

Korelacja reakcji serologicznych przy leptospirozie z elementami środowiskowymi

MIROSŁAW KRAWCZYK

Zakład Higieny Weterynaryjnej w Bydgoszczy Oddział w Toruniu, ul. Antczaka 39/41, 87-100 Toruń

Krawczyk M.

Correlating serological reactions for leptospirosis with environmental factors

Summary

The aim of the study was to estimate the relationship between the frequency of serological positive reactions for leptospirosis and some environmental factors. 9110 blood samples of animals and humans from 37 communes of the Kujawsko-Pomorski district were tested. The environmental factors used for statistical calculations were: forests, fields as a whole and divided into: arable land, meadows and pastures, waters as a whole and divided into: running waters, still waters and trenches. Serological testing was performed by using the micro-agglutination test (MAT) with leptospires belonging to 18 serovars (icterohaemorrhagiae, grippotyphosa, sejroe, tarassovi, pomona, canicola, australis, ballum, hebdomadis, patoc, poi, calledoni, zanoni, cynopteri, autumnalis, bataviae, hardjo, bratislava). The screening dilution of sera was 1:100. A result of at least 50% agglutination of leptospires at 1:100 dilution or greater was considered to be positive. Statistical analysis estimated correlation coefficients. The Student t test was used to determine the significance of correlation coefficient values. A total of 7.18 % of blood samples were positive. There was an apparent correlation between the frequency of positive reactions and the area of forests ($P \leq 0,02$), and a negative correlation between the frequency of positive reactions and the area of arable land ($P \leq 0,02$).

Keywords: leptospirosis, environmental factors

Leptospiroza jest chorobą zwierząt i ludzi występującą powszechnie na całym świecie. Powoduje ona nie tylko duże straty ekonomiczne, ale także stanowi poważny problem epidemiologiczny. Duża liczba pierwotnych i wtórnych źródeł zarazków z grupy *Leptospira* powoduje, że niemożliwa jest całkowita ich eliminacja ze środowiska. Można jedynie zmniejszać zagrożenie ze strony tych bakterii poprzez stosowanie zabiegów ograniczających ich szanse na przeżycie i rozwój takich, jak np.: szczepienia, osuszanie łąk i pastwisk, walka z gryzoniami itp. Stosowane w wielu krajach szczepienia zwierząt i ludzi, które chronią przed zachorowaniem i w znacznym stopniu ograniczają siewstwo, stanowią jednak tylko jeden z elementów walki. Innym sposobem ograniczającym występowanie tych bakterii w środowisku, do którego przykładą się obecnie dużą wagę, jest zmiana warunków geograficzno-przyrodniczych. Stąd też w przypadku walki z leptospirozą częste osuszanie terenów narażonych na zalewania, które są obszarami o zwiększonym zagrożeniu epidemiologicznym (4, 17). Zarówno w przypadku ludzi, jak i zwierząt czynniki środowiskowe odgrywają bardzo dużą rolę w rozprzestrzenianiu się zakażeń leptospirowych. Badania przeprowadzone w Stanach Zjednoczonych na reprezentatywnej próbie bydła dowiodły np. większego wpływu średniej temperatury powietrza niż średniej ilości opadów na częstość zakażenia (14). Wykazano ponadto, że w miesiącach wiosennych dochodziło do rzadszych infekcji niż w innych porach roku. Pokrywa się to z obserwacjami Majeka i Wandurskiego (12), którzy stwierdzili znaczny wzrost

odsetka dodatnich seroreagentów wśród świń w miesiącach jesiennych i zimowych. Carrol i Campbell (5) ustalili, że na zwiększenie częstości wyników dodatnich bydła ma wpływ nie tylko wielkość opadów, ale przede wszystkim długość ich trwania. Ponadto autorzy ci zwrócili uwagę na fakt, że na glebach piaszczystych o lekko kwaśnym odczynie i szybciej wysychających warunki do przeżycia leptospir są dużo gorsze niż na czarnoziemach, gdzie wilgoć dłużej się utrzymuje.

Celem badań było określenie zależności częstości występowania dodatnich reakcji serologicznych w kierunku leptospirozy od wielkości wybranych elementów środowiska geograficzno-przyrodniczego na badanym obszarze.

