



FIOCRUZ

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ

Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**HISTÓRIA NATURAL DA LEPTOSPIROSE URBANA:
INFLUÊNCIA DO SEXO E DA IDADE NO RISCO DE INFECÇÃO, PROGRESSÃO
CLÍNICA DA DOENÇA E ÓBITO**

IGOR ADOLFO DEXHEIMER PAPLOSKI

Salvador – Brasil

2013

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa

**HISTÓRIA NATURAL DA LEPTOSPIROSE URBANA:
INFLUÊNCIA DO SEXO E DA IDADE NO RISCO DE INFECÇÃO, PROGRESSÃO
CLÍNICA DA DOENÇA E ÓBITO**

IGOR ADOLFO DEXHEIMER PAPLOSKI

Orientador: Prof. Dr. Guilherme de Sousa Ribeiro

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa, área de concentração em Epidemiologia Molecular e Medicina Investigativa, para a obtenção do grau de Mestre.

Salvador - Brasil

2013

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca do
Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz / FIOCRUZ - Salvador - Bahia.

P213h Paploski, Igor Adolfo Dexheimer
História natural da leptospirose urbana: influência do sexo e da idade no risco de
infecção, progressão clínica da doença e óbito. [manuscrito] / Igor Adolfo
Dexheimer Paploski. - 2013.
80 f.; 30 cm

Datilografado (fotocópia).

**Dissertação (Mestrado) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de
Pesquisas Gonçalo Moniz. Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde
e Medicina Investigativa, 2013.**

Orientador: Profº Drº. Guilherme de Sousa Ribeiro, Laboratório de Patologia e
Biologia Molecular - LPBM.

1. Leptospirose 2. Sexo 3. Grupos Etários I.Título.

CDU 616.986:575.18

Uma descoberta, por menor que seja ou por mais importante que pareça é, antes de tudo, uma realização pessoal, uma fonte de prazer intelectual.

Luiz Hildebrando Pereira da Silva

Resumo

INTRODUÇÃO A leptospirose é causada por bactérias do gênero *Leptospira* e é transmitida aos humanos pela urina de animais contaminados. Apenas uma parcela dos indivíduos infectados desenvolvem manifestações clínicas graves que requerem hospitalização e são potencialmente fatais. Os fatores que determinam que uma infecção por *Leptospira* evolua de forma autolimitada e outra progrida para uma doença grave e fatal ainda são pouco claros. Nós hipotetizamos que características demográficas como o sexo e a idade influenciem o risco de progressão clínica de indivíduos infectados pela *Leptospira*.

OBJETIVO Investigar a influência do sexo e da idade no risco de progressão clínica da leptospirose após a infecção e estimar a razão entre o número de infecções subclínicas para cada caso grave e cada óbito por leptospirose em comunidades com alta transmissão da doença.

MÉTODO Um estudo de coorte foi conduzido entre 2003 e 2006 para determinar a incidência de infecções subclínicas por *Leptospira* no bairro de Pau da Lima, uma comunidade carente de Salvador - BA . Paralelamente, pacientes com leptospirose grave e óbitos por leptospirose foram identificados através de vigilância populacional ativa no Hospital Couto Maia, em Salvador. Foi calculada a incidência de leptospirose grave e a mortalidade por leptospirose para áreas da cidade com características socioeconômicas similares a da área do estudo de coorte. Todas as incidências foram estratificadas por faixa etária e sexo, sendo em seguida comparadas através de razões de risco.

RESULTADOS Foi identificada uma incidência média anual de 23,8 (IC 95%, 19,7 – 28,8) casos de infecção subclínica/1.000 habitantes na área da coorte. Em habitantes de áreas da cidade com características socioeconômicas similares a da área do estudo de coorte a incidência média anual de formas graves foi de 8,2 (IC 95%, 7,0 – 9,4) casos/100.000, sendo que a mortalidade por leptospirose média anual nesta população foi de 1,6 (IC 95%, 1,2 – 2,0) óbitos/100.000 habitantes. Homens apresentaram um risco 2,0 (IC 95%, 1,6 – 2,6) vezes maior de desenvolverem infecções subclínicas, 6,1 (IC 95%, 5,2 – 7,2) vezes maior de desenvolverem infecções graves e 0,6 (IC 95%, 0,4 – 1,0) vezes menor de evoluir para óbito do que mulheres. Indivíduos da faixa etária de 25 a 34 anos e de 35 a 44 anos de idade apresentaram um risco de desenvolverem infecções subclínicas 2,5 (IC 95%, 1,8 – 3,6) e 1,3 (IC 95%, 0,8 – 2,3) vezes maior, respectivamente, em comparação aos com idade entre 5 a 14 anos, enquanto que os indivíduos das mesmas faixas etárias apresentaram riscos de leptospirose grave de 4,5 (IC 95%, 2,2 – 9,0) e 5,1 (IC 95%, 2,5 – 10,3) vezes, respectivamente. Estima-se que ocorreram 289 e 1.510 infecções subclínicas para cada caso grave e para cada óbito, respectivamente, identificados e analisados neste estudo.

CONCLUSÕES O sexo e a idade influenciam de risco de infecção subclínica, grave e de óbito por leptospirose. Homens tem maior risco de infecção subclínica e grave, entretanto mulheres apresentam maior letalidade de leptospirose. O risco para infecções subclínicas alcança o pico em indivíduos de 25 a 34 anos, entretanto o risco para infecções graves e óbito não se comporta da mesma maneira e aumenta com a idade.

Palavras-chave: leptospirose, sexo, grupos etários

Abstract

INTRODUCTION Leptospirosis is caused by a bacteria of the genus *Leptospira* and is transmitted to humans by the urine of infected animals. Only a portion of infected individuals develop severe clinical manifestations that require hospitalization and are potentially fatal. The factors that determine if a *Leptospira* infection will evolve in a self-limiting while others will progress to a severe and fatal disease are still unclear. We hypothesize that demographic characteristics such as age and gender influence the risk of clinical progression of individuals infected with *Leptospira*.

OBJECTIVE To investigate the influence of gender and age on the risk of clinical progression of leptospirosis after infection and estimate the infection to disease and infection to death ratio in communities with high disease transmission.

METHODS A cohort study was performed between 2003 and 2006 to determine the incidence of subclinical infections of leptospirosis at Pau da Lima, a poor community of Salvador. In addition, patients with severe leptospirosis and deaths by leptospirosis were identified through active surveillance population at the infectious disease state reference hospital, in Salvador. We calculated the incidence of severe leptospirosis and mortality by leptospirosis in areas of the city with similar socioeconomic characteristics of the area of the cohort study. All incidences were stratified by age and sex, and then compared using risk ratios.

RESULTS The mean annual incidence of subclinical infection was 23.8 (95% CI, 19.7 to 28.8) per 1,000 residents in the cohort area. The mean annual incidence of severe leptospirosis was 8.2 (95% CI, 7.0 – 9.4) cases per 100,000 inhabitants in areas with similar socioeconomic characteristics of the area of the cohort study. The mean annual mortality for individuals of the same area was 1.6 (95% CI, 1.2 – 2.0) per 100,000 inhabitants. Males have 2.0 (95% CI, 1.6 - 2.6) times the risk of developing subclinical infections, 6.1 (95% CI, 5.2 - 7.2) times the risk to develop severe infections and 0.6 (95% CI, 0.4 to 1.0) times the risk to evolve to death, compared to females. Individuals aged from 25 to 34 years and 35 to 44 years had a risk of developing subclinical leptospirosis 2.5 (95% CI, 1.8 - 3.6) and 1.3 (95% CI, 0.8 - 2.3) times greater, respectively, when compared to individuals aged 5 to 14 years, while individuals of the same age had a risk for severe leptospirosis 4.5 (95% CI, 2.2 - 9.0) and 5.1 (95% CI, 2.5 - 10.3) times greater, respectively. It is estimated that there were 1,510 and 289 subclinical infections for every death and severe leptospirosis cases, respectively, identified and analyzed in this study.

CONCLUSIONS Age and gender influences the risk of subclinical and severe infection, and death from severe leptospirosis. Males have a higher risk of subclinical and severe infection, but females have higher lethality of leptospirosis. The risk for subclinical infection peaks in individuals aged 25 to 34 years, however, the risk for severe infection and death by leptospiris does not evolve in the same manner, increasing with age.

Key words: leptospirosis, sex, age groups

Lista de Figuras

- Figura 1.** Ciclo de transmissão da leptospirose (KO *et al.*, 2009)..... 14
- Figura 2.** Estágios da doença e testes diagnósticos relevantes em cada estágio. Amostras sorológicas 1 e 2 são chamadas de agudas e 3, 4 e 5 são convalescentes, auxiliando o diagnóstico da infecção (LEVETT, 2001)...20
- Figura 3.** Área do bairro do Pau da Lima onde foram recrutados os pacientes do estudo de coorte conduzido entre 2003 e 2006.38
- Figura 4** A, Incidências de infecções subclínicas por *Leptospira* sp. na coorte em Pau da Lima; B. Incidências de Leptospirose grave nas comunidades selecionadas de Salvador; C, mortalidade por leptospirose nas comunidades selecionadas de Salvador; D, Letalidade em pacientes com leptospirose residentes nas comunidades selecionadas, estratificado por faixa etária e sexo, no período de 2003 a 2006.51
- Figura 5.** Casos graves de leptospirose em Salvador no período 2003 – 2006. Pontos vermelhos ilustram casos (n=167) em setores censitários aleatoriamente selecionados (cinza) por apresentarem nível de pobreza similar à da área da coorte (círculo azul). Pontos verdes ilustram casos (n=252) com residência em setores não selecionados (branco).53
- Figura 6.** Risco relativo associado à idade para incidência de leptospirose subclínica e grave e para letalidade (óbito) de leptospirose, tendo como referência a menor faixa etária onde foram identificados casos em cada manifestação clínica.61
- Figura 7.** Risco relativo associado ao sexo para incidência de leptospirose subclínica e grave e para letalidade (óbito) de leptospirose, tendo como referência indivíduos do sexo feminino.62

Lista de Quadros

- Quadro 1.** Estudos sobre inóculo infectante, via de inoculação e a associação com a progressão clínica de leptospirose.23
- Quadro 2.** Séries históricas de leptospirose que trazem informações sobre a frequência ou incidência da doença estratificados por sexo ou idade.27
- Quadro 3.** Investigações de surtos de leptospirose ou estudos de caso-controle que trazem informações sobre a frequência ou medidas de associação da doença com sexo ou idade.30

Lista de Tabelas

- Tabela 1.** Casos e óbitos por leptospirose notificados ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), entre o período de 2007 e 2011, por estado e regiões do Brasil. 16
- Tabela 2.** Características sociodemográficas dos setores censitários que compõe o estudo de coorte, dos setores censitários selecionados e não selecionados para a análise de casos graves e óbitos por leptospirose, e todos os setores censitários que compõe a cidade de Salvador, segundo a intensidade de pobreza.42
- Tabela 3.** Incidência de infecções subclínicas e graves e mortalidade por *Leptospira* em Salvador entre 2003 e 2006, estratificado por faixas etárias e por sexo.49
- Tabela 4.** Incidências anuais de infecções subclínicas identificadas em cada ano de seguimento do estudo de coorte realizado no bairro de Pau da Lima.50
- Tabela 5.** Proporção de pacientes com leptospirose residentes nos setores censitários selecionados identificados pelo sistema de vigilância hospitalar de base populacional em Salvador, entre 2003 e 2006.52
- Tabela 6.** Características clínicas e demográficas de pacientes com infecção grave por leptospirose com e sem confirmação laboratorial.54
- Tabela 7.** Incidências anuais de leptospirose grave nos setores censitários selecionados de Salvador.55
- Tabela 8.** Risco relativo em indivíduos do sexo masculino para incidência de leptospirose subclínica e grave e para letalidade (óbito) de leptospirose, tendo como referência indivíduos do sexo feminino.56
- Tabela 9.** Letalidade por leptospirose de acordo com a faixa etária em homens e mulheres, entre 2003 e 2006.58
- Tabela 10.** Risco relativo de infecção, doença grave e óbito por leptospirose, de acordo com a faixa etária.60
- Tabela 11.** Razão entre a incidência média anual de infecções subclínicas por *Leptospira* identificadas no estudo de coorte e incidência média anual de leptospirose grave em setores censitários selecionados, entre 2003 e 2006.64

Tabela 12. Razão entre a incidência média anual de infecções subclínicas por <i>Leptospira</i> identificadas no estudo de coorte e mortalidade média anual por leptospirose em setores censitários selecionados, entre 2003 e 2006.	65
---	----

Sumário

1	Introdução	12
1.1	Microbiologia do gênero <i>Leptospira</i>	12
1.2	Aspectos epidemiológicos.....	13
1.2.1	Ciclo de transmissão	13
1.2.2	Epidemiologia da leptospirose no Brasil	15
1.2.3	Epidemiologia da leptospirose no mundo	17
1.2.4	Fatores ambientais e sociais associados à leptospirose	18
1.3	Patogênese	19
1.4	Manifestações clínicas	20
1.5	Fatores associados à progressão para doença	22
1.5.1	Tamanho do inóculo infectante e via de inoculação	22
1.5.2	Diferenças genéticas entre cepas infectantes	23
1.5.3	Características inerentes aos hospedeiros.....	24
2	Revisão bibliográfica: progressão clínica de leptospirose associada a sexo e idade	26
3	Racional e Hipótese	33
4	Objetivos	35
4.1	Objetivo geral	35
4.2	Objetivos específicos	35
5	Metodologia.....	36
5.1	Desenho geral do estudo	36
5.2	Infecções subclínicas por leptospirose.....	36
5.3	Infecções graves e óbito por leptospirose.....	38
5.3.1	Mapeamento da Pobreza	40
5.3.2	Seleção de setores censitários.....	41
5.4	Considerações sobre a comparação de incidências de diferentes formas clínicas de leptospirose em populações diferentes.....	44
5.5	Plano de análise dos dados	45
5.6	Considerações éticas.....	46
6	Resultados	48
6.1	Incidência de infecções subclínicas por <i>Leptospira</i>	48
6.2	Incidência de infecções graves por leptospirose.....	52

6.3	Mortalidade por leptospirose	56
6.4	Letalidade da leptospirose	57
6.5	Influência da idade no risco de progressão clínica.....	57
6.6	Influência do sexo no risco de progressão clínica.....	61
6.7	Razão entre infecções subclínicas, graves e óbitos.....	63
7	Discussão.....	66
8	Conclusões	72
9	Referências Bibliográficas.....	73

1 Introdução

1.1 Microbiologia do gênero *Leptospira*

Uma das primeiras descrições de organismos com formato de espiroqueta foi realizada no começo do século XX, em uma investigação de tecidos de pacientes identificados como tendo febre amarela (STIMSON, 1907). Entretanto, o início do estudo deste gênero esteve restrito a poucos centros de pesquisa, porque bactérias do gênero *Leptospira* apresentam um crescimento fastidioso, exigindo meios de cultura diferenciados nutricionalmente (FAINE *et al.*, 1999).

Como este gênero de bactérias foi identificado quando as principais ferramentas para identificação de microorganismos eram morfológicas e sorológicas, estas bactérias foram classificadas em diferentes grupos de acordo com comparações realizadas tendo como base estes parâmetros (FAINE *et al.*, 1999), o que influencia a nomenclatura deste gênero até a atualidade. Morfologicamente, o gênero *Leptospira* é composto por organismos flexíveis, helicoidais, com extensão longitudinal de 6 a 20 micrômetros, extensão transversal de 0,1 micrômetro, com uma ou ambas as extremidades em forma de gancho, que podem ser visualizadas em microscopia de campo escuro e não são coradas com corantes convencionais. Bactérias deste gênero possuem dois flagelos subterminais, um em cada extremidade. São microorganismos aeróbicos e utilizam sais de amônia como fonte de nitrogênio e ácidos graxos não saturados como fonte de carbono. Tem crescimento ótimo em pH 7,2 a 7,6, com temperatura entre 28 a 30° Celsius. O crescimento em meio líquido apropriado pode ser confirmado sob microscopia após um intervalo mínimo de 6 a 14 dias após a semeadura, porém este prazo pode variar (FAINE *et al.*, 1999).

A classificação dentro do gênero *Leptospira* também pode ser realizada de acordo com reações sorológicas, sendo a mais utilizada chamada de sorovar. A definição de sorovar envolve a descrição de um isolado de *Leptospira* cujo antisoro de coelho aglutina com o isolado homólogo, porém não aglutina com outros isolados (FAINE *et al.*, 1999). A observação do desempenho do teste de microaglutinação (MAT), padrão ouro no diagnóstico da leptospirose, levou a conclusão de que determinados conjuntos de sorovares apresentam em maior grau reações cruzadas

entre si, indicando algum nível de similaridade de expressão antigênica. Estes agrupamentos de sorovares são chamados de sorogrupos. A definição de sorogrupo envolve o grupo de sorovares que reagem de forma cruzada entre si devido à expressão similar de antígenos, mas não reagem de forma cruzada significativamente com membros de outros sorogrupos (FAINE *et al.*, 1999).

Em 1987 foi proposto um método de classificação genético de bactérias do gênero *Leptospira* (YASUDA *et al.*, 1987), entretanto houve resistência por parte da comunidade científica na adoção desta nomenclatura. Conforme a classificação genética de agentes patogênicos se tornava uma das principais formas de classificação de organismos, várias propostas para classificação genética de bactérias do gênero *Leptospira* surgiram, o que ajudou a tornar confusa esta classificação (FAINE *et al.*, 1999). A classificação genética das espécies dos isolados de *Leptospira* é atualmente determinada principalmente através de hibridização do DNA. Para que dois isolados sejam classificados como pertencentes à mesma espécie eles precisam apresentar similaridade de pelo menos 70% e divergência menor ou igual a 5% (ELLIS, 1995). A classificação de espécies de *Leptospira* baseado em sua similaridade genética recebe o nome de genomoespécies.

Atualmente, há cerca de 300 sorovares classificados em aproximadamente 30 sorogrupos, dentro de 10 genomoespécies, sendo algumas exclusivamente patogênicas, outras saprófitas e outras mistas, de patogenicidade intermediária (PASTEUR, 2006).

1.2 Aspectos epidemiológicos

1.2.1 Ciclo de transmissão

A disseminação da *Leptospira* no meio ambiente se dá através da excreção da mesma na urina de mamíferos infectados. Uma vez no ambiente, hospedeiros susceptíveis podem se infectar quando em contato com a bactéria. Diferentes espécies de animais servem de reservatório para sorovares. O principal hospedeiro associado a infecções em seres humanos é o rato, sendo esse fato conhecido desde o final da década de 1910 (NOGUCHI, 1919).

Existem duas principais formas de transmissão da leptospirose entre diferentes hospedeiros, sejam eles da mesma espécie ou não. A transmissão direta ocorre quando fluidos corporais contendo *Leptospira* passam diretamente de um hospedeiro infectado para um hospedeiro susceptível (FAINE *et al.*, 1999). Formas de transmissão diretas já documentadas envolvem transmissão congênita (PESCADOR *et al.*, 2004; SHARMA *et al.*, 2011) e contato sexual com um hospedeiro infectado (CASTRO *et al.*, 2009), sendo estas formas de transmissão reportadas principalmente em animais. Em seres humanos, a principal forma de transmissão direta da doença envolve a manipulação de animais infectados, sendo comum o relato de infecções em veterinários ou funcionários de abatedouros (BENSCHOP *et al.*, 2009).

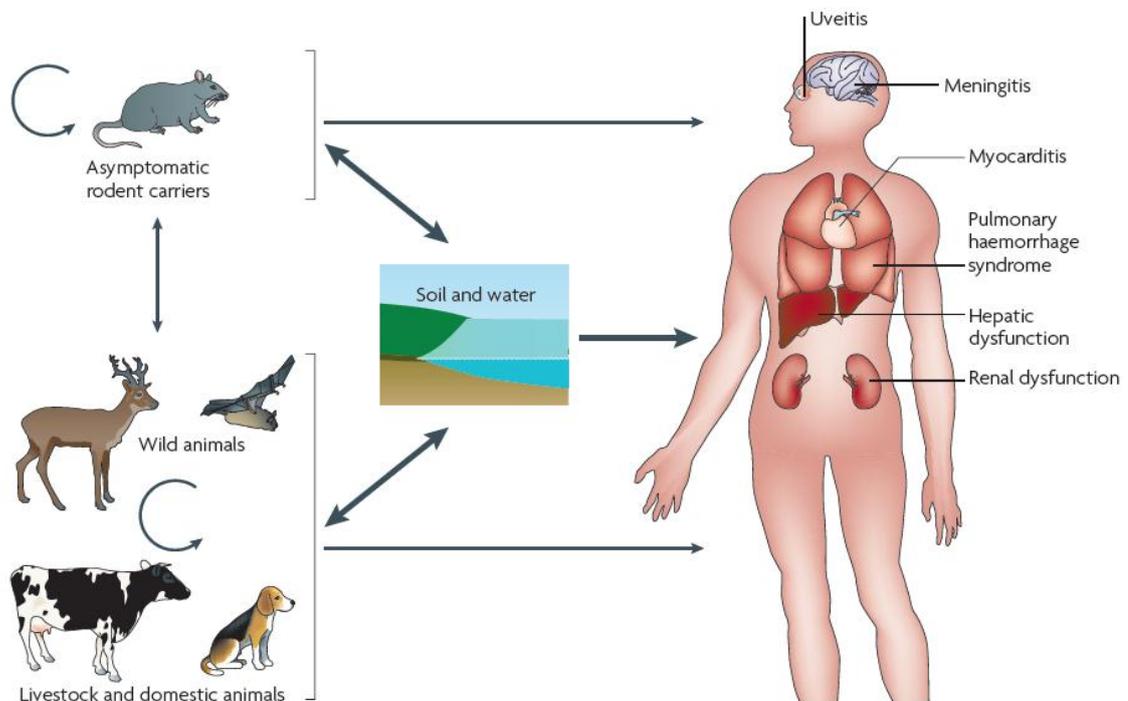


Figura 1. Ciclo de transmissão da leptospirose (KO *et al.*, 2009).

Formas de transmissão indiretas ocorrem quando um hospedeiro susceptível é infectado a partir de leptospirosas disseminadas por um animal carreador no ambiente. A infecção para seres humanos é acidental e ocorre através do contato direto com secreções de animais reservatórios ou do contato indireto através da exposição a água e solo contaminados com a urina de um animal infectado (Figura 1) (KO *et al.*, 2009). Diversas situações que levam ao contato da bactéria com o ser humano já foram descritas, como por exemplo, contato com áreas alagadas (JOHNSON *et al.*,

2004; STORCK *et al.*, 2007), eventos de turismo de aventura com travessia de lagos ou rios (SEJVAR *et al.*, 2003; BROCKMANN *et al.*, 2010; RADL *et al.*, 2011), manobras militares em corpos aquáticos próximas a criações animais (HADAD *et al.*, 2006) e o trabalho com água contaminada em ambientes urbanos com pouca infraestrutura (TIWARI, 2008). Uma parcela dos casos de leptospirose humana registrados está relacionada à habitação em áreas consideradas inadequadas, com pouca infraestrutura básica (MACIEL *et al.*, 2008; REIS *et al.*, 2008; KO *et al.*, 2009). Áreas com pouca infraestrutura básica favorecem o acúmulo de dejetos e resíduos que atraem a população de roedores, contaminando o ambiente e aumentando a probabilidade de ocorrerem infecções em seres humanos. O contato com água contaminada em ambientes urbanos tende a ter menor importância em países desenvolvidos, mas pode ser responsável pela maior parte dos casos reportados em países dotados de pouca infraestrutura urbana (LEVETT, 2001).

