

INFLUÊNCIA DAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS NA TRANSMISSÃO DA LEPTOSPIROSE ENTRE CRIAÇÕES DE OVINOS E BOVINOS DA REGIÃO DE SOROCABA, SP*

C. Escócio¹, M.E. Genovez¹, V. Castro¹, R.M. Piatti¹, F.H.L. Gabriel²,
D.P. Chiebao², S.S. Azevedo³, S.R. Vieira⁴, M. Chiba⁴

¹Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, Av. Cons. Rodrigues Alves 1.252, CEP 04014-002, São Paulo, SP; Brasil E-mail: genovez@biologico.sp.gov.br

RESUMO

Leptospiras excretadas pela urina podem sobreviver por longos períodos em águas de superfície e solos, na dependência do pH e teor de umidade e de matéria orgânica. Investigou-se a influência do meio ambiente na transmissão da leptospirose em dois rebanhos exclusivos de ovinos (A e C) e dois de ovinos consorciados com bovinos (F e H) da região de Sorocaba, SP, no período de dezembro de 2007 a setembro de 2008. Foram examinadas amostras de soro pela reação de soroprecipitação microscópica; de urina, água e solo pelo cultivo para leptospiras e urina de ovinos pela PCR. Condições edafoclimáticas, pH das águas de superfície e solo, granulometria e permeabilidade do solo foram analisadas. Todos os rebanhos apresentaram pelo menos um animal sororeagente para *Leptospira* spp. Apenas a PCR de um pool de urina de ovinos (H) foi positiva. *Leptospira* spp. foi isolada do lago de F. O pH das águas de superfície variou entre 6,0-7,0; e nos solos entre 4,5 e 6,8. Os índices de matéria orgânica em A, C e H variaram de 24 a 35 g/dm³, e 63 g/dm³ em F. A composição do solo de A e F mostrou-se franco-argiloarenosa, C argilosa e H franco-siltosa; como texturas mistas são capazes de manter a umidade, principalmente devido a argila. Diante da presença de animais sororeatores e portanto da circulação de *Leptospira* spp. nos rebanhos, conclui-se que o ciclo de transmissão é dependente da interação sinérgica e antagonista de muitas variáveis; onde o pastejo num *habitat* com alto teor de umidade parece ser limitante.

PALAVRAS-CHAVE: Leptospirose ovina, ovinos - pastejo bovino em conjunto, condições edafoclimáticas.

ABSTRACT

THE INFLUENCE OF ENVIRONMENT CONDITIONS ON THE TRANSMISSION OF LEPTOSPIROSIS BETWEEN SHEEP AND CATTLE HERDS OF SOROCABA REGION, SP, BRAZIL. Leptospire excreted by urine are able to survive for long periods in surface water and soil depending on the pH, humidity and organic matter presence. This paper reported the influence of environment conditions on the transmission of leptospirosis in two sheep-only farms (A and C) and two cattle-sheep farms (F and H) from December 2007 to September 2008. Serum samples were examined by microscopic agglutination test; urine, surface water and soil samples were cultured for leptospire, and ovine urine pools were analyzed by PCR. Regional edaphoclimatic conditions, pH of surface water and soil, granulometry and permeability of soil were analyzed. All herds presented at least one reactor to *Leptospira* spp. Only the PCR of an ovine urine pool of herd H was positive and *Leptospira* spp. was isolated from the F lake. The pH of water samples ranged from 6.0 to 7.0; while in soil it was around from 4.5 to 6.8. Soil organic matter were 24 to 35 g/dm³ in A, C e H, and 63 g/dm³ in F. Soil samples of A and F showed loamy-clay texture; C had clay soil, and H loamy-silt soil; as mixed compositions are able to maintain the humidity, mainly where clay is present. As the presence of reactors in all herds indicated the contact with *Leptospira* spp., it was concluded that the cycle of transmission is dependent on the synergistic and antagonistic interaction of many variables; but the close contact of animals grazing in a high humidity habitat seems to be limiting.

KEY WORDS: Ovine leptospirosis, ovine - bovine grazing together, edaphoclimatic conditions.

²Polo Apta de Sorocaba, Sorocaba, SP, Brasil

³Universidade Federal de Campina Grande, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Patos, PB, Brasil.

⁴Instituto Agronômico, Centro de Conservação do Solo, Campinas, SP, Brasil.

*Este trabalho contou com financiamento da FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

INTRODUÇÃO

Enfermidade mundialmente distribuída, a leptospirose é particularmente prevalente nas Américas e considerada endêmica na América Latina e no Caribe, com impacto na economia agropecuária. A ocorrência de leptospirose está estreitamente vinculada aos fatores ambientais, que podem dar lugar a um foco de infecção, cuja amplitude está na dependência de condições favoráveis para manutenção da estirpe de *Leptospira* spp. (ALVES *et al.*, 1996; GENOVEZ, *et al.*, 2006).

