine requirement	+	+	+	-	-
Carbohydrate fermentation:					
Maltose	+	+	-	weak	+
Sucrose	-	-	-	+	+
D-glucose	+	+	-	+	weak
Glycerol	+	-	+	weak	-
Citrulline ureidase production	+	-	+	+	nt
Oxidase production <sup>a</sup>	-	-	-	-	+
H2S production on TSI	+				
Cell size (µm)	0.2-0.7x0.2	0.2-0.7x0.2	0.2-0.7x0.2	0.7x1.7	0.7x1.7

<sup>a</sup> Tested with Kovacs reagent; +, positive; -, negative; nt, not tested; TSI, triple sugar iron agar.

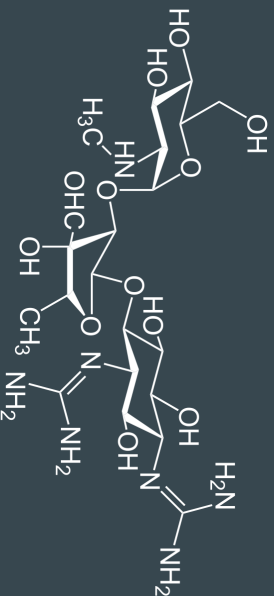
Fonte: WHO Guidelines on Tularemia, 2007

- Sintomas iniciais comuns;
- Zonas endêmicas e histórico de atividades;
- Diferenciar espécies e subespécies;
- Diferenciar de outras zoonoses

# Tratamento

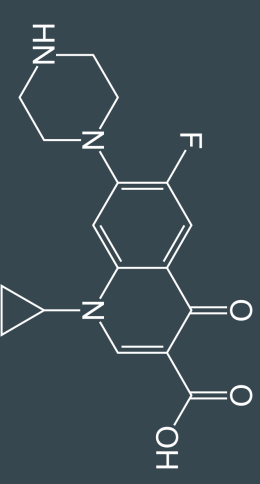
## AMINOGLICOSÍDEOS

- Casos severos
- **Gentamicina:**
  - Parenteral
  - 5 mg/kg por dia em duas doses
  - Subunidade 30S ribossomal
- **Streptomicina:**
  - Injeção intramuscular
  - 2g por dia em duas doses por 10 dias
  - Bactericida
  - Subunidade 30S ribossomal
  - Toxicidade vestibular
  - Resistência



## GIPROFLOXACINA

- Fluoroquinolona
- Oral: 800-1000 mg/dia em duas doses (por 10-14 dias)
- DNA girase e topoisomerase IV
- Pode ser intravenoso



## GLORANFENICOL

- Não muito utilizado - volta do quadro + efeitos adversos raros mas severos
- Bacteriostático
- Meningite por tularemia
- Subunidade 50S ribossomal

# Controle da doença

- Limitar risco de exposição:
  - Áreas endêmicas, atividades de risco, contaminação de corpos de água, crescimento populacional de vetores;
- Surto = más condições de higiene
  - Restrições financeiras, sociais e administrativas;
  - Investigação
- Possível arma biológica
  - Cepas incomuns em certas regiões;
  - Resistência incomum a antibióticos;
  - Incidência incomum de determinadas manifestações clínicas

## VACINAS

- Cepa atenuada (LVS) - Rússia + EUA (1950) *F. t. Holarctica*
  - Disponível nos EUA e na maior parte da Europa (EU)
  - Evita infecções laboratoriais (diferente da cepa virulenta - SCHU S4);
  - “Foshay”
- Novas vacinas em desenvolvimento
  - Novo lote de LVS (fabricado sob BPF) e USAMRIID LVS - 94% de soroconversão (não eficaz para aerossóis de SCHU S4 *F. t. tularensis*)
  - Pesquisa: T6SS mutante - não permite escape fagossômico

# Leptospirose ...



# O que é Leptospirose?

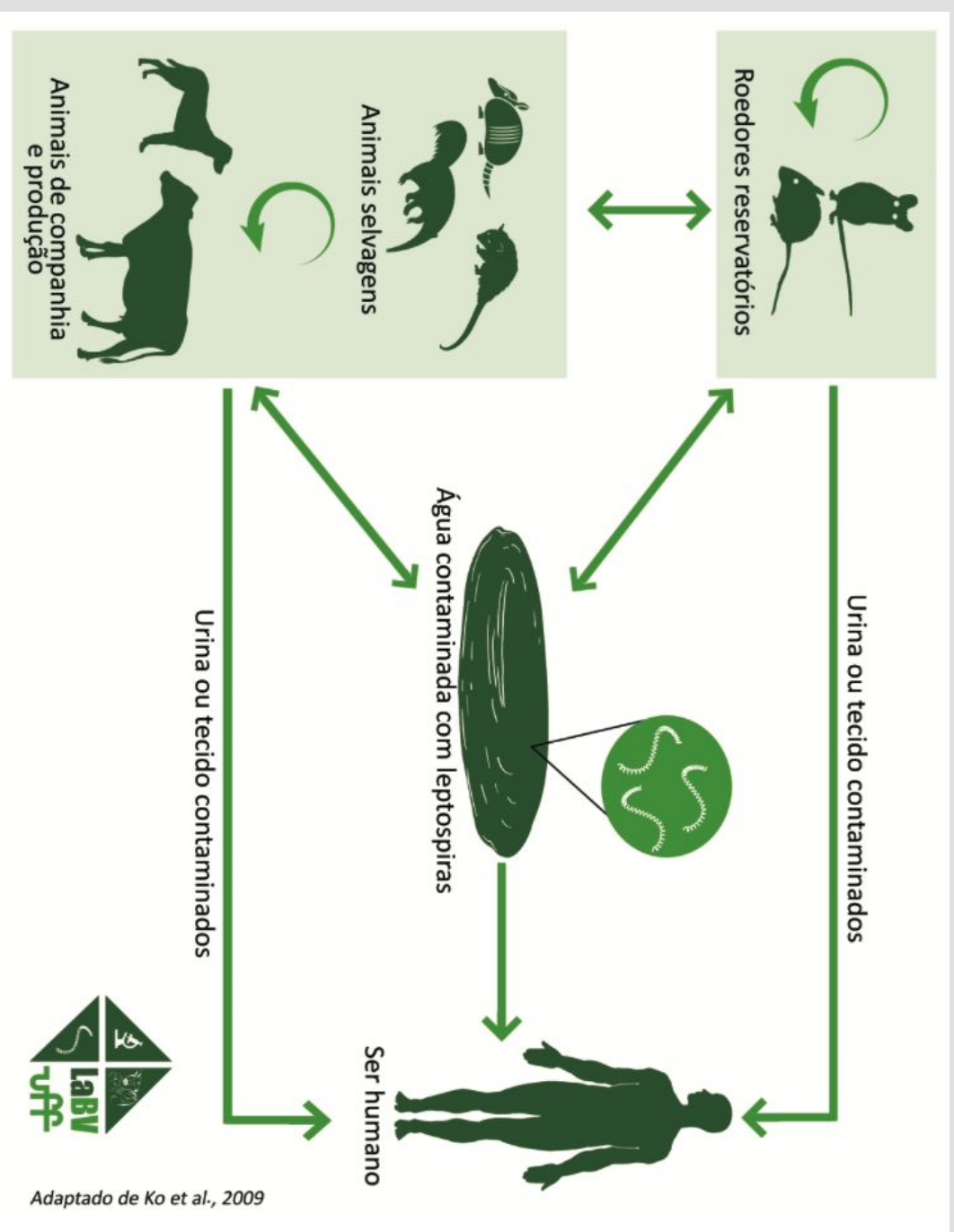
Infecções por *Leptospira* que acomete humanos e animais.

· **Hospedeiro primário:**

Inocula a bactéria → reservatório

· **Hospedeiro secundário:**

Apresentam a doença na forma severa.



# Epidemiologia

## Doença de distribuição mundial

- Apresenta ampla variedade de hospedeiros.