1.2.2 Epidemiologia da leptospirose no Brasil

A partir da urbanização do Brasil, que começou na década de 1950 com a industrialização, houve o surgimento de áreas nas cidades onde a infraestrutura habitacional era precária. A expansão desordenada das cidades brasileiras, como a observada em Salvador, gerou um processo de urbanização descontrolada que culminou com a ocorrência da chamada “tragédia urbana brasileira” (MARICATO, 2000). Esta situação é caracterizada pela presença de condições favoráveis a desastres naturais, como enchentes, desmoronamentos, bem como pela degradação ambiental, poluição dos recursos hídricos e do ar, impermeabilização da superfície do solo, desmatamento, congestionamento, violência e o surgimento de epidemias. Neste tipo de localidade, é comum não haver rede de esgoto ou coleta de lixo, sendo também comum que as pessoas residentes nestas áreas executem atividades como a reciclagem, que contribuem para o acúmulo de objetos, como a reciclagem, favorecendo o surgimento de roedores. A associação de todos esses fatores torna o ambiente favorável para a ocorrência de casos de leptospirose, pois o contato estreito de humanos com ambientes contaminados aumenta a probabilidade da ocorrência da infecção.

Tabela 1. Casos e óbitos por leptospirose notificados ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), entre o período de 2007 e 2011, por estado e regiões do Brasil.

Região	Estado	População 2010	Total de casos 2007-2011	Total de óbitos 2007-2011	Incidência média anual /100.000 hab	Média anual de casos	Média de óbitos por ano
Norte	Rondônia	1.560.501	116	8	1,5	23,2	1,6
	Acre	732.793	303	22	8,3	60,6	4,4
	Amazonas	3.480.937	269	35	1,5	53,8	7,0
	Roraima	451.227	9	1	0,4	1,8	0,2
	Pará	7.588.078	555	71	1,5	111,0	14,2
	Amapá	668.689	405	5	12,1	81,0	1,0
	Tocantins	1.383.453	6	0	0,1	1,2	0,0
	TOTAL NORTE	15.865.678	1.663	142	2,1	332,6	28,4
Nordeste	Maranhão	6.569.683	214	34	0,7	42,8	6,8
	Piauí	3.119.015	25	0	0,2	5,0	0,0
	Ceará	8.448.055	618	38	1,5	123,6	7,6
	Rio Grande do Norte	3.168.133	116	12	0,7	23,2	2,4
	Paraíba	3.766.834	72	16	0,4	14,4	3,2
	Pernambuco	8.796.032	1.230	124	0,3	24,6	24,8
	Alagoas	3.120.922	359	25	2,3	71,8	5,0
	Sergipe	2.068.031	333	78	3,2	66,6	15,6
	Bahia	14.021.432	757	115	1,1	151,4	23,0
TOTAL NORDESTE	53.078.137	3.724	442	1,4	744,8	88,4	
Sudeste	Minas Gerais	19.595.309	468	62	0,5	93,6	12,4
	Espírito Santo	3.512.672	1.093	42	6,2	218,6	8,4
	Rio de Janeiro	15.993.583	1.491	240	1,9	298,2	48,0
	São Paulo	41.252.160	4.030	495	0,2	80,6	99,0
	TOTAL SUDESTE	80.353.724	7.082	839	1,8	1416,4	167,8
Sul	Paraná	10.439.601	1.546	186	3,0	309,2	37,2
	Santa Catarina	6.249.682	2.876	94	9,2	575,2	18,8
	Rio Grande do Sul	10.695.532	2.385	133	4,5	477,0	26,6
	TOTAL SUL	27.384.815	6.807	413	5,0	1361,4	82,6
Centro-oeste	Mato Grosso do Sul	2.449.341	13	1	0,1	2,6	0,2
	Mato Grosso	3.033.991	29	2	0,2	5,8	0,4
	Goiás	6.004.045	33	4	0,1	6,6	0,8
	Distrito Federal	2.562.963	134	11	1,0	26,8	2,2
	TOTAL CENTRO-OESTE	14.050.340	209	18	0,3	41,8	3,6
BRASIL	TOTAL	190.732.694	19.485	1.854	2,0	3897,0	370,8

Fonte: Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). Acessado em fevereiro de 2013.

No Brasil, a leptospirose é considerada uma doença endêmica, sendo que em períodos chuvosos torna-se epidêmica, especialmente devido a enchentes e a aglomeração populacional em áreas com condições inadequadas de saneamento e com alta infestação de roedores (BRASIL, 2009). No período de 2007 a 2011, foram confirmados 19.485 casos de leptospirose no Brasil, com uma média anual de 3.897 casos (Tabela 1), variando entre 3.292 (2007) a 4.944 (2011), o que corresponde a uma incidência média anual de 2,0 casos confirmados por 100.000 habitantes. Neste mesmo período, foram notificados 1.854 óbitos devido à leptospirose, com média

anual de 371 óbitos, com letalidade média no período de 9,5%. A região com maior incidência de casos neste período foi a região Sul do Brasil, com incidência média anual de 5,0 casos confirmados por 100.000 habitantes, seguida pela região Norte, com incidência média anual de 2,1/100.000 habitantes. Os estados com maiores incidências médias anuais para o período foram Amapá (incidência de 12,1/100.000), Santa Catarina (incidência de 9,2/100.000) e Acre (incidência de 8,3/100.000).

1.2.3 Epidemiologia da leptospirose no mundo

A leptospirose é uma zoonose globalmente distribuída (PAPPAS *et al.*, 2008), infectando tanto animais (ROJAS *et al.*, 2010; SZONYI *et al.*, 2011), como seres humanos (ROMERO *et al.*, 2003; KOUADIO *et al.*, 2012). Em países desenvolvidos, a doença é reconhecida como uma doença ocupacional, com a identificação de casos em trabalhadores de abatedouros de animais (BENSCHOP *et al.*, 2009) ou em trabalhadores rurais em contato com áreas alagadiças (DESAI *et al.*, 2009). Nos países em desenvolvimento, que geralmente apresentam problemas de urbanização similares aos encontrados no Brasil, é comum a ocorrência da leptospirose urbana associada à falta de infraestrutura sanitária básica (LEVETT, 2001).

Eventos catastróficos podem levar a ocorrência de surtos da doença, como aqueles que acarretam o deslocamento de grandes massas populacionais em pouco tempo, o que sobrecarrega os sistemas de saneamento e abastecimento, ou quando expõem populações a um grande número de fatores de risco para a infecção (KOUADIO *et al.*, 2012). Desta forma, é reportada a ocorrência de casos ou surtos após tufões e furacões (NARANJO *et al.*, 2008; LIN *et al.*, 2012) e após chuvas torrenciais (MASKEY *et al.*, 2006; CANN *et al.*, 2012). A ocorrência de eventos climáticos de proporções globais, como o El Niño, foi identificada como associada a um aumento de quatro vezes na incidência da leptospirose em ilhas do Caribe (STORCK *et al.*, 2007).

1.2.4 Fatores ambientais e sociais associados à leptospirose

Diversos fatores ambientais e sociais podem influenciar a distribuição da leptospirose em populações humanas e animais. Como mencionado anteriormente, há uma associação direta entre o nível de pluviosidade e o número de casos da doença (ROMERO *et al.*, 2003; LAU *et al.*, 2010). Estudos epidemiológicos indicam que indivíduos residentes em áreas urbanas pobres, comumente localizadas nas periferias de grandes cidades, onde há falta de saneamento básico, tem um risco maior de desenvolver leptospirose grave (KO *et al.*, 1999). Fatores de risco associados com evidência sorológica de infecção em humanos estão principalmente relacionados ao estabelecimento de residência em regiões sujeitas a alagamentos, próximas a esgotos abertos, a lixo acumulado e a presença de ratos próximos da residência, além de indicadores socioeconômicos, como raça e renda (AGUDELO-FLOREZ *et al.*, 2007; REIS *et al.*, 2008). Os fatores de risco associados ao desenvolvimento de formas graves são similares aos encontrados para evidência sorológica de infecção, sendo como exemplo o contato com ratos, cabras e trabalho em locais abertos (KEENAN *et al.*, 2010), residência próxima a esgoto aberto, presença de ratos em grupos próximos à residência e trabalho em contato com água (SARKAR *et al.*, 2002). Ambos estudos acima citados usaram como casos indivíduos hospitalizados com leptospirose e como controles indivíduos residentes na mesma área geográfica dos casos, pareados por idade.

Fatores de risco para a infecção por *Leptospira*, como tipo de trabalho, área de residência (rural ou urbana), características sociodemográficas ou época do ano no ciclo de transmissão da doença são reflexos de um processo geográfico, climático, social, político e cultural mais amplo. As desigualdades sociais são capazes de determinar não apenas a distribuição de doenças infecciosas, mas também o acesso a diagnóstico e tratamento daqueles afetados por ela (FARMER, 1996). Assim, em ambientes onde o clima e a geografia são propícios para a ocorrência da doença, desigualdes sociais e fatores culturais podem modificar não somente as oportunidades de contato com animais carreadores e ambientes contaminados, mas também o acesso a diagnóstico em tempo oportuno e a tratamento adequado, consequentemente alterando o seu risco de infecção e de progressão da doença (FAINE *et al.*, 1999).

1.3 Patogênese

A *Leptospira* infecta os indivíduos quando há o contato entre micro-lesões ou abrasões na pele e o ambiente contaminado. Até o momento não há evidências de que a motilidade bacteriana favoreça a penetração da bactéria na pele íntegra (FAINE *et al.*, 1999; ZHANG, Y. *et al.*, 2012). Após a infecção, inicia a fase de incubação, que dura de dois a vinte dias (LEVETT, 2001), onde ocorre a bacteremia.

Durante a fase aguda da doença, quando ocorre a bacteremia, o endotélio dos vasos capilares é afetado, levando à isquemia localizada nos mais diversos órgãos, podendo causar necrose tubular renal, dano hepatocelular, meningite, miosite e placentite (FAINE *et al.*, 1999). A produção de endotoxinas também já foi demonstrada como possível causa das lesões nos vasos sanguíneos (DE-SOUZA; KOURY, 1992; LEVETT, 2001).

Somente na fase inicial de pacientes com doença grave foram identificados complexos imunes em altas concentrações, o que pode indicar que estes complexos possam ser um elemento patogênico importante (GALLI *et al.*, 1985). A deposição de complexos imunes tem potencial para ocasionar lesões teciduais locais, pois as células fagocíticas ativadas para realizar a fagocitose destes complexos liberam enzimas, espécies reativas de oxigênio e outros mediadores inflamatórios que contribuem para a lesão local (MARZOCCHI-MACHADO; LUCISANO-VALIM, 1997; LEVETT, 2001).

A ocorrência de lesões, causadas por efeito isquêmico, ação de endotoxinas ou por deposição de complexos imunes, podem ocorrer com diferentes níveis de gravidade, podendo desta forma acarretar hemorragias, icterícia, plaquetopenia, insuficiência renal e as demais manifestações clínicas da leptospirose.

Ao término da fase aguda da doença começa o desenvolvimento da fase imune, onde desaparecem os sintomas iniciais e surgem os anticorpos, coincidindo com o desaparecimento da bactéria da corrente sanguínea (Figura 2) (LEVETT, 2001). Após o desaparecimento da bacteremia, pode ocorrer colonização renal persistente com eliminação intermitente de bactérias em animais (FARIA *et al.*, 2008; ROJAS *et al.*, 2010; AGAMPODI *et al.*, 2012) e em seres humanos infectados (PEACOCK *et al.*, 2010; CHOW *et al.*, 2012), embora a importância deste último na manutenção do ciclo epidemiológico da doença seja presumivelmente desprezível.

Manifestações clínicas com envolvimento pulmonar tem sido descritas (TREVEJO *et al.*, 1998; KO *et al.*, 1999; SPICHLER *et al.*, 2008), associadas com um aumento na letalidade da doença. Embora não esteja claro o mecanismo patogênico que leva o paciente a manifestar hemorragia pulmonar, a inflamação sistêmica causada pela bacteremia, a trombocitopenia e a deposição de imunoglobulinas nos septos alveolares, com posterior expressão de moléculas pró-inflamatórias foram propostos como possíveis explicações para o fenômeno (BERNARDI *et al.*, 2012).

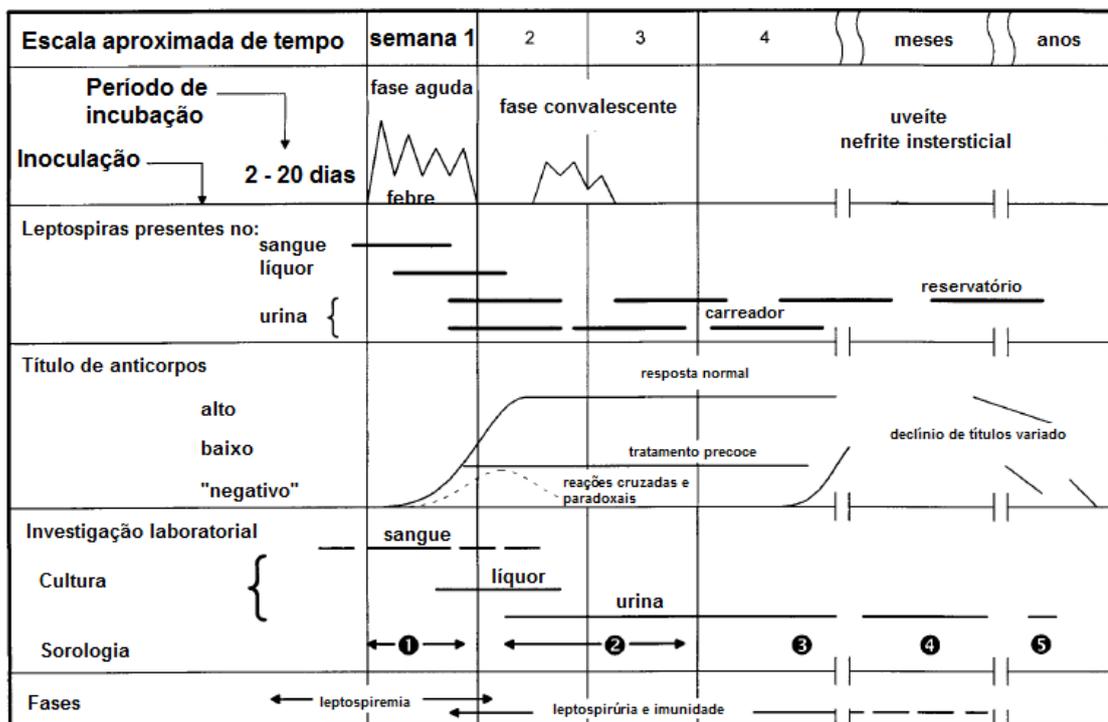


Figura 2. Estágios da doença e testes diagnósticos relevantes em cada estágio. Amostras sorológicas 1 e 2 são chamadas de agudas e 3, 4 e 5 são convalescentes, auxiliando o diagnóstico da infecção (LEVETT, 2001).

1.4 Manifestações clínicas

A doença pode assumir diversas manifestações clínicas. A mais branda é causada por uma infecção autolimitada, onde o hospedeiro é capaz de combater a bacteremia com formação de resposta imune humoral. As manifestações clínicas de uma infecção autolimitada variam desde inexistentes (infecções subclínicas) até leves ou oligossintomáticas (cefaleia, prostração) e não requerem atendimento médico (BRASIL, 2009).

Manifestações clínicas moderadas são aquelas que envolvem a necessidade de atendimento médico, mas não de internação. O paciente manifesta sintomas inespecíficos, podendo a enfermidade ser confundida com outras doenças (BROWN *et al.*, 2010; SERGIO *et al.*, 2012). É comum serem observados pacientes que se apresentam com intensa mialgia (FAINE *et al.*, 1999; GAMAGE *et al.*, 2012), em especial na região lombar e nos membros inferiores (panturrilha), embora este sinal clínico não seja suficientemente sensível ou específico para diferenciar a leptospirose de outras doenças febris agudas (BRASIL, 2009). Os sistemas de vigilância epidemiológica tem dificuldade em identificar este tipo de paciente, pois as manifestações clínicas clássicas não estão sempre presentes nestes casos, além do fato da coleta de amostras convalescentes ser realizada em poucos pacientes, fatores estes que acarretam uma subestimação do impacto da doença (MCBRIDE *et al.*, 2005).

As manifestações clínicas mais graves envolvem o desenvolvimento de hipotensão, hepatoesplenomegalia, dor abdominal, anormalidades na auscultação e na radiografia de tórax, infiltrado alveolar, oligúria (KO *et al.*, 1999; HERRMANN-STORCK, 2010), proteinúria, hematúria, aumento da creatinina sérica (JAUREGUIBERRY *et al.*, 2005), hemorragias, icterícia e sufusão conjuntival (KO *et al.*, 2009; GAMAGE *et al.*, 2012).

A tríade de sintomas formada por icterícia, falência renal aguda e hemorragia é considerada a forma clássica da doença, sendo também chamada de doença ou mal de Weil (LEVETT, 2001; VINETZ, 2001; MCBRIDE *et al.*, 2005). Esta tríade de sintomas foi primeiramente descrita em seres humanos na Alemanha, no final do século XIX, entretanto, não foi relacionada com a bactéria causadora da leptospirose. Posteriormente, com a identificação da bactéria como causadora da doença e desta tríade de sintomas como uma forma frequente de apresentação clínica, homenageou-se o médico que primeiro havia descrito esta combinação de sintomas com o nome da síndrome, sendo por isso chamada de doença ou mal de Weil. Apesar da tríade de sintomas ser considerada um sinônimo de leptospirose, nem todos os pacientes com manifestações graves manifestam estes sintomas.

Em seres humanos, a letalidade da doença para pacientes que necessitam de internação é superior a 10% (WHO, 1982; FAINE *et al.*, 1999). A apresentação de hemorragia pulmonar pode aumentar a letalidade para proporções tão altas como 55% (GOUVEIA *et al.*, 2008), sendo esta apresentação clínica inclusive considerada

um dos mais fortes fatores preditivos associados a óbito em infecções graves (BERNARDI *et al.*, 2012).

1.5 Fatores associados à progressão para doença

De todos os indivíduos que são infectados pela *Leptospira*, apenas uma fração manifesta sinais clínicos (BROCKMANN *et al.*, 2010; AGAMPODI *et al.*, 2011). Durante um surto na Tailândia, dentre os expostos à fonte ambiental de transmissão que tiveram evidência sorológica de infecção, apenas 39% apresentaram febre, indicando que nos demais a infecção foi assintomática (GONSALEZ *et al.*, 1998; PHRAISUWAN *et al.*, 2002). Exceto por investigações conduzidas em contextos específicos, como o de surto, referido anteriormente, não há relatos na literatura sobre qual a razão entre o número de infecções subclínicas para cada caso de leptospirose grave (MCBRIDE *et al.*, 2005), o que dificulta estimar a carga da leptospirose na população. Além disso, as razões para que alguns indivíduos infectados adoeçam enquanto outros permaneçam assintomáticos não está completamente elucidada. Entretanto, essas razões tem sido atribuídas principalmente às diferenças de susceptibilidade entre cada hospedeiro, a diferenças no tamanho do inóculo infectante ou a diferenças genéticas das cepas infectantes (FAINE *et al.*, 1999).

1.5.1 Tamanho do inóculo infectante e via de inoculação

O tamanho do inóculo infectante e a via de inoculação são características que estão associadas à progressão clínica (Quadro 1). Em estudos experimentais com hamsters (*Mesocricetus auratus*), animais que tiveram a pele escarificada antes do contato com *Leptospira* foram a óbito em uma frequência 6 vezes maior que os animais expostos a bactéria com a pele íntegra (BATISTA *et al.*, 2010). A inoculação de *Leptospira* pela via oral em hamsters causou menos óbitos do que a inoculação intraperitoneal, subcutânea, conjuntival ou em área cutânea escarificada (MACEDO *et al.*, 2004). A presença de lesões na pele ou mucosas pode facilitar a penetração

de *Leptospira*, fazendo com que um maior inóculo da bactéria alcance a corrente sanguínea, afetando a progressão clínica da doença (MONAHAN *et al.*, 2009).

Quadro 1. Estudos sobre inóculo infectante, via de inoculação e a associação com a progressão clínica de leptospirose.

Estudo	Número de animais	Metodologia	Resultados / Conclusões	Críticas
BATISTA <i>et al.</i> , 2010	120	250 µL de inóculo foram depositados em abdômen íntegro e escarificado de hamsters (<i>Mesocricetus auratus</i>). Animais foram observados por 21 dias.	98,3% dos animais escarificados e 15,8% dos animais íntegros foram a óbito.	Dificuldade em avaliar a concentração de <i>Leptospira</i> utilizado. Não foram testadas diferentes concentrações do agente. Pouca descrição dos sinais clínicos apresentados pelos animais.
MACEDO <i>et al.</i> , 2004	60	500 µL de inóculo foram aplicados por via intraperitoneal, subcutânea, escarificação cutânea, oral ou conjuntival em hamster (<i>Mesocricetus auratus</i>). Animais foram observados por 21 dias.	100% de letalidade para animais inoculados por via intraperitoneal, 80 % para escarificação cutânea, 70% para via subcutânea e conjuntival e 30% para oral.	Dificuldade em avaliar a concentração de <i>Leptospira</i> utilizado. Não foram testadas diferentes concentrações do agente. Pouca descrição dos sinais clínicos apresentados pelos animais.
SILVA <i>et al.</i> , 2008	92	Hamsters foram inoculados intraperitonealmente com concentrações de 10^0 a 10^5 leptospiras de diferentes cepas, sendo observados até apresentarem hemorragia externa e outros sinais clínicos	As cepas virulentas causaram doença e óbito com inóculos menores do que 200 leptospiras. Inóculos de 10^3 causaram hemorragia pulmonar macroscópica, enquanto inóculos menores causaram focos microscópicos de hemorragia alveolar.	Diferentes concentrações foram testadas, porém com uma única via de inoculação que não mimetiza a via de inoculação real.

Em um estudo experimental com hamsters (*Mesocricetus auratus*), a inoculação de 10^3 ou mais bactérias por via intraperitoneal causou, no décimo dia após a infecção, lesões macroscópicas pulmonares com sangramento difuso. Animais inoculados com menos de 10^3 bactérias apresentaram, no mesmo momento de avaliação, apenas lesões microscópicas de hemorragia alveolar focal (SILVA *et al.*, 2008). Em cães, diferentes concentrações de *Leptospira* no momento de inoculação causaram manifestações clínicas que variaram de febre transiente até uremia e morte (NAVARRO *et al.*, 1981).