Teoricamente qualquer sorovar de *Leptospira* spp. pode infectar qualquer espécie animal, mas na prática um número limitado de sorovares é endêmico em uma região ou país em particular. Neste caso, a infecção é determinada pelas espécies animais de contato, pelo(s) sorovar(es) existente(s) naquela propriedade ou região, pelas condições ambientais e climáticas, e ainda depende do manejo e das oportunidades de infecção direta ou indireta (GENOVEZ, *et al.* 2006). Leptospiras excretadas pela urina ou provenientes de outros materiais clínicos podem sobreviver por longos períodos em solo, na dependência da umidade, pH e matéria orgânica (FAINE *et al.*, 1999).

A composição granulométrica do solo influi na capacidade de retenção da água e manutenção da umidade necessária a sua sobrevivência e multiplicação. Solos coloidais retêm a umidade e absorvem micro-organismos, presumivelmente permitindo que as leptospiras sobrevivam em condições secas. Águas da chuva e correntezas inundam as rachaduras provocadas pela dessecação, fazendo com que as leptospiras sejam liberadas para o ambiente, atingindo as águas e as camadas superficiais do solo, fechando o ciclo de infecção (SMITH; SELF, 1955; KARASEVA, 1971; ELDER *et al.*, 1986). Em solos arenosos (partículas com diâmetro de 0,05 a 2 mm), a infiltração da água ocorre mais rapidamente o que facilita a drenagem, resultando em baixa retenção; aqueles com partícula de silte (diâmetro 0,05 a 0,002 mm) apresentam permeabilidade menor em relação à areia, porém sua capacidade de retenção é bem maior e solos argilosos (partícula com diâmetro < 0,002 mm) possuem maior capacidade de retenção de água devido à presença de poros muito menores do que nos solos arenosos, portanto, com permeabilidade menor comparada aos solos arenosos e silte.

O solo é o receptáculo final de matéria orgânica composta de resíduos de origem vegetal, animal e dos produtos das transformações que controlam a dinâmica populacional da microbiota (FAINE *et al.*, 1999; MOREIRA; SIQUEIRA, 2002), influenciados pelas condições edafoclimáticas. A presença de matéria orgânica e pH próximo da neutralidade assumem grande importância na perpetuação de focos de leptospirose numa região (RADOSTITS *et al.*, 2000).

A presença de matéria orgânica em água e solos contaminados pela urina de animais infectados

propicia um importante ambiente para a transmissão de leptospiras, que podem persistir nestas condições por até duas semanas (HENRY *et al.*, 1971). Flutuação na população bacteriana tem sido associada às variações de umidade e teor de matéria orgânica, os quais apresentam importante papel na distribuição de leptospiras. O maior número de isolados de solos ocorre onde há mais de 65% de umidade, sendo raramente positivos em solos arenoso (TORTEN *et al.* 1970 *apud* HENRY; JOHNSON, 1978). A matéria orgânica se agrega melhor à argila pela característica da alta retenção de água e pela capacidade de absorver e ceder nutrientes, aumentando as características dinâmicas do solo (LEPSCH, 2002). Solos arenosos são pobres em matéria orgânica por ser rapidamente mineralizada, além da alta permeabilidade e baixa retenção de umidade (OLIVEIRA, 2005).

Na água e no solo, leptospiras patogênicas também conseguem sobreviver, dependendo do pH. No solo de plantações de cana-de-açúcar com pH ácido (6,0), leptospiras podem sobreviver por período de até sete semanas, e em solos com poças de água de chuvas, sobrevivem por até três semanas (LEVETT, 2001).

A ocorrência e a transmissão da leptospirose são influenciadas pelas características do agente infeccioso, à suscetibilidade de hospedeiros, concentração demográfica, movimentação, interação entre espécies e populações, finalidade de uso dos animais e, sobretudo, pelas condições ambientais que permitem sua manutenção e multiplicação (HERHOLZ *et al.*, 2006).

O objetivo deste trabalho foi investigar a influência das condições ambientais e edafoclimáticas regionais como predisponentes à infecção por *Leptospira* spp. e sua transmissão entre ovinos e bovinos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados quatro rebanhos da região de Sorocaba, SP, sendo dois de criação exclusiva de ovinos (A e C) mestiços das raças Suffolk, Dorper e Santa Inês, de várias idades, predominantemente fêmeas, criados em regime semi-intensivo e dois de ovinos mestiços das raças Suffolk, Poll Dorset, Santa Inês e Paraíso, de várias idades, predominantemente fêmeas, consorciados com bovinos sem raça definida (HeF), criados em regime extensivo, que não haviam recebido vacinação contra leptospirose. O rebanho A, embora em pastejo, tinha acesso restrito às águas de superfície, contando com um bebedouro. Os rebanhos C, H e F tinham acesso a rios, lagos e mananciais para água de bebida, assim como pastejo em várzeas.

