

Nowe dane na temat rozpoznawania i zwalczania leptospirozy świń

Marian Truszczyński, Zygmunt Pejsak

z Zakładu Chorób Świń Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego

Leptospiroza wśród bakteryjnych chorób świń nadal zajmuje ważną pozycję. Występuje na całym świecie, w tym w Polsce, powodując straty zwłaszcza w rozrodzie. Obniża też produktywność i efekty ekonomiczne zakażonego stada świń, mimo przeważnie podklinicznego przebiegu. W niektórych krajach leptospiroza świń podlega obowiązkowi zgłaszania, co związane jest z jej charakterem zoonotycznym, czyli chorobotwórczością leptospir dla człowieka.

Powyższe dane uzasadniają przedstawienie postępu, który dokonał się w ciągu minionych kilkunastu lat w klasyfikowaniu leptospir oraz w rozpoznawaniu i zwalczaniu wywoływanej przez nie choroby świń, co jest celem tego artykułu (1, 2).

Podstawowe dane o właściwościach drobnoustroju

Leptospiry mają kształt cienkich spirali, o długości od 6 do około 20 μm i szerokości

0,1 μm . Widoczne są w ciemnym polu mikroskopu świetlnego. Wykazują ruch własny. Są tlenowcami, ale najbardziej obfito wzrost uzyskuje się w atmosferze o zmniejszonej zawartości tlenu (3).

Zaliczane są do rzędu Spirochetales, rodziny Leptospiraceae, rodzaju *Leptospira* (3, 4).

Serologiczna klasyfikacja leptospir

W rodzaju *Leptospira* rozróżniano dawniej: gatunek *Leptospira interrogans*, obejmujący serotypy chorobotwórcze, i gatunek *L. biflexa*, do którego zaliczono serotypy niechorobotwórcze. Na podstawie aktualnie obowiązujących postanowień Podkomitetu do spraw Taksonomii Leptospiraceae, który obradował w 2007 r., utworzono dwie grupy leptospir. Gatunki grupy pierwszej, leptospir chorobotwórczych, stanowią: *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. borgpetersenii*, *L. inadae*, *L. interrogans*,

L. fanai, *L. kirschneri*, *L. licerasiae*, *L. noguchi*, *L. santarosai*, *L. terpstreae*, *L. weilii*, *L. wolffii*. W sumie zaliczono do nich ponad 260 serowarów. Gatunki grupy drugiej, leptospir niechorobotwórczych, czyli saprofitycznych, reprezentują: *L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. yanagawae*, *L. kmetyi*, *L. vanthielii* i *L. wolbachii*. W odniesieniu do wymienionych gatunków rozróżniono ponad 60 serowarów (3). Dodać należy, że ze względów praktycznych, uwzględniających potrzeby terenowego lekarza weterynarii oraz epidemiologa, serowary powiązane z gatunkami leptospir grupy pierwszej łączone są na podstawie pokrewieństw antygenowych w serogrupy (2, 5).

W ten sposób tworzonej klasyfikacji leptospir oraz w serodiagnostyce wywołanych przez nie infekcjach zwierząt szerokie zastosowanie znalazła aglutynacja mikroskopowa (microscopic agglutination test-MAT; 6), która zostanie omówiona dalej.

W nawiązaniu do powyższego przedstawiona została tabela 1 (1), zmodyfikowana w tej publikacji. Zawiera ona gatunki, serogrupy i serowary leptospir, których świnia jest bezobjawowym nosicielem i siewcą oraz które mogą u niej wywołać zachorowania.