1.5.2 Diferenças genéticas entre cepas infectantes

Especula-se que diferenças genéticas entre cepas de *Leptospira* possam ser responsáveis por parte da diferença de progressão clínica que é observada em pacientes. Em um estudo experimental com hamsters (*Mesocricetus auratus*), animais inoculados com cepas de *Leptospira interrogans* evoluíram para óbito entre

7 e 14 dias após a infecção, sendo que animais inoculados com cepas de *Leptospira noguchi* evoluíram para óbito entre 7 e 22 dias após inoculação (SILVA *et al.*, 2008). No mesmo estudo, foram identificadas duas cepas de *L. interrogans*, uma isolada originalmente de um ser humano e outra de um rato, que não foram capazes de causar doença ou colonização no modelo testado. Os autores deste estudo hipotetizam que uma possível explicação para que a cepa isolada de um rato não tenha sido capaz de causar doença é que o isolado original foi obtido de um animal assintomático, sendo aceito que cepas avirulentas colonizem tecido renal de hospedeiros (HAAKE *et al.*, 1991). Para o isolado obtido de um ser humano, que originalmente havia manifestado sinais clínicos graves de leptospirose, os autores hipotetizam que a não colonização do modelo animal pode ter ocorrido devido à quantidade de passagens da cultura em meio *in vitro*, o que pode ter causado mutações que alteram a virulência da cepa (SILVA *et al.*, 2008).

A análise comparativa do genoma de cepas de *Leptospira* virulentas e saprófitas permitiu a identificação de mais de 900 genes que estão presentes exclusivamente nas cepas patogênicas da bactéria (ADLER *et al.*, 2011), entretanto, muitos destes genes tem função desconhecida. O desenvolvimento de técnicas de mutagênese em *Leptospira* spp. patogênicas permitiram a identificação e atenuação de genes associados à virulência. Estes genes estão relacionados com a expressão de proteínas que tem propriedades similares a de toxinas e de proteínas de superfície que mediam a adesão bacteriana nas células (CHOU *et al.*, 2012). Também já foi descrito que cepas mutantes com alterações na síntese de proteínas Loa22 tem virulência atenuada em modelos animais (RISTOW *et al.*, 2007). Havia sido hipotetizado que estas proteínas seriam importantes para a infecção de hospedeiros devido a sua similaridade com a OmpA (*outer membrane protein A*, proteína de membrana externa A), que tem função de adesão, tendo essa hipótese sido confirmada no estudo acima citado.

1.5.3 Características inerentes aos hospedeiros

Características inerentes aos hospedeiros também podem influenciar a progressão clínica de indivíduos infectados. Exposições prévias do hospedeiro podem diminuir a virulência de infecções subsequentes enquanto houver anticorpos circulantes (FAINE *et al.*, 1999). Em um estudo executado com cães vacinados, os

animais sobreviveram a desafio com cepas virulentas por até um ano após a vacinação (KLAASEN *et al.*, 2003).

Fatores associados com óbitos em pacientes hospitalizados por leptospirose já foram descritos. O nível de copeptina, molécula com o mesmo precursor da vasopressina, que se encontra em níveis elevados em quadros hemorrágicos e de choque séptico, já foi descrito como capaz de predizer a evolução clínica de pacientes (LIMPER *et al.*, 2010). A detecção de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) circulante em pacientes com leptospirose esteve associado com a evolução para formas clínicas mais graves e óbitos em um estudo (TAJIKI; SALOMÃO, 1996). Entretanto, outro estudo identificou uma associação inversa entre os níveis de TNF- α e o desfecho fatal (KYRIAKIDIS *et al.*, 2011). A concentração sérica de outras moléculas, como a pentraxina-3, interleucina-6 e interleucina-8 (WAGENAAR *et al.*, 2009) e interleucina-10 (KYRIAKIDIS *et al.*, 2011), também estiveram associadas com a evolução para formas mais graves e óbitos. Em um estudo experimental com animais que possuíam deficiência na expressão de receptores Toll-like 4 (TLR4) e com animais normais, a presença de receptores TLR4 preveniu a infecção aguda letal e controlou a evolução clínica durante a infecção crônica subletal por *Leptospira* (VIRIYAKOSOL *et al.*, 2006).

Outros fatores associados a óbito foram identificados, como a apresentação clínica de leptospirose com estado mental alterado, que aumentou em 9 vezes a estimativa de risco para óbito em paciente internados em Salvador. Outras características associadas com óbito neste mesmo estudo foram a presença de oligúria (*odds ratio* de 5,3), uremia acima de 53,5 milimolares por litro (*odds ratio* de 3,9), creatinina sérica acima de 354 micromolares por litro (*odds ratio* de 2,8) e a presença de insuficiência respiratória (*odds ratio* de 2,6) (KO *et al.*, 1999), além de níveis de bilirrubina acima de 6 miligramas por decilitro de sangue (*odds ratio* de 2,2), trombocitopenia abaixo de 70.000 plaquetas por milímetro cúbico de sangue (*odds ratio* 2,6) (SPICHLER *et al.*, 2008) e hipercalemia (risco relativo de 5,9) (PANAPHUT *et al.*, 2002). Além dos fatores citados acima, características demográficas de indivíduos infectados com leptospirose tem sido investigadas como possíveis fatores de progressão clínica da doença.

2 Revisão bibliográfica: progressão clínica de leptospirose associada a sexo e idade

Uma das formas de avaliar se a progressão clínica de leptospirose está associada ao sexo e à idade é acompanhando indivíduos de diferentes faixas etárias e sexos que foram expostos às mesmas condições epidemiológicas, com o objetivo de medir a frequência de adoecimento e de desenvolvimento de determinadas complicações da doença. A descrição da ocorrência de surtos de leptospirose gera uma oportunidade única para este fim. A descrição de surtos, entretanto, é limitada pela existência de vieses inerentes às condições ambientais e de exposição epidemiológica que possibilitam a ocorrência de um surto, que não necessariamente são as mesmas condições que possibilitam a transmissão urbana da leptospirose. É possível que indivíduos de determinado sexo ou faixa etária se exponham mais durante surtos, o que afeta a incidência estratificada por estas características nestes estudos. Trabalhos que avaliam a associação entre sexo e idade com progressão clínica da leptospirose são descritos nos Quadros 2 (estudos de séries históricas) e 3 (estudos de caso-controle e de investigação de surtos).

Em uma investigação de um surto de leptospirose entre triatletas ocorrido no estado americano de Illinois em 1998, foram contatados 834 (95%) de todos os atletas participantes do evento, sendo que 98 destes (12%) apresentaram sinais clínicos compatíveis com leptospirose após a conclusão do evento. Os autores deste trabalho conseguiram obter amostras clínicas para a execução de exames laboratoriais de 85 dos pacientes suspeitos, sendo que 52 (61%) deles foram confirmados laboratorialmente como tendo sido infectados por *Leptospira*. (MORGAN *et al.*, 2002). Não foi encontrada diferença de idade ou sexo entre os pacientes suspeitos e os pacientes não suspeitos de leptospirose (MORGAN *et al.*, 2002), sugerindo que idade e sexo não foram fatores associados ao risco de adoecimento por leptospirose.

Outra investigação de surto ocorreu em indivíduos participantes de um evento de aventura em Bornéu, Malásia. Após a notificação de 20 participantes terem desenvolvido doença febril aguda quando retornaram aos Estados Unidos, uma investigação de todos participantes foi iniciada. Dos 304 atletas participantes, 189 (62%) foram contatados. A idade mediana dos pacientes foi 34 anos (mínima de 21 e máxima de 50 anos), sendo que 74% destes indivíduos eram do sexo masculino.

Destes pacientes, 80 (42%) preenchiam a definição de caso, baseada em critérios clínicos. Também não foi encontrada diferença significativa de idade ou sexo em pacientes doentes e não doentes (SEJVAR *et al.*, 2003). Os sinais clínicos mais frequentemente reportados pelos 80 pacientes definidos como casos foram tremores (50% dos casos), mialgia (50%), febre (49%), cefaleia (47%), diarreia (33%), artralgia (30%), dor nos membros inferiores/panturrilhas (30%) e hiperemia ocular (22%). Nenhum paciente classificado como caso reportou icterícia, hemorragia pulmonar, meningoencefalite ou qualquer outra manifestação clínica grave da doença (SEJVAR *et al.*, 2003). Este estudo também sugere que sexo e idade não estão associados ao risco de desenvolver leptospirose.

Quadro 2. Séries históricas de leptospirose que trazem informações sobre a frequência ou incidência da doença estratificados por sexo ou idade.

Estudo	Metodologia	Resultados/Conclusões	Críticas
BAKOSS <i>et al.</i> , 2012	Série histórica de casos	Em três períodos entre 1954 e 2006 foram identificados cerca de 2,5 mais casos em homens do que em mulheres. Os picos de incidência ocorreram em indivíduos com idade maior do que 40 anos.	Cálculo de incidência apenas por idade. Ausência de dados de infecções subclínicas.
BERLIOZ-ARTHAUD <i>et al.</i> , 2007	Série histórica de casos	Entre 2003 e 2005, foram reportados 5 vezes mais casos em homens do que em mulheres, sendo que a mediana de idade de indivíduos infectados foi de 27 anos.	Foco do trabalho em doenças negligenciadas. Não traz dados de incidência.
CHOW <i>et al.</i> , 2008	Série histórica de casos	Entre 2001 e 2006 foram reportados cerca de 4 vezes mais casos em homens do que em mulheres. A incidência foi maior para indivíduos entre 55 e 64 anos.	Cálculo de incidência apenas por idade. Ausência de dados de infecções subclínicas.
EVERARD <i>et al.</i> , 1995	Série histórica de casos	Entre 1979 e 1991 a incidência de leptospirose grave em homens foi 3 vezes maior do que em mulheres. A incidência da doença aumentou com o avanço da idade em ambos os sexos.	Utiliza apenas casos graves. Ausência de dados de infecções subclínicas.
JANSEN <i>et al.</i> , 2005	Série histórica de casos	Entre 1962 e 2003 a incidência de leptospirose grave na Alemanha foi cerca de 4 vezes maior em homens do que em mulheres. A mediana de idade dos casos foi de 45 anos.	Informações de sexo e idade disponível apenas para casos ocorridos entre 1997 e 2003. Utiliza apenas casos graves. Ausência de dados de infecções subclínicas.
KARIV <i>et al.</i> , 2001	Série histórica de casos	Entre 1985 e 1999, 90% dos casos de leptospirose ocorridos em Israel acometeram homens, sendo que a média de idade de indivíduos afetados foi de 42 anos.	Não traz dados de incidência.
THORNLEY <i>et al.</i> , 2002	Série histórica de casos	Entre 1990 e 1998 a incidência de leptospirose grave na Nova Zelândia foi cerca de 10 vezes maior em homens do que em mulheres. A mediana de idade dos casos era de 36 anos.	Utiliza apenas casos graves. Ausência de dados de infecções subclínicas.

Outro surto ocorreu em tropas militares em Israel, no ano de 2002. Uma tropa de 27 homens participou de exercícios militares aquáticos por duas semanas. Sete destes militares buscaram auxílio médico entre 11 e 19 dias após a conclusão do exercício militar, com queixas de febre, prostração, perda de peso, cefaleia, dor abdominal, náusea, tosse e mialgia. Todos os participantes foram testados laboratorialmente para leptospirose com o teste de microaglutinação e os sete foram confirmados como tendo sido infectados, nenhuma infecção adicional foi identificada. Por todos os indivíduos envolvidos serem militares em serviço, a idade dos indivíduos expostos era similar, não tendo sido possível avaliar se haveria diferença na idade entre indivíduos infectados e não infectados (HADAD *et al.*, 2006).

Em todo mundo, análises de séries históricas de casos de leptospirose mostram que a ocorrência da doença clínica é mais comum em indivíduos com idade aproximada entre 30 e 50 anos e do sexo masculino. Em Israel, 90% dos casos diagnosticados entre 1985 e 1999 ocorreram em indivíduos do sexo masculino, sendo que a média de idade dos indivíduos afetados foi de 42 anos. Nesta análise de casos, a amplitude de idade dos indivíduos recrutados foi de 16 e 66 anos (KARIV *et al.*, 2001). Em outro estudo realizado em ilhas do Pacífico Ocidental entre setembro de 2003 e dezembro de 2005, foram reportados aproximadamente 5 vezes mais casos em indivíduos do sexo masculino do que no sexo feminino, sendo que a mediana de idade dos indivíduos infectados foi de 27 anos (BERLIOZ-ARTHAUD *et al.*, 2007). No Brasil, em um estudo realizado em Manaus, 85,8% dos indivíduos afetados eram do sexo masculino e 74% dos casos reportados ocorreram em indivíduos com idades entre 14 e 44,9 anos (JESUS *et al.*, 2012). Entretanto, nenhum dos estudos citados acima estimou valores de incidência da doença para diferentes faixas etárias nem para os diferentes sexos. Outros estudos, entretanto, estimaram medidas de incidência estratificadas para sexo e para diferentes faixas etárias.

Em um estudo executado em Barbados em que foram analisados casos confirmados de leptospirose ocorridos entre 1979 e 1991, foi identificada uma incidência três vezes maior em indivíduos do sexo masculino quando comparados a indivíduos do sexo feminino, e aproximadamente 10 vezes maior em indivíduos do sexo masculino com menos de 35 anos, quando comparados com indivíduos do sexo feminino da mesma idade. A incidência geral reportada foi de 13,3 casos para

cada 100.000 indivíduos por ano, sendo que em homens esta medida foi de 20,9 casos para cada 100.000 indivíduos por ano e em mulheres foi de 6,2 casos para cada 100.000 indivíduos por ano. As incidências de doença clínica foram mais elevadas para indivíduos com idade avançada, em especial homens entre 65 e 74 anos (36,8 casos / 100.000 habitantes por ano) e mulheres entre 55 a 64 anos (19,7 casos / 100.000 habitantes por ano) (EVERARD *et al.*, 1995).

Em outro trabalho, publicado com dados obtidos da Nova Zelândia entre 1990 e 1998, foram identificados 1.397 casos de leptospirose clínica, o que corresponde a uma incidência média anual de leptospirose de 4,4 casos para cada 100.000 habitantes. De todos os casos identificados, 90,4% eram em indivíduos do sexo masculino. A incidência média anual em indivíduos do sexo masculino foi de 8,0 casos a cada 100.000 habitantes, e em indivíduos do sexo feminino foi de 0,8 casos a cada 100.000 habitantes, o que corresponde a uma incidência aproximadamente 10 vezes maior em indivíduos do sexo masculino do que em indivíduos do sexo feminino. Os casos reportados tinham idade entre 4 e 80 anos, com mediana de 36 anos. Quase 60% dos casos reportados neste estudo tinham idade entre 25 e 44 anos, sendo as maiores incidências médias anuais reportadas da doença foram para homens na faixa etária entre 35 a 44 anos, com 14,4 casos a cada 100.000 habitantes e para mulheres da mesma faixa etária, com 1,7 casos a cada 100.000 habitantes (THORNLEY *et al.*, 2002).

Em um trabalho executado a partir dos dados de notificação obrigatória de doenças da Alemanha entre os anos de 1962 a 2003, foram reportados 2.694 casos no período, com declínio da incidência média anual de 0,11 casos a cada 100.000 habitantes entre 1962 e 1967 para 0,04 casos a cada 100.000 habitantes entre 1992 e 1997. Dados demográficos como idade e sexo foram obtidos para os casos reportados entre 1997 e 2003. Neste período, foram detectados 317 casos de leptospirose, dos quais 78% eram do sexo masculino e 80% tinham idade entre 30 e 69 anos, sendo que a mediana de idade encontrada foi de 45 anos, com idade mínima de 1 mês e máxima de 80 anos. A maior incidência média anual da doença ocorreu em indivíduos com idade entre 60 e 69 anos, com 0,1 casos por 100.000 indivíduos, sendo que a menor incidência média anual reportada foi para indivíduos com idade inferior a 10 anos, com 0,004 casos a cada 100.000 indivíduos (JANSEN *et al.*, 2005).

Quadro 3. Investigações de surtos de leptospirose ou estudos de caso-controle que trazem informações sobre a frequência ou medidas de associação da doença com sexo ou idade.

Estudo	Metodologia	Resultados/Conclusões	Críticas
HADAD et al., 2006	Investigação de surto	7 militares israelenses desenvolveram sinais clínicos de leptospirose após exercícios militares. Os demais membros da tropa foram testados para leptospirose, não tendo sido encontradas outras infecções.	Por serem militares, os indivíduos infectados eram do mesmo sexo e faixa etária similar.
JANSEN et al., 2007	Caso-controle	Foram identificados 338 casos de leptospirose na Alemanha entre 1997 e 2005. Homens tinham chance cerca de 3 vezes maior de serem hospitalizados do que mulheres, além terem chance 4 vezes maior de apresentarem icterícia, 3 vezes maior para insuficiência renal e 8 vezes maior para hemorragia, não estando estas diferenças associadas a exposições, sorovares infectantes ou comportamento de busca de atendimento.	Utiliza apenas casos graves. Ausência de dados de infecções subclínicas.
KO et al., 1999	Caso-controle	Foram identificados 326 casos em parte do ano de 1996. Indivíduos com idade maior do que 36 anos tiveram chance 4 vezes maior de evoluírem para óbito do que pacientes com 36 anos ou menos. Não foi encontrada associação entre sexo e óbito.	Utiliza apenas casos graves. Ausência de dados de infecções subclínicas.
MORGAN et al., 2002	Investigação de surto	Triatletas que desenvolveram sinais clínicos compatíveis com leptospirose tinham mediana de idade de 35 anos, sendo que 82% eram do sexo masculino. Não foi encontrada diferença de idade ou sexo entre pacientes suspeitos e não suspeitos de leptospirose.	Não são descritas características relativas a sexo e idade dos pacientes confirmados laboratorialmente.
SEJVAR et al., 2003	Investigação de surto	80 participantes de um evento de aventura foram classificados como tendo desenvolvido leptospirose. Não foi encontrada diferença de idade ou sexo entre os participantes doentes e não doentes.	Não são descritas características relativas a sexo e idade dos pacientes confirmados laboratorialmente.
SPICHLER et al., 2008	Caso-controle	Pacientes com idade maior do que 40 anos tinham chance cerca de 2 vezes maior de evoluírem para óbito do que pacientes com menos de 40 anos. Não foi encontrada associação entre sexo e óbito.	Utiliza apenas casos graves. Ausência de dados de infecções subclínicas.

Em um estudo realizado na Eslováquia com pacientes identificados como tendo leptospirose clínica em três períodos (1954 a 1963, 1976 a 1985 e 1997 a 2006), a razão entre homens e mulheres infectados identificados nos três períodos foi de 2,8 para o primeiro período, 2,5 para o segundo e 2,6 para o terceiro, tendo autores considerado que esta razão permaneceu a mesma entre os períodos (BAKOSS *et al.*, 2012). Em relação à incidência estratificada por faixa etária, dois picos de incidência foram identificados no primeiro e segundo períodos analisados,

correspondendo a indivíduos com idade entre 15 e 19 anos e com 40 a 49 anos. No terceiro período analisado, o pico de incidência ocorreu em indivíduos com idade entre 60 e 69 anos. Não foram identificados casos da doença em indivíduos menores de 5 anos em dois dos três períodos estudados, e no período em que foram identificados casos nesta faixa etária, estes casos representaram 3% dos casos do período, com incidência nesta faixa etária cerca de 8 vezes inferior à incidência média em todas as faixas etárias do mesmo período (BAKOSS *et al.*, 2012).

Em Taiwan, um estudo reportando 291 casos de leptospirose identificados entre 2001 e 2006 concluiu que a incidência média anual de casos era de 0,21 a cada 100.000 habitantes. Um total de 83,5% dos casos identificados eram do sexo masculino. Casos foram identificados em todas as faixas etárias pesquisadas (menor do que 15 anos até maior de 84 anos), porém a maior incidência foi identificada para indivíduos com idade de 55 a 64 anos, com incidência média anual de 0,57 casos a cada 100.000 habitantes (CHOW *et al.*, 2008).

Em um estudo do tipo caso-controle realizado em São Paulo, pacientes com leptospirose confirmada que evoluíram para óbito tinham 2,2 vezes mais chance de terem idade acima de 40 anos do que pacientes com leptospirose confirmada que sobreviveram à infecção, mesmo após controle para outras variáveis associadas (SPICHLER *et al.*, 2008). O grupo que evoluiu para óbito apresentou idade média de 43 anos, com desvio padrão de 15 anos, enquanto o grupo que sobreviveu apresentou idade média de 35 anos, com desvio padrão de 16 anos. A razão entre homens e mulheres foi de 5 para 1 em ambos os grupos (óbitos e sobreviventes), não tendo sido identificada associação entre sexo e evolução clínica desfavorável (SPICHLER *et al.*, 2008)

Em outro estudo baseado em um sistema de vigilância populacional realizado em Salvador com pacientes que possuíam evidência laboratorial de infecção por leptospirose, indivíduos com idade maior do que 36 anos tiveram uma chance 4,4 vezes maior de evoluir para óbito do que indivíduos com idade menor ou igual a 36 anos, mesmo após controle para outras variáveis (KO *et al.*, 1999). Entretanto, o sexo não esteve associado com óbito neste estudo.

Em um estudo de base populacional realizado na Alemanha, entre 1997 e 2005, a incidência de hospitalização por leptospirose foi maior em homens do que em mulheres. Homens também apresentaram uma maior frequência de icterícia,

comprometimento renal e hemorragia, sendo que nenhuma destas diferenças estava associada às exposições epidemiológicas, sorovares infectantes presuntivos ou a comportamento de busca de atendimento de saúde associado ao sexo (JANSEN *et al.*, 2007). Os autores hipotetizaram então que indivíduos do sexo feminino cursam uma forma mais branda da doença, e que isso poderia explicar porquê indivíduos do sexo masculino apresentam uma incidência de manifestações graves maior que indivíduos do sexo feminino, apesar da incidência de infecções ser similar em ambos os sexos (JANSEN *et al.*, 2007).

O sexo já foi reportado em outros estudos como um fator associado à gravidade e a diferentes desfechos clínicos em outras doenças. Em um estudo experimental de infecção com *Listeria monocytogenes* em ratos, os animais fêmeas apresentaram maior letalidade, maior número de bactérias em tecidos e maiores níveis de interleucina-10, sendo que a pior evolução clínica identificada em animais fêmeas foi eliminada com o uso de animais nocaute para o gene codificante de interleucina-10 (PASCHE *et al.*, 2005). Sabe-se também, que estrogênio estimula a produção de citocinas anti-inflamatórias, entre elas a interleucina-10 (SALEM, 2004). Outro estudo, com *Coxiella burnetii*, identificou efeito oposto. Animais fêmeas tinham menor carga do agente em tecidos do que animais machos, entretanto, após ovariectomia, a carga do agente elevou-se a níveis mais altos do que os encontrados em machos (LEONE *et al.*, 2004). Em um estudo sobre a epidemiologia da amebíase no Vietnã, apesar de homens terem maior incidência de abscessos hepáticos amebianos, os autores levantaram evidências de que ocorreram maiores taxas de infecção intestinal pelo parasita em mulheres, indicando que o sexo pode estar associado a ocorrência de complicações após a colonização pelo parasita (BLESSMANN *et al.*, 2002). Um outro estudo, sobre infecção por *Paracoccidioides brasiliensis*, indicou que o estradiol inibiu uma etapa importante do ciclo de desenvolvimento do fungo no hospedeiro, o que explicaria uma aparente maior resistência de indivíduos do sexo feminino à paracoccidioidomicose (LOOSE *et al.*, 1983).