Na estação das chuvas foram colhidas amostras sorológicas de 100% dos animais adultos e analisadas pela Soroaglutinação Microscópica - SAM, frente a 26 sorovares segundo ELLIS (1994). Para o cálculo da soroprevalência da leptospirose foram

colhidas amostras de soro de 100% dos animais nos quatro rebanhos, e considerado o número de reações positivas sobre o total de animais (por espécie) da propriedade, definindo-se como o provável sorovar infectante o mais frequente e que apresentou maior título na SAM. Também durante a estação das chuvas, amostras de urina de 10% destes animais foram cultivadas para leptospiros empregando-se meios EMJH (Difco) e Fletcher (Difco) adicionados de mistura antibiótica 5-fluoracil 1% e ácido nalidíxico 4% (ALVES *et al.*, 1996) e mantidos a 30°C por 24 horas. Um mL de cada amostra foi transferido para EMJH e Fletcher livres de antibióticos. Uma alíquota das amostras de urina foi filtrada em pré-filtro 0,45 µ e filtro Millipore 0,65 µ e três a quatro gotas do filtrado foram semeadas em tubos com EMJH, sem solução antibiótica. Outra alíquota foi submetida à diluição seriada (10^{-1} a 10^{-4}) e semeada em meio EMJH e Fletcher sem antibióticos (GALTON *et al.*, 1962). Todos os tubos foram incubados em condições aeróbicas a 30°C por 60 dias, com leituras semanais, em microscópio Jena Zeiss com condensador de campo escuro seco, com lente objetiva Epiplan 20x/0,20 e de ocular 10 (100X).

Oito *pools* de amostras de urina de dois ou três ovinos, quatro provenientes dos rebanhos exclusivos de ovinos e quatro dos consorciados, e ainda dois *pools* de dois bovinos das criações consorciadas foram submetidas à técnica da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) para detecção do DNA gênero-específico de *Leptospira* spp. A extração do DNA foi realizada por fervura-fenol (RICHTZENHAIN *et al.*, 2002) e empregados os primers gênero específicos Lep1 e Lep2, *Leptospira* spp. - fragmento de 331 pb: Lep 1: 5' GGC GGC GCG TCT TAA ACA TG 3' e Lep 2: 3' TTC CCC CCA TTG AGCA AAG ATT 5' (MÉRIEN *et al.*, 1992). O gel foi corado com brometo de etídeo 0,5 µg/mL e posteriormente fotografado sob luz ultravioleta (300-320 nm) pelo sistema de foto-documentação (Câmera Kodak Digital DC/120 Zoom) e analisado com o software 1D Image Analysis (Kodak Digital Science).

Foi realizado o cultivo microbiológico de oito amostras de aproximadamente 100 gramas de solo, duas ou três por propriedade foram colhidas pela manhã, em início do mês de abril de 2008, às margens de regiões de pastejo próximas a alagados, lagos, rios e mananciais e ainda da pastagem central, e nove amostras de 20 mL da água de superfície que serviam de bebida e do bebedouro. As amostras de águas foram centrifugadas a 5.000 Xg por 15 minutos e uma alíquota dos sobrenadantes foi observada em microscopia de campo escuro. Um mL do restante foi cultivado como descrito para urina. Um grama da amostra de solo foi suspensa em 5 mL de água destilada estéril e alíquotas da suspensão foram cultivadas conforme protocolo para urina. Devido a extensão da propriedade C foram escolhidos dois locais para a colheita das amostras de solo.

Após a colheita, foi medido o pH das amostras de águas e das suspensões de solo.

A permeabilidade do solo (infiltrações) foi medida em abril/2008, época chuvosa, e em setembro/2008, estiagem, e realizada por meio do permeâmetro de campo de carga constante modelo IAC - Instituto Agrônomo (VIEIRA, 1995/1998).

A análise granulométrica foi realizada segundo CAMARGO *et al.* (1986) e VAN RAIJ *et al.* (1987).

A determinação de matéria orgânica e do teor de micronutrientes foi realizada pelo método Walkley-Black (CAMARGO *et al.*, 1986; VAN RAIJ *et al.*, 1987).

Os dados pluviométricos e as variações térmicas da região de Sorocaba, SP, constantes na Tabela 2, foram obtidos no Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas - CIIAGRO.

RESULTADOS

Nas propriedades de criação exclusivas de ovinos; o rebanho A apresentou apenas um animal sororeagente para o sorovar Pyrogenes (1/91) correspondendo a 1,1% do total de ovinos e no rebanho C, 6/37 (16,2%) sororeagentes para o sorovar Autumnalis (Tabela 1).

Nos rebanhos consorciados (Tabela 1), F apresentou 9/44 (20,45%) animais reagentes para *Leptospira* spp., com prevalência do sorogrupo Sejroe; sorovares Hardjo ou com ocorrência de reações cruzadas de mesma magnitude entre os sorovares Hardjo e Wolffi (6/9); e H apresentou 21/83 (25,3%) animais reagentes para *Leptospira* spp., sendo prevalentes os sorovares Icterohaemorrhagiae 8/21 (38,1%), Hardjo e /ou Wolffi 4/21 (19%).

Os títulos sorológicos em ambas as condições criatórias variaram entre 50 a 3.200, sendo 1.600 para o sorovar Icterohaemorrhagiae e 3.200 para o sorovar Brastilava.

As amostras de urina não apresentaram crescimento de *Leptospira* spp. nas leituras semanais realizadas durante 60 dias. Apenas um dos *pools* de amostras de urinas dos ovinos do rebanho H foi positivo na PCR correspondendo ao DNA de *Leptospira* spp. (331 pb), frente ao primer gênero específico Lep 1 e Lep 2 (MÉRIEN *et al.*, 1992).