Patogenność serowarów najczęściej występujących u świń

W Europie spośród wymienionych w tabeli 1 serowarów najczęściej u świń występują

New data concerning diagnosis and control of swine leptospirosis

Truszczyński M., Pejsak Z., Department of Swine Diseases, National Veterinary Research Institute, Pulawy

The purpose of this paper was to present the progress: in the classification of *Leptospira* organisms and in the diagnosis and control of the leptospirosis of swine. Basic information referring to the properties of the leptospires was mentioned. Conclusions of the 2007 Meeting of the Subcommittee on the Taxonomy of Leptospiraceae were presented. A table containing species, serogroups and serovars of these microorganisms, occurring in swine, was given. Serovars: Pomona, Bratislava and Tarassovi were found to be the most important pathogens in swine leptospirosis. It was indicated that abortion, stillbirth and weak piglets are major clinical symptoms of swine leptospirosis. However, characteristic and more often occurring are subclinical, endemic infections in a large percentage of pigs within the herd. Serological testing is the main laboratory procedure most frequently used to confirm the clinically suspected leptospirosis. The most important assay is the microscopic agglutination test (MAT). In a separate chapter the laboratory diagnosis including also other tests (ELISA, PCR) was characterized. The immunity and the role of vaccines were discussed, and shortly the use of antimicrobials. In the prophylaxis and control of leptospirosis of swine, as the priority, the avoidance of contact of swine susceptible to leptospiral infection with infected swine and other vectors of leptospires was underlined.

Keywords: leptospirosis, swine, prophylactic measures, control.

serowar Pomona (1). Serowar ten dostaje się do wrażliwego stada trzema możliwymi drogami: przez wprowadzenie z zewnątrz zakażonych zwierząt, czyli w następstwie remontu stada; w wyniku ekspozycji świń na zanieczyszczone leptospirami

środowisko; przez kontakt z zakażonymi alternatywnymi wektorami, zwłaszcza dziko żyjącymi gryzoniami. Najczęstszym źródłem szerzenia się zakażenia wydają się świnię, nosiciele i siewcy serowaru Pomona. Ma to miejsce zwłaszcza wtedy, kiedy świnię pochodzące z innych ferm włączane są do uzupełnienia stada loch (7) lub w przypadku zakażonych knurów używanych do ich krycia (8). Dodać należy, że leptospiry utrzymują się tygodniami, a nawet miesiącami w nerkach i układzie rozrodczym świń, zatem siewstwo leptospir jest z reguły długotrwałe. Podstawą przeciwdziałania szerzeniu się zakażenia jest minimalizowanie okazji do zakażenia następnymi osobników, w czym istotną rolę odgrywa eliminowanie na podstawie diagnostyki laboratoryjnej świń zakażonych, higiena i dezynfekcja pomieszczeń oraz w uzasadnionych przypadkach, szczególnie zagrożonych zakażeniem stad, profilaktyczne szczepienia przeciw leptospirozie.

Kiedy serowar Pomona dostanie się do populacji świń danej fermy, zakażenie rozprzestrzenia się na ogół dość szybko w odniesieniu do dużej liczby świń. Do zakażenia wystarczają bowiem nawet niewielkie dawki zarazka. Kontakt pośredni wrażliwych świń z leptospirami ma miejsce za pośrednictwem zanieczyszczonych nimi ścieków, wody lub ziemi. Jeżeli zanieczyszczony leptospirami mocz dostanie się do wilgotnej ziemi o pH bliskim zasadowemu, wtedy w takim środowisku przeżywać one stosunkowo długo.

Prosięta w pierwszych tygodniach życia chronione są przed zakażeniem zawierającą przeciwciała swoiste siarą loch, które przeszły zakażenie lub szczepionych przeciw leptospirozie. Czas trwania ochrony zależy od ilości pobranej siary i stężenia swoistych immunoglobulin. Na podstawie pojawiających się pierwszych przypadków leptospirozy u prosiąt 12-tygodniowych można uznać, że wtedy zanika bierna odporność matczyną (cyt. wg 1).

Intensywność wydalania leptospir z moczem jest największa w pierwszych 3–4 tygodniach po zakażeniu. W kolejnym okresie zmniejsza się przy pojawianiu się okresów bez siewstwa z moczem (9). W stadach z bezobjawowym zakażeniem, do których wprowadza się lochy lub prosięta niezakażone, mogą u nich wystąpić po kilku do kilkunastu dniach objawy chorobowe, takie jak podwyższenie temperatury ciała, utrata apetytu i osowiałość.