3 Racional e Hipótese

A integração entre pesquisa e serviço de saúde é parte do desafio que o Sistema Único de Saúde precisa superar. Entender como se dá a distribuição de doenças na população brasileira é crucial para organizar os serviços de saúde para preveni-las e atende-las. Além disso, a ampliação do conhecimento científico sobre a patogênese das doenças pode permitir identificar grupos de pacientes que possuam um prognóstico pior, podendo ajudar a guiar o manejo clínico da doença nestes grupos. Gerar conhecimento sobre doenças que afetam desproporcionalmente populações marginalizadas é necessário para que políticas de inclusão social, visando estas populações, possam ser melhor desenvolvidas.

Apesar da existência de relatos discordantes sobre o efeito do sexo e da idade no risco para infecção e progressão clínica por leptospirose, há evidências em uma comunidade de Salvador de que a soroprevalência de infecções subclínicas em homens é cerca de 1,4 vezes maior do que em mulheres (REIS *et al.*, 2008) mas que a incidência de leptospirose grave é cerca de 5 vezes superior em homens do que em mulheres (KO *et al.*, 1999). Isto indica que homens podem cursar uma forma mais grave da doença. Esta hipótese já foi levantada anteriormente (JANSEN *et al.*, 2007) e contradiz o dogma que justifica a maior incidência de leptospirose grave em homens em função destes serem mais frequentemente expostos a ambientes contaminados por *Leptospira*.

A infrequente notificação de leptospirose grave em indivíduos com idade inferior a 15 anos tem sido atribuída principalmente à ausência de exposição epidemiológica ao agente patogênico por indivíduos desta faixa etária. No entanto, existem evidências sorológicas de que indivíduos mais jovens são frequentemente infectados (BERTHERAT *et al.*, 1999; REIS *et al.*, 2008). Por sua vez, isto indica que crianças podem cursar com uma forma mais branda da doença, sendo por isso a leptospirose grave menos reportada em indivíduos desta faixa etária.

Apesar das observações anteriormente citadas sugerirem um potencial papel do sexo e da idade na patogênese da leptospirose, há poucos trabalhos que tenham investigado se estas características estão associadas ao risco de infecção e à progressão clínica da doença para formas mais graves. Desta forma, a hipótese deste trabalho é de que o sexo e a idade tem um papel no risco de progressão

clínica da doença, seja para forma grave da doença após a infecção ou para óbito uma vez desenvolvida a forma clínica grave.

4 Objetivos

4.1 Objetivo geral

- Investigar a influência da idade e do sexo no risco de infecção, progressão clínica e óbito da leptospirose.

4.2 Objetivos específicos

- Estimar a incidência de infecções subclínicas por *Leptospira* sp. de acordo com idade e sexo.
- Estimar a incidência de leptospirose grave em comunidades carentes de Salvador de acordo com idade e sexo através de um estudo de vigilância populacional em um hospital de referência para doenças infecciosas.
- Estimar a mortalidade por leptospirose em comunidades carentes de Salvador de acordo com idade e sexo através de um estudo de vigilância populacional em um hospital de referência para doenças infecciosas.
- Estimar o número de infecções subclínicas por *Leptospira* sp. para cada caso de leptospirose grave em comunidades carentes de Salvador.
- Estimar o número de infecções subclínicas por *Leptospira* sp. para cada óbito por leptospirose em comunidades carentes de Salvador.

5 Metodologia

5.1 Desenho geral do estudo

Para atender o objetivo geral deste estudo, propomos estimar a incidência de infecções subclínicas por *Leptospira* em uma comunidade carente de Salvador e comparar com as incidências de infecções graves e óbitos por leptospirose em comunidades carentes de Salvador, com nível de pobreza similar àquele observado na comunidade onde foi estimada a incidência de infecções subclínicas.

5.2 Infecções subclínicas por leptospirose

Os dados de incidência de leptospirose subclínica foram obtidos em um estudo de coorte executado de 2003 a 2006 no bairro do Pau da Lima, em Salvador. O bairro de Pau da Lima compreende uma área onde residem cerca de 120.000 habitantes. Este bairro apresentou um forte crescimento populacional a partir da década de 60, que ocorreu de forma desordenada acarretando a precária infraestrutura urbana lá encontrada. A área em que foi executado o estudo de coorte possui dimensão de 0,46 km² (Figura 3) e é caracterizado geograficamente por ter vales de mais de 50 metros de diferença de profundidade em relação ao topo e é uma área carente da cidade, com esgotos abertos próximos às residências dos habitantes, com locais de acúmulo de lixo e risco de alagamento nas casas, especialmente nas porções baixas dos vales. Além disso, mesmo durante o dia observa-se a presença de roedores no local.

No ano de 2003 foram recrutados 2003 (dois mil e três) indivíduos a partir de uma amostra aleatória de casas previamente identificadas em uma área da comunidade de Pau da Lima para compor uma coorte fechada sem exclusão. Os critérios de seleção de participantes para a coorte eram: dormir 3 ou mais noites por semana dentro da área da coorte no mês anterior à visita e possuir 5 ou mais anos de idade. Foram considerados como critérios de exclusão a existência de barreira de comunicação entre o entrevistado e o entrevistador devido à existência de condições especiais (déficit no desenvolvimento mental, por exemplo) e à incapacidade de localizar os participantes após 5 tentativas. Seguidamente anuais dos indivíduos

incluídos no estudo foram realizados em meses caracterizados por possuírem menor índice pluviométrico nos anos de 2003 a 2006, totalizando 4 visitas domiciliares a cada paciente (uma de base e três de seguimento). Participantes que não foram encontrados ou recusaram-se a participar em um dos inquéritos de seguimento não foram excluídos dos inquéritos subsequentes. Em todas as etapas de coleta de dados no campo foram obtidas amostras de sangue dos participantes e também foram aplicados questionários epidemiológicos e sociodemográficos validados previamente. As amostras de sangue colhidas foram encaminhadas para análise laboratorial utilizando o teste de soroprecipitação microscópica – MAT, teste padrão ouro para o diagnóstico de leptospirose. As amostras obtidas na coorte foram testadas com uma bateria de 9 sorovares (*Icterohaemorrhagiae* L1-130, *Icterohaemorrhagiae* M20, *Icterohaemorrhagiae* Verdun, *Canicola* Utrecht, *Canicola* L1-133, *Patoc* 1, *Autumnalis* Akiyami A, *Ballum* Mus 127 e *Grippotyphosa* Duyster). A definição sorológica de infecção subclínica consistiu em soroconversão para título igual ou superior a 1:50 ou aumento de 4 vezes no título entre amostras de anos consecutivos, na ausência de um diagnóstico clínico de leptospirose no período.

No primeiro ano de seguimento, concluído em 2004, foram seguidos 1578 indivíduos. A taxa de seguimento do primeiro ano da coorte foi de 79%, sendo a principal razão para pacientes não terem sido seguidos a mudança para outra área da cidade (aproximadamente 60% das perdas), e a recusa (aproximadamente 20% das perdas) e não localização do indivíduo após 5 visitas (aproximadamente 20% das perdas). No segundo ano de seguimento, concluído em 2005, foram seguidos 1371 (68,4%) dos 2003 indivíduos originalmente recrutados. A taxa de perda para o segundo ano de seguimento foi de 31,5%. No terceiro ano de seguimento, foram seguidos 1408 (70,3%) dos indivíduos, sendo que a taxa de perda para o terceiro ano de seguimento foi de 29,7%. Estas perdas possivelmente podem representar um viés de seguimento neste estudo, já que é possível que pessoas que residam em locais com menos infra-estrutura busquem mais frequentemente se mudar para locais com melhor infra-estrutura. Desta forma, é possível que a incidência de leptospirose calculada com base nas pessoas que foram seguidas seja menor do que se ela fosse calculada com todas as pessoas que foram recrutadas.

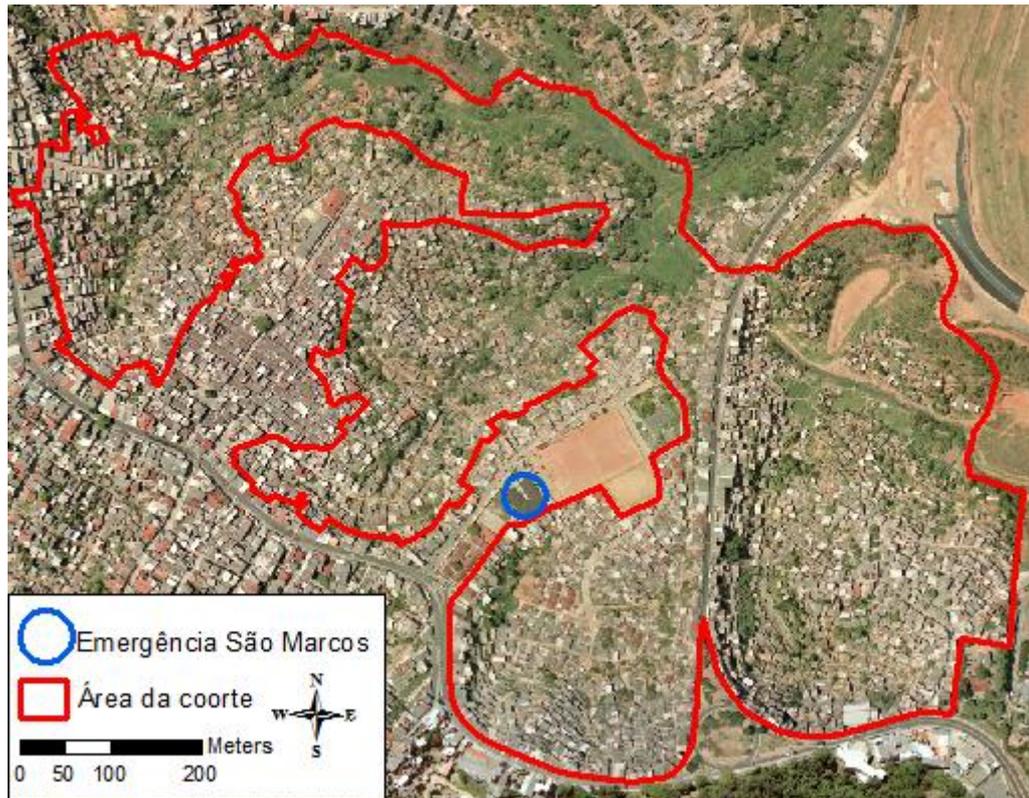


Figura 3. Área do bairro do Pau da Lima onde foram recrutados os pacientes do estudo de coorte conduzido entre 2003 e 2006.

5.3 Infecções graves e óbito por leptospirose

Os casos de leptospirose grave e de óbitos por esta doença foram obtidos a partir de um sistema de vigilância de base populacional que funciona continuamente desde 1996 no Hospital Couto Maia, instituição de referência do Estado da Bahia para doenças infectocontagiosas. Neste hospital, são recrutados para participarem do estudo todos os pacientes oriundos do Estado da Bahia que são internados com suspeita de leptospirose ou com doença febril aguda por esclarecer. Para a análise proposta neste trabalho, foram selecionados os pacientes com infecções graves, definida pela necessidade de hospitalização para tratamento clínico, e óbitos identificados entre 2003 e 2006 de uma amostra de áreas de Salvador com níveis de pobreza similar à da área do estudo de coorte. Este período foi escolhido por compreender o mesmo intervalo de anos do estudo de coorte, realizado para determinar as infecções subclínicas por leptospirose. Contatos regulares com outros hospitais da rede pública e privada de Salvador foram realizados visando identificar casos de leptospirose que não tivessem sido referenciados ao Hospital Couto Maia.

Foram recrutados no Hospital Couto Maia, hospital Estadual de referência para doenças infecciosas, pacientes hospitalizados que apresentassem os seguintes critérios: possuir idade maior ou igual a 5 anos, suspeita de leptospirose ou de síndrome febril aguda associada à icterícia, sangramento ou insuficiência renal. Foram excluídos aqueles que recusaram a participação no estudo e aqueles em que foi impossível obter o consentimento informado do paciente ou responsável legal. Também foram excluídos os participantes com resultado de exame radiológico ou laboratorial que confirmasse outro diagnóstico que não o de leptospirose.

A coleta de dados epidemiológicos foi realizada pela entrevista com o paciente ou responsável e por revisão de prontuário de internamento após alta ou óbito. Foram colhidas no momento da admissão no hospital amostras de sangue para análises laboratoriais (teste de soroprecipitação microscópica - MAT; e ELISA) e de cultura em meio Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH). Os pacientes recrutados tiveram amostra convalescente coletada após 15 dias da coleta da primeira amostra, no hospital ou em visita domiciliar caso o paciente tivesse recebido alta.

Foi definido como caso de leptospirose grave os pacientes hospitalizados por uma síndrome febril aguda associada a pelo menos um dos seguintes sinais: icterícia, oligúria, insuficiência renal aguda ou hemorragias, e que não foram confirmados como possuindo outra causa de internamento, tendo um teste diagnóstico confirmatório ou não para leptospirose. Os testes diagnósticos confirmatórios para leptospirose envolveram os resultados de teste ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*, teste de imunoensaio enzimático) reagente, crescimento de *Leptospira* em cultura ou amostra com título único $\geq 1:800$, soroconversão ou aumento de quatro vezes no título entre amostras pareadas no teste de microaglutinação (MAT). O teste de ELISA foi feito com o kit ELISA IgM da Panbio, de acordo com instruções do fabricante. A cultura foi realizada com a semeadura de gotas de sangue do paciente internado na fase aguda da doença, em triplicata, em meio de cultura apropriada. As culturas foram mantidas a 30 graus Celsius por 3 meses, sendo feitas leituras semanais em busca do crescimento de *Leptospira*. O teste de microaglutinação (MAT) foi realizado primeiro com uma bateria de 6 sorovares, e caso houvesse reação positiva a algum destes sorovares, uma bateria completa, composta de aproximadamente 20 sorovares foi executada. Os óbitos por leptospirose foram confirmados através de revisão de prontuário.

O local de residência (georreferenciamento) dos casos de leptospirose grave em Salvador foi feito durante as visitas domiciliares ou através da localização do endereço fornecido na admissão do hospital. As casas dos participantes foram localizadas em um mapa as coordenadas relativas a estes pontos foram transferidas a um banco de dados geográfico utilizando o programa ArcView. O georreferenciamento dos casos foi efetuado para ser possível selecionar apenas os casos graves que ocorreram em setores censitários com características de pobreza similares à da área da coorte.

5.3.1 Mapeamento da Pobreza

Baseado no censo demográfico do ano de 2000, do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a Secretaria de Combate à Pobreza e às Desigualdades Sociais do Estado da Bahia (SECOMP) criou uma ferramenta que fornece indicadores socioeconômicos de Salvador, utilizando dados coletados no censo nacional. Os dados do censo nacional permitem uma caracterização da população com base em indicadores demográficos (sexo, idade) e sociais (condições de saneamento básico: abastecimento d'água, esgotamento sanitário e destino do lixo, anos de estudo e renda do responsável pelo domicílio, número de pessoas residentes por domicílio) por setor censitário. O setor censitário é a menor unidade de coleta de dados dos recenseadores, e foi utilizada esta metodologia para tentar determinar as áreas de maior precariedade social, determinando a "intensidade de pobreza" daquela área (Mapeamento de Pobreza, 2007).

Para determinar a intensidade de pobreza de determinado setor censitário, foi atribuída a classificação "precária" ou "não precária" às variáveis demográficas e sociais. O abastecimento de água foi considerado precário quando não havia distribuição de água interna em ao menos um cômodo da casa, quando a origem da água era de poço, nascente, chuva ou carro-pipa. O esgotamento sanitário foi considerado precário quando o domicílio não possuía banheiro ou sanitário, ou então quando o esgotamento sanitário se dava através de fossa rudimentar, vala, rio, lago, mar ou outros escoadouros. Foi considerado como destino de lixo precário a situação em que o lixo não era coletado, sendo queimado, enterrado, jogado em terreno baldio, na rua, no rio, lago ou mar. Foi considerado ter mais do que sete indivíduos por residência como um indicador de vida precária. O responsável pelo

domicílio ter até quatro anos de estudo também foi considerado um indicador de vida precária, assim como existirem crianças com até 6 anos na residência e o responsável pela residência ser do sexo feminino. Ter uma mulher como chefe do domicílio foi considerado como um indicador de pobreza, baseado na literatura que descreve um processo de feminização da pobreza, que se agrava a partir do momento em que a mulher se vê como a única responsável pela família devido à ausência de um companheiro que a ajude a arcar com os custos da família (NOVELLINO, 2004). A presença de responsáveis pelo domicílio com renda de até um salário mínimo foi considerada como uma categoria importante na análise, ainda que a intensidade da pobreza não possa ser reduzida à baixa renda, esta é considerada uma indicadora básica de pobreza. Através do uso de técnicas de análise fatorial foi possível representar as inter-relações dos indicadores de vida precária acima descritos, e assim criar a estratificação dos setores censitários de Salvador de acordo com uma escala de sete níveis de Intensidade de Pobreza (Mapeamento de Pobreza, 2007). Esta escala foi utilizada neste trabalho para classificar e selecionar áreas de Salvador com características sociais e ambientais similares ao do bairro Pau da Lima, permitindo assim uma melhor comparação entre as incidências de infecções subclínicas, graves e de mortalidade por leptospirose.

5.3.2 Seleção de setores censitários

O sistema de vigilância para leptospirose grave e óbitos por leptospirose identificou casos oriundos de toda a cidade de Salvador. Entretanto, os pacientes com infecções subclínicas identificados no estudo de coorte eram procedentes exclusivamente do bairro de Pau da Lima.

A área do bairro de Pau da Lima onde foi desenvolvido o estudo de coorte era composta por 13 setores censitários no ano de 2000. No censo de 2000 habitavam na área um total de 17.311 pessoas (Tabela 2). O Mapeamento de Pobreza fornece a proporção de casas em cada setor censitário que possui determinada característica precária, por exemplo, esgoto. Quando selecionados diversos setores censitários, foi possível calcular uma medida de tendência central desta proporção. Optou-se por usar a mediana e intervalos interquartílicos como medida de tendência central e de dispersão, respectivamente, da proporção de casas com a característica em questão dentro do conjunto de setores censitários selecionados.

Tabela 2. Características sociodemográficas dos setores censitários que compõe o estudo de coorte, dos setores censitários selecionados e não selecionados para a análise de casos graves e óbitos por leptospirose, e todos os setores censitários que compõe a cidade de Salvador, segundo a intensidade de pobreza.

Número de setores censitários por característica	Área da coorte n (%)	Setores selecionados n (%)	Setores não selecionados n (%)	Cidade inteira n (%)
Intensidade de pobreza	13	520	2.005	2.525
Baixíssima	0	0	481 (24,0)	481 (19,0)
Muito Baixa	0	0	459 (22,9)	459 (18,2)
Baixa	1 (7,7)	40 (7,7)	567 (28,3)	607 (24,0)
Média	7 (53,8)	280 (53,8)	416 (20,7)	696 (27,5)
Elevada	3 (23,1)	120 (23,1)	41 (2,0)	161 (6,4)
Muito Elevada	2 (15,4)	80 (15,4)	0 (0,0)	80 (3,2)
Elevadíssima	0	0	20 (1,0)	20 (0,8)
Sem classificação	0	0	21 (1,0)	21 (0,8)
População	17.311	568.380	1.876.264	2.444.644
Sexo Masculino	8.437 (48,7)	276.360 (48,6)	874.671 (46,6)	1.151.031 (47,1)
Distribuição Etária (anos)				
≤ 04	2.110 (12,2)	61.596 (10,8)	146.932 (7,8)	208.528 (8,5)
05 a 14	3.918 (22,6)	118.902 (20,9)	3114.00 (16,6)	430.302 (17,6)
15 a 24	4.046 (23,4)	132.852 (23,4)	424.872 (22,6)	557.724 (22,8)
25 a 34	3.125 (18,1)	100.719 (17,7)	335.198 (17,9)	435.917 (17,8)
35 a 44	2.226 (12,9)	75.345 (13,3)	280.572 (15,0)	355.917 (14,6)
45 a 54	1.167 (6,7)	42.379 (7,5)	182.318 (9,7)	224.697 (9,2)
≥ 55	719 (4,2)	36587 (6,4)	194836 (10,4)	231423 (9,5)
Sem classificação	-	-	136 (0,0)	136 (0,0)
Fornecimento de água precário - mediana (IIQ)*	6,7 (4,4 - 20,2)	10,8 (4,6 - 20,7)	1,6 (0,0 - 5,8)	2,7 (0,4 - 8,8)
≤20%	10 (76,9)	384 (73,8)	1906 (95,1)	2290 (90,7)
>20 e ≤40%	3 (23,1)	95 (18,3)	54 (2,7)	149 (5,9)
>40 e ≤60%	0	21 (4,0)	15 (0,7)	36 (1,4)
>60 e ≤80%	0	11 (2,1)	13 (0,6)	24 (1,0)
>80%	0	9 (1,7)	11 (0,5)	20 (0,8)
Sem classificação	-	-	6 (0,3)	6 (0,2)
Sistema de esgoto precário - mediana (IIQ)*	38,0 (22,5 - 51,6)	26,8 (4,9 - 62,7)	1,2 (0,0 - 7,0)	2,2 (0,3 - 16,6)
≤20%	3 (23,1)	228 (43,8)	1713 (85,4)	1941 (76,9)
>20 e ≤40%	5 (38,5)	82 (15,8)	118 (5,9)	200 (7,9)
>40 e ≤60%	3 (23,1)	66 (12,7)	72 (3,6)	138 (5,5)
>60 e ≤80%	2 (15,4)	55 (10,6)	43 (2,1)	98 (3,9)
>80%	0	89 (17,1)	53 (2,6)	142 (5,6)
Sem classificação	-	-	6 (0,3)	6 (0,2)
Sistema de coleta de lixo precário - mediana (IIQ)*	4,4 (1,7 - 11,7)	5,6 (0,4 - 22,7)	0,1 (0,1 - 1,3)	0,2 (0,0 - 3,4)
≤20%	11 (84,6)	371 (71,3)	1890 (94,3)	2261 (89,5)
>20 e ≤40%	2 (15,4)	89 (17,1)	72 (3,6)	161 (6,4)
>40 e ≤60%	0	29 (5,6)	17 (0,8)	46 (1,8)
>60 e ≤80%	0	19 (3,7)	16 (0,8)	35 (1,4)
>80%	0	12 (2,3)	4 (0,2)	16 (0,6)
Sem classificação	-	-	6 (0,3)	6 (0,2)

*Proporção de casas com item precário em cada conjunto de setores censitários

Desta forma, a mediana (intervalo interquartil) da proporção de domicílios em cada setor censitário da área do estudo de coorte (13 setores) com abastecimento de água precário foi de 6,7% (4,4% - 20,2%). Para esgoto precário, essa medida foi de 38,0% (22,5% - 51,2%) e para coleta de lixo precária, 4,4% (1,7% - 11,7%). Dos 13 setores da área da coorte, um foi classificado como tendo baixa pobreza, sete foram classificados como tendo pobreza média, três como tendo pobreza alta e dois como tendo pobreza muito alta.