Materiał i metody

Badaniami objęto zwierzęta i ludzi zamieszkujących obszar 37 gmin o powierzchni 4422 km², należących do województwa kujawsko-pomorskiego. Ogółem zbadano 9110 próbek, z czego: 4319 sztuk bydła, 3004 – trzody chlewnej, 998 – owiec, 104 – kóz, 130 – psów, 98 – dzików i 457 – ludzi. Każdą próbkę przyporządkowano do określonej gminy, z której pochodziła.

W analizie wpływu wybranych czynników geograficzno-przyrodniczych na częstość występowania dodatnich reakcji serologicznych uwzględniono następujące dane dotyczące każdej z gmin: powierzchnię całkowitą, powierzchnię lasów, powierzchnię użytków rolnych (z wyodrębnieniem takich elementów, jak: grunty orne, łąki i pastwiska trwałe), powierzchnię wód (z wyszczególnieniem wód płynących, stojących oraz rowów).

Tab. 1. Wyniki badań serologicznych w poszczególnych gminach wraz z danymi służącymi do wyliczenia współczynników

Gmina	Liczba próbek		Współczynnik zakażenia (%)	Obszar (km ²)	Łąki i pastwiska trwałe		Grunty orne		Użytki rolne ogółem		Lasy	
	badanych	dotatnich			km ²	%	km ²	%	km ²	%	km ²	%
Bobrowo	210	10	4,76	146,3	7,96	5,44	109,10	74,56	117,58	80,37	11,32	7,74
Brodnica	156	6	3,85	127,0	8,21	6,46	76,38	60,14	11,35	8,94	22,06	17,37
Chełmno	145	21	14,48	114,1	22,76	19,95	54,51	47,77	14,94	13,10	13,62	11,94
Chełmża	489	28	5,73	178,7	6,93	3,88	150,80	84,36	13,21	7,39	1,87	1,05
Ciechocin	233	10	4,29	101,5	4,32	4,26	51,25	50,49	6,42	6,33	35,27	34,75
Dębowa Łąka	468	14	2,99	86,1	6,88	7,99	65,66	76,26	2,43	2,83	6,90	8,01
Golub-Dobrzyń	183	37	20,22	197,4	12,95	6,56	105,50	53,43	7,05	3,57	61,80	31,31
Górzno	64	2	3,13	115,9	5,98	5,16	43,61	37,63	4,40	3,80	58,41	50,40
Grążawy	200	17	8,50	83,3	10,64	12,77	51,19	61,45	3,83	4,60	12,92	15,51
Grudziądz	258	8	3,10	166,9	23,61	14,15	81,88	49,06	14,47	8,67	35,25	21,12
Gruża	443	19	4,29	123,8	6,03	4,87	91,10	73,59	10,06	8,13	9,98	8,06
Jabłonowo Pomorskie	310	42	13,55	131,1	11,04	8,42	92,17	70,31	8,30	6,33	13,66	10,42
Kijewo Królewskie	203	29	14,29	72,2	5,39	7,47	59,13	81,90	1,62	2,25	1,19	1,65
Kowalewo	203	7	3,45	137,1	7,08	5,16	108,60	79,22	6,67	4,86	7,68	5,60
Książki	104	7	6,73	86,5	10,53	12,17	65,05	75,20	6,38	7,37	0,39	0,45
Lisewo	167	11	6,59	86,2	3,83	4,44	71,66	83,13	2,39	2,77	0,17	0,20
Lubicz	158	13	8,23	106,0	11,76	11,09	59,96	56,57	6,48	6,11	19,04	17,96
Łasin	153	6	3,92	131,8	7,97	6,05	103,10	78,22	11,64	8,83	5,75	4,36
Łubianka	258	17	6,59	84,6	4,71	5,57	68,84	81,37	1,72	2,04	4,06	4,80
Łysomice	903	65	7,20	127,3	6,73	5,29	79,95	62,80	3,87	3,04	28,11	22,08
Obrowo	348	24	6,90	162,0	13,19	8,14	75,38	46,53	8,45	5,21	56,23	34,71
Osiek	120	2	1,67	75,1	5,25	6,99	55,48	73,87	2,22	2,96	6,21	8,27
Papowo Biskupie	64	6	9,38	70,4	2,38	3,38	61,76	87,73	1,74	2,47	0,36	0,51
Płużnica	206	6	2,91	119,4	5,70	4,77	96,77	81,05	12,18	10,20	2,13	1,78
Radomin	62	11	17,74	80,8	3,03	3,75	64,77	80,16	1,36	1,68	6,78	8,39
Radzyń Chełmiński	70	3	4,29	88,9	7,18	8,08	71,65	80,60	2,14	2,41	0,91	1,02
Rogóźno	155	13	8,39	115,7	6,04	5,22	63,72	55,07	3,24	2,80	36,39	31,45
Stolno	177	24	13,56	98,4	4,43	4,50	72,58	73,76	3,40	3,45	11,61	11,80
Świecie n. Osą	487	21	4,31	94,7	6,43	6,79	71,88	75,90	5,50	5,81	6,98	7,37
Świedziebnia	159	4	2,52	103,8	11,71	11,28	61,76	59,50	3,30	3,18	17,63	16,98
Toruń	180	32	17,78	115,8	10,01	8,64	17,89	15,45	27,47	23,72	27,55	23,79
Unisław	217	13	5,99	72,4	10,04	13,87	43,88	60,61	10,04	13,87	6,21	8,58
Wąbrzeźno	991	78	7,87	200,8	20,34	10,13	129,30	64,39	6,18	3,08	24,63	12,27
Wąpielsk	47	3	6,38	93,8	6,30	6,72	58,44	62,30	6,90	7,35	18,69	19,93
Wielka Nieszawka	120	25	20,83	216,3	6,23	2,88	11,06	5,11	10,07	4,65	114,70	53,04
Zbiczno	95	9	9,47	132,9	5,89	4,43	48,44	36,45	31,65	23,82	55,75	41,95
Zławieś Wielka	304	11	3,62	177,5	24,06	13,55	88,26	49,72	17,51	9,86	41,25	23,24
Razem	9110	654	7,18	4422,5	333,50	7,54	2682,00	60,65	408,18	9,23	783,50	17,72