Wobec częstego, a jednocześnie nierozpoznanego zakażenia i szerokiego rozprzestrzenienia się w stadach świń serowaru Pomona, do 90% pochodzących z nich tuczników może okazać się w czasie uboju nosicielami tego serowaru (9).

Zakażenia powodowane u świń przez serogrupę Australis, a zwłaszcza przez serowar Bratislava i w mniejszym stopniu również serowar Muenchen, należały w przeszłości do najczęstszych u świń wykrywanych zakażeń. Również obecnie serowar Bratislava ocenia się jako ważny w etiologii leptospirozy świń. Dotyczy to Niemiec, Czech, Słowacji, Holandii, Szwecji, Danii, USA, Kanady, Austrii, Australii, Brazylii i Afryki Południowej (2), a ostatnio również Polski (10).

Zasiedlenie nerek świń leptospirami jest w przypadku serowaru Bratislava rzadsze. w porównaniu do Pomona. Natomiast serowar Bratislava umiejscawia się dość często dodatkowo w układzie rozrodczym loch i knurów (11), co sprzyja szerzeniu się zakażenia w trakcie krycia naturalnego. Z tego względu, zwłaszcza w przypadku zakażenia wywołanego u świń przez ten serowar, istotne zdaniem Ellisa (2) znaczenie w zapobieganiu leptospirozie świń ma możliwie najszersze stosowanie inseminacji, przy równoczesnej wiarygodnej kontroli nasienia na obecność tych drobnoustrojów. Analogiczne zalecenie dotyczy profilaktyki leptospirozy świń wywołanej przez inne serowary.

Zakażenia świń, których czynnikiem etiologicznym jest serowar Tarassovi, występują rzadziej niż wywołane przez serowary Pomona i Bratislava. Niższy jest też ich potencjał szerzenia się w stadzie. Niemniej, również ten serowar oceniany jest jako ważny w zakażeniach świń. Serowar Canicola występuje u świń sporadycznie. Źródłem są przede wszystkim psy. Też rzadko identyfikowany u świń jest serowar Grippotyphosa, na co wskazują badania serologiczne z obszaru Europy Środkowo-Wschodniej oraz serowary Copenhagen i Icterohaemorrhagiae. Małe znaczenie epidemiologiczne u świń mają serowary Sejroe i Hardjo, należące do serogrupy Sejroe.

Reasumując, na podstawie badań serologicznych szeregu laboratoriów, w tym Centrów Współpracujących OIE do spraw Leptospirozy (OIE Collaborating Centres)

Tabela 1. Leptospiry występujące u świń

Gatunki wykazujące pokrewieństwo antygenowe z serogrupami i serowarami	Serogrupy	Serowary
<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. kirschneri</i>	Pomona	Pomona
<i>L. interrogans</i> , <i>L. noguchii</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. kirschneri</i>	Australis	Australis Bratislava Muenchen
<i>L. noguchii</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. inadai</i>	Tarassovi	Tarassovi
<i>L. interrogans</i> , <i>L. inadai</i> , <i>L. kirschneri</i>	Canicola	Canicola
<i>L. interrogans</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. kirschneri</i>	Grippotyphosa	Grippotyphosa
<i>L. interrogans</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. inadai</i> , <i>L. kirschneri</i>	Icterohaemorrhagiae	Copenhagen Icterohaemorrhagiae
<i>L. interrogans</i> , <i>L. weilii</i> , <i>L. santarosai</i> , <i>L. borgpetersenii</i> , <i>L. meyeri</i>	Sejroe	Sejroe Hardjo

ustalono przy zastosowaniu MAT, że największe znaczenie w etiologii leptospirozy świń mają serowary Pomona, Bratislava i Tarassovi (cyt. wg 1, 2).

Objawy nasuwające podejrzenie leptospirozy

Stanowią je ronienia loch oraz rodzenie martwych lub słabych prosiąt, które rozwijają się wolniej, a część z nich pada lub jest z konieczności selekcyjowana. Zaburzenia te uwidaczniają się częściej, zwłaszcza wtedy, kiedy zarazek po raz pierwszy zostanie wprowadzony do chlewni lub stada świń ze zwierzętami wrażliwymi na zakażenie. Oprócz tego rodzaju obrazu chorobowego, powszechne dla leptospirozy świń są utrzymujące się w czasie i obejmujące znaczny odsetek zwierząt w stadzie zakażenia bezobjawowe lub o trudno dostrzegalnych objawach chorobowych, co powtarza się w kolejnych cyklach produkcyjnych danej fermi, stacjonarnie dotkniętej leptospirozą.