A cidade de Salvador era constituída no ano de 2000 por um total de 2525 setores censitários. Um total de 19,0% destes (481) foram classificados como tendo uma intensidade de pobreza baixíssima (a menor intensidade de pobreza dentro da escala dos dados). Outros 18,2% (459) setores foram classificados como possuindo muito baixa intensidade de pobreza, 24,0% (607) como tendo baixa intensidade de pobreza, 27,5% (696) como tendo pobreza média, 6,4% (161) como tendo pobreza elevada, 3,2% (80) como tendo pobreza muito elevada, 0,8% (20) como tendo pobreza elevadíssima, e 0,9% (23) não tiveram um nível de intensidade de pobreza a eles associados (Tabela 2).

Residiam na cidade um total de 2.444.644 pessoas. A mediana (intervalo interquartil) do percentual de domicílios em cada setor censitário da cidade com abastecimento de água precário foi de 2,7% (0,4% - 8,8%). Para esgoto precário, essa medida foi de 2,2% (0,3% - 16,6%) e para coleta de lixo precária, 0,2% (0,0% - 3,4%).

Para evitar distorções, devido à população que deu origem às infecções subclínicas ser diferente em condições de pobreza da população onde os casos de leptospirose grave e óbitos por leptospirose foram originalmente recrutados, optou-se por selecionar aleatoriamente o maior número possível de setores censitários de cada nível de pobreza de forma a manter a composição proporcional entre os setores censitários encontrados na área do estudo de coorte. A seleção de setores censitários foi feita de forma aleatória, através de sorteio, com exceção dos setores com pobreza muita elevada, que foram todos incluídos na análise. Assim, para manter a proporcionalidade de pobreza, foram selecionados para a análise de casos de leptospirose grave e óbitos por leptospirose 40 setores censitários classificados como possuindo baixa pobreza, 280 classificados como possuindo pobreza média, 120 classificados como possuindo pobreza elevada e 80 classificados como possuindo pobreza muito elevada.

Nos setores censitários selecionados habitavam um total de 568.380 pessoas. A mediana (intervalo interquartil) do percentual de domicílios em cada um dos setores censitários selecionados com abastecimento de água precário foi de 10,8% (4,6% – 20,7%). Para esgoto precário, essa medida foi de 26,8% (4,9% – 62,7%) e para coleta de lixo precária, 5,6% (0,4% – 22,7%).

5.4 Considerações sobre a comparação de incidências de diferentes formas clínicas de leptospirose em populações diferentes

Em uma situação ideal, estimaríamos as incidências de infecções subclínicas, graves e de óbitos na mesma população. Entretanto, apesar da área onde foi executado o estudo de coorte ser uma das áreas em que há maior ocorrência de casos de leptospirose grave em Salvador e da incidência de infecções subclínicas por *Leptospira* ser elevada, o número de casos de leptospirose grave e óbitos por leptospirose ocorridos na área da coorte no período do estudo inviabilizaria a execução do estudo por restringir o poder estatístico do mesmo. Uma possível alternativa seria a de seguir esta mesma população por um período de tempo maior, que permitisse identificar um número grande o suficiente de casos de leptospirose grave na mesma população. Ainda que fosse possível superar as questões logísticas e operacionais para seguir uma coorte por muitos anos, haveria considerações sobre mudanças epidemiológicas e ambientais durante a condução do estudo que poderiam reduzir a representatividade do mesmo.

Outra opção envolveria executar um estudo de coorte em uma área maior, para ampliar o tamanho da amostra, de modo que poderiam ocorrer mais casos de leptospirose grave. Entretanto, conduzir um estudo de coorte em uma amostra ainda maior do que a que foi seguida poderia inviabilizar a realização do mesmo.

Desta forma, optamos por estimar a incidência de infecções subclínicas por *Leptospira* em apenas um bairro de Salvador, Pau da Lima, através de um estudo de coorte, e por conduzir um sistema de vigilância hospitalar ativa e de base populacional para leptospirose grave, selecionando posteriormente apenas os casos que ocorressem em populações residentes em áreas de Salvador com características sociais e ambientais similares às encontradas em Pau da Lima, de forma a tornar as populações utilizadas para os cálculos das incidências mais comparáveis no que se refere ao risco para leptospirose. Para selecionar as áreas

de Salvador que seriam submetidas à vigilância para leptospirose grave, nós utilizamos o Mapeamento da Pobreza, elaborado pela Secretaria de Combate à Pobreza e às Desigualdades Sociais do Estado da Bahia (SECOMP), que classificou as áreas da cidade em diferentes níveis de pobreza de acordo com indicadores socioeconômicos coletados durante o censo do IBGE de 2000. Alguns destes indicadores socioeconômicos estão diretamente associados à ocorrência de leptospirose, por exemplo, a existência de sistema de esgotamento sanitário, de provimento de água potável e de sistema de coleta de lixo. Estas características embasam a utilização da ferramenta como um aproximador do risco para leptospirose, o que diminui os prejuízos de se comparar as incidências de diferentes formas clínicas de leptospirose nestas diferentes populações.

5.5 Plano de análise dos dados

A incidência anual de infecções subclínicas para cada ano de seguimento da coorte foi calculada como o número total de infecções identificadas na coorte em cada ano, dividido pelo total de pessoas seguidas no respectivo ano, multiplicado por 1.000. A incidência cumulativa anual média do período foi calculada através da soma dos eventos identificados nos três anos dividida pela soma das pessoas que completaram o seguimento em cada ano, multiplicado por 1.000.

A incidência anual de leptospirose grave e a mortalidade anual por leptospirose foram calculadas como o número de infecções graves e óbitos por leptospirose, respectivamente, identificados pelo estudo em cada ano entre 2003 e 2006 e que eram oriundos dos setores censitários selecionados, dividido pela população existente nos referidos setores censitários com base no censo do IBGE de 2000, multiplicado por 100.000. A incidência cumulativa anual média foi calculada pela soma dos eventos identificados durante os quatro anos de estudo dividida pelo número de pessoas residentes nos setores censitários no ano de 2000, multiplicado por 4. Foi calculada a incidência cumulativa anual média devido ao desfecho de interesse (infecção grave ou óbito) ser raro e o denominador (habitantes dos setores censitários selecionados) ser grande. A utilização de duas bases decimais distintas para reportar as incidências encontradas ocorreu devido à diferenças na frequência de ocorrência da infecção na população da coorte e de manifestações graves e óbitos na população de Salvador.

A letalidade média foi calculada através da soma de óbitos ocorridos entre 2003 e 2006 dividida pelo total de pacientes com infecções graves identificados no mesmo período, estratificado por faixas etárias e sexo, multiplicado por 100. Intervalos de confiança de 95% foram calculados utilizando o programa OpenEpi.

Para cumprir o objetivo geral de estimar a influência da idade no risco de infecção e progressão clínica da leptospirose, razões de risco entre as incidências de infecções subclínicas, entre as incidências de infecções graves e entre as letalidades foram efetuadas tendo uma faixa etária como referência. Para o cálculo do risco relativo para infecções subclínicas e infecções graves, considerou-se como referência a faixa etária de 5 a 14 anos. Para letalidade, a faixa etária usada como referência foi a de 15 a 24 anos, por não terem sido identificados óbitos em indivíduos mais jovens. Para cumprir o objetivo geral de estimar a influência do sexo no risco de infecção e progressão clínica da leptospirose, razões de risco entre as incidências de infecções subclínicas, entre as incidências de infecções graves e entre as letalidades foram efetuadas tendo o sexo feminino como a categoria de referência. As razões de risco foram reportadas com seus respectivos intervalos de confiança de 95%.

O número de infecções subclínicas por *Leptospira* sp. para cada caso grave identificado nas áreas selecionadas foi calculado baseado na divisão entre as incidências de infecções subclínicas e graves (para estimar quantas infecções subclínicas ocorrem para cada caso grave) e entre as incidências de infecções subclínicas e de mortalidade (para estimar quantas infecções subclínicas ocorrem para cada óbito por leptospirose). Estes cálculos foram realizados com as incidências na mesma base decimal.

5.6 Considerações éticas

Os dados analisados para este projeto foram produzidos como parte de uma proposta maior que foi aprovada nos comitês de ética em pesquisa do CPqGM-Fiocruz, e Universidade de Yale, EUA, além do CONEP. Todos os procedimentos da pesquisa seguiram os termos da resolução 196 de 1996 do Conselho Nacional de Saúde sobre pesquisa em seres humanos. A participação das pessoas no projeto foi voluntária, após serem informadas sobre os objetivos e procedimentos do estudo bem como dos seus riscos. Todos participantes ou responsáveis legais dos menores

de idade assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido previamente à inclusão no estudo. Os riscos da participação são mínimos, sendo os maiores associados à perda de confidencialidade dos dados. Entretanto, todos os cuidados foram tomados para proteger a identificação dos participantes e nenhum participante foi identificado em qualquer relatório ou publicação resultante deste estudo.

6 Resultados

6.1 Incidência de infecções subclínicas por *Leptospira*

No ano de 2003, foram recrutados para inclusão no estudo de coorte um total de 2003 residentes no bairro de Pau da Lima. Destes participantes, 1123 (56,1%) eram do sexo feminino. A mediana de idade foi de 23,0 (intervalo interquartil [IIQ], 14,5 – 36,0) anos. Ao longo dos três anos de seguimento da coorte, foram acompanhados o equivalente a 4357 pessoas por um período de um ano, sendo que 2519 (57,8%) eram do sexo feminino e a idade mediana foi de 25,5 (IIQ, 15,0 – 39,0)

No período de seguimento da coorte (2003-2006) foram observadas 104 infecções subclínicas em um total de 4357 pessoas seguidas pelo período de um ano. Isso corresponde a uma incidência média anual de 23,8 (IC 95%, 19,7 – 28,8) infecções por 1.000 indivíduos (Tabela 3). A maior incidência anual de infecções subclínicas foi identificada no primeiro ano de seguimento, com uma incidência média de 32,2 infecções por 1.000 indivíduos (Tabela 4). É possível que a incidência da doença tenha diminuído nos anos subsequentes como efeito da própria pesquisa, alterando o comportamento dos participantes da coorte de forma a evitar exposições de risco.

A incidência média anual em indivíduos do sexo masculino foi de 33,7 (IC 95%, 26,3 – 42,9) infecções subclínicas a cada 1.000 indivíduos, o que corresponde a uma incidência 2,0 (IC 95%, 1,6 – 2,6) vezes superior àquela observada nos indivíduos do sexo feminino, que foi de 16,7 (IC 95%, 12,3 – 22,4) infecções por 1.000 indivíduos.

A incidência de infecções subclínicas por *Leptospira* em relação à faixa etária foi bimodal para indivíduos do sexo masculino (Figura 4A), com picos nas faixas etárias de 25 a 34 anos (incidência de 55,2, IC 95%, 34,7 – 86,6 por 1.000 indivíduos) e de idade maior ou igual a 55 anos (incidência de 56,8 IC 95%, 24,5 – 126,2 por 1.000 indivíduos). A incidência de infecções em indivíduos do sexo feminino teve pico na faixa etária de 25 a 34 anos (30,4, IC 95%, 18,2 – 50,3). Embora também tenha sido observado um aumento da incidência em pessoas com idade maior ou igual a 55 anos, o aumento não foi tão proeminente como para indivíduos do sexo masculino.

Tabela 3. Incidência de infecções subclínicas e graves e mortalidade por *Leptospira* em Salvador entre 2003 e 2006, estratificado por faixas etárias e por sexo.

Faixa etária	Nº de casos*	Total				Nº de casos*	Masculino				Nº de casos*	Feminino			
		Denominador para cálculo de incidência†	Incidência§	IC 95%¥			Denominador para cálculo de incidência†	Incidência§	IC 95%¥			Denominador para cálculo de incidência†	Incidência§	IC 95%¥	
Infecções subclínicas															
5-14	18	1.122	16,0	10,2	25,2	13	552	23,6	13,8	39,9	5	570	8,8	3,8	20,4
15-24	29	1.127	25,7	18,0	36,7	19	494	38,5	24,8	59,3	10	633	15,8	8,6	28,8
25-34	31	769	40,3	28,5	56,7	17	308	55,2	34,7	86,6	14	461	30,4	18,2	50,3
35-44	14	649	21,6	12,9	35,9	6	236	25,4	11,7	54,3	8	413	19,4	9,8	37,8
45-54	5	449	11,1	4,8	25,8	2	160	12,5	3,4	44,4	3	289	10,4	3,5	30,1
≥55	7	241	29,0	14,1	58,7	5	88	56,8	24,5	126,2	2	153	13,1	3,6	46,4
Total	104	4.357	23,8	19,7	28,8	62	1.838	33,7	26,3	42,9	42	2.519	16,7	12,3	22,4
Infecções graves															
5-14	10	475.608	2,1	1,3	4,0	7	240.544	2,9	1,1	5,6	3	235.064	1,3	0,3	3,2
15-24	40	531.408	7,5	5,2	10,2	34	260.692	13,0	9,4	18,0	6	270.716	2,2	0,8	4,9
25-34	38	402.876	9,4	6,8	12,9	33	193.768	17,0	12,0	23,5	5	209.108	2,4	0,9	5,1
35-44	32	301.38	10,6	7,6	14,8	29	143.384	20,2	13,6	29,0	3	157.996	1,9	0,5	5,3
45-54	26	169.516	15,3	10,1	21,8	23	79.984	28,8	18,4	42,1	3	89.532	3,4	1,3	9,1
≥55	21	146.348	14,3	9,4	21,6	16	60.804	26,3	15,2	42,0	5	85.544	5,8	1,8	13,1
Total	167	2.027.136	8,2	7,0	9,4	142	979.176	14,5	12,2	17,2	25	1.047.960	2,4	1,5	3,5
Óbitos															
5-14	0	475.608	0,0	0,0	0,4	0	240.544	0,0	0,0	1,1	0	235.064	0,0	0,0	1,1
15-24	4	531.408	0,8	0,4	1,9	3	260.692	1,2	0,3	3,1	1	270.716	0,4	0,2	1,5
25-34	6	402.876	1,5	0,4	3,4	5	193.768	2,6	1,0	6,0	1	209.108	0,5	0,2	2,4
35-44	6	301.38	2,0	0,5	3,9	5	143.384	3,5	1,3	7,7	1	157.996	0,6	0,3	3,3
45-54	5	169.516	2,9	1,1	6,4	3	79.984	3,8	1,4	10,2	2	89.532	2,2	0,3	7,2
≥55	11	146.348	7,5	4,2	13,2	9	60.804	14,8	6,9	27,4	2	85.544	2,3	0,3	8,1
Total	32	2.027.136	1,6	1,2	2,0	25	979.176	2,6	1,6	3,7	7	1.047.960	0,7	0,3	1,0

*Número de casos de infecção por *Leptospira* sp. foi determinado por soroconversão anual através de MAT durante seguimento do estudo de coorte entre 2003 e 2006. O número de casos de leptospirose grave e óbitos por leptospirose foi determinado através de um sistema de vigilância de base populacional executado entre 2003 e 2006.

† O denominador usado para o cálculo de incidência de infecções subclínicas por *Leptospira* foi o número de pessoas-ano de seguimento na coorte entre 2003 - 2006. O denominador usado para o cálculo de incidência de infecções graves e mortalidade por leptospirose foi o número de pessoas morando nas comunidades selecionadas de Salvador, de acordo com o censo populacional nacional do ano 2000.

§ Incidência por 1.000 habitantes para infecções subclínicas, incidência por 100.000 habitantes para infecções graves e mortalidade por 100.000 habitantes.

¥ Intervalo de confiança de 95%.

Tabela 4. Incidências anuais de infecções subclínicas identificadas em cada ano de seguimento do estudo de coorte realizado no bairro de Pau da Lima.

Faixa etária e ano de seguimento da coorte	Casos	Número de pessoas seguidas	Incidência*	IC 95%†	
2003-2004					
5-14 anos	12	434	27,6	15,9	47,7
15-24 anos	17	410	41,5	26,1	65,4
25-34 anos	14	278	50,4	30,2	82,7
35-44 anos	7	223	31,4	15,3	63,4
45-54 anos	1	152	6,6	1,2	36,3
≥55 anos	0	81	0,0	0,0	45,3
Total	51	1.578	32,2	24,6	42,1
2004-2005					
5-14 anos	3	357	8,4	2,9	24,4
15-24 anos	6	352	17,0	7,8	36,7
25-34 anos	6	237	25,3	11,7	54,1
35-44 anos	5	208	24,0	10,3	55,0
45-54 anos	2	144	13,9	3,8	49,2
≥55 anos	4	73	54,8	21,5	132,6
Total	26	1.371	19,0	13,0	27,6
2005-2006					
5-14 anos	3	331	9,1	3,1	26,3
15-24 anos	6	365	16,4	7,6	35,4
25-34 anos	11	254	43,3	24,4	75,9
35-44 anos	2	218	9,2	2,5	32,8
45-54 anos	2	153	13,1	3,6	46,4
≥55 anos	3	87	34,5	11,8	96,5
Total	27	1.408	19,2	13,2	27,8

* Incidência calculada por 1.000 pessoas

†IC 95%, Intervalo de Confiança de 95%

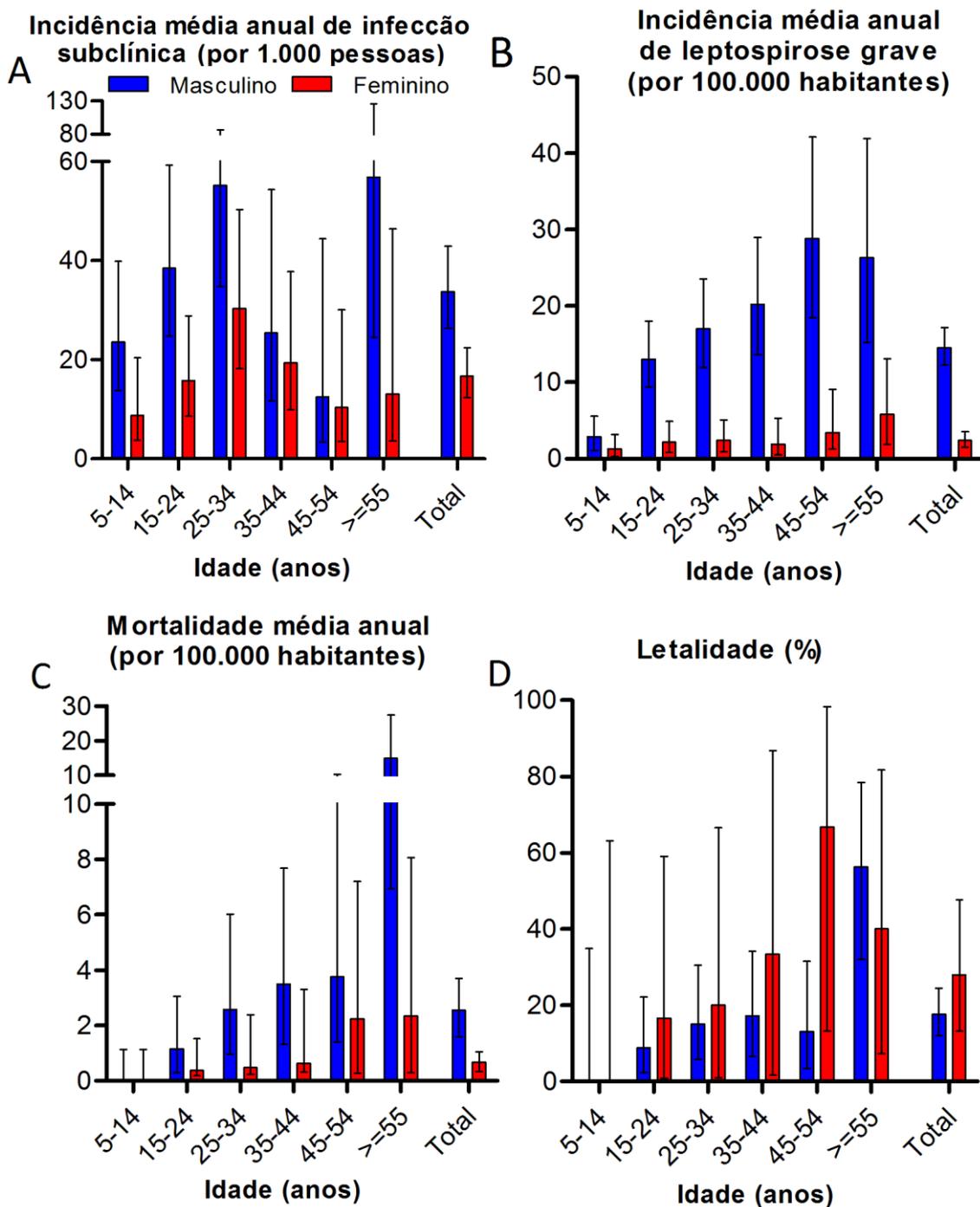


Figura 4 **A**, Incidências de infecções subclínicas por *Leptospira* sp. na coorte em Pau da Lima; **B**, Incidências de Leptospirose grave nas comunidades selecionadas de Salvador; **C**, mortalidade por leptospirose nas comunidades selecionadas de Salvador; **D**, Letalidade em pacientes com leptospirose residentes nas comunidades selecionadas, estratificado por faixa etária e sexo, no período de 2003 a 2006.

6.2 Incidência de infecções graves por leptospirose

Durante o período de 2003 a 2006, a vigilância para leptospirose grave identificou um total de 447 pacientes hospitalizados pela doença em Salvador (Tabela 5), sendo possível georreferenciar o ponto da residência de 419 (93,7%) destes casos. Dentre os casos georreferenciados, 167 (39,9%) eram residentes de setores censitários selecionados para as análises de incidência de leptospirose grave. Destes pacientes residentes nos setores censitários selecionados, 32 faleceram (letalidade de 19,2%) e foram utilizados para estimar a mortalidade por leptospirose nos setores censitários selecionados. O ano com maior número de casos de leptospirose foi o de 2005, com 139 casos, dos quais 45 ocorreram em áreas selecionadas (Tabela 5). Foram confirmados laboratorialmente 142 (85,0%) dos casos de leptospirose grave e 20 (62,5%) dos óbitos por leptospirose. Não houveram diferenças clínicas (exceto óbito) ou demográficas entre o grupo de pacientes confirmados laboratorialmente em comparação com o grupo de pacientes sem confirmação laboratorial (Tabela 6). A distribuição geográfica do local de residência dos casos de leptospirose grave detectados no Hospital Couto Maia nos setores censitários selecionados e não selecionados (área cinza e branca, respectivamente) pode ser vista na Figura 5. É possível notar que a maior parte dos casos de leptospirose ocorreram em áreas mais pobres da cidade, como a região do subúrbio ferroviário ou do bairro do Pau da Lima. menor de casos de leptospirose grave.

Tabela 5. Proporção de pacientes com leptospirose residentes nos setores censitários selecionados identificados pelo sistema de vigilância hospitalar de base populacional em Salvador, entre 2003 e 2006.