korelacyjnych

Wody śródlądowe				Rowy		Wody ogółem	
płynące		stojące					
km ²	%	km ²	%	km ²	%	km ²	%
0,27	0,18	4,34	2,97	0,82	0,56	5,43	3,71
0,20	0,16	3,50	2,76	0,50	0,39	4,20	3,31
5,48	4,80	1,64	1,44	1,65	1,45	8,77	7,69
0,34	0,19	4,03	2,26	1,00	0,56	5,37	3,01
0,45	0,44	1,08	1,06	0,92	0,91	2,45	2,41
0,00	0,00	0,00	0,00	0,77	0,89	0,77	0,89
0,36	0,18	1,91	0,97	0,76	0,39	3,03	1,53
0,65	0,56	1,19	1,03	0,12	0,10	1,96	1,69
0,31	0,37	0,65	0,78	0,45	0,54	1,41	1,69
1,37	0,82	3,51	2,10	1,53	0,92	6,41	3,84
2,62	2,12	2,25	1,82	0,40	0,32	5,27	4,26
0,18	0,14	2,36	1,80	0,58	0,44	3,12	2,38
0,00	0,00	0,00	0,00	0,48	0,66	0,48	0,66
0,06	0,04	1,50	1,09	0,92	0,67	2,48	1,81
0,00	0,00	1,16	1,34	0,86	0,99	2,02	2,34
1,44	1,67	0,00	0,00	0,30	0,35	1,74	2,02
0,12	0,11	1,50	1,42	0,66	0,62	2,28	2,15
2,29	1,74	2,86	2,17	0,53	0,40	5,68	4,31
0,07	0,08	0,04	0,05	0,48	0,57	0,59	0,70
0,00	0,00	0,78	0,61	0,61	0,48	1,39	1,09
0,23	0,14	2,39	1,48	0,75	0,46	3,37	2,08
0,29	0,39	0,16	0,21	0,42	0,56	0,87	1,16
1,09	1,55	0,00	0,00	0,19	0,27	1,28	1,82
0,01	0,01	3,72	3,12	0,57	0,48	4,30	3,60
0,00	0,00	0,12	0,15	0,30	0,37	0,42	0,52
0,61	0,69	0,00	0,00	0,49	0,55	1,10	1,24
0,38	0,33	0,64	0,55	0,36	0,31	1,38	1,19
0,38	0,39	0,64	0,65	0,36	0,37	1,38	1,40
0,18	0,19	1,29	1,36	0,45	0,48	1,92	2,03
0,01	0,01	0,61	0,59	0,50	0,48	1,12	1,08
0,84	0,73	6,50	5,61	2,80	2,42	10,14	8,76
0,00	0,00	1,67	2,31	1,30	1,80	2,97	4,10
0,58	0,29	1,97	0,98	0,27	0,13	2,82	1,40
0,03	0,03	1,97	2,10	0,27	0,29	2,27	2,42
0,17	0,08	3,42	1,58	0,60	0,28	4,19	1,94
1,13	0,85	10,77	8,10	0,32	0,24	12,22	9,19
0,13	0,07	4,86	2,74	1,92	1,08	6,91	3,89
22,27	0,50	75,03	1,70	26,21	0,59	123,51	2,79