Apenas de uma amostra de água de superfície da margem do lago utilizado como água de bebida para os ovinos e bovinos da propriedade F foi isolada *Leptospira* spp., com crescimento em EMJH e em meio de Fletcher; tendo sido também confirmada na PCR.

Os índices pluviométricos mensais e as variações de temperatura estão apresentados na Tabela 2.

As análises de permeabilidade, granulometria, índice de matéria orgânica teor de micronutrientes, pH estão apresentadas na Tabela 3.

Tabela 1 - Soroprevalência para leptospirose nos rebanhos de criação exclusiva de ovinos e consorciada com bovinos da região de Sorocaba, SP, 2008.

Identificação da propriedade	Condição do rebanho	Total de animais por espécie	Soro prevalência (%)	Sorovares prevalentes (%)	Outros sorovares
A	O	Ovinos 91	1/91 (1,1%)	Pyrogenes (1/1)	-
C	O	Ovinos 37	6/37 (16,2%)	Autumnalis (5/6)	1/6 Icterohaemorrhagiae+ Pyrogenes+ Autumnalis
F	C	Bovinos 14 Ovinos 30	9/44 (20,45%) 3/14 bovinos e 6/30 ovinos	Hardjo ou Hardjo e Wolffi (6/9)	Ovinos: 1/6 Pomona Bovinos: 1/3 Hebdomadis, 1/3 Bratislava+Shermani
H	C	Bovinos 03 Ovinos 80	21/83 (25,3%):1/3 bovinos e 20/80 ovinos	Icterohaemorrhagiae (8/21)	Ovinos: 2/20 Grippotyphosa; 1/20 Pyrogenes; 3/20 Hardjo; 4/20Autumnalis; 2/20Bratislava Bovinos: 1/1 Shermani

O-Rebanho exclusivo de ovinos.

C-Rebanho consorciado de ovinos e bovinos.

Tabela 2 - Observações termo-pluviométricas no período de dezembro de 2007 a setembro de 2008 da região de Sorocaba, SP, 2008.

Mês/ano	Pluviometria/chuva (mm)	Temperatura	
		Média/máxima	Média/mínima
dezembro/07	245,1	27,3	16,5
janeiro/08	190	25,11	17,06
fevereiro*	50,4	26,9	16,8
março/08*	156,4	26,8	16,8
abril/08 **	85,5	23,4	15,3
maio/08	93,0	21,3	11,2
junho/08	60,0	21,7	11,5
julho/08	0,0	24,3	9,1
agosto/08	66,0	23,3	12,4
setembro/08 **	64,0	22,3	12,3

Fonte: www.ciiagro.sp.gov.br, vários acessos 2008.

*colheitas sorológicas do total de animais adultos para estudo de prevalência e amostras de urina para cultivo.

**colheita de amostras de solo das pastagens e águas para cultivo e para análise da permeabilidade e granulometria.

DISCUSSÃO

A infecção e transmissão de leptospiras estão relacionadas às exposições aos fatores de risco ambientais, incluindo o contato com animais silvestres ou domésticos. Nos rebanhos exclusivos de ovinos alguns sorovares foram identificados pela SAM, com empate em frequência e magnitude de título, principalmente entre aqueles do sorogrupo Sejroe, Hardjo e Wolffi. No rebanho A, por se tratar de criação semiextensiva em relevo bastante irregular havia certa limitação ao acesso às águas de superfície,

um único animal foi sororeagente para sorovar Pyrogenes; entretanto, nos demais rebanhos de criação extensiva e com amplo acesso às águas de superfície, observou-se maior número de animais sororeagentes a vários sorovares, discriminados na Tabela 1.

O sorovar Pyrogenes tem sido relatado em inquéritos sorológicos nas espécies bovina, ovina e suína de forma esporádica, podendo ser caracterizada infecção acidental (FAVERO *et al.*, 2002; HERMANN *et al.*, 2004; GREGORY *et al.*, 2007; CASTRO *et al.*, 2008).

O sorovar Autumnalis, detectado apenas nos ovinos das criações C e H, parece relacionado a uma

fonte de infecção comum a esta espécie, supostamente relativa ao manejo desses animais. Nos inquéritos sorológicos para leptospirose realizados na Bahia, por VIEGAS *et al.* (1980) no Rio Grande do Norte por AZEVEDO *et al.* (2004) e no Rio Grande do Sul por SILVA *et al.* (2007) foi verificada a prevalência deste sorovar nesta espécie animal.

O sorovar *Icterohaemorrhagiae* ocorreu na propriedade H, em 8/21 (3,6%) animais reatores, ovinos e bovinos. Este sorovar geralmente está relacionado à presença de roedores, bastante frequentes nas criações animais, caracterizando infecção acidental aos demais hospedeiros. FAVERO *et al.* (2002), no Estado de São Paulo, identificaram o sorovar *Icterohaemorrhagiae* em 0,70% (2/284) ovinos positivos e discutem o envolvimento de roedores sinantrópicos nas criações de ovinos.