Ano	Salvador		Setores censitários selecionados	
	No. de casos	No. de óbitos	No. de casos (%)	No. de óbitos (%)
2003	104	15	37 (35,6)	6 (40,0)
2004	98	17	42 (42,9)	9 (52,9)
2005	139	27	45 (32,4)	10 (37,0)
2006	106	16	43 (40,6)	7 (43,8)
TOTAL	447	75	167 (37,4)	32 (42,7)

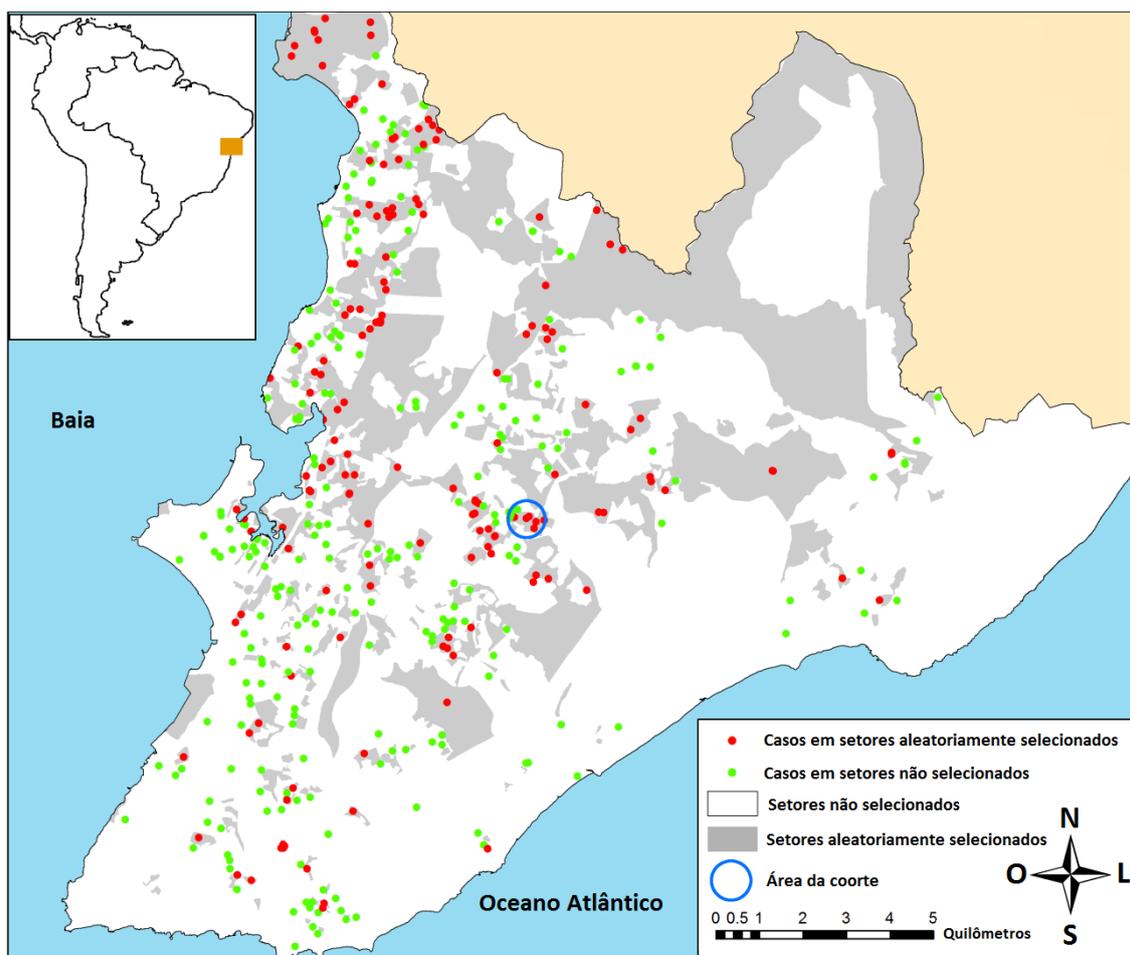


Figura 5. Casos graves de leptospirose em Salvador no período 2003 – 2006. Pontos vermelhos ilustram casos ($n=167$) em setores censitários aleatoriamente selecionados (cinza) por apresentarem nível de pobreza similar à da área da coorte (círculo azul). Pontos verdes ilustram casos ($n=252$) com residência em setores não selecionados (branco).

Foi observada pequena variação (estatisticamente não significativa) da incidência de leptospirose grave nos setores censitários selecionados ao longo da execução do estudo. No ano de 2003, a incidência foi de 7,3 (IC 95%, 5,0 – 10,0) casos de leptospirose grave para cada 100.000 indivíduos residentes nos setores censitários selecionados. No ano de 2004, a incidência foi de 8,3 (IC 95%, 6,0 – 11,0) casos por 100.000, enquanto no ano de 2005 foi de 8,9 (IC 95%, 6,4 – 11,6) casos por 100.000 e no ano de 2006 foi de 8,5 (IC 95%, 6,1 – 11,2) casos por 100.000 (Tabela 7).

Tabela 6. Características clínicas e demográficas de pacientes com infecção grave por leptospirose com e sem confirmação laboratorial.

Característica	Casos confirmados laboratorialmente* (n=142)		Casos não confirmados laboratorialmente (n=25)		P-valor §
	N	n (%) ou média (DP)	N	n (%) ou média (DP)	
Idade (anos)	142	34,2 (15,4)	25	41,2 (18,8)	NS
Sexo masculino	142	119 (83,8)	25	23 (92,0)	NS
Dias de sintoma	140	5,8 (2,6)	25	5,7 (3,2)	NS
Febre	138	135 (97,4)	24	22 (91,7)	NS
Icterícia	142	116 (81,7)	25	20 (80,0)	NS
Creatinina sérica máxima (mg/dL) ‡	142	4,0 (2,3)	25	3,0 (1,9)	NS
Hemorragia Pulmonar Maciça	142	13 (9,2)	25	5 (20,0)	NS
Sufusão conjuntival	82	34 (41,5)	13	3 (23,1)	NS
Óbito	142	20 (14,1)	25	12 (48,0)	<0,01

NOTA. NS, não significante.

* Foi considerado como um caso laboratorialmente confirmado de leptospirose aqueles que apresentaram aumento de 4 vezes no título de anticorpos no teste de microaglutinação em amostras pareadas, um título único igual ou superior a 1:800 ou o isolamento positivo de *Leptospira* a partir de amostra sanguínea.

§ O teste de chi-quadrado ou exato de Fisher, e o teste de Mann-Whitney foram usados para avaliar diferenças significantes (P-valor < 0,05) para proporções e dados contínuos, respectivamente.

‡ Valor máximo atingido durante a hospitalização

A faixa etária com maior incidência anual média de leptospirose grave foi a de indivíduos com idade maior ou igual a 55 anos entre 2003 e 2005. No ano de 2006, a faixa etária com maior incidência de leptospirose grave foi a de indivíduos entre 45 e 54 anos (Tabela 7). Observando durante o período total do estudo, a faixa etária com maior incidência anual média de leptospirose grave foi a de indivíduos com idade de 45 a 54 anos (Tabela 3).

Tabela 7. Incidências anuais de leptospirose grave nos setores censitários selecionados de Salvador.

	No. de casos de leptospirose grave em setores censitários selecionados	Pessoas residentes nos setores censitários selecionados	Incidência de leptospirose grave*	IC 95%†	
2003					
5-14 anos	3	118.902	2,5	0,9	6,7
15-24 anos	8	132.852	6,0	2,6	11,7
25-34 anos	12	100.719	11,9	6,3	19,9
35-44 anos	5	75.345	6,6	2,1	14,7
45-54 anos	4	42.379	9,4	3,2	22,8
≥ 55 anos	5	36.587	13,7	4,7	30,1
TOTAL	37	506.784	7,3	5,0	10,0
2004					
5-14 anos	5	118.902	4,2	1,3	9,2
15-24 anos	13	132.852	9,8	5,2	16,3
25-34 anos	9	100.719	8,9	4,2	16,2
35-44 anos	5	75.345	6,6	2,1	14,7
45-54 anos	5	42.379	11,8	4,1	25,9
≥ 55 anos	5	36.587	13,7	4,7	30,1
TOTAL	42	506.784	8,3	6,0	11,0
2005					
5-14 anos	0	118.902	0,0	-	-
15-24 anos	11	132.852	8,3	4,4	14,8
25-34 anos	9	100.719	8,9	4,2	16,2
35-44 anos	12	75.345	15,9	8,5	27,0
45-54 anos	6	42.379	14,2	5,8	29,8
≥ 55 anos	7	36.587	19,1	8,1	37,8
TOTAL	45	506.784	8,9	6,4	11,6
2006					
5-14 anos	2	118.902	1,7	0,4	5,9
15-24 anos	8	132.852	6,0	2,6	11,7
25-34 anos	8	100.719	7,9	3,5	15,2
35-44 anos	10	75.345	13,3	7,1	23,6
45-54 anos	11	42.379	26,0	13,4	45,4
≥ 55 anos	4	36.587	10,9	3,8	26,6
TOTAL	43	506.784	8,5	6,1	11,2

O total de 167 casos de leptospirose grave residentes nos setores censitários selecionados identificados no Hospital Couto Maia entre 2003 e 2006 corresponde a uma incidência média anual de leptospirose grave nestes setores de 8,2 (IC 95%, 7,0 – 9,4) casos a cada 100.000 pessoas (Tabela 3). A incidência em indivíduos do sexo masculino foi de 14,5 (IC 95%, 12,2 – 17,2)

casos por 100.000 habitantes, o que corresponde a uma incidência 6,1 vezes superior (IC 95%, 5,2 – 7,2) do que a incidência em indivíduos do sexo feminino, de 2,4 (IC 95%, 1,5 – 3,5) (Tabela 8). A incidência de leptospirose grave em indivíduos do sexo masculino aumentou de forma linear entre as faixas etárias de 15-24 a 45-54 anos, alcançando nesta o pico de incidência média anual de leptospirose grave de 28,8 (IC 95%, 18,4 – 42,1) casos por 100.000 indivíduos (Figura 4B). A incidência de leptospirose grave também aumentou conforme o aumento da idade para indivíduos do sexo feminino, alcançando o pico em indivíduos com idade maior ou igual a 55 anos (5,8/100.000 indivíduos, IC 95%, 1,8 – 13,1).

Tabela 8. Risco relativo em indivíduos do sexo masculino para incidência de leptospirose subclínica e grave e para letalidade (óbito) de leptospirose, tendo como referência indivíduos do sexo feminino.

Faixa etária	Homens / Mulheres					
	INFECÇÃO		DOENÇA GRAVE		ÓBITO	
	RR	IC 95%	RR	IC 95%	RR	IC 95%
5-14	2,7	1,5 - 4,7	2,3	1,1 - 4,8	-	-
15-24	2,4	1,5 - 3,9	5,9	4,2 - 8,2	0,5	0,2 - 1,7
25-34	1,8	1,1 - 3,0	7,1	5,1 - 10,0	0,8	0,3 - 1,9
35-44	1,3	0,6 - 3,0	10,7	7,4 - 15,3	0,5	0,2 - 1,3
45-54	1,2	0,3 - 4,9	8,6	5,7 - 12,9	0,2	0,1 - 0,7
≥55	4,3	1,8 - 10,7	4,5	2,8 - 7,3	1,4	0,6 - 3,2
Total	2,0	1,6 - 2,6	6,1	5,2 - 7,2	0,6	0,4 - 1,0

6.3 Mortalidade por leptospirose

Foram identificados entre 2003 e 2006 um total de 32 óbitos por leptospirose em indivíduos residentes nos setores censitários selecionados, correspondendo a uma mortalidade média anual por leptospirose nestas comunidades de 1,6 (IC 95%, 1,2 – 2,0) óbitos por leptospirose para cada 100.000 pessoas (Tabela 3). A mortalidade por leptospirose em indivíduos do sexo masculino foi de 2,6 (IC 95%, 1,6 – 3,7) e em indivíduos do sexo feminino foi de 0,7 (IC 95%, 0,3 – 1,0) óbitos para cada 100.000 pessoas. A mortalidade por leptospirose aumentou conforme a idade, para homens e mulheres (Figura 4C).

6.4 Letalidade da leptospirose

Dentre os 167 pacientes com leptospirose grave incluídos no estudo, 32 (19,2%, IC 95%, 13,7 – 25,7) faleceram durante a internação (Tabela 9). Para indivíduos do sexo feminino, a letalidade foi de 28,0% (IC 95%, 13,2 – 47,7), enquanto que nos indivíduos do sexo masculino foi de 0,6 (IC 95%, 0,4 – 1,0, Tabela 8) vezes inferior (17,6%, IC 95%, 12,0 – 24,5%). A letalidade aumentou em ambos os sexos com o avanço da idade (Figura 4D). O pico de letalidade para indivíduos do sexo masculino ocorreu em indivíduos com idade maior ou igual a 55 anos, com letalidade de 56,3% (IC 95%, 32,0% - 78,5%), enquanto que em indivíduos do sexo feminino, o pico ocorreu em indivíduos com idade entre 45 e 54 anos, com letalidade de 66,7% (IC 95%, 13,2% - 98,3%).

6.5 Influência da idade no risco de progressão clínica

Em relação a infecções subclínicas por *Leptospira*, o grupo etário com idade maior do que 15 anos teve uma incidência de infecções 1,7 (IC 95%, 1,3 – 2,1) vezes maior do que a observada nos indivíduos da faixa etária de 5 a 14 anos. Houve uma tendência de acréscimo no risco para desenvolver infecções subclínicas por *Leptospira* até a idade de 25 a 34 anos, sendo em seguida identificada uma queda deste risco. Analisando as faixas etárias de forma detalhada, quando comparada com indivíduos com idade entre 5 a 14 anos, a faixa etária de 15 a 24 anos teve um risco 1,6 (IC 95%, 1,1 – 2,3) vezes maior de ter infecções subclínicas, sendo que para a faixa etária de 25 a 34 anos essa medida foi de 2,5 (IC 95%, 1,8 – 3,6), para a faixa de 35 a 44 anos foi de 1,3 (IC 95%, 0,8 – 2,3), para a faixa de 45 a 54 anos foi de 0,7 (IC 95%, 0,3 – 1,7) e para os indivíduos maiores de 55 anos, essa medida foi de 1,8 (IC 95%, 0,9 – 3,8) vezes maior (Tabela 10 e Figura 6). Em homens, a faixa etária que apresentou maior risco de desenvolver infecção subclínica quando comparada à faixa etária de 5 a 14 anos foi a de indivíduos com mais de 55 anos, com risco 2,4 (IC 95%, 1,0 – 5,9) vezes maior. A faixa etária de 25 a 34 anos também apresentou um risco elevado quando comparada a faixa etária de 5 a 14 anos, com risco 2,3 vezes maior (IC 95%, 1,4 – 3,8). Em indivíduos do sexo

feminino, quando considerada a faixa etária de 5 a 14 anos como referência, a faixa etária com maior risco de infecções subclínicas foi a de 25 a 34 anos, com risco 3,5 (IC 95% 2,0 – 5,9) vezes maior. Não houve um aumento significativo do risco para indivíduos do sexo feminino da faixa etária maior do que 55 anos (risco de 1,5, IC 95%, 0,4 – 6,0).

Tabela 9. Letalidade por leptospirose de acordo com a faixa etária em homens e mulheres, entre 2003 e 2006.

Óbitos / Grave					
	Doença grave	Óbitos	Letalidade (%)	95% CI	
MASCULINO					
5-14	7	0	0,0	0,0	34,8
15-24	34	3	8,8	2,3	22,2
25-34	33	5	15,2	5,8	30,4
35-44	29	5	17,2	6,6	34,2
45-54	23	3	13,0	3,4	31,5
≥55	16	9	56,3	32,0	78,5
Total	142	25	17,6	12,0	24,5
FEMININO					
5-14	3	0	0,0	0,0	63,2
15-24	6	1	16,7	0,8	59,1
25-34	5	1	20,0	1,0	66,6
35-44	3	1	33,3	1,7	86,8
45-54	3	2	66,7	13,2	98,3
≥55	5	2	40,0	7,4	81,8
Total	25	7	28,0	13,2	47,7
TOTAL					
5-14	10	0	0,0	0,0	25,9
15-24	40	4	10,0	3,3	22,4
25-34	38	6	15,8	6,7	30,0
35-44	32	6	18,8	8,0	35,0
45-54	26	5	19,2	7,4	37,6
≥55	21	11	52,4	31,4	72,7
Total	167	32	19,2	13,7	25,7

A idade também afetou o risco de desenvolver formas clínicas graves da infecção por leptospirose. Indivíduos com idade superior a 15 anos tiveram risco de desenvolver formas graves da doença 4,8 (IC 95%, 4,1 – 5,6) vezes maior do que indivíduos com idade entre 5 e 14 anos. Houve um acréscimo no risco de desenvolvimento de formas graves da doença com o avanço da idade (Tabela 10 e Figura 6). Quando analisadas em estratos de idade de dez anos, todas as faixas etárias apresentaram risco aumentado de desenvolvimento de formas graves em relação à faixa etária de referência, de 5 a 14 anos. A faixa

etária que apresentou maior risco de desenvolver formas graves da doença foi a de 45 a 54 anos, com risco 7,3 (IC 95%, 3,5 – 15,1) vezes maior do que o da faixa etária de referência (5 a 14 anos). Dentre os indivíduos do sexo masculino, aqueles com idade entre 45 e 54 anos manifestaram maior risco de desenvolverem infecções graves, com risco relativo (RR) de 9,9 (IC 95%, 4,2 – 23,0) em relação a indivíduos do mesmo sexo com idade entre 5 e 14 anos. Indivíduos masculinos com idade maior do que 55 anos manifestaram risco tão elevado quanto os da faixa etária entre 45 e 54 anos (RR 9,0 IC 95% 3,7 – 23,0) de desenvolverem formas graves, quando comparados com indivíduos de 5 a 14 anos. Em indivíduos do sexo feminino, quando considerada a faixa etária de 5 a 14 anos como referência, a faixa etária com maior risco de infecções subclínicas foi a de indivíduos com mais de 55 anos, com risco 4,6 (IC 95% 1,1 – 19,2) vezes maior de desenvolver formas graves.

Com o aumento da idade, aumenta o risco de evolução para óbito por leptospirose, embora esta diferença apenas tenha sido significativa nos indivíduos da faixa etária maior ou igual a 55 anos. Quando comparados com pacientes com doença grave com idade entre 15 e 24 anos, os pacientes da faixa etária de 25 a 34 anos tiveram um risco 1,6 (IC 95%, 0,7 – 3,7) vezes maior de morrer. Para pacientes com idade entre 35 e 44 anos, o risco de morrer foi 1,9 (IC 95%, 0,8 – 4,5) vezes maior, sendo que para pacientes com idade entre 45 e 54 anos esta medida também foi 1,9 (IC 95%, 0,7 – 5,0) vezes maior. Entretanto, a faixa etária com maior risco de óbito foi a de pacientes com idade maior do que 55 anos, com risco 5,2 (IC 95%, 2,5 – 10,9) vezes maior do que o de pacientes da faixa etária de referência (Tabela 10 e Figura 6).

Tabela 10. Risco relativo de infecção, doença grave e óbito por leptospirose, de acordo com a faixa etária.

Faixa etária	Infecção		Doença grave		Óbito *	
	RR	IC 95%	RR	IC 95%	RR	IC 95%
TOTAL						
5-14	1,0	(ref) §	1,0	(ref) §	-	-
≥15	1,7	1,3-2,1	4,8	4,1-5,6	-	-
15-24	1,6	1,1-2,3	3,6	1,8-7,2	1,0	(ref) §
25-34	2,5	1,8-3,6	4,5	2,2-9,0	1,6	0,7-3,7
35-44	1,3	0,8-2,3	5,1	2,5-10,3	1,9	0,8-4,5
45-54	0,7	0,3-1,7	7,3	3,5-15,1	1,9	0,7-5,0
≥55	1,8	0,9-3,8	6,8	3,2-14,5	5,2	2,5-10,9
MASCULINO						
5-14	1,0	(ref) §	1,0	(ref) §	-	-
≥15	1,6	1,2-2,2	6,3	5,3-7,4	-	-
15-24	1,6	1,0-2,6	4,5	2,0-10,1	1,0	(ref) §
25-34	2,3	1,4-3,8	5,9	2,6-13,2	1,7	0,7-4,4
35-44	1,1	0,5-2,4	7,0	3,0-15,9	2,0	0,7-5,1
45-54	0,5	0,1-2,1	9,9	4,2-23,0	1,5	0,4-4,9
≥55	2,4	1,0-5,9	9,0	3,7-22,0	6,4	2,8-14,4
FEMININO						
5-14	1,0	(ref) §	1,0	(ref) §	-	-
≥15	2,2	1,6-3,0	2,1	1,4-3,2	-	-
15-24	1,8	1,0-3,4	1,7	0,4-6,9	1,0	(ref) §
25-34	3,5	2,0-5,9	1,9	0,5-7,8	1,2	0,1-10,3
35-44	2,2	1,1-4,5	1,5	0,3-7,4	2,0	0,2-19,2
45-54	1,2	0,4-3,7	2,6	0,5-13,0	4,0	0,7-23,9
≥55	1,5	0,4-6,0	4,6	1,1-19,2	2,4	0,5-12,4

* O risco relativo para óbito foi calculado com base na letalidade da doença

§ A faixa etária utilizada como referência foi aquela onde houve a menor incidência de cada manifestação clínica

Quando analisados os sexos individualmente, a mesma relação foi identificada para pacientes do sexo masculino, com a faixa etária maior do que 55 anos apresentando um risco 6,4 (IC 95%, 2,8 – 14,4) vezes maior de evoluir para óbito do que pacientes da faixa etária de referência, de 15 a 24 anos. Para indivíduos do sexo feminino, a faixa etária com maior risco para evoluir para óbito quando comparada com a faixa de referência (de 15 a 24 anos) foi a de 25 a 54 anos, com risco 4,0 vezes maior (IC 95%, 0,7 – 23,9).

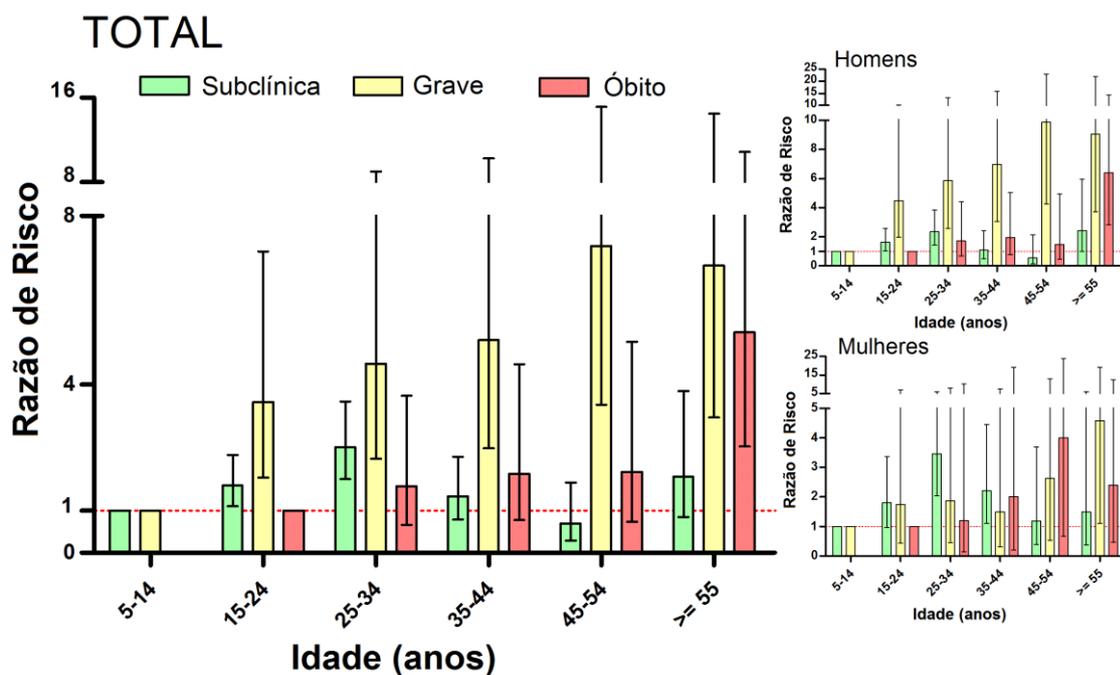


Figura 6. Risco relativo associado à idade para incidência de leptospirose subclínica e grave e para letalidade (óbito) de leptospirose, tendo como referência a menor faixa etária onde foram identificados casos em cada manifestação clínica.