## Fatores que influenciam a distribuição da doença:

- Altas temperaturas e índices pluviométricos
- Enchentes
- Aglomeração populacional
- Condições inadequadas de saneamento básico
- Presença de animais reservatórios domésticos e silvestres



# No Brasil

A leptospirose é uma doença endêmica, tornando-se epidêmica em períodos chuvosos, principalmente nas capitais e áreas metropolitanas. Existem registros de leptospirose em todas as unidades da federação, com um maior número de casos nas regiões sul e sudeste.

## Casos confirmados, por local de transmissão: 1996 - 2005

Região	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005*	Total
Norte	689	484	584	340	391	142	230	248	202	181	3.491
Nordeste	1.002	847	514	194	1.006	643	598	501	801	600	6.706
Sudeste	3.350	944	1.242	1.102	948	1.188	901	986	1.305	1.029	12.995
Sul	502	863	1.084	782	1.094	1.617	851	1.158	656	838	9.445
Centro-Oeste	36	160	25	15	48	44	38	54	68	49	537
Total	5.579	3.298	3.449	2.433	3.487	3.634	2.618	2.947	3.032	2.697	33.174

\* dados sujeitos à revisão.  
Fonte: Ministério da Saúde - Secretaria de Vigilância em Saúde, 2006.

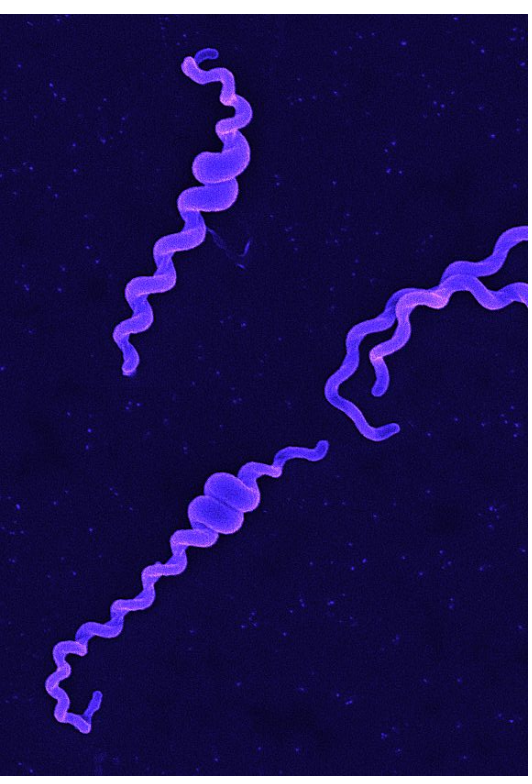
# Agente Etiológico

*Leptospira* spp.

**Ordem - Spirochaetales**

**Família - Leptospiraceae**

**Gênero - *Leptospira***



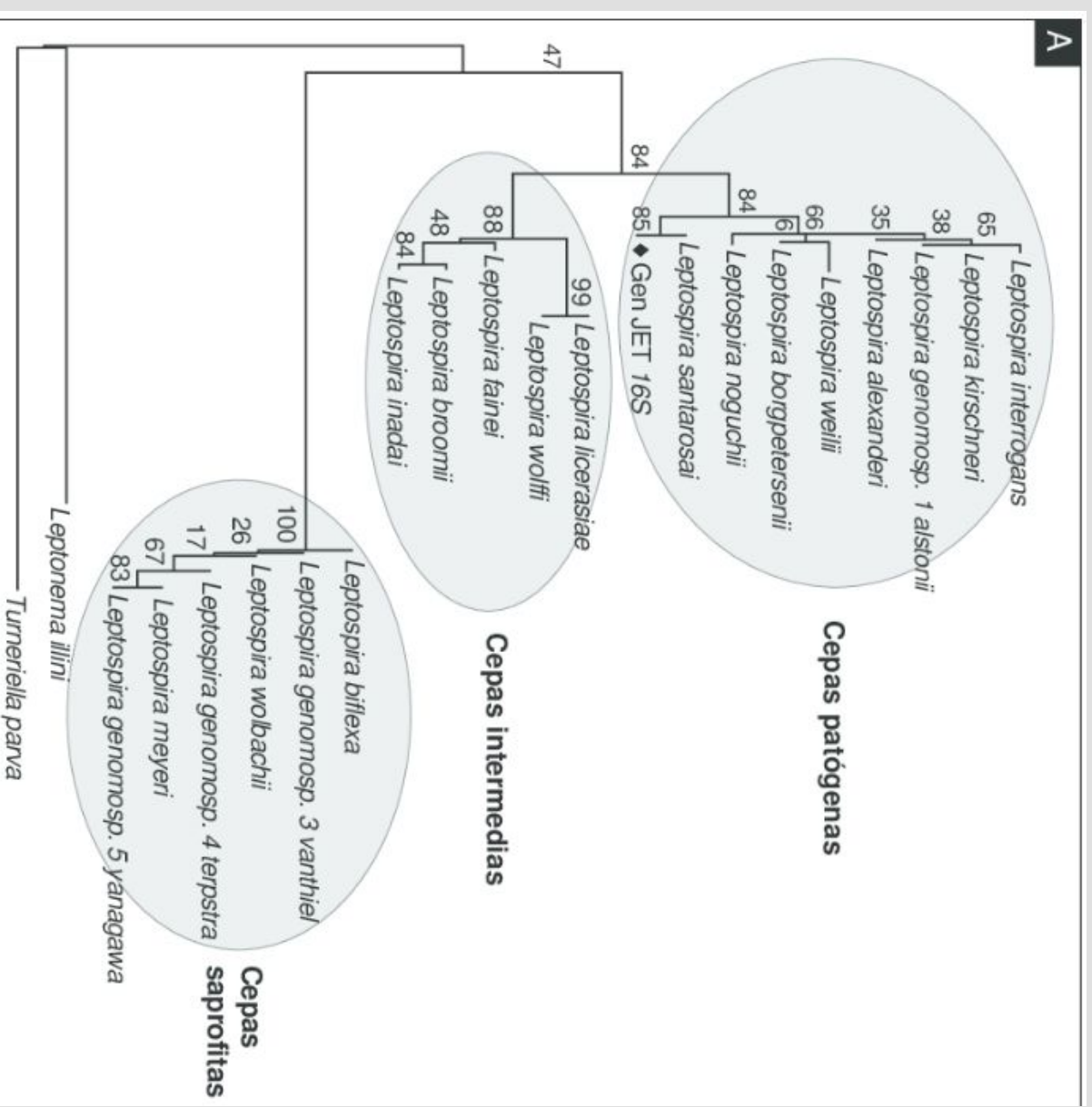
Obs: O gênero *Leptospira* apresenta em torno de 23 espécies. As espécies patogênicas são distribuídas nos Grupos I e II.