W klinicznej diagnozie różnicowej należy uwzględnić ronienia loch występujące w przypadku PRRS, parwowirusy, grypy, PCVAD, listeriozy, zakażeń chlamydiami oraz mikotoksykozy. Wymienione uprzednio u prosiąt i warchlaków zaburzenia w zdrowiu i spowolnienie przyrostów masy ciała mogą wywoływać, nawet częściej niż leptospiry, inne bakterie oraz wirusy, np. PCV2, przy udziale niesprzyjających dobrostanowi warunków środowiskowych.

Diagnostyka laboratoryjna

Wobec niemożności rozpoznawania leptospirozy świń na podstawie objawów klinicznych i zmian anatomopatologicznych oraz przebiegu choroby w stadzie, postawienie rozpoznania wymaga wykonania badań laboratoryjnych. Są one również niezbędne w monitorowaniu zakażeń w czasie ich utrzymywania się w danym obiekcie oraz w szerszej zaplanowanych badaniach epidemiologicznych. Z praktycznego punktu widzenia najbardziej przydatny jest uprzednio wspomniany test aglutynacji mikroskopowej (MAT), z dostosowanymi do określonego regionu serowarami leptospir. Ostatnio opracowano i przekazano do praktycznego stosowania też test ELISA (10, 12, 13) do wykazywania przeciwciał w surowicach świń. Ze względu na jego większą złożoność techniczną niż aglutynacja mikroskopowa jest on jednak znacznie rzadziej w praktyce wykorzystywany niż ten ostatni i głównie przez laboratoria specjalizujące się w badaniach nad leptospirozą.

W przypadku świń importowanych lub przeznaczonych na eksport oprócz

antygenów serowarów ważnych lokalnie należy włączać do badań diagnostycznych również ich odpowiednio poszerzony zestaw.

Test aglutynacji mikroskopowej stosowany jest do badania pojedynczych świń oraz w odniesieniu do stad (jako tzw. próba stadna). Miano wskazujące na zakażenie badanej świni określono na 100 i wyżej, co oznacza rozcieńczenie surowicy badanej 1:100 lub kilka kolejnych rozcieńczeń. Jako test indywidualny aglutynacja mikroskopowa jest przydatna do rozpoznawania zakażeń o przebiegu ostrym. Czterokrotne podniesienie się u badanej świni miana przeciwciał, od okresu ostrej fazy zakażenia do okresu rekonwalescencji, ma wartość diagnostyczną i jednoznacznie wskazuje na rozpoznanie leptospirozy. W celu uzyskania użytecznej informacji w odniesieniu do stada zwierząt (np. świń) w aspekcie występowania leptospirozy zbadane powinno być co najmniej 10% losowo wybranych świń. Udział dodatnio reagujących zwierząt stanowi podstawę do sformułowania tym sposobem uzyskanego wyniku (2).

Wartość diagnostyczna aglutynacji mikroskopowej jest niekiedy ograniczona w przypadku zakażenia przewlekłego w odniesieniu do poszczególnych świń, a nawet stada. Może być nawet tak, że indywidualne lochy ronią z powodu leptospir przy mianach przeciwciał swoistych, będących poniżej rozcieńczenia 1:100 surowicy (4, 6, 14). Między serowarami, które brały udział w zakażeniu i serowarami, które jej nie wywoływały, mogą występować reakcje krzyżowe. Na ogół współreagujące serologicznie inne serowary niż ten, który wywołał zakażenie, reagują z tą samą surowicą w niższych mianach. Przeciwciała pojawiają się kilka dni po zakażeniu (czyli wcześniej) i na ogół utrzymują się tygodniami lub miesiącami.