6.6 Influência do sexo no risco de progressão clínica

O sexo afetou o risco para desenvolvimento de diferentes manifestações clínicas da leptospirose. Indivíduos do sexo masculino tiveram em média 2,0 (IC 95%, 1,6 – 2,6) vezes mais risco de desenvolverem infecções subclínicas do que indivíduos do sexo feminino. Analisando as faixas etárias separadamente, indivíduos do sexo masculino apresentaram maior risco de infecção subclínica nas faixas etárias de 5 a 14 anos (risco de 2,7; IC 95%, 1,5 – 4,7), de 15 a 24 anos (risco de 2,4; IC 95%, 1,5 – 3,9) e de idade maior ou igual a 55 anos (risco 4,3; IC 95%, 1,8 – 10,7) (Tabela 8 e Figura 7).

Homens apresentaram maior risco de desenvolverem formas clínicas graves do que mulheres da mesma faixa etária em todas as faixas etárias analisadas, com um risco relativo total 6,1 (IC 95%, 5,2 – 7,2) vezes maior do que o sexo feminino. O menor risco foi identificado na faixa etária de 5 a 14 anos (risco 2,3; IC 95%, 1,1 – 4,8) em relação a mulheres da mesma idade, enquanto o maior risco foi identificado na faixa etária de 35 a 44 anos (risco 10,7; IC 95% 7,4 – 15,3).

Pacientes com leptospirose grave do sexo masculino apresentaram menor risco de evolução para óbito do que pacientes do sexo feminino da mesma faixa etária. Comparando apenas indivíduos de diferentes sexos, homens tiveram um risco 0,63 (IC 95%, 0,41 – 0,96) vezes menor de virem a óbito do que mulheres. Quando analisadas as faixas etárias de forma separada, a única faixa em que o risco se encontrava diminuído estatisticamente foi para indivíduos de 45 a 54 anos, onde homens tiveram um risco 0,2 (IC 95%, 0,1 – 0,7) vezes menor de morrerem do que mulheres da mesma faixa etária. Nas demais faixas etárias, apesar de existir uma indicativa de diminuição do risco, não houve uma redução estatisticamente significativa no risco.

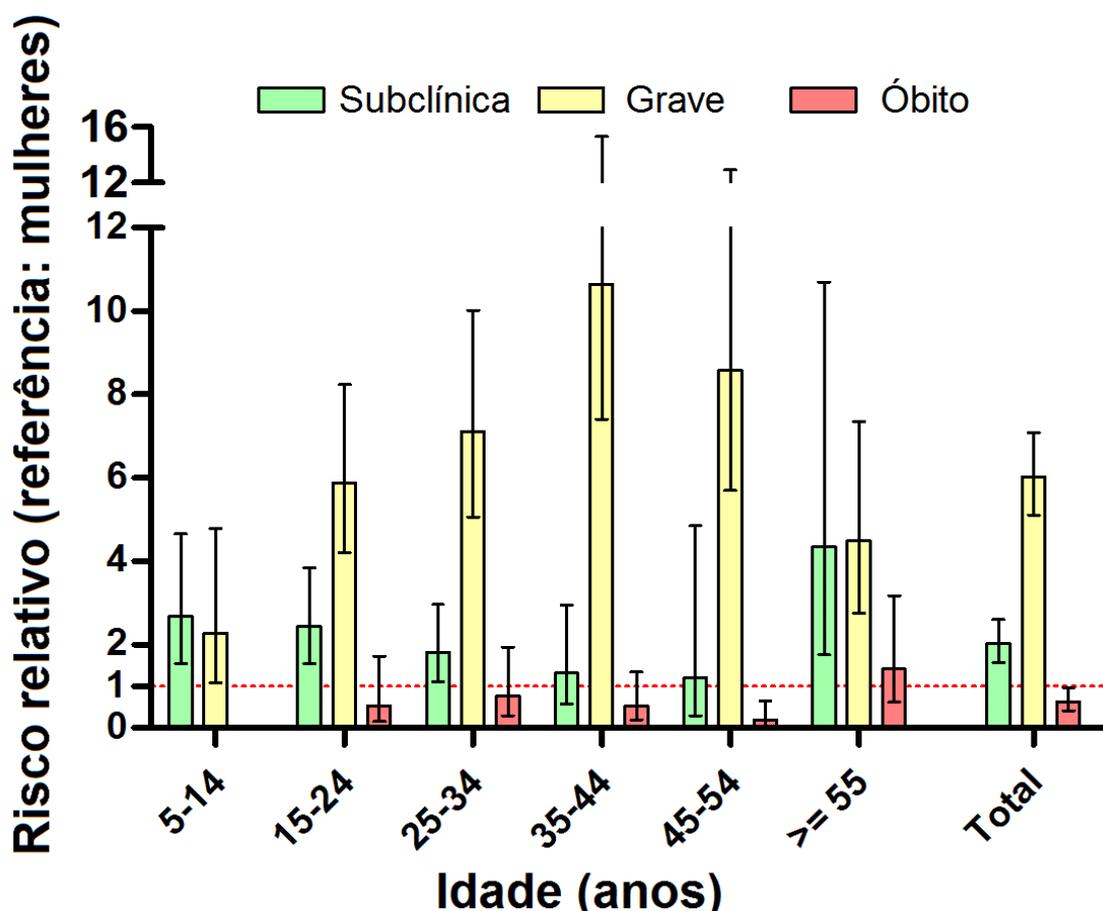


Figura 7. Risco relativo associado ao sexo para incidência de leptospirose subclínica e grave e para letalidade (óbito) de leptospirose, tendo como referência indivíduos do sexo feminino.

6.7 Razão entre infecções subclínicas, graves e óbitos

Utilizando a divisão da incidência de infecções subclínicas por *Leptospira* pela incidência de leptospirose grave, estima-se que a razão entre casos graves e infecções subclínicas seja de 289:1 (Tabela 11). Indivíduos do sexo masculino apresentaram uma tendência de ter uma menor razão entre casos de leptospirose grave e infecções subclínicas estimadas com o avanço da idade, até a faixa etária de 45 a 54 anos. Indivíduos do sexo feminino apresentaram uma maior razão entre casos de leptospirose grave e infecções subclínicas estimadas até a faixa etária de 25 a 34 anos, quando a razão começou a diminuir. De maneira geral, o avanço da idade diminuiu a razão entre ambas manifestações clínicas. A maior razão entre casos de leptospirose grave identificados e infecções subclínicas estimadas foi observada em indivíduos com idade entre 5 e 14 anos, com razão de 763:1. A menor razão foi identificada em indivíduos com 35 a 44 anos, com razão de 20:1.

Em relação à razão entre óbitos identificados e infecções subclínicas estimadas, estima-se que esta medida tenha sido de 1510:1 (Tabela 12). Indivíduos do sexo masculino apresentaram uma tendência de ter uma menor razão entre óbitos por leptospirose e infecções subclínicas estimadas com o avanço da idade. Indivíduos do sexo feminino apresentaram uma maior razão entre óbitos por leptospirose e infecções subclínicas estimadas até a faixa etária de 25 a 34 anos, quando a razão começou a diminuir. De maneira geral, o avanço da idade diminuiu a razão entre ambas manifestações clínicas. A maior razão entre óbitos identificados e infecções subclínicas estimadas foi para a faixa etária de 15 a 24 anos, com razão de 3419:1. A menor razão foi identificada em indivíduos de 35 a 44 anos, com razão de 108:1.

Tabela 11. Razão entre a incidência média anual de infecções subclínicas por *Leptospira* identificadas no estudo de coorte e incidência média anual de leptospirose grave em setores censitários selecionados, entre 2003 e 2006.

Faixa etária	Incidência média anual de infecções subclínicas na área da coorte*	Incidência média anual de infecções graves nos setores censitários selecionados*	Razão entre as incidências de infecções subclínicas e graves
HOMENS			
5-14 anos	2355,1	2,9	809:1
15-24 anos	3846,2	13,0	295:1
25-34 anos	5519,5	17,0	324:1
35-44 anos	2542,4	20,2	126:1
45-54 anos	1250,0	28,8	43:1
≥55 anos	5681,8	26,3	216:1
Total	3365,9	14,5	232:1
MULHERES			
5-14 anos	877,2	1,3	687:1
15-24 anos	1579,8	2,2	713:1
25-34 anos	3036,9	2,4	1270:1
35-44 anos	1937,0	1,9	1020:1
45-54 anos	1038,1	3,4	310:1
≥55 anos	1307,2	5,8	224:1
Total	1665,3	2,4	698:1
TOTAL			
5-14 anos	1604,3	2,1	763:1
15-24 anos	2573,2	7,5	342:1
25-34 anos	4031,2	9,4	427:1
35-44 anos	2157,2	10,6	203:1
45-54 anos	1113,6	15,3	73:1
≥55 anos	2904,6	14,3	202:1
Total	2383,1	8,2	289:1

*Incidência / 100.000 habitantes

Tabela 12. Razão entre a incidência média anual de infecções subclínicas por *Leptospira* identificadas no estudo de coorte e mortalidade média anual por leptospirose em setores censitários selecionados, entre 2003 e 2006.

Faixa etária	Incidência média anual de infecções subclínicas na área da coorte*	Mortalidade média anual por leptospirose nos setores censitários selecionados*	Razão entre as incidências de infecções subclínicas e mortalidade
HOMENS			
5-14 anos	2355,1	0,0	-
15-24 anos	3846,2	1,2	3342:1
25-34 anos	5519,5	2,6	2139:1
35-44 anos	2542,4	3,5	729:1
45-54 anos	1250,0	3,8	333:1
≥55 anos	5681,8	14,8	384:1
Total	3365,9	2,6	1318:1
MULHERES			
5-14 anos	877,2	0,0	-
15-24 anos	1579,8	0,4	4277:1
25-34 anos	3036,9	0,5	6350:1
35-44 anos	1937,0	0,6	3060:1
45-54 anos	1038,1	2,2	465:1
≥55 anos	1307,2	2,3	559:1
Total	1665,3	0,7	2493:1
TOTAL			
5-14 anos	1604,3	0,0	-
15-24 anos	2573,2	0,8	3419:1
25-34 anos	4031,2	1,5	2707:1
35-44 anos	2157,2	2,0	1084:1
45-54 anos	1113,6	2,9	378:1
≥55 anos	2904,6	7,5	386:1
Total	2383,1	1,6	1510:1

*Incidência / 100.000 habitantes

7 Discussão

Nós identificamos infecções subclínicas em indivíduos através de um estudo de coorte constituído em um bairro com alta incidência de leptospirose na cidade de Salvador. Em uma situação ideal, detectaríamos manifestações graves e óbitos na mesma população que deu origem às informações de infecções subclínicas. Entretanto, apesar de o bairro de Pau da Lima ser um bairro com alta incidência da doença, poucos pacientes infectados desenvolvem formas graves da doença. Assim, para observar um número suficientemente grande de manifestações graves na área da coorte, seria necessário aumentar consideravelmente a área da coorte, o que é proibitivo por questões técnicas, ou aumentar o tempo de seguimento da população. Durante os 3 anos em que o estudo de coorte foi conduzido, identificamos 9 infecções graves na área, sendo que apenas um desses indivíduos evoluiu para óbito. Alternativamente, optamos por comparar as infecções subclínicas identificadas no estudo de coorte com casos graves e óbitos oriundos de áreas da cidade com intensidade de pobreza similar à área da coorte. Assim, apesar de as populações comparadas não serem iguais, ao utilizarmos uma ferramenta que caracteriza áreas segundo a intensidade de pobreza para selecionar setores censitários de origem dos casos graves e óbitos, nós tornamos comparáveis as populações.

Neste estudo fomos capazes de demonstrar que a incidência de infecções subclínicas por leptospirose é cerca de duas vezes maior em homens do que em mulheres, sendo que o pico de incidência para infecções subclínicas por leptospirose se dá na faixa etária de 25 a 34 anos. Observamos que a incidência de leptospirose grave é cerca de 6 vezes maior em indivíduos do sexo masculino do que em indivíduos do sexo feminino, e que esta incidência aumenta conforme a idade. Demonstramos também que o risco relativo para o desenvolvimento das diferentes formas clínicas de leptospirose é diferente para as diferentes faixas etárias e sexos. Assim, homens possuem maior risco de infecções subclínicas por leptospirose, porém identificamos que o risco de infecções graves por leptospirose em cada faixa etária em indivíduos do sexo masculino não segue a mesma proporção identificada nas infecções

subclínicas. Entretanto, o risco de óbito por leptospirose uma vez tendo desenvolvido a forma clínica grave é menor em homens do que em mulheres. Isto indica que ser do sexo masculino aumenta o risco de desenvolver infecções subclínicas por *Leptospira* e de desenvolver formas clínicas graves, mas não de evoluir para o óbito. O risco para infecções subclínicas por leptospirose é maior em indivíduos de 25 a 34 anos, em relação a indivíduos de 5 a 14 anos, mas diminui após esta idade. Entretanto, o risco para desenvolvimento de formas graves da doença aumenta conforme a idade, assim como também aumenta o risco de evoluir para óbito uma vez que tenha se desenvolvido a forma grave da doença.

A carência de dados de origem populacional que avaliem infecções subclínicas, graves e óbitos simultaneamente dificulta a identificação de fatores de risco e características sociodemográficas que possam estar associados a diferentes progressões clínicas de pacientes infectados por *Leptospira*. Estudos em surtos de leptospirose já acompanharam a proporção de infecções que evoluem para formas clínicas da doença. Em um estudo na Tailândia, 27% das pessoas que se infectaram em um evento de rafting desenvolveram sinais clínicos, enquanto os demais permaneceram subclínicos (CHUSRI *et al.*, 2012). Em um ensaio clínico randomizado no Brasil, realizado para testar a eficácia da doxiciclina na prevenção de leptospirose após exposição de alto risco, 55% dos indivíduos com sorologia positiva do grupo placebo (não receberam doxiciclina para prevenção de leptospirose após a exposição) manifestaram sinais clínicos, sendo que os demais foram considerados infecções subclínicas (GONSALEZ *et al.*, 1998). Entretanto, a descrição da proporção de indivíduos infectados que manifestam sinais clínicos em situações de surto pode não representar adequadamente a realidade da leptospirose urbana, dado que surtos ocorrem em situações localizadas em condições extremas.

Em um estudo em Salvador, a soroprevalência de anticorpos para *Leptospira* aumentou conforme aumentou a idade, mas não foi encontrada diferença na soroprevalência em indivíduos de diferentes sexos (DIAS *et al.*, 2007). Em outro estudo, também em Salvador, a prevalência de anticorpos para *Leptospira* também aumentou conforme a idade, e indivíduos do sexo masculino possuíam uma chance 1,3 vezes maior de serem reagentes do que indivíduos do sexo feminino (REIS *et al.*, 2008). Uma das etapas do presente

trabalho envolveu a execução de um estudo de coorte em uma população carente, onde identificamos que homens possuem um risco duas vezes maior de serem infectados pela forma subclínica da leptospirose, e que esse risco é diferente para diferentes faixas etárias, alcançando o pico de incidência em indivíduos de 25 a 34 anos de idade.

Estudos em pacientes com leptospirose grave relatam uma frequência maior de indivíduos do sexo masculino com manifestações graves (JANSEN *et al.*, 2007; STORCK *et al.*, 2007; SPICHLER *et al.*, 2012; ZHANG, C. *et al.*, 2012). Proporções de indivíduos do sexo masculino tão altas como 90% (KARIV *et al.*, 2001) e 85,5% (JESUS *et al.*, 2012) de todos os casos de leptospirose identificados já foram reportados na literatura. Em nosso sistema de vigilância para casos de leptospirose grave, 85,0% dos casos oriundos dos setores censitários selecionados para nossa análise também eram do sexo masculino. Nossos achados de incidência de manifestações graves corroboram com os estudos citados, já que a incidência de manifestações graves foi 6 vezes maior em homens do que em mulheres.

É hipotetizado que esta diferença de incidência de formas clínicas graves de leptospirose entre os sexos pode se dar, entre outros fatores, devido a diferentes características de exposições epidemiológicas que homens e mulheres experimentam, possivelmente associadas a exposições ocupacionais (FAINE *et al.*, 1999; LEVETT, 2001; KEENAN *et al.*, 2010). Outra possível explicação para esta diferença na incidência de formas clínicas graves da doença é o fato de a demanda de serviços de saúde ser influenciada pelo sexo (JANSEN *et al.*, 2007), o que pode fazer que a descrição da incidência de leptospirose grave baseada em serviços de saúde seja enviesada no sentido da demanda dos serviços de saúde.

Embora nós não tenhamos testado essa hipótese, esperava-se que caso ela fosse verdadeira, houvesse uma proporcionalidade entre os riscos de infecções subclínicas, manifestações graves e de óbitos entre homens e mulheres. Nosso estudo identificou riscos relativos diferentes segundo a gravidade da leptospirose em homens e mulheres. Observação similar foi realizada anteriormente (JANSEN *et al.*, 2007), sendo que a hipótese levantada para justificar este fenômeno foi a de que indivíduos do sexo feminino cursam uma forma mais branda da doença, fazendo com que os sistemas de vigilância

em hospitais, que são enviesados para casos mais severos, detectem menos casos em indivíduos do sexo feminino, diminuindo a incidência de manifestações graves neste sexo. Outras possíveis explicações para a maior incidência de formas graves em homens são de origem biológica, como a influência hormonal na evolução clínica. O estradiol inibe uma etapa do desenvolvimento de *Paracoccidoides brasiliensis* em mulheres, o que explica a maior incidência de infecção em homens (LOOSE *et al.*, 1983). Um mecanismo parecido, ainda não descrito, pode contribuir para diferenças na incidência de formas clínicas graves de leptospirose em homens e mulheres.

É importante notar que a diferença no risco de manifestações clínicas graves não foi constante para todas as faixas etárias. A medida que a idade aumenta, maior é o risco de desenvolvimento de formas graves da doença, sugerindo que a idade pode afetar o risco para progressão clínica da mesma. Possíveis explicações para este fenômeno podem ser comportamentais, por exemplo, determinadas ações de risco são executadas com maior frequência por indivíduos de determinada faixa etária; ou biológicas, como por exemplo a presença de co-morbidades em diferentes faixas etárias (alcoolismo, fumo, hipertensão), o aumento da prevalência de anticorpos para leptospirose com o aumento da idade (DIAS *et al.*, 2007; REIS *et al.*, 2008) ou mesmo a uma diminuição da imunocompetência com o avançar da idade (RYMKIEWICZ *et al.*, 2012), especialmente devido a uma menor capacidade de controle de mecanismos regulatórios da resposta imune, resultando em uma ineficiente ativação inflamatória (PETERS, 2011).

A letalidade média observada neste estudo foi de 19,2% (IC 95%, 13,7 – 25,7). Outros estudos reportam letalidade de 5,8% em Israel (KARIV *et al.*, 2001) até 14,0% em Barbados (EVERARD *et al.*, 1995), sendo que a letalidade mais comumente reportada é em torno de 10% (LEVETT, 2001; SPICHLER *et al.*, 2008; SPICHLER *et al.*, 2012). Nosso achado de que a letalidade aumenta conforme a idade e é maior em indivíduos do sexo feminino do que em indivíduos do sexo masculino é parcialmente suportada pela literatura. A letalidade por leptospirose já foi descrita como sendo maior em pacientes com idade avançada (DAHER *et al.*, 1999; KO *et al.*, 1999; PANAPHUT *et al.*, 2002; SPICHLER *et al.*, 2008), entretanto não se encontram relatos de diferença de letalidade quanto ao sexo. Nossos achados de letalidade mostram que

indivíduos do sexo masculino tem risco de evoluir para óbito quase 40% menor do que indivíduos do sexo feminino. Estudos sobre o efeito do sexo na evolução clínica de doenças infecciosas sugerem que os níveis de estrogênio influenciam a expressão de determinadas moléculas como a interleucina-10 e a expressão de citocinas inflamatórias oriundas de células TH1 e TH2, modificando assim a capacidade do sistema imune do hospedeiro (SALEM, 2004). Um mecanismo similar poderia explicar a acentuada letalidade identificada neste estudo em indivíduos do sexo feminino.

Uma das limitações deste trabalho é a assumpção de que setores censitários da cidade com intensidade de pobreza similar a dos setores censitários onde foi realizado o estudo de coorte possuem as mesmas características epidemiológicas para transmissão da leptospirose. Entretanto, a utilização da ferramenta de avaliação da intensidade de pobreza permite selecionar indivíduos com manifestações graves e óbitos por leptospirose provenientes de setores censitários que tenham condições socioeconômicas similares a dos pacientes com infecções subclínicas por *Leptospira*, identificados no bairro de Pau da Lima. Devido ao fato de o mapeamento de pobreza usar em sua composição características sabidamente associadas com a ocorrência da leptospirose, como a presença de esgoto, água e coleta de lixo precários, acreditamos que esta ferramenta sirva como um razoável aproximador do risco para a ocorrência da doença e julgamos que os benefícios da análise se sobrepõem aos possíveis erros inerentes à mesma.

A determinação da população dos setores censitários de Salvador foi realizada utilizando os dados do Censo Nacional de 2000, por este ter sido o censo realizado mais próximo ao período de execução do nosso estudo. Entretanto, a população da cidade se alterou ao longo dos anos, e nossas estimativas de incidência podem não ser totalmente acuradas. Contudo, tais diferenças devem ser pequenas devido à pequena alteração da população de Salvador no prazo de 3 a 6 anos. Entre as décadas de 2000 e 2010, a população de Salvador cresceu cerca de 0,9% ao ano (IBGE, 2011).