# Grupos

**Grupo I** - Há mais de 250 sorotipos e apresenta as bactérias mais patogénicas.

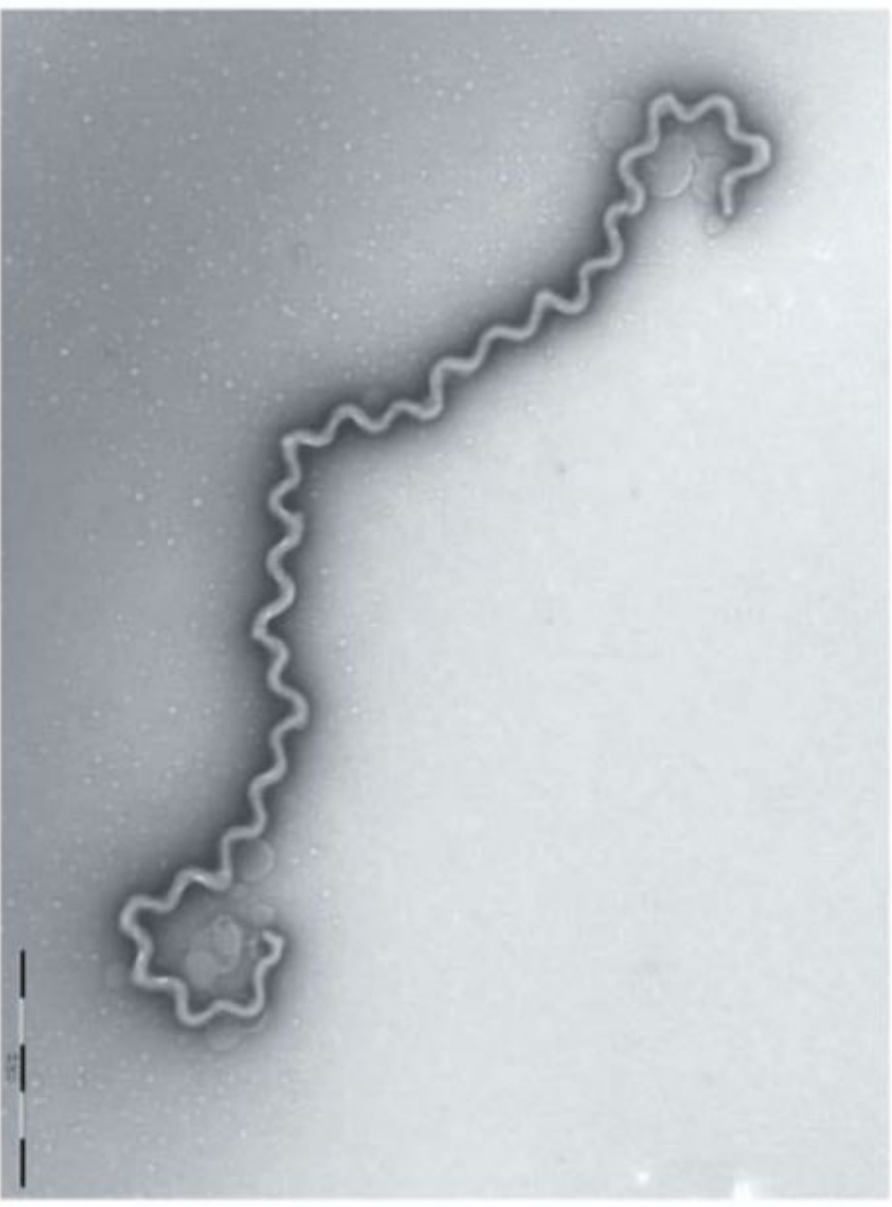
**Grupo II** - As leptospiiras desse grupo provocam doenças mais brandas, geralmente autolimitadas.

**Grupo III** - apresentam espécies saprófitas.



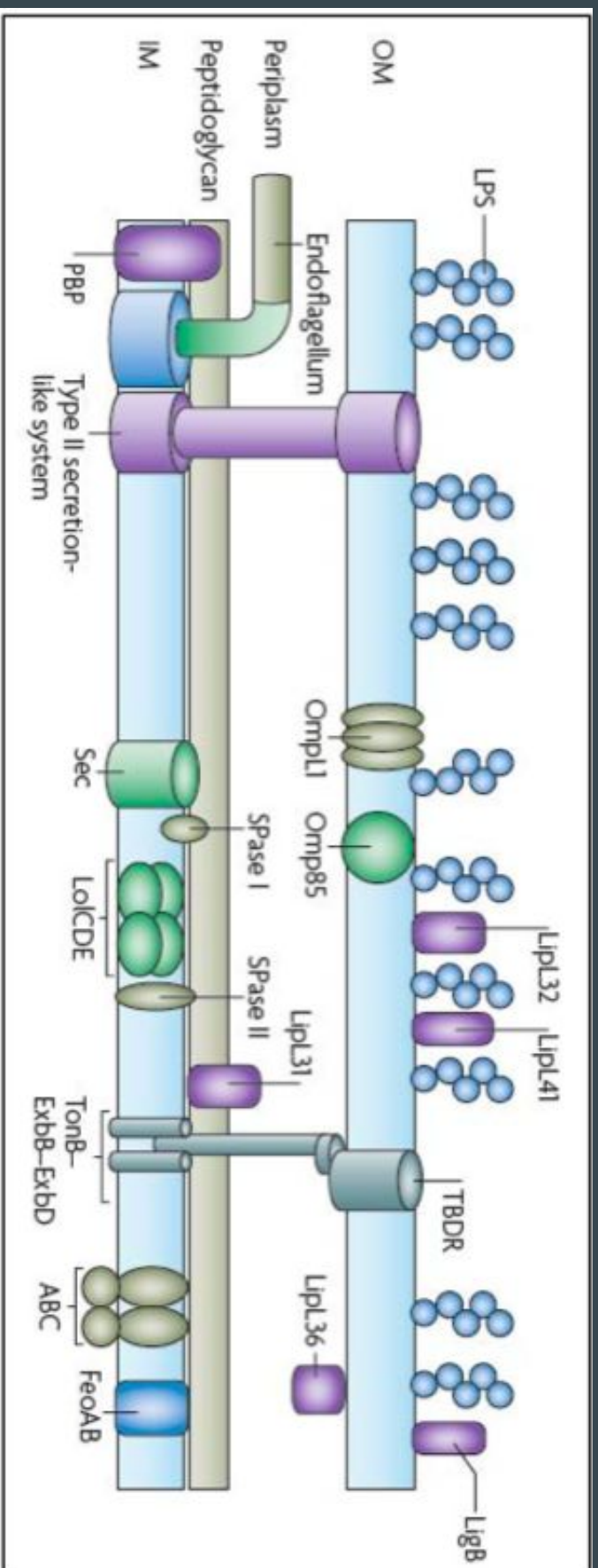
# Características Morfológicas

- Forma fina
  - . Diâmetro: 0,1 a 0,2  $\mu\text{m}$
  - . Comprimento: 6-12  $\mu\text{m}$
- Extremamente delgadas
- Espiralada
- Endoflagelos
- Algumas apresentam ganchos nas extremidades



**FIGURA 1** - Fotomicrografia eletrônica mostrando a morfologia espiralada e terminação em formato de gancho da *Leptospira interrogans*  
Fonte: MUSSO & LASCOLA (2013).

# Parede Celular - semelhante às de Gram negativas



Obs: Há estudos que mostram que a *Leptospira* compartilha características com os dois grupos: Gram (-) : Membrana dupla e LPS. Gram (+) : Membrana interna associada intimamente com a mureína da parede celular.

# Condições de cultivo

- 10% de soro de coelho ou 1% de albumina sérica bovina com adição de ácidos graxos de cadeia longa
- pH 6,8–7,4
- Temperatura ótima: 28° - 30° C
- São catalase e oxidase positiva.

## Meio mais utilizado

- . **EMJH** - adiciona 1% de albumina sérica bovina e tween 80 (fonte de ácidos graxos de cadeia longa)

## Meio contendo soro

- . **Korthof** - Peptona, NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, KCl, CaCl<sub>2</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>
- . **Fletcher** - Peptona, extrato de carne, NaCl, e ágar.

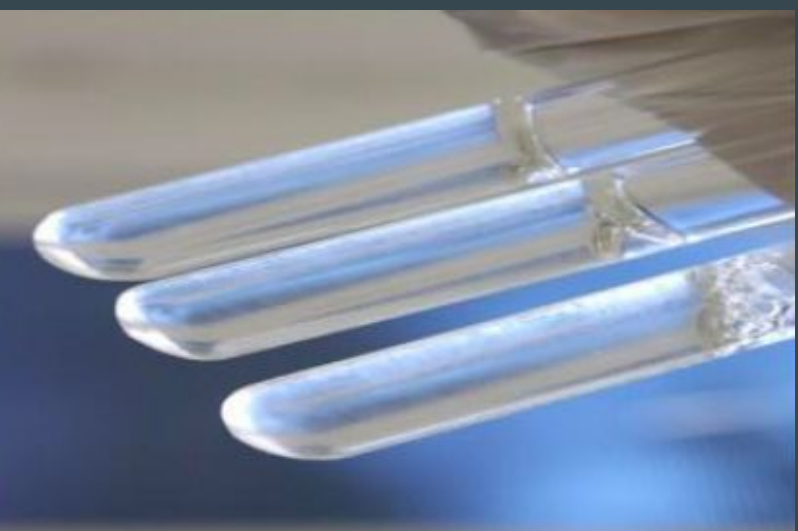
Obs: **Meio torna-se seletivo** adicionando antimicrobianos, como: 5-fluoruracila e sulfato de neomicina