O sorovar Hardjo foi detectado apenas nos animais dos rebanhos consorciados, nos quais ovinos são criados de forma extensiva em pastejo com bovinos. GENOVEZ *et al.* (2006), num estudo com oito rebanhos consorciados e exclusivos de ovinos, verificaram reatividade ao sorovar Hardjo apenas nos consorciados, concluindo que o bovino se comporta como reservatório deste sorovar e, portanto, transmissor para outras espécies, inclusive ovinos. Discordantes, portanto, de COUSINS; ROBERTSON (1986) apud COUSINS *et al.* (1989) e de GERRITSEN *et al.* (1994) que apontaram os ovinos como mantenedores do sorovar Hardjo.

Em um rebanho, respostas a múltiplos sorovares na SAM indicam exposições de várias origens, inclusive animais silvestres, mas não descartam a possibilidade de contágio devido à introdução de animais infectados e excretadores renais como transmissores e contaminadores do meio ambiente de pastejo e de águas de bebida. Uma vez que os rebanhos não foram monitorados sorologicamente, não se pode excluir futura alteração do perfil sorológico no qual prevalecerá um sorovar infectante ou então a ocorrência de surto de leptospirose com perdas reprodutivas.

Visando avaliar a ocorrência de excreção urinária como fonte de infecção entre os animais que compartilhavam o mesmo habitat, foi aplicada a PCR em *pools* de urina. Apenas um *pool* de urina de ovinos da propriedade H confirmou que leptospiros estavam sendo excretadas para o meio ambiente. Analisando-se os resultados sorológicos dos animais que compuseram o *pool* positivo do rebanho H e os demais *pools*, foi verificado que era composto de urina de ovinos sorologicamente negativos no momento da colheita. Esta observação remete a duas hipóteses: os ovinos poderiam estar no início da infecção e, portanto, os níveis de anticorpos estariam abaixo do limiar de detecção da SAM ou, então, tratava-se de portadores renais, assintomáticos e não reagentes. De qualquer maneira, 20/80 (25%) ovinos haviam sido infecta-

dos com *Leptospira* spp., com prevalência para *Icterohaemorrhagiae*; portanto havia circulação e disseminação de leptospiros neste rebanho. Em suma, a excreção de leptospiros estava presente e, portanto, seria possível o isolamento não somente da urina como também das amostras de águas e solo dos locais de maior concentração de animais no pastejo.

Denota-se que a região de Sorocaba (Tabela 2) se caracteriza como clima subtropical (<http://pt.wikipedia.org/wiki/Sorocaba#Clima>), constantemente quente e úmido, com temperaturas amenas na maior parte do ano, não se verificando níveis extremos de frio ou calor. O índice pluviométrico regional foi analisado em relação às datas das colheitas sorológicas, ou seja, em 28 de fevereiro; 6, 10 e 18 de março/2008 resultando no acumulado de 206,8 mm.

A permeabilidade do solo às águas das chuvas depende diretamente da sua granulometria, textura e a composição, as quais determinam sua capacidade de manutenção do teor de umidade. O fluxo de água (permeabilidade) das pastagens das propriedades foi medido em duas épocas (Tabela 3), chuvosa e estiagem, respectivamente nos meses de abril e setembro de 2008. Solos com orifícios menores, como os solos argilosos, possuem menor permeabilidade, porém apresentam maior retenção de água; solos com orifícios maiores, como os solos formados por areia, possuem maior permeabilidade, mas não permitem maior retenção de água (VIEIRA; CHIBA, informação pessoal). Com exceção do solo da propriedade C, cuja permeabilidade foi maior que as demais no período de estiagem, as outras propriedades apresentaram pouca variação, sendo considerados solos de composição mista do tipo argilossolo, o qual contém uma camada superficial de argila iluvial com grande capacidade de manutenção de elevado teor de umidade.

Uma vez que a temperatura e a umidade regional, devido ao índice de precipitação, quando analisadas juntamente com a permeabilidade do solo, mostraram-se propícias à manutenção de focos de leptospiros, o pH e os índices de matéria orgânica poderiam ser limitante na sobrevivência e na multiplicação da bactéria.

Diferentemente das demais propriedades que apresentavam pH das águas de superfície e de solo próximos a neutralidade, o pH na propriedade C mostrou-se ácido (média 4,0) e limitante à sobrevivência de leptospiros (Tabela 3). GORDON SMITH; TURNER (1961) analisaram o tempo e a sobrevivência de leptospiros em diferentes condições de pH (5,3 a 8,0). Estes micro-organismos sobreviveram de 10 a 117 dias em pH abaixo de 7,0 e de 21 a 152 dias em pH acima de 7,0; mesmo em pH 5,3, foram capazes de sobreviver por pelo menos dez dias.

Tabela 3 - Índice de infiltração (permeabilidade), granulometria e pH do solo na época das chuvas (abril) e da estiagem (setembro) de propriedades com rebanho exclusivo de ovinos e consorciado com bovinos da região de Sorocaba, SP, 2008.