Neste estudo, utilizamos um critério clínico para incluir pacientes com leptospirose grave, aqueles hospitalizados com síndrome febril aguda associada a pelo menos um dos seguintes sinais: icterícia, oligúria, insuficiência renal aguda ou hemorragias, e que não foram confirmados como

possuindo outra causa de internamento, tendo um teste confirmatório ou não para leptospirose. Devido ao exame de referência para leptospirose exigir a coleta de uma amostra de sangue convalescente para confirmação diagnóstica, conição nem sempre possível por dificuldades logísticas ou por ocasião do óbito do paciente, a utilização deste critério clínico tem como vantagem não perder pacientes devido à ausência de coleta de amostra convalescente. A possibilidade de um paciente ser considerado um caso de leptospirose grave mesmo não tendo nenhum resultado laboratorial confirmatório é em especial importante para pacientes que evoluem para óbito, dos quais a probabilidade de se obter uma amostra para teste laboratorial sorológico que confirme a doença diminui. Apesar de incluirmos na análise de casos graves e óbitos por leptospirose pacientes sem confirmação laboratorial da mesma, não observamos diferenças clínicas ou demográficas entre os pacientes com e sem confirmação laboratorial, com exceção do número de óbitos. Desta forma, se o critério de confirmação usado neste trabalho fosse exclusivamente laboratorial, muitos dos casos muito graves, com rápida evolução para óbito, não teriam sido considerados casos. Ainda assim, foram confirmados laboratorialmente 85,0% dos casos de leptospirose grave e 62,5% dos óbitos por leptospirose identificados neste estudo. Apesar de mesmo quando amostras de sangue aguda e convalescentes são disponíveis, a sensibilidade do teste de microaglutinação é de apenas 76%, quando se usa o isolamento como padrão ouro (CUMBERLAND *et al.*, 1999).

8 Conclusões

A estimativa de que ocorram cerca de 320 infecções subclínicas para cada caso de leptospirose grave e 1700 infecções subclínicas para cada óbito por leptospirose identificado em determinadas comunidades carentes de Salvador indica que a carga da leptospirose urbana é maior do que o estimado apenas com a identificação de casos de leptospirose grave e óbitos por leptospirose. Desta forma, análises do impacto da doença na sociedade provavelmente são subestimadas.

Indivíduos do sexo masculino apresentam um risco de desenvolver infecções graves por leptospirose desproporcionalmente maior que o risco de desenvolvimento de infecções subclínicas. Quando ocorre o desenvolvimento de infecção grave, indivíduos do sexo feminino apresentam maior risco de evoluírem para óbito. Isto indica que o sexo pode influenciar a progressão clínica da doença, de forma a aumentar o risco de desenvolver manifestações clínicas graves da doença em indivíduos do sexo masculino e de diminuir o risco para óbito nos homens em relação às mulheres.

Idade entre 25 e 34 anos representou maior risco para o desenvolvimento de infecções subclínicas em comparação com as demais faixas etárias. Indivíduos com idade entre 45 e 54 anos apresentaram maior risco de desenvolvimento de formas clínicas graves do que indivíduos de outras faixas etárias. Indivíduos com idade igual ou superior a 55 anos apresentaram maior risco de óbito. O risco de desenvolvimento de diferentes formas clínicas da doença não foi proporcional dentre as faixas etárias, sendo que o avanço da idade aumentou o risco de desenvolvimento de formas clínicas graves de leptospirose e de óbito por leptospirose.

Este estudo implica que a da leptospirose tem diferentes razões de progressão clínica em indivíduos de diferentes sexos e faixas etárias. Desta forma, recomenda-se que estudos adicionais sejam executados a fim de melhor estudar as hipóteses levantadas neste estudo para explicar as diferenças no risco de progressão clínica, como por exemplo, o papel de infecções secundárias, o papel de hormônios associados a sexo e a presença de co-morbidades.

9 Referências Bibliográficas

ADLER, B., *et al.* Pathogenesis of leptospirosis: the influence of genomics. **Vet Microbiol**, v.153, n.1-2, Nov 21, p.73-81. 2011.

AGAMPODI, S. B., *et al.* Utility of Quantitative Polymerase Chain Reaction in Leptospirosis Diagnosis: Association of Level of Leptospiremia and Clinical Manifestations in Sri Lanka. **Clinical Infectious Diseases**, v.54, n.9, p.1249-1255. 2012.

AGAMPODI, S. B., *et al.* Leptospirosis Outbreak in Sri Lanka in 2008: Lessons for Assessing the Global Burden of Disease. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.85, n.3, p.471-478. 2011.

AGUDELO-FLOREZ, P., *et al.* Leptospirosis in Uraba, Antioquia, Colombia: a seroepidemiological and risk factor survey in the urban population. **Cad Saude Publica**, v.23, n.9, Sep, p.2094-102. 2007.

BAKOSS, P., *et al.* Long-term trends in the epidemiology of human leptospirosis (Slovak Republic, 1954–2006). **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v.31, n.9, p.2167-2176. 2012.

BATISTA, C. S. A., *et al.* Estabelecimento da leptospirose por infecção experimental em hamsters. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.47, n.5, p.346. 2010.

BENSCHOP, J., *et al.* Sero-prevalence of leptospirosis in workers at a New Zealand slaughterhouse. **N Z Med J**, v.122, n.1307, 2009 Dec 11, p.39-47. 2009.

BERLIOZ-ARTHAUD, A., *et al.* Multicentre survey of incidence and public health impact of leptospirosis in the Western Pacific. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v.101, n.7, Jul, p.714-21. 2007.

BERNARDI, F. D. C., *et al.* Immune receptors and adhesion molecules in human pulmonary leptospirosis. **Human Pathology**. 2012.

BERTHERAT, E., *et al.* Leptospirosis and Ebola virus infection in five gold-panning villages in northeastern Gabon. **Am J Trop Med Hyg**, v.60, n.4, Apr, p.610-5. 1999.

BLESSMANN, J., *et al.* Epidemiology of amebiasis in a region of high incidence of amebic liver abscess in central Vietnam. **Am J Trop Med Hyg**, v.66, n.5, May, p.578-83. 2002.

BRASIL. Guia de vigilância epidemiológica. D. D. V. EPIDEMIOLÓGICA. Brasília: Ministério da Saúde: 816 p. 2009.

BROCKMANN, S., *et al.* Outbreak of leptospirosis among triathlon participants in Germany, 2006. **BMC Infectious Diseases**, v.10, n.1, p.91. 2010.

- BROWN, M. G., *et al.* Leptospirosis in suspected cases of dengue in Jamaica, 2002-2007. **Tropical Doctor**, v.40, n.2, p.92-94. 2010.
- CANN, K. F., *et al.* Extreme water-related weather events and waterborne disease. **Epidemiology and Infection**, p.1-16. 2012.
- CASTRO, V., *et al.* Fatores de risco para a leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, p.1438-1442. 2009.
- CHOU, L. F., *et al.* Sequence of *Leptospira santarosai* serovar Shermani genome and prediction of virulence-associated genes. **Gene**, v.511, n.2, Dec 15, p.364-70. 2012.
- CHOW, E., *et al.* Prolonged *Leptospira* Urinary Shedding in a 10-Year-Old Girl. **Case Reports in Pediatrics**, v.2012, p.1-3. 2012.
- CHOW, Y., *et al.* Leptospirosis in Taiwan, 2001-2006. **Emerging Infectious Diseases**, v.14, n.5, p.857. 2008.
- CHUSRI, S., *et al.* Leptospirosis among river water rafters in Satoon, southern Thailand. **J Med Assoc Thai**, v.95, n.7, Jul, p.874-7. 2012.
- CUMBERLAND, P., *et al.* Assessment of the efficacy of an IgM-elisa and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. **Am J Trop Med Hyg**, v.61, n.5, Nov, p.731-4. 1999.
- DAHER, E., *et al.* Risk factors for death and changing patterns in leptospirosis acute renal failure. **Am J Trop Med Hyg**, v.61, n.4, Oct, p.630-4. 1999.
- DE-SOUZA, L. & M. C. KOURY. Chemical and biological properties of endotoxin from *Leptospira interrogans* serovars canicola and icterohaemorrhagiae. **Braz J Med Biol Res**, v.25, n.5, p.467-75. 1992.
- DESAI, S., *et al.* Resurgence of Field Fever in a Temperate Country: An Epidemic of Leptospirosis among Seasonal Strawberry Harvesters in Germany in 2007. **Clinical Infectious Diseases**, v.48, n.6, p.691-697. 2009.
- DIAS, J. P., *et al.* Factors associated with *Leptospira* sp infection in a large urban center in northeastern Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.40, n.5, Sep-Oct, p.499-504. 2007.
- ELLIS, W. A. International Committee on Systematic Bacteriology Subcommittee on the Taxonomy of *Leptospira*. **INTERNATIONAL JOURNAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY**, v.45, n.4, p.872-874. 1995.
- EVERARD, C. O., *et al.* A twelve-year study of leptospirosis on Barbados. **Eur J Epidemiol**, v.11, n.3, Jun, p.311-20. 1995.
- FAINE, S., *et al.* **Leptospira and leptospirosis**. Melbourne :: MediSci. 1999

FARIA, M. T. D., *et al.* Carriage of *Leptospira interrogans* among domestic rats from an urban setting highly endemic for leptospirosis in Brazil. **Acta Tropica**, v.108, n.1, p.1-5. 2008.

FARMER, P. Social inequalities and emerging infectious diseases. **Emerg Infect Dis**, v.2, n.4, Oct-Dec, p.259-69. 1996.

GALLI, M., *et al.* Immune complexes in leptospirosis. **Infection**, v.13, n.3, p.156. 1985.

GAMAGE, C. D., *et al.* Analysis of hospital-based sentinel surveillance data on leptospirosis in Sri Lanka 2005-2008. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, v.65, n.2, Mar 2012, p.157-161. 2012.

GONSALEZ, C. R., *et al.* Use of doxycycline for leptospirosis after high-risk exposure in Sao Paulo, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v.40, n.1, Jan-Feb, p.59-61. 1998.

GOUVEIA, E. L., *et al.* Leptospirosis-associated severe pulmonary hemorrhagic syndrome, Salvador, Brazil. **Emerg Infect Dis**, v.14, n.3, Mar, p.505-8. 2008.

HAAKE, D. A., *et al.* Changes in the surface of *Leptospira interrogans* serovar grippityphosa during in vitro cultivation. **Infect Immun**, v.59, n.3, Mar, p.1131-40. 1991.

HADAD, E., *et al.* AN OUTBREAK OF LEPTOSPIROSIS AMONG ISRAELI TROOPS NEAR THE JORDAN RIVER. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.74, n.1, January 1, 2006, p.127-131. 2006.

HERRMANN-STORCK, C. Severe Leptospirosis in Hospitalized Patients, Guadeloupe. **Emerging Infectious Diseases**, v.16, n.2. 2010.

JANSEN, A., *et al.* Leptospirosis in Germany, 1962-2003. **Emerg Infect Dis**, v.11, n.7, Jul, p.1048-54. 2005.

JANSEN, A., *et al.* Sex Differences in Clinical Leptospirosis in Germany: 1997-2005. **Clinical Infectious Diseases**, v.44, n.9, p.69-72. 2007.

JAUREGUIBERRY, S., *et al.* Clinical presentation of leptospirosis: a retrospective study of 34 patients admitted to a single institution in metropolitan France. **Clin Microbiol Infect**, v.11, n.5, May, p.391-4. 2005.

JESUS, M. S., *et al.* Cases distribution of leptospirosis in City of Manaus, State of Amazonas, Brazil, 2000-2010. **Rev Soc Bras Med Trop**, v.45, n.6, Dec, p.713-6. 2012.

JOHNSON, M. A., *et al.* Environmental exposure and leptospirosis, Peru. **Emerg Infect Dis**, v.10, n.6, Jun, p.1016-22. 2004.

KARIV, R., *et al.* The changing epidemiology of leptospirosis in Israel. **Emerg Infect Dis**, v.7, n.6, Nov-Dec, p.990-2. 2001.

- KEENAN, J., *et al.* Risk factors for clinical leptospirosis from Western Jamaica. **Am J Trop Med Hyg**, v.83, n.3, Sep, p.633-6. 2010.
- KLAASEN, H. L., *et al.* Duration of immunity in dogs vaccinated against leptospirosis with a bivalent inactivated vaccine. **Vet Microbiol**, v.95, n.1-2, Aug 29, p.121-32. 2003.
- KO, A. I., *et al.* Leptospira: the dawn of the molecular genetics era for an emerging zoonotic pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, v.7, n.10, p.736-747. 2009.
- KO, A. I., *et al.* Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. **The Lancet**, v.354, n.9181, p.820-825. 1999.
- KOUADIO, I. K., *et al.* Infectious diseases following natural disasters: prevention and control measures. **Expert Rev Anti Infect Ther**, v.10, n.1, Jan, p.95-104. 2012.
- KYRIAKIDIS, I., *et al.* Serum TNF- α , sTNFR1, IL-6, IL-8 and IL-10 levels in Weil's syndrome. **Cytokine**, v.54, n.2, p.117-120. 2011.
- LAU, C. L., *et al.* Climate change, flooding, urbanisation and leptospirosis: fuelling the fire? **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.104, n.10, p.631-638. 2010.
- LEONE, M., *et al.* Effect of sex on *Coxiella burnetii* infection: protective role of 17 β -estradiol. **J Infect Dis**, v.189, n.2, Jan 15, p.339-45. 2004.
- LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v.14, n.2, p.296-326. 2001.
- LIMPER, M., *et al.* Copeptin as a predictor of disease severity and survival in leptospirosis. **J Infect**, v.61, n.1, Jul, p.92-4. 2010.
- LIN, C. Y., *et al.* Leptospirosis after Typhoon. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.86, n.2, p.187-188. 2012.
- LOOSE, D. S., *et al.* Estradiol binds to a receptor-like cytosol binding protein and initiates a biological response in *Paracoccidioides brasiliensis*. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v.80, n.24, Dec, p.7659-63. 1983.
- MACEDO, N. A., *et al.* Influência da via de inoculação sobre o estabelecimento e a evolução da leptospirose em hamsters (*Mesocricetus auratus*) experimentalmente infectados com *Leptospira interrogans* sorovar pomona. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.41, p.194. 2004.
- MACIEL, E. A. P., *et al.* Household Transmission of *Leptospira* Infection in Urban Slum Communities. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.2, n.1, p.e154. 2008.
- Mapeamento de Pobreza em áreas urbanas do Estado da Bahia. Superintendência de Estudos Econômicos e Sociais da Bahia - SEI, Companhia de Desenvolvimento Urbano do Estado da Bahia - CONDER, Governo do Estado da Bahia. CD-ROM. 2007.

MARICATO, E. Urbanismo na periferia do mundo globalizado: metrópoles brasileiras. **São Paulo em Perspectiva**, v.14, p.21-33. 2000.

MARZOCCHI-MACHADO, C. M. & Y. M. LUCISANO-VALIM. Clearance de imunocomplexos papel do complemento e dos polimorfonucleares neutrófilos. **Medicina, Ribeirão Preto**, v.30, p.234. 1997.

MASKEY, M., *et al.* Leptospirosis in Mumbai: post-deluge outbreak 2005. **Indian J Med Microbiol**, v.24, n.4, Oct, p.337-8. 2006.

MCBRIDE, A. J., *et al.* Leptospirosis. **Curr Opin Infect Dis**, v.18, n.5, Oct, p.376-86. 2005.

MONAHAN, A. M., *et al.* Review Paper: Host-Pathogen Interactions in the Kidney during Chronic Leptospirosis. **Veterinary Pathology Online**, v.46, n.5, September 1, 2009, p.792-799. 2009.

MORGAN, J., *et al.* Outbreak of Leptospirosis among Triathlon Participants and Community Residents in Springfield, Illinois, 1998. **Clinical Infectious Diseases**, v.34, 15 June 2002, p.1593-1599. 2002.

NARANJO, M., *et al.* Study of a Leptospirosis Outbreak in Honduras Following Hurricane Mitch and Prophylactic Protection of the vax-SPIRAL(R) Vaccine. **MEDICC Rev**, v.10, n.3, Jul, p.38-42. 2008.

NAVARRO, C. E., *et al.* Serum biochemical changes in dogs with experimental *Leptospira interrogans* serovar icterohaemorrhagiae infection. **Am J Vet Res**, v.42, n.7, Jul, p.1125-9. 1981.

NOGUCHI, H. Etiology of Yellow Fever : Viii. Presence of a *Leptospira* in Wild Animals in Guayaquil and Its Relation to *Leptospira Icterohaemorrhagiae* and *Leptospira Icteroides*. **J Exp Med**, v.30, n.2, Aug 1, p.95-107. 1919.

NOVELLINO, M. S. F. OS ESTUDOS SOBRE FEMINIZAÇÃO DA POBREZA E POLÍTICAS PÚBLICAS PARA MULHERES. XIV Encontro Nacional de Estudos Populacionais, ABEP. Caxambú, MG, Brasil 2004.

PANAPHUT, T., *et al.* Prognostic factors of death in leptospirosis: a prospective cohort study in Khon Kaen, Thailand. **Int J Infect Dis**, v.6, n.1, Mar, p.52-9. 2002.

PAPPAS, G., *et al.* The globalization of leptospirosis: worldwide incidence trends. **International Journal of Infectious Diseases**, v.12, n.4, p.351-357. 2008.

PASCHE, B., *et al.* Sex-dependent susceptibility to *Listeria monocytogenes* infection is mediated by differential interleukin-10 production. **Infect Immun**, v.73, n.9, Sep, p.5952-60. 2005.

PASTEUR, T. S. G. A. T. I. *Leptospira* Strain list. Paris: Institut Pasteur. 2012 2006.

- PEACOCK, S. J., *et al.* Asymptomatic Renal Colonization of Humans in the Peruvian Amazon by *Leptospira*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.4, n.2, p.e612. 2010.
- PESCADOR, C. A., *et al.* Aborto equino por *Leptospira* spp. **Ciência Rural**, v.34, n.1, jan-fev 2004, p.271-274. 2004.
- PETERS, T. Immunosenescence. Current status and molecular mechanisms. **Hautarzt**, v.62, n.8, Aug, p.598-606. 2011.
- PHRAISUWAN, P., *et al.* Leptospirosis: skin wounds and control strategies, Thailand, 1999. **Emerg Infect Dis**, v.8, n.12, Dec, p.1455-9. 2002.
- RADL, C., *et al.* Outbreak of leptospirosis among triathlon participants in Langau, Austria, 2010. **Wiener klinische Wochenschrift**, v.123, n.23-24, p.751-755. 2011.
- REIS, R. B., *et al.* Impact of environment and social gradient on *Leptospira* infection in urban slums. **PLoS Negl Trop Dis**, v.Apr 23, n.1935-2735 (Electronic), 20080423 DCOM- 20100309. 2008.
- RISTOW, P., *et al.* The OmpA-like protein Loa22 is essential for leptospiral virulence. **PLoS Pathog**, v.3, n.7, Jul, p.e97. 2007.
- ROJAS, P., *et al.* Detection and quantification of leptospires in urine of dogs: a maintenance host for the zoonotic disease leptospirosis. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v.29, n.10, p.1305-1309. 2010.
- ROMERO, E. C., *et al.* Human leptospirosis: a twenty-nine-year serological study in Sao Paulo, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v.45, n.5, Sep-Oct, p.245-8. 2003.
- RYMKIEWICZ, P. D., *et al.* The immune system in the aging human. **Immunol Res**, v.53, n.1-3, Sep, p.235-50. 2012.
- SALEM, M. L. Estrogen, a double-edged sword: modulation of TH1- and TH2-mediated inflammations by differential regulation of TH1/TH2 cytokine production. **Curr Drug Targets Inflamm Allergy**, v.3, n.1, Mar, p.97-104. 2004.
- SARKAR, U., *et al.* Population-based case-control investigation of risk factors for leptospirosis during an urban epidemic. **Am J Trop Med Hyg**, v.66, n.5, May, p.605-10. 2002.
- SEJVAR, J., *et al.* Leptospirosis in "Eco-Challenge" athletes, Malaysian Borneo, 2000. **Emerg Infect Dis**, v.9, n.6, Jun, p.702-7. 2003.
- SERGIO, A. D. M., *et al.* Leptospirosis prevalence in patients with initial diagnosis of dengue. **J Trop Med**, v.2012, p.519701. 2012.
- SHARMA, K., *et al.* Leptospirosis-induced still birth and postpartum sepsis. **Indian Journal of Pathology and Microbiology**, v.54, n.2, p.426. 2011.

SILVA, E. F., *et al.* Characterization of virulence of *Leptospira* isolates in a hamster model. **Vaccine**, v.26, n.31, Jul 23, p.3892-6. 2008.

SPICHLER, A., *et al.* Comparative Analysis of Severe Pediatric and Adult Leptospirosis in Sao Paulo, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.86, n.2, p.306-308. 2012.

SPICHLER, A. S., *et al.* Predictors of Lethality in Severe Leptospirosis in Urban Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.79, n.6, p.911-914. 2008.

STIMSON, A. M. Note on an organism found in Yellow-Fever tissue. **Public Health Reports**, v.22, n.18. 1907.

STORCK, C. H., *et al.* Changes in epidemiology of leptospirosis in 2003–2004, a two El Niño Southern Oscillation period, Guadeloupe archipelago, French West Indies. **Epidemiology and Infection**, v.136, n.10. 2007.

SZONYI, B., *et al.* An outbreak of severe leptospirosis in capuchin (*Cebus*) monkeys. **The Veterinary Journal**, v.188, n.2, p.237-239. 2011.

TAJIKI, M. H. & R. SALOMÃO. Association of Plasma Levels of Tumor Necrosis Factor α with Severity of Disease and Mortality Among Patients with Leptospirosis. **Clinical Infectious Diseases**, v.23, n.5, November 1, 1996, p.1177-1178. 1996.

THORNLEY, C. N., *et al.* Changing epidemiology of human leptospirosis in New Zealand. **Epidemiol Infect**, v.128, n.1, Feb, p.29-36. 2002.

TIWARI, R. R. Occupational health hazards in sewage and sanitary workers. **Indian J Occup Environ Med**, v.12, n.3, Dec, p.112-5. 2008.

TREVEJO, R. T., *et al.* Epidemic leptospirosis associated with pulmonary hemorrhage-Nicaragua, 1995. **J Infect Dis**, v.178, n.5, Nov, p.1457-63. 1998.

VINETZ, J. M. Leptospirosis. **Curr Opin Infect Dis**, v.14, n.5, Oct, p.527-38. 2001.

VIRIYAKOSOL, S., *et al.* Toll-Like Receptor 4 Protects against Lethal *Leptospira interrogans* Serovar Icterohaemorrhagiae Infection and Contributes to In Vivo Control of Leptospiral Burden. **Infection and Immunity**, v.74, n.2, p.887-895. 2006.

WAGENAAR, J. F. P., *et al.* Long pentraxin PTX3 is associated with mortality and disease severity in severe Leptospirosis. **Journal of Infection**, v.58, n.6, p.425-432. 2009.

WHO. Guidelines for the control of leptospirosis. **WHO Offset Publ**, n.67, p.1-171. 1982.

YASUDA, P. H., *et al.* Deoxyribonucleic Acid Relatedness between Serogroups and Serovars in the Family Leptospiraceae with Proposals for Seven New *Leptospira* Species. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.37, n.4. 1987.

ZHANG, C., *et al.* Leptospirosis prevalence in Chinese populations in the last two decades. **Microbes and Infection**, v.14, n.4, p.317-323. 2012.

ZHANG, Y., *et al.* Establishment of a leptospirosis model in guinea pigs using an epicutaneous inoculations route. **BMC Infectious Diseases**, v.12, n.1, p.20. 2012.