Niektóre serowary, jak na przykład Har-djo i Bratislava (4, 15), jako mniej immunogenne niż inne, indukują odpowiedź wyrażoną pojawianiem się przeciwciał swoistych na niższym poziomie (11).

Powszechność stosowania w rozpoznawaniu leptospirozy serodiagnostyki ma miejsce ze względu na trudności izolacji leptospir z materiału chorobowego i uzyskiwania ich hodowli na sztucznych pożywkach, do ich identyfikacji, co w konsekwencji umożliwiłoby jednoznacznie pewne rozpoznanie leptospirozy u zwierząt żywych lub padłych oraz identyfikację izolatów leptospir do serowaru wyłącznie za pomocą testów zawierających swoiste dla nich przeciwciała.

Obecnie tę niemożność zaczynają zastępować opracowane w minionej dekadzie różne odmiany reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) w wersji tradycyjnej

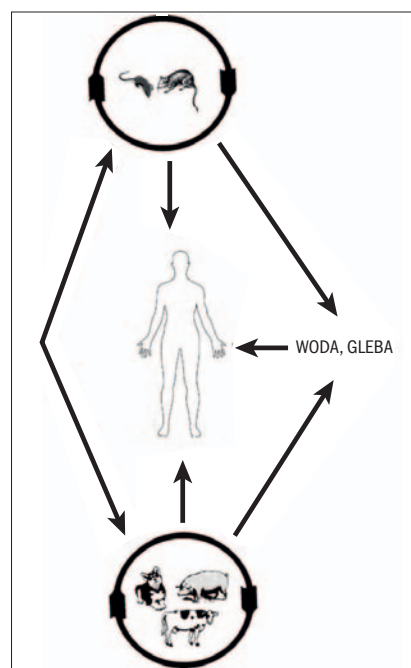
lub w tak zwanym czasie rzeczywistym (RT-PCR; 6, 16, 17). Jednakże, jak dotychczas, testy te są wykonywane wyłącznie w laboratoriach specjalistycznych i dodatkowo wymagają pełniejszej walidacji (1).

Dane z ostatnich kilku lat na temat diagnostyki leptospirozy, zwłaszcza świń, znajdują się w osobnych publikacjach (6, 18, 19).

Epidemiologia

Przebieg leptospirozy świń jest zróżnicowany, zależnie od regionu i stada. Świnia może się bowiem zakażać każdym serowarem, a nie tylko wymienionymi w tabeli 1. Również status immunologiczny poszczególnych stad może się różnić w danym obszarze, a tym bardziej w strefach od siebie oddalonych. Niezależnie od tego charakterystyczne jest, że raczej stosunkowo nieliczne serowary występują stale w określonym okręgu, regionie lub państwie. Pewną rolę w różnym przebiegu choroby odgrywają czynniki klimatyczne (4), ale główne znaczenie w różnorodności spektrum etiologicznego serowarów leptospir wydaje się mieć przede wszystkim krajowy i międzynarodowy obrót zwierzętami, czego efektem może też być zmienność udziału w serologicznie ustalonych okresowo ważnych etiologicznie zestawach serowarów.

Świnia jako źródło leptospir wywołujących zachorowania i określających sytuację epidemiologiczną w tym zakresie u ludzi, ma w porównaniu do innych rezerwuarów zarazka, zwłaszcza psów i wolno żyjących gryzoni, raczej znaczenie drugorzędne. Wyraża to zamieszczona według Adlera i de la Peny (3) rycina 1.



Ryc. 1. Zoonotyczne znaczenie różnych rezerwuarów leptospir

Odporność i szczepionki

Główną rolę w przypadku zakażeń wywołanych przez leptospiry u zwierząt, w tym u świń, oraz u człowieka odgrywa, w porównaniu do odporności komórkowej, odporność humoralna. Ochronę przed zakażeniem zapewnia podana zwierzęciu swoista surowica odpornościowa lub przeciwciała monoklonalne swoiste dla lipopolisacharydowych antygenów leptospor (20). Leptospiry w wyniku działania opsonizującego ze strony swoistych przeciwciał fagocytowane są przez makrofagi i obojętne leukocyty *in vitro* oraz *in vivo*. Przeciwciała przy udziale dopełniacza wywołują lizę leptospor.