Identificação da propriedade	Condição do rebanho	Isolamento		Permeabilidade			Granulometria				Matéria orgânica		pH	
		-amostras de águas e de solo	PCR	Pool de urinas	Colheita de solo	Média (mm/hora)	DP	CV	Argila (< 0,002 mm)	Silte (0,053 - 0,002 mm)	Areia total (2,00 - 0,053 mm)	Classificação textural	g/dm ³	Águas
A	O	N	N	Chuva	43,23	11,89	27,50	21,4	21,1	57,4	Franco-argiloarenosa	39	7,0	4,8
				Estiagem*	45,11	14,06	31,18	21,4	21,1	57,4	loarenosa			
C	O	N	N	Chuva	53,52	11,08	20,70	55,6	10,4	33,9	Argila	35	4,0	4,5
				Estiagem	384,97	456,99	118,71	55,6	10,4	33,9	Argila			
F	C	P*	N	Chuva	71,42	7,52	10,53	21,8	19,1	59,1	Franco-argiloarenosa	63	6,0	5,9
				Estiagem	46,79	42,79	91,45	21,8	19,1	59,1	Franco-argiloarenosa			
H	C	N	P**	Chuva	24,06	8,23	34,22	24,3	55,3	20,4	Franco-siltosa	24	6,0	6,8
				Estiagem	33,08	8,57	25,92	24,3	55,3	20,4	siltosa			

O-Rebanho exclusivo de ovinos, C-Rebanho consorciado de ovinos e bovinos; * na propriedade C foram realizadas duas colheitas em virtude da propriedade disponibilizar dois pastos para o rebanho; N-Negativo, P-Positivo; * Local: aguada. ** Pool de urina de ovinos; DP-desvio padrão, CV-coeficiente de variação.

A composição da matéria orgânica aparentemente não diferia nos diversos locais de pastejo onde as amostras de solo e águas haviam sido colhidas. A quantidade de matéria orgânica em F foi superior às demais propriedades (63 g/dm³), entretanto, não houve significância estatística em relação aos níveis de matéria orgânica das demais propriedades.

A região de Sorocaba, no Estado de São Paulo possui grandes reservas minerais de rochas calcárias, areia, argila e granito (SÃO PAULO, 2003). Ferro, manganês e zinco são menos disponíveis em valores de pH acima de 7,0. Ferro, alumínio e manganês atingem níveis tóxicos em valores de pH menores que 5,0. Fósforo é menos disponível em valores altos ou baixos de pH (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). Sendo o ferro um micronutriente importante para os organismos, a presença ou ausência deste nutriente para leptospiros pode determinar a sua sobrevivência no meio. Comparando-se os índices de micronutrientes disponíveis nos solos, pode-se observar que há disposição de ferro nos solos das propriedades A, C e F, favorecendo a permanência de leptospiros, porém inferior à H. VIEIRA, 1975; BRADY Uma vez que todos os rebanhos estavam expostos a fatores de risco para infecção por leptospiros, pois pelo menos um animal apresentava-se sororeator na SAM (Tabela 1), e que as condições edafoclimáticas sustentavam a manutenção deste agente em solo e águas de superfície, restava compreender o sucesso do isolamento de *Leptospira* spp. da amostra de água colhida às margens da lagoa da propriedade F em detrimento das amostras semelhantes das demais propriedades. Embora os procedimentos de cultivo para isolamento de leptospiros tenham sido realizados de maneira a contemplar o menor número de limitações à sobrevivência e multiplicação do micro-organismo nas amostras de materiais clínicos ou ambientais, o número de isolados foi limitado. Critérios e cuidados especiais com assepsia na colheita dos materiais clínicos e também ambientais foram tomados, sendo pouco provável que tenha ocorrido contaminação com micro-organismos de microbiota animal ou ambiental. A inconsistência do isolamento indica maior complexidade da sobrevivência de leptospiros, talvez com elevada dependência da concentração da bactéria lançada ao meio ambiente e, desta forma, pequenas variações na composição ou quantidade de matéria orgânica ou pH sejam impeditivas, o que explicaria o sucesso em F.

A presença de nutrientes, teor de umidade e pH próximo a neutralidade, essenciais para a manutenção de focos de leptospiros num ambiente, não foram determinantes para o sucesso na frequência de isolados.

Tabela 4 - Índice de matéria orgânica e de micronutrientes nas amostras de solo de propriedades com rebanho exclusivo de ovinos e consorciado com bovinos da região de Sorocaba, SP, 2008.

Determinações			Amostras de solo				
Sigla	Descrição	Unidade	A	C1	C2	F	H
M.O.	Matéria orgânica	g/dm ³	39	35	38	63	24
V	Saturação de bases	%	62	38	49	90	96
P	Fósforo resina	mg/dm ³	14	5	7	691	9
K	Potássio	mmol _c /dm ³	3,1	2,0	3,7	5,9	2,3
Ca	Cálcio	mmol _c /dm ³	47	21	39	144	152
Mg	Magnésio	mmol _c /dm ³	7	6	12	27	86
Na	Sódio	mmol _c /dm ³	-	-	-	-	-
Al	Alumínio	mmol _c /dm ³	-	-	-	-	-
H+Al	Ac. potencial	mmol _c /dm ³	34	47	47	20	10
S.B.	Soma bases	mmol _c /dm ³	57,1	29,0	45,7	176,9	250,3
CTC	Capacidade de troca catiônica	mmol _c /dm ³	91,4	76,0	92,7	197,1	260,0
S	Enxofre	mg/dm ³	-	-	-	-	-
B	Boro	mg/dm ³	0,20	0,22	0,25	0,45	0,07
Cu	Cobre	mg/dm ³	0,7	1,1	1,2	8,4	2,0
Fe	Ferro	mg/dm ³	82	85	109	79	16
Mn	Manganês	mg/dm ³	13,4	4,6	3,4	30,7	28,7
Zn	Zinco	mg/dm ³	2,3	0,6	1,0	17,0	0,6