Stopień współzależności pomiędzy częstością występowania wyników dodatnich w kierunku leptospirozy a wybranymi elementami środowiska geograficzno-przyrodniczego określono za pomocą współczynnika korelacji wg następującego wzoru: $r = \frac{\sum (x - x_{sr})(y - y_{sr})}{\sqrt{[\sum (x - x_{sr})^2][\sum (y - y_{sr})^2]}}$, w którym: r – współczynnik korelacji, x – współczynnik zakażenia w danej gminie na podstawie badań serologicznych, x_{sr} – średni współczynnik zakażenia na badanym obszarze, y – powierzchnia danego elementu środowiska geograficzno-przyrodniczego w określonej gminie, podana raz w wartościach bezwzględnych, tj. km², drugi raz w wartościach względnych, tj. w procentach, y_{sr} – średnia powierzchnia danego elementu środowiska geograficzno-przyrodniczego na badanym obszarze, podana raz w wartościach bezwzględnych, tj. km², drugi raz w wartościach względnych, tj. w procentach, Σ – suma danych składników.

Istotność korelacji określono testem t-Studenta, przy poziomie istotności $p \leq 0,05$.

Badania serologiczne przeprowadzono za pomocą odczynu aglutynacji mikroskopowej (OAM). Do badań surowic użyto żywych, 8-10-dniowych hodowli leptospir namnażanych w temp. 28°C. Każda surowica badana była z 18 serowariantami reprezentującymi, wg klasyfikacji pokrewieństwa genetycznego, 5 gatunków leptospir: *Leptospira kirshnerii* (serowarianty: *cynopteri*, *grippotyphosa*), *Leptospira interrogans sensu stricto* (serowarianty: *australis*, *bratislava*, *autumnalis*, *bataviae*, *canicola*, *hebdomadis*, *icterohaemorrhagiae*, *pomona*, *hardjo*, *zanoni*), *Leptospira borgpeterseni* (serowarianty: *sejroe*, *tarassovi*, *ballum*, *poi*), *Leptospira weilii* (serowariant *celledoni*), *Leptospira biflexa* (serowariant *patoc*).

Za wynik dodatni przyjęto aglutynację przynajmniej 50% leptospir w rozcieńczeniu końcowym surowicy 1 : 100 i wyższym.

Wyniki i omówienie

Na 9110 zbadanych surowic przeciwciała antyleptospirowe wykazano w 654 przypadkach. Średni współczynnik zakażenia na badanym obszarze wyniósł 7,18%, przy czym najmniejszy osiągnął wartość 1,67%, a największy – 20,83%. Wyniki badań podano w tab. 1.

Współczynniki korelacji wraz z danymi statystycznymi przedstawione zostały w tab. 2. Nie stwierdzono istotnych korelacji pomiędzy częstością dodatnich reakcji serologicznych a wielkością takich elementów środowiska geograficzno-przyrodniczego, jak: wody śródlądowe płynące, wody śródlądowe stojące, rowy oraz ogółem wszystkie wody. Z danych piśmiennictwa wiadomo, że tereny wilgotne, zabagnione, ciekły wodne, to miejsca stanowiące szczególne zagrożenie epidemiologiczne (3, 5, 14, 18). Zastanawia także fakt braku korelacji, zwłaszcza w przypadku wód stojących, które powszechnie uważa się za ważne źródło patogennych leptospir i w których te bakterie mogą przeżyć do 30 dni (13). Przyczyn być może należałoby poszukać m.in. w ich kwasowości, bowiem wiadomo, że leptospiry rozwijają się najlepiej w środowisku o pH zbliżonym do obojętnego (13). Nie zaobserwowano także korelacji dodatniej w stosunku do powierzchni łąk i pastwisk trwałych, a więc miejsc, w których zwierzęta w trakcie sezonu pastwiskowego kontaktują się z sobą. W dużej części przypadków do zakażeń zwierząt roślinożernych może zatem do-