Lipopolisacharydy leptospor są immunogenne włącznie z możliwością wywołania odporności przeciwzakaźnej u szczepionego nimi zwierzęcia (21). Na tej podstawie od lat przygotowywane i stosowane są w immunoprofilaktyce leptospirozy u człowieka i u zwierząt szczepionki (3). W ich skład, jako immunogeny, wchodzi nieaktywowane fenolem lub formaliną komórki leptospor.

Szczepionki przeciw leptospirozie świń są dostępne w handlu. Nie zawsze są one skuteczne, podobnie jak u innych gatunków zwierząt. Łączy się to z wywoływaniem przede wszystkim ochrony przed zakażeniem przez serowar homologiczny w stosunku do zawartego w szczepionce, co nie zawsze ma miejsce, gdyż świnia może być zakażona innym serowarem. W przypadku kiedy w grę wchodzi inne serowary, efekt heterologicznej ochronnej odporności poszczepiennej jest niższy lub niewystarczający do przeciwdziałania rozwojowi zakażenia. Z tego względu przed wyborem i zastosowaniem szczepionek należy określić, jakie serowary w danym stadzie świń wywołują leptospirozę i do tego dostosować skład zawarty w szczepionce immunogenów. Łączy się to z rozeznaniem wcześniejszym, co do udziału różnych serowarów w danym regionie lub strefie, a nawet fermie.

Szczepienie świń wywołuje krótkotrwałą, bo około 3 miesiące utrzymującą się odporność przeciwzakaźną (2). Nie likwiduje ono siewstwa leptospor, jednakże znacznie je obniża, co uzasadnia stosowanie szczepień, zwłaszcza u szczególnie zagrożonego ze strony leptospirozy pogłowia (22). Niestety nie są, jak dotychczas, dostępne szczepionki delecyjne, które umożliwiłyby przy stosowaniu odpowiednich testów, odróżnianie zwierząt szczepionych od zakażonych.

Antybiotyki

Pewne znaczenie w obniżaniu siewstwa leptospor z moczem świń mają tetracykliny

i streptomycyna. Istnieją jednak sprzeczne poglądy, zależnie od autora, na temat skuteczności i celowości ich stosowania w praktyce (2). Antybiotyki działają bowiem krótko i nie przeciwdziałają reinfekcji.

Zalecenia w zwalczaniu leptospirozy świń

W nawiązaniu do powyższego i ograniczonej roli szczepionek uważa się (2), że w zwalczaniu leptospirozy świń (również u innych gatunków zwierząt gospodarskich) najskuteczniejsze jest przeciwdziałanie bezpośrednim lub pośrednim kontaktom zwierząt niezakażonych z nosicielami leptospor, co należy serologicznie monitorować, w tym oprócz świń, również w odniesieniu do innych gatunków zwierząt domowych. Istotne jest też wykonywanie w fermach świń okresowej deratyzacji. Niezbędne wydaje się monitorowanie stad zarodowych i stacji unasieniania loch w kierunku obecności seroreagentów dla leptospor. Bioasekuracja stad wolnych od omawianej choroby polegać powinna między innymi na badaniu serologicznym wszystkich wprowadzonych do stad loszek i knurków.