\_\_\_\_\_

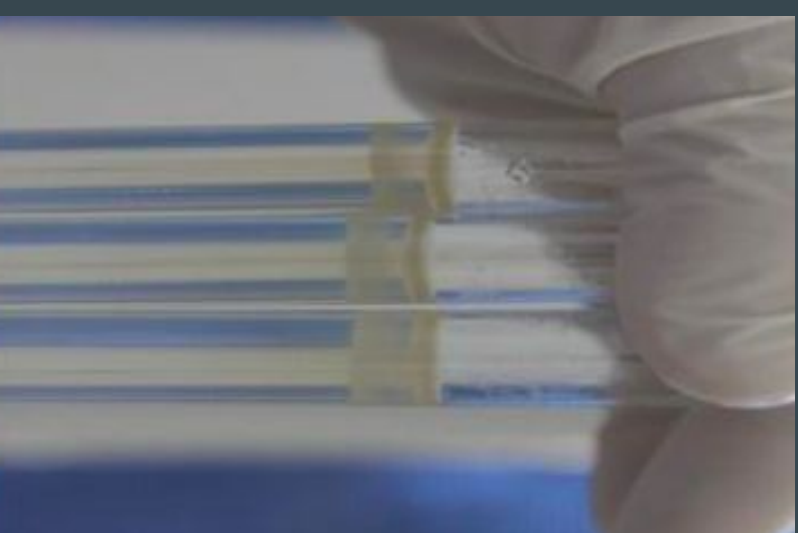




*Leptospira* spp. em cultura em meio EMJH formando o anel de Dinger.



*Leptospira* spp. em cultura em meio líquido.



*Leptospira* spp. em cultura em meio semissólido.

# Mecanismo de patogenicidade

O mecanismo molecular da patogênese da leptospirose ainda não é claro.

## Pontos importantes

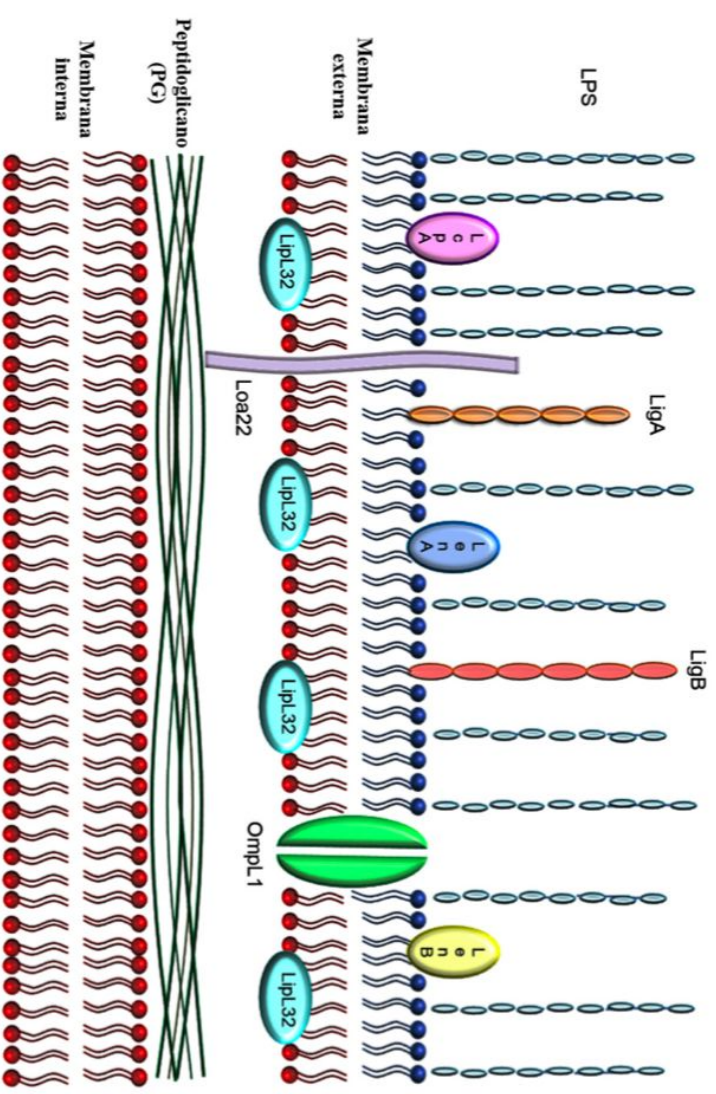
- Penetram pele e mucosa
- Disseminam através da via hematológica e pela capacidade de translocação celular
- Utilizam o lúmen dos túbulos renais para se protegerem do sistema imunológico

---

# Fatores de virulência

## 1) Gene *Loa22*

- Preenche todos os postulados moleculares de Koch.
- Codifica proteína da membrana externa, a qual se liga fracamente à matriz extracelular do hospedeiro.
- Apresenta maior expressão no modelo de infecção aguda.



A membrana interna está estreitamente associada a uma parede de peptídeoglicanos a qual se encontra sobreposta por uma outra membrana (Membrana externa). Esta segunda membrana se compõe principalmente de lipopolissacarídeos (LPS), e uma série de lipoproteínas como LipL32, LigA, LigB, *Loa22* e a proteína porina OmpL1 (Fraga et al., 2014).

# Fatores de virulência

## 2) LPS (endotoxina)

- Um dos principais antígenos da membrana externa.
- Características incomuns do Lipídio A fazem com que os macrófagos humanos sejam ativados via TLR2 ao invés da via TLR4.

## 3) Motilidade

- Mutações nos genes que codificam proteínas relacionadas com a motilidades resultou na atenuação da virulência.
- Genes relacionados: flhY (codifica proteína flagelar motora), LB139 (codifica proteína sensora), flaA2 e flaA1 (relacionados com a mobilidade de translação).

# Fatores de virulência

## 4) LigA e LigB

- Aderem a fibronectina, colágeno e laminina
- Estão possivelmente relacionadas com a colonização dos tecidos nos hospedeiros, servindo como adenosinas.

## 5) LipI32

- Representa 75% das proteínas da membrana externa.
- Altamente expressa durante a infecção aguda letal.
- A porção C terminal da proteína se adere in vitro à laminina, fibronectina e colágeno I, IV e V.
- O estudo de sua estrutura cristalizada demonstra que essa proteína assemelha-se a proteínas como colagenase, que se ligam aos componentes da matriz extracelular.

# Fatores de virulência

## 6) Heme oxigenase (HemoO)

- Enzima que facilita a aquisição de ferro presente no heme.
- Uma cepa hemoO mutante não causou leptospirose em hamsters, mas reteve a capacidade de colonizar o rim.

Obs: O ferro é essencial para a viabilidade da maioria das bactérias.

## 7) OmpL1 e LipL41

- Proteínas que estão na membrana externa
- Promovem a imunoproteção à bactéria contra fagocitose por macrófagos

## 8) Exopolissacarídeos

- Formam um biofilme que auxilia na persistência da infecção quando estão alojadas nos túbulos renais do hospedeiro.

# Leptospirose grave - Resumo: da infecção ao alvo imunológico

- 1) Mobilidade → penetração nos tecidos das mucosas e na pele, que pode estar lesionada ou não
- 2) Disseminação → via corrente sanguínea atinge os órgãos-alvo, principalmente o rim e o fígado
- 3) Resposta imune do hospedeiro → mata as bactérias, promovendo a liberação de endotoxinas.
- 4) O sistema imunológico inato de humanos e camundongos reconhece endotoxinas através de receptores específicos, que detectam moléculas de antígeno
- 5) Ativação das vias de sinalização intracelular → aumento da produção de mediadores inflamatórios.
- 6) Microambiente inflamatório → disfunção orgânica.

# Manifestações Clínicas

Pode apresentar sintomas ou não.

. Os sintomas mais comuns são:

- Febre alta repentina
- Mal-estar
- Dor muscular
- Olhos vermelhos

A leptospirose em humanos apresenta diferentes graus de severidade

1) **Forma anictérica**: não há amarelamento da pele, apresenta pouco sintomas e é autolimitada

2) **Forma icterica** (acomete 10% dos pacientes): há o amarelamento da pele, causa meningite, pneumonia, pancreatite, nefrite, dentre outros, podendo levar à morte.

Obs: Envolve a falência renal, icterícia e hemorragias.