*Na propriedade C foram realizadas duas colheitas em virtude da propriedade disponibilizar dois pastos para o rebanho.
- : não detectado

Desta forma, conclui-se que a sobrevivência e multiplicação de leptospiros num habitat e sua virulência estariam condicionadas à resultante dos efeitos sinérgicos e antagonísticos de inúmeras variáveis. Entretanto, o contato estreito proporcionado pelo aglomerado de animais excretadores em pastejo num habitat com elevada retenção de água parece ser limitante para o ciclo de transmissão interespecie ou intraespecie.

REFERÊNCIAS

ALVES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.; CAMARGO, C.R.A.; MORAIS, Z.M. Influência dos fatores ambientais sobre a proporção de caprinos soro-reatores para a leptospirose em cinco centros de criação do Estado da Paraíba, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.63, n.2, p.11-8, 1996.

AZEVEDO, S.S.; ALVES, C.J.; ANDRADE, J.S.L.; BATISTA, C.S.A.; CLMENTINO, I.J.; SANTOS, F.A. Ocorrência de aglutininas anti-Leptospira em ovinos do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.11, n.3, p.167-170, 2004.

CAMARGO, O.A.; MONIZ, A.C.; JORGE, J.A.; VALADARES, J.M.A.S. Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agronômico de Campinas. *Boletim Técnico do Instituto Agronômico*, v.106, p.55-60, 1986.

CASTRO, V.; AZEVEDO, S.S.; GOTTI, T.B.; BATISTA, C.S.A.; GENTIL, J.; MORAES, Z.M.; SOUZA, G.O.; VASCONCELLOS, S.A.; GENOVEZ, M.E. Soroprevalência da leptospirose em fêmeas bovinas em idade reprodutiva no Estado de São Paulo, Brasil *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.75, n.1, p.3-11, 2008

COUSINS, D. V.; ELLIS, T. M.; PARKINSON, J.; McGLASHAN, C. H. Evidence for sheep as a maintenance host for leptospira interrogans serovar hardjo. *Veterinary Record*, v.124, n.5, p.123-124, 1989.

ELDER, J.K. The influence of environment factors on the survival of zoonotic bacterial pathogens with special reference to leptospirae. *Australian Microbiologist*, v.7, p.323-324, 1986.

ELDER, J.K.; McKEON, G.M.; DUNCALFE, F.; WARD, W.H.; LEUTTON, R.D. Epidemiological studies on the ecology of *Leptospira interrogans* serovar Pomona and Hardjo in Queensland. *Preventive Veterinary Medicine*, v.3, p.501-521, 1986.

ELLIS, W.A. Leptospirosis as a cause of reproductive failure. *The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice*, v.10, p.463-478, 1994.

GALTON, M.M.; MENGES, R.W.; SHOTTS, E.B.; NAHMIA, A.J.; HEATH Jr., C.W. leptospirosis: epidemiology, clinical manifestations in man and animals and methods in laboratory diagnosis. Atlanta, 1962. 77p.

- FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.; PEROLAT, P. *Leptospira and leptospirosis*. 2.ed. Melbourne: MediSci, 1999. 272p.
- FAVERO, A.C.M.; PINHEIRO, S.R.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; FERREIRA, F.; FERREIRA NETO, J.S. Sorovares de leptospirosas predominates em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, equinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. *Ciência Rural*, v.32, n.4, p.613-619, 2002.
- GENOVEZ, M.E.; DEL FAVA, C.; CASTRO, V.; GOTTI, T.B.; DIB, C.C.; POZZI, R.C.; ARCARO, J.R.P.; MIYASHIRO, C.; NASSAR, A.F.C.; CIRRILO, S.L. Leptospirosis outbreak in dairy cattle due to *Leptospira* spp. serovar Canicola: reproductive rates and serological profile after treatment with streptomycin sulfate. *Arquivos do Instituto Biológico*, São Paulo, v.73, n.4, p.389-393, 2006.
- GERRITSEN, M.J.; KOOPMANS, M.J.; OLYHOEK, T. Sheep as maintenance host for *Leptospira interrogans* serovar Hardjo subtype hardjobovis. *American Journal of Veterinary Research*, v.55, n.9, p.1232-1238, 1994.
- GORDON SMITH, C.E.; TURNER, L.H. The effect of pH on the survival of leptospires in water. *Bulletin World Health Organization*, v.24, p.35-43, 1961.
- GREGORY, L.; RIZZO, H.; CASTRO, V.; GENTILI, J.; MEIRA JUNIOR, E.B.S.; GENOVEZ, M.E. Leptospirose em ovinos nas regiões de Piedade, Ibiúna e Itu no Estado de São Paulo, BRASIL. In: CONGRESO LATINO-AMERICANO DE ESPECIALISTAS EN PEQUEÑOS RUMIANTES Y CAMÉLIDOS SUDAMERICANOS, 5., 2007, Mendoza. *Anales*. Mendoza, 2007. p.81-82.
- HENRY, R.A.; JOHNSON, R.C. Distribution of the genus leptospira in soil and water. *Applied and Environmental Microbiology*, v.35, n.3, p.492-499, 1978.
- HENRY, R.A.; JOHNSON, R.C.; BOHLOOL, B.B.; SCHMIDT, E.L. Detection of *Leptospira* in Soil and Water by Immunofluorescence Staining. *Applied and Environmental Microbiology*, v.21, n.5, p. 953-956, 1971.
- HERHOLZ, C.; JEMMI, T.; STARK, K.; GRIOT, C. Patterns of animal diseases and their control. *Rivista Trimestrale di Sanità Pubblica Veterinaria*, v.42, n.4, p.295-303, 2006.
- HERMANN, G.P.; LAGE, A.P.; MOREIRA, E.C.; HADDAD, J.P.A.; RESENDE, J.R.; RODRIGUES, R.O.; LEITE, R.C. Soroprevalência de aglutininas anti-leptospira spp. em ovinos nas mesorregiões sudeste e sudoeste do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, v.34, n.2, p.443-448, 2004.
- KARASEVA, E.V. Ecological features of mammal-carriers of leptospires (*L. grippityphosa*) and their role in natural foci leptospirosis. *Fauna and Ecology of the Rodents*, v.10, p.30-144, 1971.
- LEPSCH, I. F. *Formação e conservação dos solos*. São Paulo: Ed. Oficina de Textos, 2002. 178p.
- LEVETT, P.N. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, v.14, v.2, p.296-326, 2001.
- MÉRIEN, F.; AMOURIAUX, P.; PEROLAT, P.; BARANTON, G.; SANINT-GIRONS, T. Polymerase chain reaction for detection of *Leptospira* spp in clinical samples. *Journal of Clinical Microbiology*, v.30, p.2219-2224, 1992.
- MOREIRA, F.M.S.; SIQUEIRA, J.O. *Microbiologia e Bioquímica do Solo*. Lavras: UFLA, 2002. 626p.
- OLIVEIRA, J.B. *Pedologia Aplicada*. 2.ed. São Paulo: FEALQ, 2005. 574p.
- RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. Diseases caused by *Leptospira* spp. In: _____ (Ed.). *Veterinary medicine* 9.ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2005. p.971-986.
- RICHTZENHAIN, L.J.; CORTEZ, A.; HEINEMANN, M.B.; SOARES R. M.; SAKAMOTO, S.M.; VASCONCELLOS, S.A.; HIGA, Z.M.M.; SCARCELLI, E.; GENOVEZ, M.E. A multiplex PCR for the detection of *Brucella* spp. and *Leptospira* spp. DNA from aborted bovine fetuses. *Veterinary Microbiology*, v.87, p.139-147, 2002.
- SÃO PAULO. Secretaria de Economia e Planejamento. *Região Administrativa de Sorocaba*. São Paulo, 2003.
- SILVA, E.F.; BROD, C.S.; CERQUEIRA, G.M.; BOURSCHIEDT, D.; SEYFFERT, N.; QUEIROZ, A.; SANTOS, C.S.; KO, A.I.; DELLAGSTIN, O.A. Isolation of *Leptospira noguchii* from sheep. *Veterinary Microbiology*, v. 121, n.1-2, p.144-149, 2007.
- SMITH, D.J.W.; SELF, H.R.M. Observation on the survival of *Leptospira australis* A in soil and water. *Journal of Hygiene*, v.53, p.436-444, 1955.
- TORTEN, M., BIRNBAUM, S., KLINGBERG, M. A., SHENBERG, E. Epidemiologic investigation of an outbreak of leptospirosis in the upper Galilee, Israel. *American Journal of Epidemiology*, v.91, p.52-58 1970.
- VAN RAIJ, B.; QUAGGIO, J.A.; CANTARELLA, H.; FERREIRA, M.E.; LOPES, A.S.; BATAGLIA, O.G. *Análise Química do Solo para fins de Fertilidade*. São Paulo: Fundação Cargill, 1987. 170p.
- VIEGAS, E.A.; VIEGAS, S.A.R.A.; CALDAS, E.M. Aglutininas anti-leptospira em hemo-soro de caprinos e

ovinos no estado da Bahia. *Arquivos da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia*, v.5, n.1, p.20-34, 1980.

VIEIRA, S.R. Permeâmetro: novo aliado na avaliação de manejo de solo. *O Agrônomo*, v.47/50, n.único, p.1-32, 1995/1998.

WIKIPÉDIA: a enciclopédia livre. *Sorocaba*. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Sorocaba>>. Acesso em: 23 mai. 2008.

Recebido em 28/12/09
Aceito em 3/8/10