chodzić niekoniecznie w trakcie cieplej pory roku. Zwiększona wilgotność, duże zagęszczenie zwierząt w pomieszczeniu oraz częsty kontakt z moczem stanowią czynniki zwiększające ryzyko zakażenia poza sezonem pastwiskowym (9). W przypadku gruntów ornych obserwowano korelację ujemną, przy czym statystycznie istotną ($p \leq 0,02$) tylko w odniesieniu do procentowego udziału tych obszarów w stosunku do całej powierzchni (r_2). Wynika z tego, że znaczenie ma nie tyle bezwzględna wielkość tych gruntów, ile ich procentowy udział w danej gminie. Dla wytłumaczenia przyczyn ujemnej korelacji w odniesieniu do gruntów ornych na badanym obszarze należałoby dokonać dokładnej analizy jakościowej i ilościowej gleb. Badania przeprowadzone w Stanach Zjednoczonych nad częstością izolacji leptospir od bydła przebywającego na określonym rodzaju gleb wykazały znaczne różnice w przypadku gleb ciężkich w porównaniu z lekkimi (14). Statystycznie istotną korelację dodatnią ($p \leq 0,02$) zaobserwowano w jednym tylko przypadku, a mianowicie powierzchni bezwzględnej lasów (r_1). Współczynnik korelacji wyliczony dla procentowego udziału lasów w stosunku do powierzchni całkowitej danej gminy (r_2) ma natomiast charakter przypadkowy ($p > 0,05$). Analizując oba te współczynniki w kontekście zagrożenia epidemiologicznego, można wnioskować o znaczeniu dużych kompleksów leśnych. Zróżnicowanie gatunkowe oraz liczne populacje zwierząt mogą sprzyjać częstszej wymianie serowariantów i zwiększaniu liczby zakaźnych osobników. Duże znaczenie przypisuje się dzikom, jako zwierzętom wolno żyjącym i łatwo przemieszczającym się na inne tereny, u których często stwierdza się dodatnie reakcje serologiczne (11). Nie należy także zapominać, o licznych w lasach gryzoniach, które bardzo często stanowią naturalny rezerwuuar leptospir.

Ważnym wnioskiem, jaki można wysnuć z analizy danych tab. 1 jest to, że serologicznie leptospiroza stwierdzana była w każdej gminie w mniejszym lub większym stopniu. Jest to o tyle niepokojące, że choroba ta powoduje nie tylko znaczne straty w hodowli zwierząt gospodarskich (6-8, 15, 16), ale także jest niebezpieczną zoonozą (1, 2, 13). Straty hodowlane związane są głównie z częstymi roniczeniami, rodzeniem słabo żywotnych zwierząt, obniżeniem ilości i jakości mleka. W odniesieniu do ludzi sprawowanie opieki nad serododatnimi zwierzętami wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zakażenia leptospirami (10). Leptospiroza stanowi zagrożenie dla człowieka nie tylko w związku z przypadkami śmiertelnymi najczęściej w ostrej postaci, ale także dlatego, że często, zwłaszcza na początku nie manifestuje się wyraźnymi objawami wskazującymi na tę chorobę. Dopiero później, gdy stan chorego się pogarsza, a w niektórych narządach, zwłaszcza nerkach doszło do nieodwracalnych zmian, następuje rewizja diagnozy i rozpoznanie leptospirozy.

Tab. 2. Współczynniki korelacji pomiędzy częstością występowania wyników dodatnich w kierunku leptospirozy w 37 gminach a wybranymi elementami środowiska geograficzno-przyrodniczego

Współczynnik korelacji	Łąki i pastwiska trwałe	Grunty orne	Użytki rolne ogółem	Lasy	Wody śródlądowe		Rowy	Wody ogółem
					płynące	stojące		
r_1^A	-0,004	-0,301	-0,045	0,380*	0,101	0,090	0,150	0,135
r_2^B	-0,056	-0,385*	-0,050	0,260	0,103	0,063	0,124	0,121

Objaśnienia: A – uwzględniono powierzchnię (w km²) każdego elementu środowiska w poszczególnych gminach; B – uwzględniono powierzchnię (w %) każdego elementu środowiska w poszczególnych gminach; * różnica statystycznie istotna przy $p \leq 0,02$