# Diagnóstico: envolve métodos sorológicos

## 1) Técnica de Microaglutinação Sorológica (MAT)

Baseia-se na identificação, por microscopia de campo escuro, da aglutinação do soro do paciente com antígenos vivos. O teste é sensível na fase imune da doença.



## 2) Ensaio Imunoenzimático (ELISA)

Baseia-se na identificação de anticorpos e ou antígenos, por anticorpos marcados com uma enzima, de maneira que esta enzima age sobre um substrato e a reação faz com que o cromógeno mude de cor.



# Tratamento

## Quadros leves e anictéricos:

Medicações sintomáticas (analgésicos e antitérmicos).

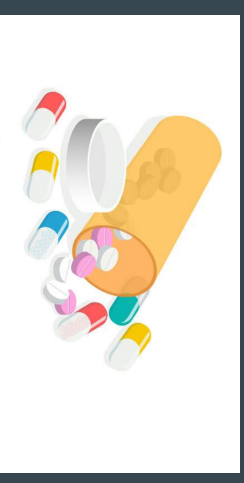
Obs: O emprego de **doxiciclina** (impede a nutrição, desenvolvimento e crescimento das bactérias) para esses casos leva à redução da gravidade e da duração dos sintomas.

## Quadros graves:

A **penicilina** (inibe a síntese da parede celular) é tradicionalmente a droga de escolha, e permite:

- ↓ dos dias de febre,
- Recuperação mais rápida da função renal
- ↓ tempo de internação hospitalar.

Obs: Todavia, estudos demonstraram que seu uso em pacientes evoluindo com insuficiência renal não alterou a evolução.



# Controle da doença

Vacinação de animais domésticos e de produção (cães, bovinos e suínos), disponível em serviços particulares, evita que estes adoeçam e transmitam a doença por aqueles sorovares que a vacina protege.

Obs: não existe vacinas para humanos.



# Métodos de profilaxia

- Saneamento básico.
- Proteção individual contra a exposição, com uso de botas, óculos e luvas.
- Tratamento dos animais contaminados por *Leptospira* spp.

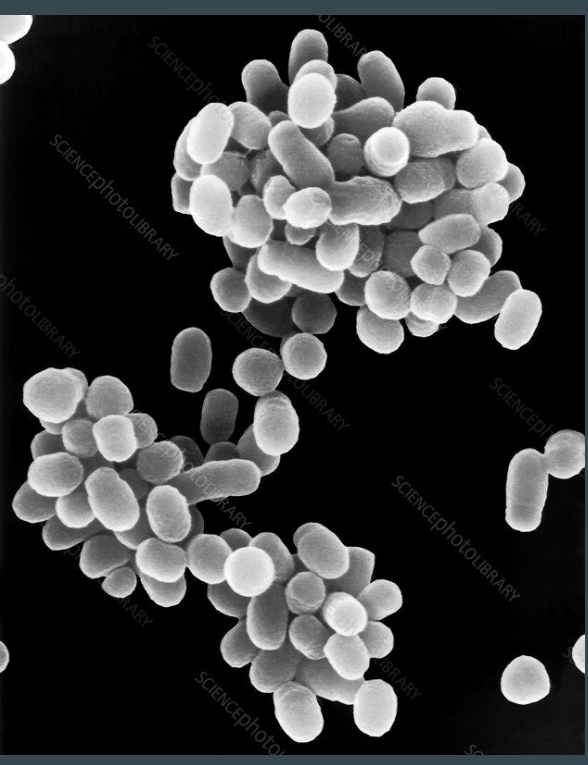


**Brucellose**

...

# Agente Etiológico

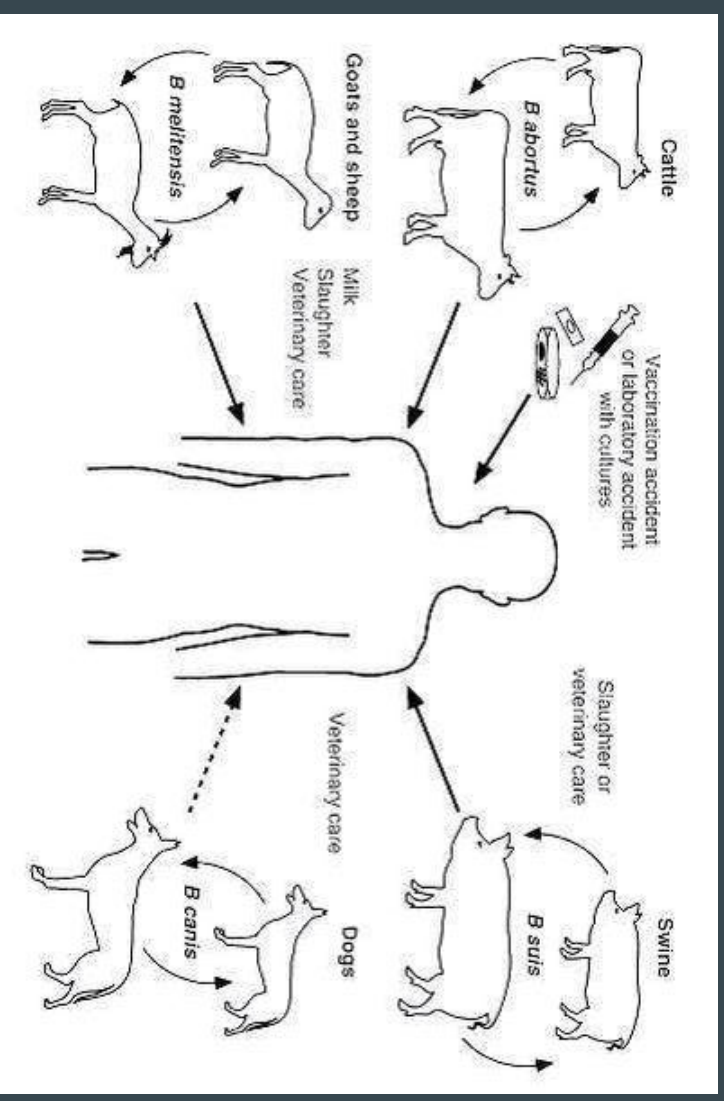
- Cocobacilo sem motilidade
- Gram -
- Metabolismo aeróbio não fermentativo
- Parasita intracelular facultativo
- Tipos de colônia:
  - Lisa (LPS completo)
  - Rugosa (ausência da cadeia O)
- Principais espécies
  - *Brucella abortus*
  - *Brucella suis*
  - *Brucella melitensis*
  - *Brucella canis*



*Brucella abortus*

# Formas de transmissão

- Contato entre pele lesionada e material contaminado
- Produtos lácteos contaminados
- Carne mal passada ou crua
- Inalação de bactérias
- Inoculação vacinal acidental
- Sexual
- Transfusão de sangue
- Transplante



# Meios de Cultivo

## Ágar Brucella

- Adição de sangue
- Fonte de N
- Fonte de C
- Fonte de vitamina
- Equilíbrio osmótico
- Fonte de energia