Piśmiennictwo

1. Strutzberg-Minder K., Kreienbrock L.: Leptospireninfektionen beim Schwein: Epidemiologie, Diagnostik und weltweites Vorkommen. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 2011, **124**, 345-359.
2. Ellis W.A.: Leptospirosis. W: *Diseases of Swine*. Blackwell Publishing Ames, Iowa, USA. 2006, 9th ed., s. 691-700.
3. Adler B., de la Peña Moctezuma A.: *Leptospira* and leptospirosis. *Vet. Microbiol.* 2010, **140**, 287-296.
4. Faine S., Adler B., Bolin C., Perolat P.: *Leptospira* and leptospirosis. 2nd ed. Melbourne, Australia. MediSci 1999.
5. Levett P.N.: Leptospirosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2001, **14**, 296-326.
6. World Organisation for Animal Health (OIE). Leptospirosis. W: *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees)*. OIE, Paris, France, 2008, vol. 1, 6th ed., s. 251-264.
7. Edwards J.D., Daines D.: A leptospirosis outbreak in a pigery. *N. Z. Vet. J.* 1979, **27**, 247-248.
8. Kemenes F., Suveges T.: *Leptospira*-induced repeated abortion in sows. *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.* 1976, **26**, 395-403.
9. Bolt L., Marshall R.B.: The epidemiology of *Leptospira interrogans* serovar pomona in grower pig herds. *N. Z. Vet. J.* 1995, **43**, 10-15.
10. Wasiński B., Pejsak Z.: Occurrence of leptospiral infections in swine population in Poland evaluated by ELISA and microscopic agglutination test. *Pol. J. Vet. Sci.* 2010, **13**, 4, 695-699.
11. Ellis W.A., McParland P.J., Bryson D.G., Thiermann A.B., Montgomery J.: Isolation of leptospires from the genital tract and kidneys of aborted sows. *Vet. Rec.* 1986, **118**, 294-295.
12. Theodoridis D.: *Entwicklung eines ELISA zur Serodiagnose der Leptospirose und einer PCR zum direkten Nachweis des Erregers*. Hannover, Tierärztliche Hochschule Hannover, Diss. 2004.
13. Theodoridis D., Bohmer J., Homuth M., Strutzberg-Minder K.: Development of a novel ELISA for serodiagnosis of Leptospirosis and additional detection of pathogenic *Leptospira* by polymerase chain reaction for veterinary routine diagnostics. *Rev. Cubana Med. Trop.* 2005, **57**, 49-50.
14. World Organisation for Animal Health (OIE). Leptospirosis. W: *Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees)*. OIE, Paris, France, 2000, 4th ed., s. 265-275.

15. Ellis W.A.: The diagnosis of leptospirosis in farm animals. W: Ellis W.A., Little T.W.A. (ed.): *The Present State of Leptospirosis Diagnosis and Control*. Martinus Nijhoff Publishers, 1986, 13-32.
16. Levett P.N., Morey R.E., Galloway R.L., Turner D.E., Steigerwalt A.G., Mayer L.W.: Detection of pathogenic leptospires by real-time quantitative PCR. *J. Med. Microbiol.* 2005, **54**, 45-49.
17. Ahmed A., Engelberts M.F., Boer K.R., Ahmed N., Hartskerel R.A.: Development and validation of a real-time PCR for detection of pathogenic *Leptospira* species in clinical materials. 2009, *PLoS ONE* **4**: e7093.
18. Naito M., Sakoda Y., Kamikawa T., Nitta Y., Hirose K., Sakashita M., Kurokawa S., Kida H.: Serological evidence of leptospiral infection in pig populations in different districts in Japan. *Microbiol. Immunol.* 2007, **51**, 593-599.
19. Rojas P., Monahan A.M., Schuller S., Miller I.S., Markey B.K., Nally J.E.: Detection and quantification of leptospires in urine of dogs: a maintenance host for the zoonotic disease leptospirosis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2010, **29**, 1305-1309.
20. Jost B.H., Adler B., Vinh T., Faine S.: A monoclonal antibody reacting with a determinant on leptospiral lipopolysaccharide protects guinea pigs against leptospirosis. *J. Med. Microbiol.* 1986, **22**, 269-275.
21. Masuzawa T., Nakamura R., Beppu Y., Yanagihara Y.: Immunochemical characteristics and localization on cells of protective antigen (PAG) prepared from *Leptospira interrogans* serovar lai. *Microbiol. Immunol.* 1996, **40**, 237-241.
22. Cargill C.F., Davos D.E.: Renal leptospirosis in vaccinated pigs. *Aust. Vet. J.* 1981, **57**, 236-238.

Prof. dr hab. Marian Trusczyński, Państwowy Instytut Weterynaryjny, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy, e-mail: mtrusczy@piwet.pulawy.pl