Podsumowując wyniki badań należałoby stwierdzić, że nie zawsze obecność określonych (uznawanych powszechnie za sprzyjające) elementów środowiska geograficzno-przyrodniczego wpływa na wzrost częstości zakażeń zwierząt i ludzi. Analiza czynników środowiskowych musi być traktowana kompleksowo, szczegółowo, z uwzględnieniem innych elementów składających się na to środowisko oraz specyfiki danego obszaru. Na przykład, w przypadku samej tylko wody można byłoby wziąć pod uwagę jej występowanie lub brak, rodzaj (np. wody stojące, płynące, słodkie, słone), pH, temperaturę itd. Im więcej elementów poddanych analizie epidemiologicznej i statystycznej, tym wynik z niej uzyskany jest bardziej miarodajny.

Piśmiennictwo

1. Aker N., James E. B., Johnston A. M., Pasvol G.: Leptospirosis in pregnancy: an unusual and relatively unrecognised cause of intrauterine death in man. J. Obstet. Gynecol. 1996, 16, 163-165.
2. Andre-Fontaine G., Ganiere J. P.: New topics on leptospirosis. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., 1990, 13, 163-168.
3. Bovet P., Yersin C., Merien F., Davis C. E., Perolat P.: Factors associated with clinical leptospirosis: a population-based case-control study in the Seychelles (Indian Ocean). Int. J. Epid. 1999, 28, 583-590.
4. Cacciapuoti B., Ciceroni L., Pinto A., Apollini M., Rondinella V., Bonomi U., Benedetti E., Cinco M., Dessi S., Dettori G.: Survey on the prevalence of leptospira infections in the Italian population. Eur. J. Epidemiol. 1994, 10, 173-180.
5. Carrol A. G., Campbell R. S. F.: Reproductive and leptospiral studies on beef cattle in central Queensland. Aust. Vet. J. 1987, 64, 1-5.
6. Egan J., O'Reilly P. J. O.: Leptospira hardjo in herds: some case histories. Irish Vet. J. 1988, 10, 23-25.
7. Ellis W. A., Bryson D. G., Neill S. D., McParland P. J., Malone F. E.: Possible involvement of leptospirae in abortion, stillbirths and neonatal deaths in sheep. Vet. Rec. 1983, 112, 291-293.
8. Guitian J., Thurmond M. C., Hietala S.: Infertility and abortion among first-lactation dairy cows seropositive or seronegative for Leptospira interrogans serovar hardjo. J. Am. Vet. Med. Ass. 1999, 215, 515-518.
9. Hathaway S. C., Little T. W. A.: Epidemiological study of Leptospira hardjo infection in second calf dairy cows. Vet. Rec. 1983, 112, 215-218.
10. Krawczyk M.: Epidemiologia leptospirozy zwierząt i ludzi w województwie kujawsko-pomorskim w latach 1996-2000. Praca dokt. UWM. Olsztyn 2002.
11. Krawczyk M.: Serologiczne badanie dzików w kierunku leptospirozy. Medycyna Wet. 2000, 56, 440-443.
12. Majek M., Wandurski A.: Spostrzeżenia nad zwalczaniem leptospirozy świń w fermie przemysłowej. Medycyna Wet. 1978, 34, 621-622.
13. Michna S. W.: Leptospirosis. Vet. Rec. 1970, 86, 484-496.
14. Miller D. A., Wilson M. A., Beran G. W.: Relationships between prevalence of Leptospira interrogans in cattle, and regional, climatic, and seasonal factors. Am. J. Vet. Res. 1991, 52, 1766-1768.
15. Pearson J. K. L., Mackie D. P., Ellis W. A.: Milk drop syndrom resulting from Leptospira hardjo. Vet. Rec. 1980, 106, 135-136.
16. Smyth J. A., Fitzpatrick D. A., Ellis W. A.: Stillbirth/perinatal weak calf syndrome: a study of calves infected with Leptospira. Vet. Rec. 1999, 145, 539-542.
17. Van C. T., Thuy N. T., San N. H., Hien T. T., Baranton G., Perolat P.: Human leptospirosis in the Mekong delta, Viet Nam. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 1998, 92, 625-628.
18. Venkataraman K. S., Nedunchellian S.: Epidemiology of an outbreak of leptospirosis in man and dog. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 1992, 15, 243-247.