<b><u>Fórmula / Litro</u></b>	
Digestão Enzimática de Caseína .....	10 g
Digestão Enzimática de Tecido Animal .....	10 g
Extrato de Levedura .....	2 g
Cloreto de Sódio .....	5 g
Dextrose.....	1 g
Bissulfito de Sódio .....	0,1 g
Ágar .....	15 g

pH Final: 7,0 ± 0,2 a 25°C

# Meios de Cultivo

BD Brucella Agar with 5% Horse Blood

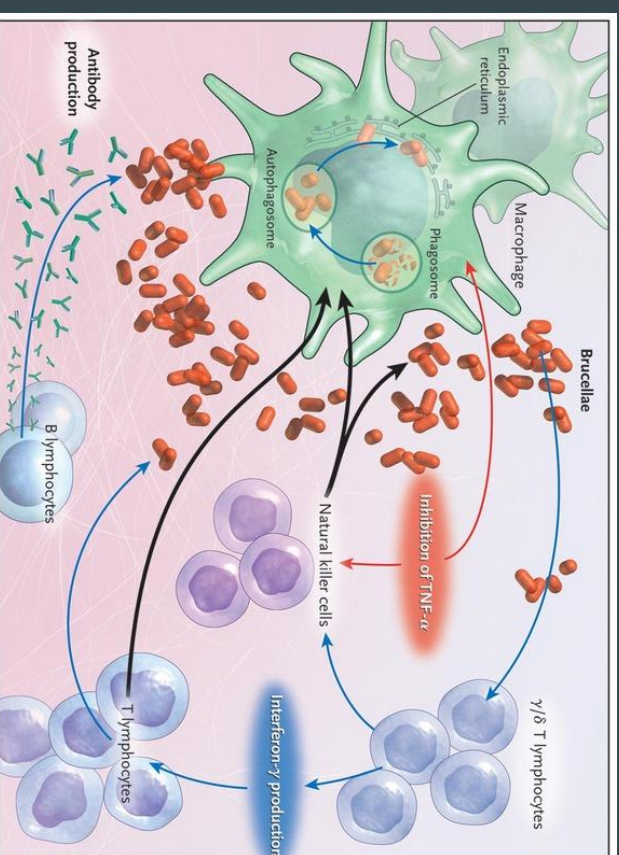
- Fonte de N
- Fonte de C
- Fonte de energia
- Fonte de vitamina
- Equilíbrio osmótico
- Fonte de fator de crescimento (X e V)
- Amostra para diagnóstico: sangue ou medula óssea

<b>BD Brucella Agar with 5% Horse Blood</b>	
Fórmula* por Litro de Água Purificada	
Hidrolisado pancreático de caseína	10,0 g
Hidrolisado péptico de tecido animal	10,0
Glucose	1,0
Extracto de leveduras	2,0
Cloreto de sódio	5,0
Bissulfito de sódio	0,1
Ágar	15,0
Sangue de cavalo, desfibrinado	5%
pH 7,0 ± 0,2	



# Mecanismo de Patogenicidade

- Penetração na mucosa ou pele → transporte para linfonodos → hiperplasia e inflamação
- Alvo: células fagocitárias (principal) e não fagocitárias
- TLR+LPS → sinalização: ↓ citocinas: ↓ anticorpos e macrófagos
- Faixas lipídicas: forma de entrada na célula
- Vacúolo contendo *Bruceella* (BCV) inibe fusão fagossomo/ lisossomo
  - Adenina e guanina monofosfato
- No retículo endoplasmático:
  - formação de vacúolo especializado (replicação)
- Anticorpos e sistema complemento sem eficiência



# Sobrevivência intracelular

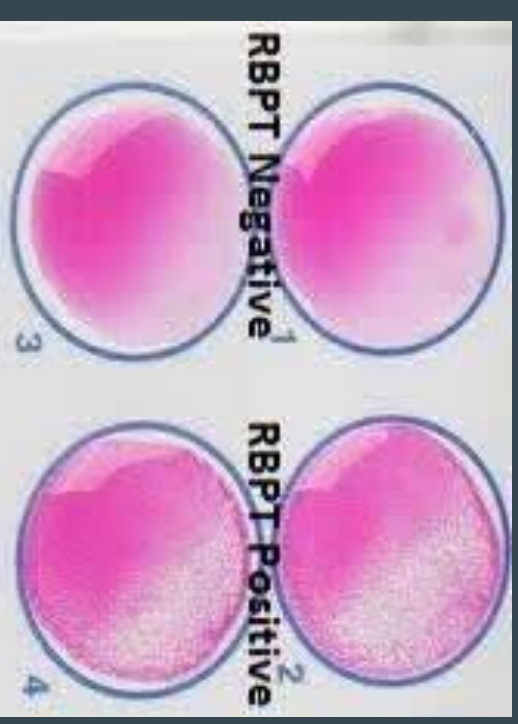
- LPS-S
  - Baixa toxicidade, pirogenicidade e atividade ferropénica
  - Fraco indutor de interferon
- Adenina e guanina monofosfato
  - Inibição da fusão do fagolisossoma
  - Inibição da desgranulação
  - Inibição do sistema Zn-Cu superóxido dismutase
  - Inibição fator de necrose tumoral (TNF)
- Inibição da apoptose celular

# Manifestações clínicas

- Período de incubação: geralmente de 5 a 60 dias
- Sintomas
  - Febre intermitente
  - Sudorese
  - Dor muscular
  - Indisposição
  - Náusea e vômito
  - Perda de peso
- Complicações
  - Comprometimento osteoarticular
  - Comprometimento cardíaco
  - Complicações do sistema nervoso central

# Diagnóstico

- História epidemiológica
- Cultura de bactérias
- Sorologia
  - Imunofluorescência indireta
  - Teste de aglutinação direta: antígeno+anticorpo=agregado
  - Teste de Rosa de Bengala
  - ELISA



Rose Bengal Plate Test

# Tratamento

- Gratuito: SUS
- Combinação de 2 antibióticos (mín)

Quadro 1: Esquemas terapêuticos para brucelose.

	<b>Droga</b>	<b>Dose</b>	<b>Intervalo</b>	<b>Duração</b>
<b>Esquema de tratamento preferencial do adulto</b>	Doxiciclina +	100 mg 300 mg	12/12 H 12/12 H	42 dias 42 dias
<b>Esquema de tratamento preferencial de crianças de 8 a 14 anos</b>	Rifampicina + Doxiciclina	1-2 mg/Kg/dose	12/12 H	42 dias
<b>Esquema de tratamento preferencial de crianças menores de 8 anos<sup>1</sup></b>	Rifampicina + SMZ-TMP ou Rifampicina	7,5-10 mg/Kg/dose 4 mg/Kg/dose (do TMP)	12/12 H 12/12 H	42 dias 42 dias
	ou Estreptomicona <sup>2</sup> ou Gentamicina <sup>2</sup>	30/mg/Kg/dose	24 H	21 dias
<b>Esquema de tratamento preferencial de gestante e nutrízes</b>	Gentamicina <sup>2</sup> + Rifampicina + SMZ-TMP <sup>3</sup> ou Esterarato de Eritromicina	5 mg/Kg/dose 300 mg 800+160mg	24 H 12/12 H 12/12 H	10 dias 42 dias 42 dias
<b>Esquema alternativo para adultos com intolerância/alergia a rifampicina e para tratamento de profissional infectado pela vacina RB51</b>	Doxiciclina + Estreptomicona <sup>2</sup> ou Gentamicina <sup>2</sup>	100 mg 1 grama 160 mg	12/12 H 24 H 24 H	42 dias 14 dias 14 dias

# Medidas profiláticas

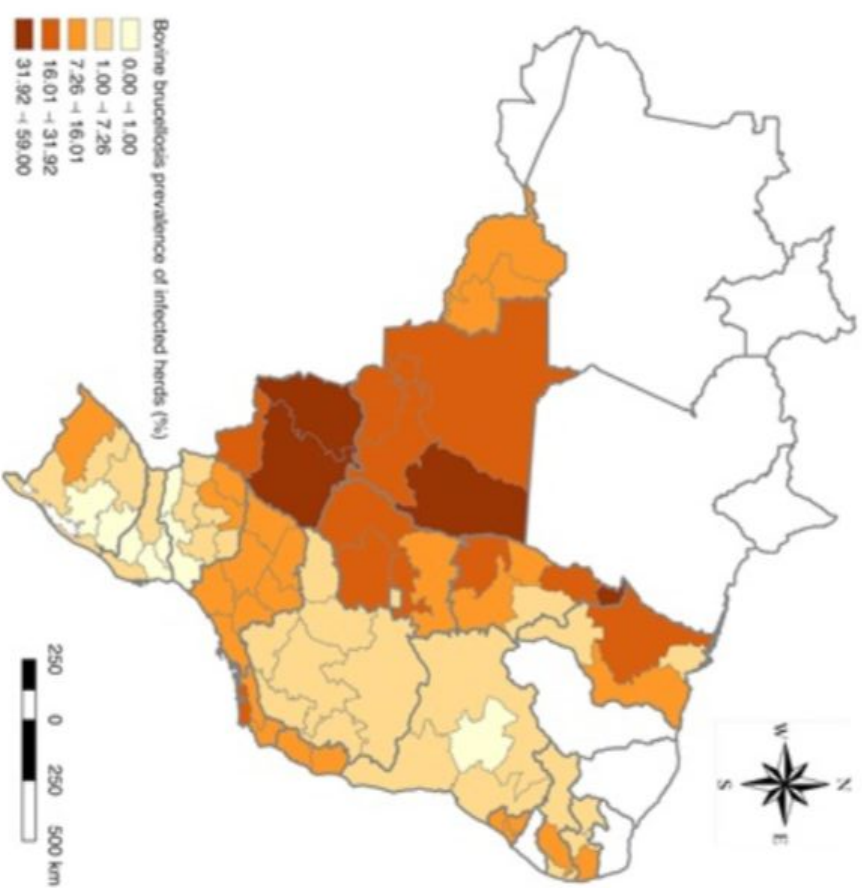
- Pausterização
- Imunização dos animais
- Evitar contato com animais e produtos contaminados
- Consumir carne bem cozida
- Não alimentar cães com produtos crus de origem animal
- Higienizar e desinfetar lugares de criação animal e obtenção de produtos derivados
- Implementar biossegurança no laboratório

# Epidemiologia

- Regiões endêmicas: Oriente Médio e México
- Áreas de comum ocorrência: Mediterrâneo, Ásia, Caribe, América Central e do Sul
- América do Sul: alta prevalência de brucelose
- Doença relacionada ao trabalho
  - Maior risco de infecção: trabalhador rural, veterinário, produtores de derivados de animais, trabalhadores de laboratórios
- *Brucella melitensis*: responsável pela maioria dos casos humanos
- *Brucella abortus*: causa maioria das infecções no BR

# Epidemiologia

**Figure 6.** Latest studies on the prevalence of herds infected for bovine brucellosis carried out in the Brazilian states (2016).





*Yersinia enterocolitica*  
...

# Morfologia e Fisiologia

- Bacilos;
- Bactérias gram negativas;
- Presença de flagelo, permitindo mobilidade a 25°C;
- Não há produção de endósporos;
- Anaeróbias facultativas;
- São consideradas psicotróficas;
- Temperatura ótima de crescimento em torno de 26°C;



# Condições de cultivo

Temperatura: conseguem crescer de -1,3°C e 44°C, com temperatura ótima de 26 °C;

pH: cresce com valores de pH entre 4,2 e 9,6, com crescimento máximo no pH de 7 a 8;

Concentração de NaCl: 5%; acima de 7% é inibitório;

Oxigênio: cresce na presença ou ausência;

Cresce com alta concentração de sais biliares;

Meios de cultivo:

- Ágar MacConkey: seletivo, não permitindo o crescimento de bactérias Gram positivas; observa a fermentação de lactose;
- Ágar CIN: seletivo, não permitindo o crescimento de bactérias Gram positivas; observa a fermentação do manitol;
- Ágar SS: seletivo, não permitindo o crescimento de bactérias Gram positivas; observa a fermentação de lactose;

\_\_\_\_\_

# Ágar CIN

- Fermentação de manitol na presença de vermelho neutro resulta em colônia “olho de boi” (diminuição do pH da colônia, deixando-a avermelhada);
- Deoxicolato de Sódio, Colato de Sódio, Cristal Violeta e Irgasan não permitem o crescimento de bactérias Gram positivas;

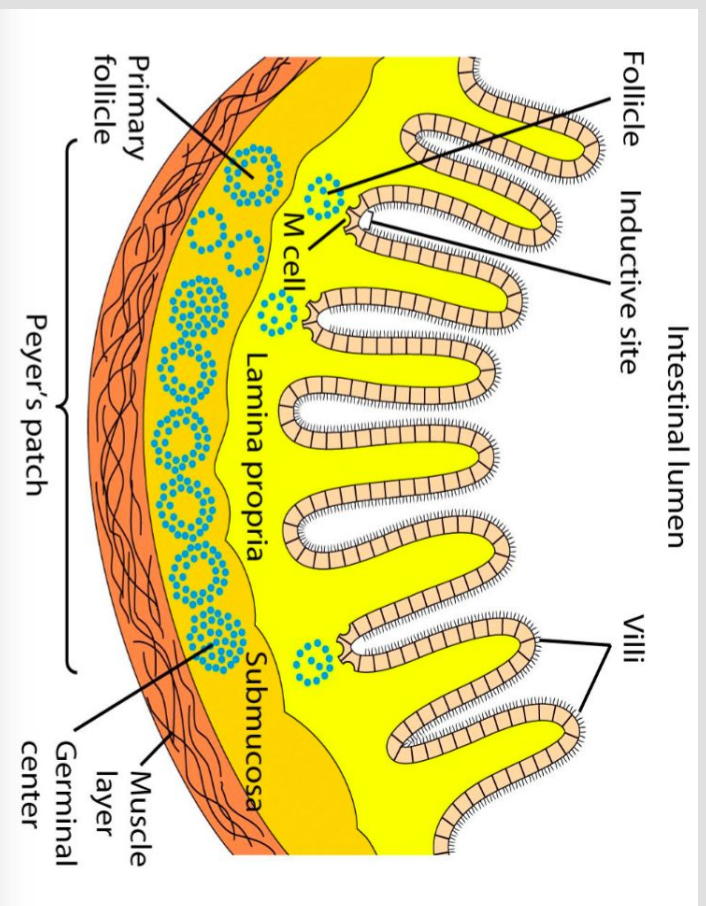
## Fórmula / Litro

Digestão Enzimática de Gelatina.....	17 g
Digestão Enzimática de Caseína.....	1,5 g
Digestão Enzimática de Tecido Animal.....	1,5 g
Extrato de Levedura.....	2 g
Manitol.....	20 g
Deoxicolato de Sódio.....	0,5 g
Colato de Sódio.....	0,5 g
Cloreto de Sódio.....	1 g
Piruvato de Sódio.....	2 g
Sulfato de Magnésio.....	0,01 g
Vermelho Neutro.....	0,03 g
Cristal Violeta.....	0,001 g
Irgasan®.....	0,004 g
Agar.....	13,5 g
pH Final: 7,4 ± 0,2 a 25°C	

---

# Mecanismos de Patogenicidade

Ainda não há certeza do mecanismo de patogenicidade.



- Infecção se inicia pela ligação da *Y. enterocolitica* a mucosa intestinal, após migração da bactéria do estômago para o íleo;
- Pode ocorrer uma migração pela camada epitelial, alcançando os tecidos linfóides e a lâmina própria, causando produção de microabscessos;
- Bactéria pode se difundir pela linfa para linfonodos mesentéricos e locais como fígado e baço;
- Há um tropismo por tecidos linfóides;
- Normalmente a infecção fica localizada na área intestinal, mas às vezes pode ocorrer infecção sistêmica caso haja septicemia;

# Fatores de Virulência

- 1) Proteínas na membrana externa:
  - Gene *inv* codifica para proteína invasina, que permite a adesão e invasão no tecido epitelial intestinal;
  - Gene *ail* codifica proteína ail, que medeia a resistência ao efeito bactericida do complemento;
  - Proteína yadA (Yersinia adesina A): ajuda na adesão celular e na invasão das células; codificada por gene presente no plasmídeo; forma matriz fibrilar e é expressa apenas a 37°C; inibe resposta imune inata do hospedeiro;

## 2) Proteínas Yops:

- Codificadas por genes yops presentes no plasmídeo;
- Permitem que a *Yersinia* resista as respostas imunes não específicas do hospedeiro;
- Protegem contra o macrófago, levando a sua apoptose;

## 3) Presença de fímbrias:

- Serve como fator de colonização intestinal, permitindo melhor aderência;
- Genes cromossômicos *myfA*, *myfB* e *myfC*;
- Estrutura denominada *Myf*, que dá aspecto mucóide as colônias;

#### 4) Enterotoxinas:

##### YstA e YstB

- YstA produzida em temperaturas inferiores a 30°C; resistente ao pH do estômago, podendo causar intoxicação alimentar; apenas em cepas patogênicas;
- YstB responsável por causar diarreia juntamente com a YstA;
- Ambas ativam a enzima guanilato ciclase, aumentando os níveis de cGMP no intestino, que exerce papel fundamental na homeostase desse órgão;

##### 5) Protease HreP

- Interfere com as proteínas dos tecidos do hospedeiro, inativando proteínas de defesa;
- Linhagens mutantes para o gene HreP apresentaram redução na virulência;



## 6) Membrana LPS

- Presença de proteínas como YadA e ail;
- Cadeia “O antígeno” tem importante papel na função e expressão de diferentes fatores de virulência, como yadA, inv e ail;

## 7) Sideróforo Yersiniaabactina

- Quela o ferro ligado a proteínas eucarióticas, transportando-o para receptores específicos na membrana externa bacteriana e liberando-o no citoplasma;
- Asseguram a sobrevivência em um ambiente competitivo para ferro;
- Gene que codifica está nas “ilhas de patogenicidade”,

# Manifestações clínicas

- Principais: diarreia, febre e dor abdominal;
- Em 10% dos adultos podem surgir nódulos nas pernas e pés (eristemas nodosos);
- Em 50% dos infectados pode ocorrer artrite;
- Em 10 a 30% das crianças a diarreia vem acompanhada com sangue;

# Epidemiologia

- Doença acomete principalmente crianças, idosos e pacientes imunodeprimidos;
- Distribuição mundial: mais comum no norte da Europa, Escandinávia e Japão;
- 17 mil casos anualmente nos Estados Unidos;
- No Brasil não há dados;

---

# Transmissão

- Oral-fecal por meio de água ou alimentos contaminados;
  - Porcos são os principais reservatórios da bactéria;
  - Carne suína mal cozida (bactéria consegue sobreviver a condições de refrigeração);
  - Também há em alimentos como carne bovina, de carneiro, peixe, leite não pasteurizado,
  - Sobrevivência do microrganismo no solo e na água;
- Transfusional, por meio de transfusão de sangue de pacientes contaminados;



# Diagnóstico

- Importante saber o histórico clínico do paciente: sintomas parecidos com os de outras condições de saúde;
- Exame de coprocultura: após a coleta, o material é colocado em meio rico e seletivo e são realizados diversos testes bioquímicos;
- Exame de sangue;
- Sorológico:
  - Teste de aglutinação;
  - ELISA;



# Tratamento

- Hidratação oral ou endovenosa para atenuar os sintomas;



## Antibióticos:

- Resistentes a penicilina e seus derivados;
- Aminoglicosídeos para septicemia;
- Associação sulfametoxazol/trimetoprim;
- Ciprofloxacina;
- Tetraciclina;

---

# Medidas de profilaxia

- Aplicação de tratamentos térmicos sobre os alimentos; evitar o consumo de carne mal cozida;
- Tentar diminuir ao máximo a contaminação dos porcos: deve se tomar cuidado durante o abate e o transporte;
- Pasteurização;
- Medidas educativas;
- Lavar as mãos antes de preparar os alimentos;
- Ingestão apenas de água tratada;
- Proteção dos alimentos e da água contra roedores e outros animais para evitar contaminação fecal;

# Referências

1. [http://www.parasitologia.org.br/estudos\\_glossario\\_Z.php](http://www.parasitologia.org.br/estudos_glossario_Z.php)
2. [http://www.educadores.diaadia.pr.gov.br/arquivos/File/2010/artigos\\_teses/Ciencias/Monografias/bioterrorismo.pdf](http://www.educadores.diaadia.pr.gov.br/arquivos/File/2010/artigos_teses/Ciencias/Monografias/bioterrorismo.pdf)
3. [https://teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42133/tde-15122014-100724/publico/MonicaMarcelaCastiblancoValencia\\_Doutorado\\_Ppdf](https://teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42133/tde-15122014-100724/publico/MonicaMarcelaCastiblancoValencia_Doutorado_Ppdf)
4. <http://www2.fm.usp.br/pfh/mostrahp.php?origem=pfh&xcod=Leptospirose>
5. [https://ppgca.evz.ufg.br/up/67/o/Tese2014\\_Adriana\\_Santos.pdf](https://ppgca.evz.ufg.br/up/67/o/Tese2014_Adriana_Santos.pdf)
6. [http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/8027/1/2010\\_AlicedaCunhaMoralesAlvares.pdf](http://repositorio.unb.br/bitstream/10482/8027/1/2010_AlicedaCunhaMoralesAlvares.pdf)
7. [https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/87/87131/tde-24082016-100639/publico/PamelaSiuneyLiu\\_Mestrado\\_P.pdf](https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/87/87131/tde-24082016-100639/publico/PamelaSiuneyLiu_Mestrado_P.pdf)
8. [https://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia\\_pi/7257\\_pt\\_pi.pdf](https://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia_pi/7257_pt_pi.pdf)
9. <https://www.spmi.pt/revista/vol10/vol10-n2-brucelose.pdf>
10. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/169569/1/SOUZA-UFEMS.pdf>
11. [https://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia\\_pi/7120\\_pt\\_pi.pdf](https://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia_pi/7120_pt_pi.pdf)
12. <http://legacy.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/HB/CE/PA/PT-PA-255027.pdf>
13. <http://www.splabor.com.br/blog/swab/swab-funcao-e-procedimentos-na-coprocultura/>
14. [https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/06/agar\\_ss\\_530110\\_540152\\_540197.pdf](https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/06/agar_ss_530110_540152_540197.pdf)
15. <https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/riscos-biologicos/yersinia-.aspx>
16. [http://www.saude.sp.gov.br/recursos/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-transmitidas-por-agua-e-alimentos/doc/bacterias/2013yersi\\_entero.pdf](http://www.saude.sp.gov.br/recursos/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-transmitidas-por-agua-e-alimentos/doc/bacterias/2013yersi_entero.pdf)
17. <https://www.fleury.com.br/manual-de-doencas/yersiniose>
18. [https://teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60135/tde-02052016-104428/publico/Tese\\_original\\_simplificada.pdf](https://teses.usp.br/teses/disponiveis/60/60135/tde-02052016-104428/publico/Tese_original_simplificada.pdf)
19. [http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/control\\_vetores.pdf](http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/funasa/control_vetores.pdf)
20. [http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/publicacao\\_c6g65n3m.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/publicacao_c6g65n3m.pdf)
21. [https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/saude/vigilancia\\_em\\_saude/control\\_de\\_zoonoses/animais\\_sinantropicos/index.php?p=4594](https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/saude/vigilancia_em_saude/control_de_zoonoses/animais_sinantropicos/index.php?p=4594)

# Referências

1. <https://www.msdmanuals.com/pt-br/profissional/doen%C3%A7as-infecciosas/bacilos-gram-negativos/tularemia>
2. [https://en.wikipedia.org/wiki/Francisella\\_tularensis](https://en.wikipedia.org/wiki/Francisella_tularensis)
3. Murray, P.R., Rosenthal, K.S., & Pfaller, M.A. (2009). Medical Microbiology (6th ed.). Philadelphia: Mosby Elsevier.
4. [https://catalog.hardydiagnostics.com/cp\\_prod/Content/hugo/Francisella.htm](https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/Content/hugo/Francisella.htm)
5. [http://legacy.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/Difco\\_BBL/211874.pdf](http://legacy.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/Difco_BBL/211874.pdf)
6. <https://pdpdictionary.com/bacteria/gnbac/tularensis.htm>
7. Clemens, D.I., Lee, B.Y., & Horwitz, M.A. (2004). Virulent and avirulent strains of Francisella tularensis prevent acidification and maturation of their phagosomes and escape into the cytoplasm in human macrophages. Infection and Immunity, 72(6): 3204-3217.
8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3945745/pdf/fcimb-04-00032.pdf>
9. <https://www.cdc.gov/tularemia/resources/whotularemiannual.pdf>
10. <https://cmr.asm.org/content/15/4/631>
11. [http://bvsm.sau.de.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_controle\\_pestes.pdf](http://bvsm.sau.de.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_pestes.pdf)
12. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2018.00154/full>
13. [https://www.researchgate.net/publication/23956962\\_Francisella\\_tularensis\\_Infection-Derived\\_Monoclonal\\_Antibodies\\_Provide\\_Detection\\_Protection\\_and\\_Therapy](https://www.researchgate.net/publication/23956962_Francisella_tularensis_Infection-Derived_Monoclonal_Antibodies_Provide_Detection_Protection_and_Therapy)